

論文審査の結果の要旨

アトピー性皮膚炎患者皮膚マイクロバイオームの新たなディスバイオーシスの機序

-*Delftia acidovorans* の *Staphylococcus epidermidis* に対する増殖抑制効果-
New Mechanism of Dysbiosis in Skin Microbiome of Patient with Atopic Dermatitis - Inhibitory Activity of *Delftia acidovorans* against the Growth of *Staphylococcus epidermidis* -

論文提出者 大久保 友隆 (Ohkubo, Tomotaka)

ヒト皮膚には多種多様な微生物が相互に絶妙なバランスを保持しながらマイクロバイオームとして存在している。マイクロバイオームは、バイオフィルム形成あるいは抗菌ペプチド産生を介して外来微生物の侵入を阻止するなどヒトの健康維持に寄与している。しかしながら、何らかの要因で宿主環境が変化すると皮膚マイクロバイオームが破綻し、炎症性皮膚疾患の発症や増悪化が起こる。その代表例がアトピー性皮膚炎(Atopic dermatitis, AD)である。ADは増悪と寛解を繰り返す掻痒のある湿疹を主病変とする慢性皮膚疾患であるが、増悪期では黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)が優位となり細胞外分泌性毒素を産生することで、炎症性サイトカインを介して皮膚炎が惹起される。増悪期では *S. aureus* の相対的占有率の上昇に伴い、表皮ブドウ球菌(*Staphylococcus epidermidis*)などのコアグラゼ陰性ブドウ球菌の占有率が低下するディスバイオーシスが観察される。従って、ADは皮膚マイクロバイオームのディスバイオーシスにより生じる皮膚炎と表現することができる。申請者

は、Class Betaproteobacteria に属する *Delftia acidovorans* が AD 患者病変部で検出されることに着目し、当該菌種が AD 患者における皮膚のディスバイオーシスの原因の一つではないかと考えた。

申請者は、*D. acidovorans* 由来の培養上清の熱処理画分 (*D. acidovorans* heat-treated CS) を作製し、*S. epidermidis* および *S. aureus* の増殖に及ぼす影響を検討した。*D. acidovorans* heat-treated CS により、*S. epidermidis* の増殖は抑制されたが、*S. aureus* の増殖は抑制されなかった。次に、*D. acidovorans* heat-treated CS の *S. epidermidis* に対する増殖抑制の作用機序を明らかにするため、RNA-seq により *S. epidermidis* の遺伝子発現変動を解析した。*D. acidovorans* heat-treated CS により、*S. epidermidis* の解糖系や TCA 回路に関連する遺伝子群の発現が上昇した。さらに、*D. acidovorans* heat-treated CS の *S. epidermidis* に対する増殖抑制作用は、TCA 回路の阻害剤であるマロン酸(MA)により減弱した。これらの結果から、申請者は、*D. acidovorans* heat-treated CS が TCA 回路を介して *S. epidermidis* の増殖を抑制していると考えた。TCA 回路に由来する電子供与体は呼吸鎖を活性化し、ROS 産生を誘導する。そこで申請者は、*D. acidovorans* heat-treated CS が *S. epidermidis* の ROS 産生に及ぼす影響を検討した。*D. acidovorans* heat-treated CS の存在下で、*S. epidermidis* の ROS 産生が亢進した。この *D. acidovorans* heat-treated CS による ROS 産生の亢進や *S. epidermidis* に対する増殖抑制作用は、ラジカルスカベンジャーである *N*-acetyl-L-cysteine (NAC) により阻害された。これらの結果から、*D. acidovorans* が *S. epidermidis* の TCA 回路依存的な ROS 産生の誘導により、*S. epidermidis* の増殖を抑制することが明らかになった。

D. acidovorans heat-treated CS の活性成分を特定するため、申請者は細菌の増殖に重要な要素である pH に着目した。*D. acidovorans* heat-treated CS

はアルカリ性であった。また、*D. acidovorans* heat-treated CS を中性にすると *S. epidermidis* に対する増殖抑制作用が減弱した。この結果から、*D. acidovorans* heat-treated CS のアルカリ性という特徴が *S. epidermidis* に対する増殖抑制作用に関与することが明らかになった。アルカリ性を示す細菌の代謝物の一つにアンモニアがある。*D. acidovorans* heat-treated CS には、高濃度のアンモニアが含まれていた。そこで申請者は、アンモニアが *S. epidermidis* の増殖や ROS 産生に及ぼす影響を検討した。アンモニアは *D. acidovorans* heat-treated CS と同様に *S. epidermidis* に対して増殖抑制作用および ROS 産生誘導作用を示し、これらの作用は MA や NAC の存在下で阻害された。これらの結果から、*D. acidovorans* がアンモニアのアルカリストレスを介して *S. epidermidis* の TCA 回路依存的な ROS 産生を誘導し、*S. epidermidis* の増殖を抑制していることが示唆された。本研究の成果は *D. acidovorans* が *S. epidermidis* の増殖抑制を介して AD のディスバイオーシスに関与する可能性を示すものである。

以上の成果は、博士(薬学)の学位を授与するのに相応であると判断する。

令和 4 年 3 月 2 日

主査 明治薬科大学 教授

紺 谷 圏 二 印

副査 明治薬科大学 教授

菱 沼 滋 印

副査 明治薬科大学 准教授

市 川 智 恵 印