

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：92663

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16011

研究課題名(和文) イヌにおける外耳道細菌叢と外耳炎の関連解析

研究課題名(英文) Analysis of the microbiome in the ear canals of dogs with and without otitis externa

研究代表者

島 綾香 (Shima, Ayaka)

アニコム先進医療研究所株式会社(研究開発課)・研究開発課・研究員

研究者番号：00813859

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：外耳炎はイヌにおいて最も発症率の高い疾患の1つであるが、その発症メカニズムは十分明らかになっていない。本研究では、外耳炎罹患犬の外耳道細菌叢の経時的解析により、外耳炎の発症における細菌叢の役割の解明を目的とした。

本研究にて、外耳炎群と健常群の外耳道細菌叢の構成は異なる事が明らかとなった。また、同一個体の左右の耳の比較において、片側性外耳炎罹患個体の健常耳の細菌叢は健常個体と異なることが明らかとなった。このことから、外耳炎と外耳道細菌叢には関連がある事が示唆され、外耳炎を発症しやすい細菌叢が存在する可能性があると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究から、外耳炎と外耳道細菌叢には関連がある事が示唆され、外耳炎を発症しやすい細菌叢が存在する可能性があると考えられた。本成果は、腸内細菌叢をターゲットとした外耳炎の新規治療法、および予防法の開発の一助となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Otitis externa is a common disease in dogs. However, the association between bacteria and the development of otitis externa has not been elucidated. In this study, the association between otitis externa and the skin microbiota in the ear canal was evaluated by comparing the microbiota in dogs with and without otitis externa. The microbiota in the ear canal differed between dogs with and without otitis externa. Moreover, the microbiome of healthy ear were different from that of diseased one in same individual with unilateral otitis externa. It differed to that of dogs without otitis externa. These results suggest that the microbiota in ear canal are associated with otitis externa and it might be predisposing factor of otitis externa.

研究分野：獣医学

キーワード：外耳炎 細菌叢 イヌ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

外耳炎はイヌにおいて最も発症率の高い疾患の 1 つである。その治療には抗菌薬とステロイドの併用が一般的であるが、難治性の症例や再発を繰り返す症例が多く存在する。これまでの研究では外耳炎の発症メカニズムは十分明らかにできておらず、新しいアプローチが必要である。一方、近年、皮膚細菌叢が皮膚の健康に関連することが明らかになりつつある。申請者のこれまでの予備研究においても、外耳炎罹患犬と健常犬では外耳道細菌叢に違いがあることが明らかになり、外耳道細菌叢と外耳炎の関連が疑われている。

2. 研究の目的

本研究では、外耳炎罹患犬と健常犬の外耳道細菌叢の解析により、外耳炎の発症に関連する細菌叢や細菌群の同定及び外耳炎の発症における細菌叢の役割の解明を目的とする。

3. 研究の方法

外耳炎群として病院で外耳炎と診断されたイヌ 22 頭、及び対照群としてペットホテルに宿泊中の健常なイヌ 29 頭より滅菌綿棒を用いて外耳道スワブを採取した。外耳道スワブは冷凍便にて輸送した。スワブから DNA を抽出し、メタ 16S 解析を行った。具体的には、16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域を PCR によって増幅させ、illumina MiSeq を用いて増幅産物をシーケンスした。得られた配列データから、Qiime2 を用いて 多様性解析、多様性解析、および Taxonomy 解析等を実施した。また、Linear discriminant analysis Effect Size (LEfSe) により各群における特徴的な細菌のスクリーニングを行った。細菌叢の構成からの機能の予測には Piphillin を使用した。

4. 研究成果

外耳炎群と健常群の比較

多様性解析により、外耳炎群の外耳道細菌叢の 多様性 (ユニーク配列数、均等度、Shannon index) は健常群の外耳道細菌叢に比べて低い事が明らかとなった (図 1)。

また、外耳炎群と健常群の外耳道細菌叢の構成を種座標分析にて比較した結果、健常群と外耳炎群の外耳道細菌叢の構成は有意に異なる事が明らかとなった (図 2, permutational multivariate analysis of variance, $p = 0.001$)

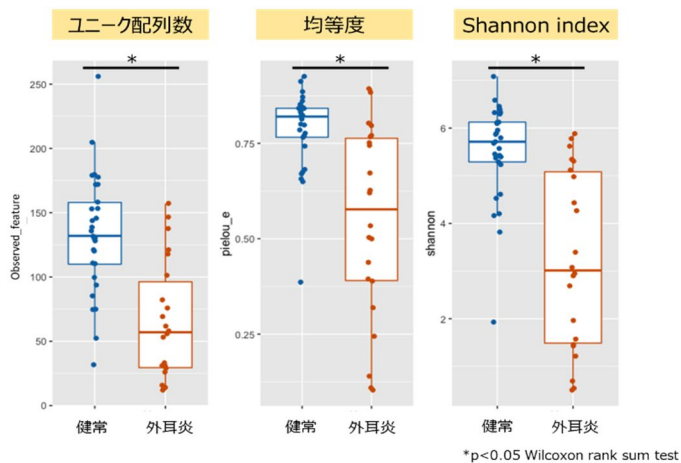


図 1. 外耳道細菌叢の 多様性解析

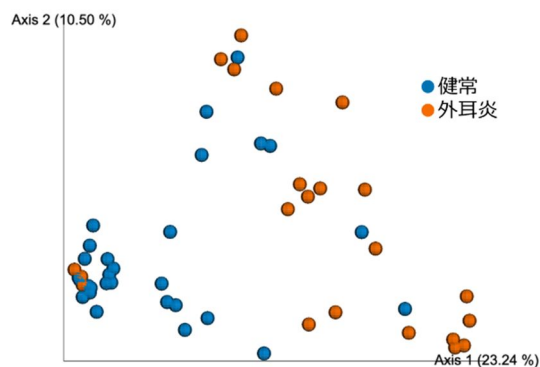


図 2. 外耳道細菌叢の主座標分析
(unweighted unifrac distance)

次に、外耳炎群と健常群の外耳道細菌叢で異なる細菌を明らかにするために、Taxonomy 解析、および、LEfSe を実施した。その結果、健常群では Firmicutes、Proteobacteria、および Bacteroidetes の 3 門が多くを占めていたが、外耳炎群では Actinobacteria の構成割合が高い検体が多かった (図 3)。また、LEfSe 解析により、外耳炎群に特徴的な細菌として Actinobacteria 門に属する *Corynebacterium* 属が検出された。

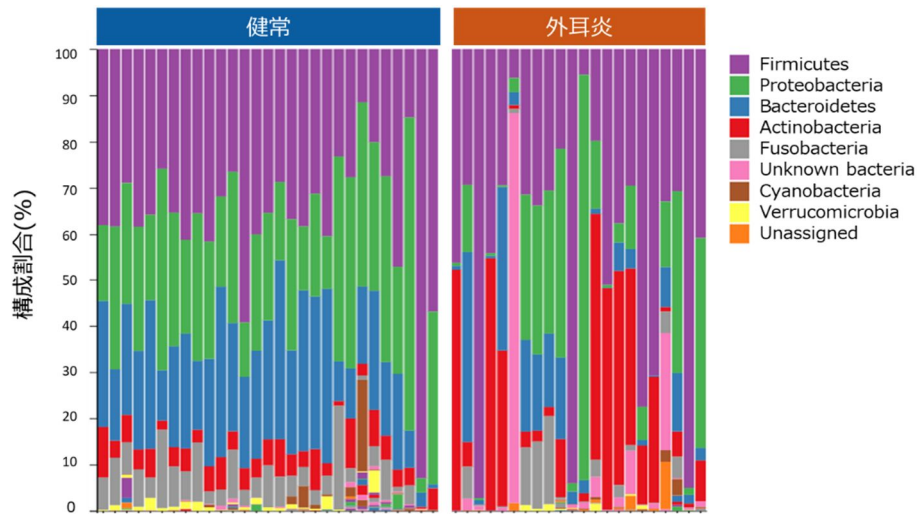


図 3 . 健常群と外耳炎群の外耳道細菌叢の構成

外耳炎群と健常群の外耳道細菌叢の機能を比較するため、Piphillin により細菌叢の機能予測を行った。これをさらに LEfSe により解析した結果、外耳炎群では健常群よりも脂肪酸産生、グリコサミノグリカン(ヒアルロン酸等)代謝、抗生物質産生等の機能が低下している事が明らかとなった。

次に、外耳炎発症と共に細菌叢が変化するのか、もしくは、外耳炎になりやすい細菌叢が存在するのかを調べるために、片側性外耳炎に罹患している個体の左右の外耳道細菌叢の比較を行った。その結果、片側性外耳炎の個体の左右の耳の細菌叢は両耳健常な個体よりも差が大きいこと、片側性外耳炎罹患個体の健常耳(非炎症部)の細菌叢は健常個体と異なる事が明らかとなった。

これらの結果から、外耳炎の素因がある外耳道細菌叢即ち、Dysbiosis を起こし、外耳炎を発症しやすい細菌叢が存在する可能性が考えられた。また、外耳炎群の外耳道の細菌叢の特徴として、多様性が低い、Corynebacterium 属菌の構成割合が高い、脂肪酸産、セラミド等の代謝が低い抗生物質産生能が低いという事が明らかとなった。本研究の成果は、今後、外耳道細菌叢をターゲットとした外耳炎の新規治療法・予防法の開発の一助となると考えられる

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 島 綾香
2. 発表標題 イヌの外耳炎と細菌叢
3. 学会等名 遺伝研研究会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 服部 正平	4. 発行年 2020年
2. 出版社 (株)エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 624
3. 書名 ヒトマイクロバイオーム Vol.2 ~ 解析技術の進展とデータ駆動型・ターゲット機能型研究最前線 ~	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------