

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号： 3 2 6 4 4
研究種目： 奨励研究
研究期間： 2020 ~ 2020
課題番号： 2 0 H 0 1 0 8 9
研究課題名 アトピー性皮膚炎モデルマウスを用いた紫外線照射による細菌叢変化のメタゲノム解析

研究代表者

北谷 佳那恵 (Kitatani, Kanae)

東海大学・伊勢原研究推進部・技術職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 390,000 円

研究成果の概要：動物の皮膚や口腔内、腸管などには細菌や原生物が叢を形成し、宿主と共存状態にある。近年、アトピー性皮膚炎患者の細菌叢は健常者の細菌叢と異なることが報告されており、疾患との関連が予想されているが、細菌叢を制御するメカニズムについて不明である。一方でアトピー性皮膚炎の治療に紫外線（UV）が使用されるが、治療効果の機序は明らかになっていない。本研究ではUVによる治療効果と細菌叢の関連について次世代シーケンスを用いて解析する。アトピー性皮膚炎モデルマウスを作成し、UV照射治療を行った。UV照射群にて非照射群と比較し、病態の寛解が認められた。上記マウスより得られたサンプルで現在解析を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アトピー性皮膚炎患者に正常皮膚の細菌叢を移植すると病態が寛解する報告があることから、細菌叢の制御はアトピー性皮膚炎の新たな治療戦略として期待できる。しかしながら、その制御機序について不明な点が多い。一方でアトピー性皮膚炎の治療法の一つにUV照射がある。UV照射による炎症系細胞の抑制による効果と示唆されているが詳細は明らかになっていない。本研究ではUV照射によって細菌種が選択的に淘汰され、正常皮膚の細菌叢に近づくのではないかとこの仮説の元、検討を行った。解析中であるが、本研究の結果はUV照射によるアトピー性皮膚炎の治療効果と細菌叢の関連を明らかにし、病態解明の一助となることが期待される。

研究分野： 酸化ストレス

キーワード： アトピー性皮膚炎 細菌叢 次世代シーケンス

1. 研究の目的

ヒトを含め動物には細菌や原生生物といった微生物が定着しており、皮膚や口腔、消化管、膈内など部位ごとに特徴的な微生物種の共同体である叢を形成している。近年、細菌叢が宿主の疾患や免疫応答に影響を及ぼしていることが報告されており、乾癬およびアトピー性皮膚炎患者の細菌叢は正常とは異なった特有の細菌種が認められていることから、皮膚の疾患に対する細菌叢の関連が示唆されている。また、健康者の細菌叢の一部を塗布することでアトピー性皮膚炎の症状が緩和する臨床試験結果が報告されていることから、細菌叢を制御する新たな治療法が注目されてきている。しかしながら皮膚の細菌叢を構成する細菌種や細菌構成を調整するメカニズムについて不明な点が多い。一方、アトピー性皮膚炎や乾癬の治療として紫外線照射による光線治療が有効であり、T細胞のアポトーシス誘導による炎症抑制効果であることが示唆されているが、そのメカニズムは詳細に解析されていない。紫外線は一重項酸素やスーパーオキシドなどの活性酸素種を発生させ、細胞に対して傷害的に働く。一方で、スーパーオキシドを還元するスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)の活性が高いブドウ球菌が報告されており、菌種ごとに酸化ストレスに対する抵抗性が異なると考えられる。本研究では、紫外線による細菌種の選択が行われることによって、正常皮膚の細菌叢に調整されるためではないかと考え、紫外線による細菌叢の変化について次世代シーケンサー(NGS)を用いたメタゲノム解析で明らかにするとともに、紫外線によって選択された皮膚の細菌叢がアトピー性皮膚炎の症状を緩和するか明らかにすることを目的とする。

2. 研究成果

NC/Nga マウスの腹部に 2,4,6-Trinitrochlorobenzene を塗布し、免疫を行った後に、耳介へ 2,4,6-Trinitrochlorobenzene を 1 週間に 1 回、2 か月間塗布し続け、アトピー性皮膚炎モデルマウスを作成した。耳介部位にアトピー性皮膚炎の発症を確認した(図1)。病態の発症確認後、紫外線照射機器(ナローバンド UVB 照射装置 NB001)を用いて 3 日ごとに約 10mW/cm²/30sec の紫外線を 1 か月間照射した。その後、耳介のスワブと組織の採取を行った。

UV を照射したアトピー性皮膚炎モデル群で UV 照射した群において未処置の群と比較し、病状の寛解が観察された(図2)。耳介スワブより 16SrRNA の V1-2 領域を PCR で増幅を行い、さらに Index 配列を付加するために 2nd PCR を行って NGS ライブラリーの調整を行った。解析については Windows PC に Docker を用いて Linux の仮想環境を構築し、Qiime2 による解析環境を立ち上げた。上記環境で現在進行中であるが、新型コロナウイルスの影響により 2,4,6-Trinitrochlorobenzene の材料輸入が困難に陥ったため、試薬入手が 2 か月ほど遅れた影響で解析についても遅れが生じている。本年度中に成果を学会等で報告する予定である。



図 1



図 2

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
----	--------