

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16031

研究課題名(和文) アトピー性皮膚炎由来黄色ブドウ球菌の標的抗原とその制御物質の探索

研究課題名(英文) Exploring potent inhibitor of *Staphylococcus aureus* derived from atopic dermatitis

研究代表者

岩本 和真 (Iwamoto, Kazumasa)

広島大学・病院(医)・助教

研究者番号：20457237

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)：アトピー性皮膚炎(AD)患者の皮膚には黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)が高率に定着しており、皮膚炎の増悪に関与している。これまで我々は、AD皮膚由来の*S. aureus*(AD株)が選択的にケラチノサイトに取り込まれ、標準*S. aureus*株とは異なる免疫応答を誘導することを報告してきた。このAD株の取り込みを阻害することでADの改善が期待でき、今回AD株の取り込み指標としたハイスループットスクリーニングの assay を構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト皮膚表面の細菌叢を構成する細菌・真菌と皮膚免疫の関連性は近年多くの研究が報告されており、我々は、AD患者で効率的に検出される*S. aureus*に注目し、AD株は特異的な免疫反応を誘導するのではないか?という作業仮説をたて、ランゲルハンス細胞を介した自然免疫および獲得免疫に違いが出ることを見出した。AD皮膚に定着している*S. aureus*のコントロールする点に注目した新規治療法の開発の着想を得て、今回*S. aureus*が最初に接触するケラチノサイトに注目し、自然免疫を軸とした免疫応答を中心にAD株の特徴を捉え、新たな治療戦略への道を拓くことを考えている。

研究成果の概要(英文)：Staphylococcus aureus (*S. aureus*) is frequently detected in patients with AD and decreased diversity of bacterial flora on the skin surface (dysbiosis) has come to be considered as an important pathogenic factor of AD. We previously demonstrated altered skin immune responses induced by AD skin-derived strains of *S. aureus* (AD strain) compared to those by standard strains of *S. aureus*. However, detailed mechanisms underlying *S. aureus* colonization have not been sufficiently elucidated.

AD strain, exploration of the innate immune responses involving keratinocytes showed that the AD strain was specifically internalized into lysosomes of the keratinocytes, indicating divergent morphological behavior.

Inhibiting the uptake of this AD strain into keratinocyte are expected to represent a therapeutic target in the development of future treatments for AD. We established the assay system for exploring potent compounds of blocking AD strain by using high-throughput imaging system.

研究分野：アトピー性皮膚炎

キーワード：黄色ブドウ球菌 ケラチノサイト

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎(AD)は、長期にわたり皮膚炎を繰り返す慢性疾患であり、根本的な治癒を目指す治療法の開発が求められている。AD患者では、皮膚から黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) が高率に検出されることが知られているが、なぜ *S. aureus* が AD 皮膚に定着し、なぜ皮膚炎が持続するのかについては解明されていない。我々は、これまでの研究 (科研費課題番号 15H06428) で、AD患者皮膚より単離した *S. aureus* (AD株) が標準株の *S. aureus* とは異なり、ADに特徴的な反応である Th2 型の皮膚獲得免疫を誘導することを見出した。本研究では、AD株に特異的な *S. aureus* の性質に注目し、皮膚表面における AD株の定着について自然免疫応答の解析ならびに、AD株の新規阻害物質の探索を試みた。

2. 研究の目的

本研究では、以下の2点を中心に検討を行った。

- ① *S. aureus* (AD株) の定着に関する形態学およびケラチノサイトの応答機序の解析
- ② AD株を排除する新規治療法の探索

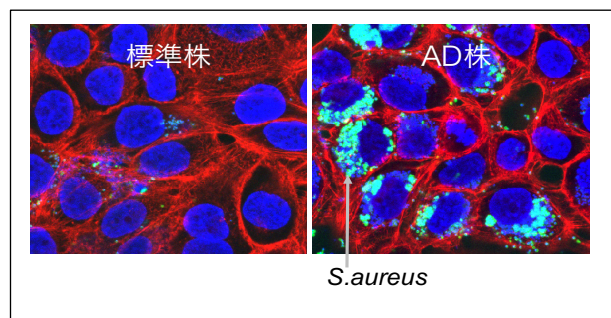
3. 研究の方法

1) *S. aureus* (AD株) の定着に関する形態学およびケラチノサイトの応答機序の解析
これまでの研究 (科研費課題番号 15H06428) で確立した数種類の *S. aureus* (標準株およびAD株) を用いて、ケラチノサイトの培養細胞である HaCaT 細胞を刺激した。KC を経時系列で回収し、免疫染色による形態学な解析を行った。

2) 定着する *S. aureus* (AD株) を排除する新規治療法の検討
HaCaT 細胞に化合物ライブラリー試薬 (計 1453 個) で処理し、その後 AD株で刺激した。AD株は *S. aureus*-FITC 抗体あるいはリソソーム染色 (Navigator™ Lysosome staining Kit) で、ケラチノサイトは CellMask-Orange stain、細胞核を DAPI で染色した。ハイスループットイメージングシステム (Opera Phenix™) を用いて、ケラチノサイト内への取り込み数を定量化した。

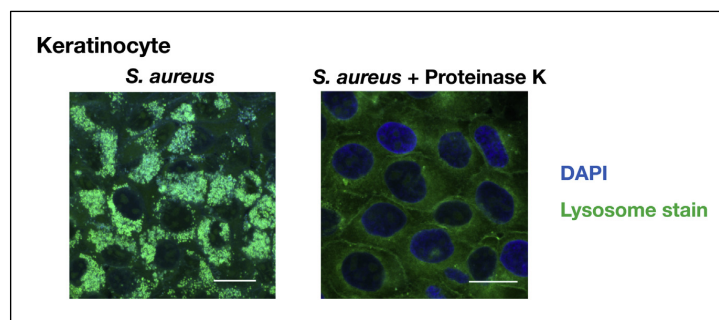
4. 研究成果

1) AD株のケラチノサイト内への取り込み
AD株は標準株と比べKCに高率に取り込まれ、リソソームに集積していた。この現象は標準株や健康人皮膚に多く見られる *S. epidermidis* には同様の現象は確認されず、AD株に特異的と考えられた。また、他の患者由来の多くのAD株で同様の反応が確認された。

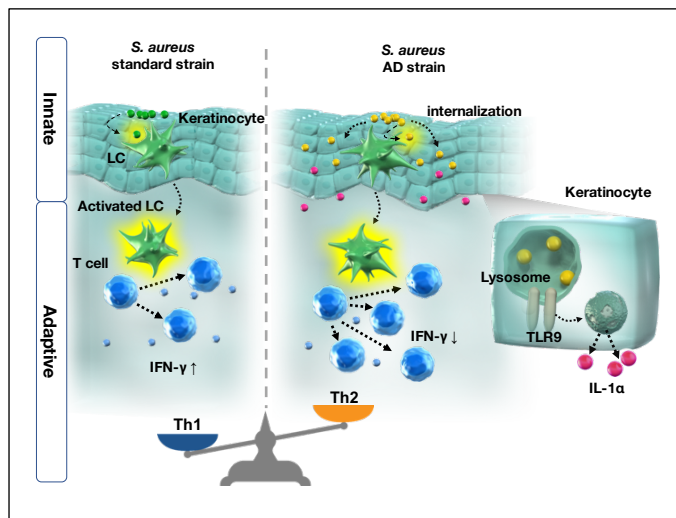


2) AD株の免疫応答の機序について

いくつかのAD皮膚由来の *S. aureus* (AD株) はケラチノサイトへ内包化されるが、このAD株の特異性は *S. aureus* の表層抗原を処理することで消失するため、*S. aureus* (AD株) 表面に標的抗原が存在し、その発現が責任遺伝子によって制御されることが明らかとなった。



3) ハイスループットスクリーニングシステムを用いた AD 株の定量的解析の検討
AD 株のケラチノサイト内への取り込みをハイスループットイメージングシステム (Opera PhenixTM) を用いて、ケラチノサイト内に取り込まれる *S. aureus* (AD 株) の定量化を行った。
現在、様々な新規治療法 (取り込み阻害薬) の存在下で、取り込み数を低下させる化合物を探索中である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Moriwaki Masaya, Iwamoto Kazumasa, Niitsu Yoshie, Matsushima Ayako, Yanase Yuhki, Hisatsune Junzo, Sugai Motoyuki, Hide Michihiro	4. 巻 74
2. 論文標題 Staphylococcus aureus from atopic dermatitis skin accumulates in the lysosomes of keratinocytes with induction of IL-1 secretion via TLR9	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 560-571
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/all.13622	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Iwamoto Kazumasa, Moriwaki Masaya, Miyake Ryu, Hide Michihiro	4. 巻 68
2. 論文標題 Staphylococcus aureus in atopic dermatitis: Strain-specific cell wall proteins and skin immunity.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 309-315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2019.02.006.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kazumasa Iwamoto, T. J. Nuemm, Susanne Koch, Nadine Herrmann, Nicole Leib, Thomas Bieber	4. 巻 73
2. 論文標題 Langerhans and inflammatory dendritic epidermal cells in atopic dermatitis are tolerized towards TLR2 activation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 2205-2213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/all.13460.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ryo Saito, Akio Tanaka, Takaaki Hiragun, Kazumasa Iwamoto, Shunsuke Takahagi, Masakazu Takahashi, Michihiro Hide	4. 巻 46
2. 論文標題 Reduction of serum thymus and activation-regulated chemokine after short-term intensive therapy may predict better prognosis of moderate to severe atopic dermatitis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of dermatology	6. 最初と最後の頁 e486-e487
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15036.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Moriwaki Masaya, Iwamoto Kazumasa, Niitsu Yoshie, Matsushima Ayako, Yanase Yuhki, Hisatsune Junzo, Sugai Motoyuki, Hide Michihiro
2. 発表標題 Staphylococcus aureus from atopic dermatitis skin accumulates in the lysosomes of keratinocytes with induction of IL-1 secretion via TLR9
3. 学会等名 第67回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩本 和真
2. 発表標題 アトピー性皮膚炎由来の黄色ブドウ球菌が惹起する皮膚免疫
3. 学会等名 第24回アトピー性皮膚炎治療研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松島 彩子、森脇 昌哉、岩本 和真、新津 佳恵、久恒 順三、菅井 基行、秀 道広
2. 発表標題 アトピー性皮膚炎患者由来の黄色ブドウ球菌と表皮角化細胞の形態学的解析
3. 学会等名 第117回日本皮膚科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三宅 瑠、岩本和真、菅井基行、秀 道広
2. 発表標題 細胞イメージングシステムを用いたアトピー性皮膚炎由来S. aureusの形態学的解析.
3. 学会等名 第68回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miyake Ryu, Iwamoto Kazumasa, Sugai Motoyuki, Hide Mide
2. 発表標題 Morphological analysis of Staphylococcus aureus derived from atopic dermatitis using a cell imaging system
3. 学会等名 49th Annual ESDR Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ホームページ等：<http://dermatology.hiroshima-u.ac.jp/scholar/study/>

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