

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：32659

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15303

研究課題名（和文）ニキビ患者と健康成人における高病原性アクネ菌の定着機構の解析

研究課題名（英文）Study of colonization mechanism of high pathogenic Cutibacterium acnes in patients with acne and healthy individuals

研究代表者

中瀬 恵亮（Nakase, Keisuke）

東京薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：40641741

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：健康成人において、ニキビ患者から高頻度に分離されるF型株が有意に増加していた。遺伝子型ごとに皮膚に存在する生体因子に対する感受性を評価した結果、脂肪酸に対して異なる感受性を示した。さらに、人工皮脂存在下においてF型株はバイオフィルムを高度に形成した。したがって、アクネ菌は遺伝子型により皮脂構成物に対する感受性が異なることが示され、生存のためにバイオフィルム形成を行っている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アクネ菌は皮膚の恒常性を維持する常在菌として重要である。一方で、ニキビの増悪に関連する菌株が存在する。本研究結果は、ニキビ増悪に関連する菌株を明らかにするものである。増悪株のみを標的とした治療法を開発することで、現在問題となっている薬剤耐性菌の流行やよりアクネ菌株に選択性の高いニキビ治療が皮膚の健康維持に重要であることを示唆した。

研究成果の概要（英文）：The isolation rate of Cutibacterium acnes clade F strains, which are frequently isolated from patients with acne, significantly increased in healthy individuals. When the susceptibility of biological factors against C. acnes belonging to each phylogenetic type was evaluated, these strains showed different susceptibility to fatty acids. Furthermore, clade F strains highly produced biofilm in the presence of artificial sebum. Therefore, our data showed that C. acnes has different susceptibility to sebum by each phylogenetic type, suggesting the possibility of biofilm formation for survival.

研究分野：微生物学

キーワード：ニキビ アクネ菌 遺伝子型 皮脂 バイオフィルム

## 1. 研究開始当初の背景

ざ瘡(ニキビ)の増悪にはアクネ菌が関連しており、除菌を目的に抗菌薬が使用されている。その使用に伴い、薬剤耐性菌が出現しており、近年、日本では薬剤耐性菌の著しい増加が認められている。その原因として、抗菌薬の使用が挙げられるが、最近では抗菌薬を使用していない患者でも薬剤耐性菌の分離が増加している。また、アクネ菌は菌株により、ニキビの増悪への寄与が異なると考えられているが、明らかにすることはできていない。申請者も薬剤耐性の研究に加え、アクネ菌を遺伝学的に分類することにより、増悪に関連する菌株の特定を目指している。アクネ菌の遺伝学解析を行ったところ、2013-2015年の調査で日本の重症および中等症のニキビ患者ではF型株が特異的に高頻度に認められ、他の菌株に比べて、薬剤耐性菌が多かった。一方で、健康成人の皮膚からはA型株の分離頻度が高く(60-80%)、欧米のニキビ患者ではC型株の分離頻度が高かった。また、2010年の調査ではニキビ患者におけるF型株の割合は健康成人と同等であった。したがって、F型株の流行はニキビの発症・重症化および薬剤耐性菌の増加が助長している可能性があり、患者のQOLを大きく低下させる恐れがある。

## 2. 研究の目的

申請者が2014年に健康成人の皮膚、2010年のニキビ患者膿疱のアクネ菌を調査した際、F型株はほとんど認められなかった。一方で、2013-2015年のニキビ患者に関する調査で、F型株が増加しており、さらにF型株の多くは薬剤耐性を保有していた。さらに、継続して行われたニキビ患者の調査においても、F型株は高頻度に分離され、薬剤耐性を保有する割合も高かった。以上より、市中で薬剤耐性を保有するF型株が広まっている可能性が示唆された。現在、世界規模での薬剤耐性(AMR)対策が行われており、薬剤耐性菌の管理は急務である。本申請では、アクネ菌における薬剤耐性の増加要因を明らかにするため、現在の健康成人におけるアクネ菌の薬剤耐性状況および遺伝子型を調査した。加えて、F型株がニキビ患者で増加している理由を基礎研究から研究した。

## 3. 研究の方法

### 健康成人の皮膚におけるアクネ菌の変化

本学学生ボランティアを集い、皮膚表面から皮膚細菌を採取する。本研究は、本学の倫理審査委員会で承認済みであり、採取および検体からの細菌の分離は2019年に行われた。本申請では、アクネ菌を同定し、薬剤耐性および遺伝子型の解析を行い、統計学的に解析することでアクネ菌の変化に明らかにした。

### F型株増加要因の解析

皮膚には様々なアクネ菌株が存在しており、その中でA型株が多数を占めていることがほとんどであった。そのため、F型株の増加には何らかの環境因子が関連しており、アクネ菌の菌叢変化が生じていると推測される。ニキビ環境を想定し、アクネ菌株に対する皮脂構成物および表皮細胞が産生する抗菌ペプチドへの感受性を研究した。菌株は、健康成人およびニキビ患者から分離された菌株を用いた。

## 4. 研究成果

### 健康成人の皮膚におけるアクネ菌の変化

一般的に、菌株が変化する要因として環境の変化、特に抗微生物薬の使用が挙げられる。しかし、アクネ菌においては抗菌薬使用歴のないニキビ患者でもF型株が多く分離される。したがって、F型株を保菌する健康成人が増加している可能性が推測される。そこで、健康成人の皮膚検体を採取し、アクネ菌の薬剤耐性および遺伝子型の解析を行った。

はじめに、本学学生ボランティアを集い、皮膚表面から皮膚細菌を採取し、アクネ菌を含む種々の皮膚細菌の分離および同定を行った。薬剤耐性を評価した結果、マクロライド系薬およびクリンダマイシンに対する耐性株は10%未満であり、同時期に分離されたニキビ患者由来株と比較して有意に少なかった。また、2014年に分離された健康成人由来株と比較して、わずかに増加したが、有意な違いは認められなかった。

遺伝子型の解析を行った結果、これまでも健康成人で半数以上を占めていたA型株が最も多く認められた。一方で、F型株は2014年に比べ約4倍の25.0%と有意に増加した(図1)。F型株は、ニキビ患者においては30-40%とさらに高い割合を占めるが、健康成人においては著しい増加が認められた。以上より、健康成人の皮膚に定着するアクネ菌株が変化していることを明らかにした。これまで、健康成人の皮膚における分離株のほとんどは日本および諸外国でもA型株であった。F型株は眼疾患や日本におけるニキビ患者から特徴的に高頻度に分離されていた。F型株の健康成人における増加が疾患の発症や増悪に与える影響を精査していく必要がある。

### F型株増加要因の解析

これまでの研究で、健康成人の皮膚に特定のアクネ菌株(F型株)が高頻度で定着していることが示された。したがって、アクネ菌は菌株により皮膚への定着能が異なることが推測された。

そこで、種々の遺伝子型のアクネ菌株に対する皮脂構成物および表皮細胞が産生する抗菌ペプチドの感受性を評価した。その結果、抗菌ペプチドである各種 defensin および LL-37 に対する感受性に違いは認められなかった。一方、皮脂構成物のうち、どの菌株もスクアレンや

ワックスエステルには感受性を示さなかったが、パルミトリン酸やリノレン酸等の脂肪酸には高い感受性を示した。さらに、わずかではあるが菌株ごとに異なる感受性を示した(図2)。さらに、人工皮脂存在下におけるF型株のバイオフィーム形成能を評価した結果、人工皮脂の濃度依存的にバイオフィーム形成量が増加した。したがって、アクネ菌は遺伝子型により皮脂構成物に対する感受性が異なることが示され、生存のためにバイオフィーム形成を行っている可能性が示唆された。

図1. 健康成人の皮膚から分離されるアクネ菌の遺伝子型分布

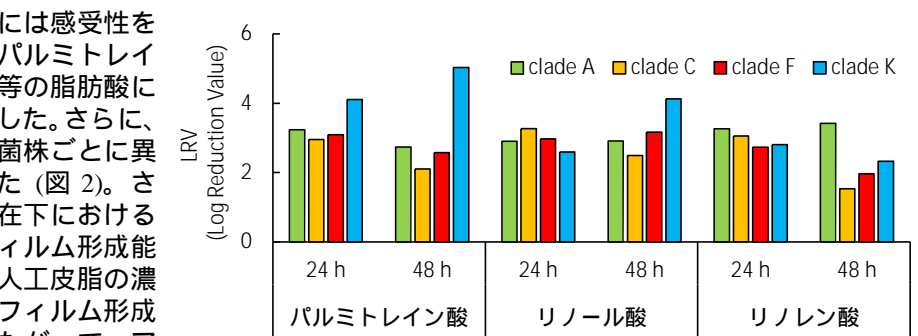


図2. アクネ菌遺伝子型ごとの脂肪酸に対する感受性

ことが示され、生存のためにバイオフィーム形成を行っている可能性が示唆された。

【引用文献】

1. K Nakase et al. Relationship between the severity of acne vulgaris and antimicrobial resistance of bacteria isolated from acne lesions in a hospital in Japan. J Med Microbiol, 63, 721-728 (2014)
2. K Nakase et al. Antimicrobial susceptibility and phylogenetic analysis of *Propionibacterium acnes* isolated from acne patients in Japan between 2013 and 2015, J Dermatol. 44(11):1248-1254 (2017)
3. K Nakase et al. Characterization of acne patients carrying clindamycin-resistant *Cutibacterium acnes*: A Japanese multicenter study. J Dermatol, 47(8) 863-869 (2020)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Aoki Sae, Nakase Keisuke, Hayashi Nobukazu, Nakaminami Hidemasa, Noguchi Norihisa	4. 巻 48
2. 論文標題 Increased prevalence of doxycycline low susceptible <i>Cutibacterium acnes</i> isolated from acne patients in Japan caused by antimicrobial use and diversification of tetracycline resistance factors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 1365 ~ 1371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15940	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 Nakase Keisuke, Koizumi Juri, Midorikawa Ren, Yamasaki Kento, Tsutsui Miho, Aoki Sae, Nasu Yutaka, Hirai Yuji, Nakaminami Hidemasa, Noguchi Norihisa	4. 巻 311
2. 論文標題 <i>Cutibacterium acnes</i> phylogenetic type IC and II isolated from patients with non-acne diseases exhibit high-level biofilm formation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Medical Microbiology	6. 最初と最後の頁 151538 ~ 151538
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijmm.2021.151538	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 Koizumi Juri, Nakase Keisuke, Hayashi Nobukazu, Nasu Yutaka, Hirai Yuji, Nakaminami Hidemasa	4. 巻 28
2. 論文標題 Multidrug-resistant <i>Cutibacterium avidum</i> isolated from patients with acne vulgaris and other infections	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Global Antimicrobial Resistance	6. 最初と最後の頁 151 ~ 157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jgar.2021.12.021	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 Koizumi Juri, Nakase Keisuke, Nakaminami Hidemasa	4. 巻 11
2. 論文標題 Identification of a Transferable Linear Plasmid Carrying the Macrolide-Clindamycin Resistance Gene <i>erm</i> (X) in a <i>Cutibacterium acnes</i> Isolate from a Patient with Acne Vulgaris in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/mra.00094-22	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 Nakase Keisuke, Koizumi Juri, Fukumoto Sana, Hayashi Nobukazu, Noguchi Norihisa, Nakaminami Hidemasa	4. 巻 28
2. 論文標題 Increased Prevalence of Minocycline-Resistant <i>Staphylococcus epidermidis</i> with <i>tet</i> (M) by Tetracycline Use for Acne Treatment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbial Drug Resistance	6. 最初と最後の頁 861 ~ 866
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/mdr.2021.0319	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 Koizumi Juri, Nakase Keisuke, Hayashi Nobukazu, Nasu Yutaka, Hirai Yuji, Nakaminami Hidemasa	4. 巻 29
2. 論文標題 Prevalence of antimicrobial-resistant Cutibacterium isolates and development of multiplex PCR method for Cutibacterium species identification	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 198 ~ 204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2022.10.018	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 Koizumi Juri, Nakase Keisuke, Hayashi Nobukazu, Takeo Chikage, Nakaminami Hidemasa	4. 巻 11
2. 論文標題 Multidrug resistance plasmid pTZC1 could be pooled among <i>Cutibacterium</i> strains on the skin surface	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbiology Spectrum	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/spectrum.03628-22	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 Koyanagi Sahya, Koizumi Juri, Nakase Keisuke, Hayashi Nobukazu, Horiuchi Yuki, Watanabe Kaoru, Asai Toshiya, Yamazaki Akiko, Nakazaki Emi, Nakaminami Hidemasa	4. 巻 50
2. 論文標題 Increased frequency of clindamycin resistant <i>Cutibacterium acnes</i> strains isolated from Japanese patients with acne vulgaris caused by the prevalence of exogenous resistance genes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 793 ~ 799
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.16757	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 Koizumi Juri, Nakase Keisuke, Nakaminami Hidemasa	4. 巻 -
2. 論文標題 Emergence of <i>Cutibacterium avidum</i> with <i>erm</i> (X) on a mobile genetic element identical to that of <i>Cutibacterium acnes</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/mra.00178-23	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 -

[学会発表] 計11件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小泉 珠理、中瀬 恵亮、中南 秀将
2. 発表標題 感染症起因菌としての <i>Cutibacterium avidum</i> の分子疫学的調査
3. 学会等名 21st Pharmaco-Hematologyシンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中瀬 恵亮、青木 沙恵、林 伸和、野口 雅久、中南 秀将
2. 発表標題 抗菌薬使用および耐性因子の多様化によるざ瘡患者由来ドキシサイクリン低感受性アクネ菌の増加
3. 学会等名 第120回 日本皮膚科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小泉 珠理、中瀬 恵亮、林 伸和、平井 由児、中南 秀将
2. 発表標題 皮膚常在菌 <i>Cutibacterium</i> 属菌の分子疫学的特徴と薬剤耐性化メカニズムの解析
3. 学会等名 第33回 微生物シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星谷 麻由、小泉 珠理、中瀬 恵亮、中南 秀将
2. 発表標題 健康成人における皮膚常在菌の薬剤耐性の変化
3. 学会等名 第65回 日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小泉 珠理、中瀬 恵亮、中南 秀将
2. 発表標題 皮膚常在菌Cutibacterium属菌の分子疫学的調査
3. 学会等名 第65回 日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中瀬 恵亮、青木 沙恵、尾崎 天社、林 伸和、中南 秀将
2. 発表標題 ざ瘡由来Cutibacterium acnesの薬剤耐性と増悪関連因子の解析
3. 学会等名 第104回 日本細菌学会関東支部総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小泉 珠理、中瀬 恵亮、林 伸和、平井 由児、中南 秀将
2. 発表標題 臨床分離Cutibacterium avidumの薬剤耐性と分子疫学的解析
3. 学会等名 第68回 日本化学療法学会東日本支部総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小柳 紗彩、小泉 珠理、中瀬 恵亮、林 伸和、中南 秀将
2. 発表標題 病院外来および皮膚科クリニックを受診したざ瘡患者由来アクネ菌の薬剤耐性
3. 学会等名 日本薬学会 第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 正木 匠、中瀬 恵亮、中南 秀将
2. 発表標題 ざ瘡治療における薬剤耐性アクネ菌の出現に関する解析
3. 学会等名 日本薬学会 第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川崎 遥香、小泉 珠理、中瀬 恵亮、平井 由児、中南 秀将
2. 発表標題 日和見病原体として分離されたアクネ菌の分子疫学的調査
3. 学会等名 日本薬学会 第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小泉 珠理、中瀬 恵亮、林 伸和、中南 秀将
2. 発表標題 ざ瘡患者におけるCutibacterium属菌の薬剤耐性と多剤耐性プラスミドの伝播
3. 学会等名 日本薬学会 第142年会
4. 発表年 2022年



〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------