

# 学位論文の要旨

三 重 大 学

所 属	三重大学大学院医学系研究科 甲 生命医科学専攻 臨床医学系講座 皮膚科学分野	氏 名	おかだ かりん 岡田 佳倫
-----	--	-----	------------------

## 主論文の題名

The Role of Gut Microbiome in Psoriasis:

Oral Administration of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus danieliae*

Exacerbates Skin Inflammation of Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Dermatitis

## 主論文の要旨

目的：乾癬は皮膚の慢性炎症から起こす一般的な皮膚疾患であり、皮膚由来の炎症性サイトカインが起因して、全身性の炎症を起こし指趾炎、付着部炎や体軸関節炎などの皮膚外症状を引き起こすことが知られている。近年の 16S rRNA (16S ribosomal ribonucleic acid) 遺伝子をターゲットとした細菌叢の解析が進むことにより乾癬の腸内細菌叢の報告もあるものの、どの菌が優位かについて矛盾することがあり、いまだ特定の菌が皮膚炎を悪化するかについては不明であった。皮膚慢性炎症モデルマウスである keratinocyte-specific caspase-1 transgenic mouse (Kcasp1Tg) の便の腸内細菌を野生型マウスと比較したところ *Staphylococcus aureus* (SA) と *Streptococcus danieliae* (SD) の 2 菌種の増加がみられた。Kcasp1Tg と野生型で有意差のなかった細菌種である *Bacteroides uniformis* (BU) と *Clostridium scindens* (CS) をコントロールとし、これら 4 菌種を抗生剤の前投与された野生型マウスに経口投与し、イミキモド誘発性乾癬様皮膚炎を起こすことで、腸内細菌と皮膚炎の相関がみられるか研究し、乾癬における腸内細菌の働きを明らかにすることを目的とした。

方法：7 週齢で購入した野生型 SPF (Specific pathogen free) マウスを 8 週齢まで、病原生物の存在しない動物実験施設で飼育した。その後 10 日間連続してアンピシリン、ネオマイシン硫酸塩、バンコマイシン、メトロニダゾールの抗生剤の 4 剤が溶解された飲用水を与えた。続いて 5 日間連続して SA、SD、BU、CS それぞれの菌を経口投与した。次の 5 日間連続して右耳と背中にイミキモドを塗布した。イミキモド塗布開始より 72 時間後、120 時間後に背部直径 5mm の皮膚を採取し病理標本作成と mRNA (messenger ribonucleic acid) 抽出を行い、炎症性サイトカインの測定を RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) を用いて行った。統計的解析は、2 群間は Mann-Whitney test、3 群間以上は Kruskal-Wallis test を用い、 $p$

値<0.05を有意差ありとした。

結果：SAとSD投与マウス群ではBU、CS投与マウス群と比較して120時間後に耳の厚さの有意な肥厚がみられ、背部の皮膚の紅斑や落屑、浸潤もより強くあらわれた。またヘマトキシリンとエオジン染色された病理組織もSA、SD群で過角化、表皮肥厚、海面状態、微小膿瘍、炎症細胞浸潤などがより強く表れていた。RT-PCRの72時間後と120時間後の結果、SA、SD群ではTNF- $\alpha$ (Tumour necrosis factor  $\alpha$ )、IL-17A(Interleukin 17A)、IL-17F(Interleukin 17F)、IL-22(Interleukin 22)の遺伝子発現がBU、CS群と比較し有意に上昇していた。

考察：乾癬と腸内細菌を研究した過去の報告では乾癬患者の腸内細菌叢のディスビオーシスが指摘されているが、共通して特定の菌種が増殖しているという報告はなく、このディスビオーシスが皮膚炎の結果として起きているのみであるのか、それとも皮膚炎の悪化の発生機序となっているのかは不明であった。慢性皮膚炎疾患と腸内細菌の関係を明らかにするため皮膚慢性炎症モデルマウスの腸内細菌を解析したところ、*Staphylococcus aureus* (SA)と*Streptococcus danieliae*(SD)の種がそれぞれ属レベルの90%以上を占め、かつ野生型と比較し有意に増えているのが判明した。*Staphylococcus*属と*Streptococcus*属の他に属レベルで差異のあった*Odoribacter*属と*Prevotella*属では種レベルでの有意差のある菌はいなかった。より下層のレベルまで分析することで今回皮膚炎と腸内細菌の関係のある菌が同定できたと考える。乾癬の患者の皮膚ではIL-17A、IL-17F、IL-22タンパクが増加しており、特にIL-17サイトカインは好中球を活性化させ皮疹を悪化させることが知られている。乾癬マウスモデルの実験でIL-22サイトカインを抗体で中和することで乾癬様皮膚炎の抑制が報告されている。今回の病理像でもSA、SDマウスでは好中球を含む表皮への多数の炎症細胞浸潤と微小膿瘍がみられており、皮膚中のサイトカインとして増えているIL-17、IL-22が原因と考えられた。また、腸管免疫の中心となるリンパ球として $\gamma\delta$ -T細胞とTh17細胞が知られているがこれはIL-17、IL-22を産生することが知られており、腸内細菌と関連してこれらリンパ球の数が変わることもわかっている。投与された、SA、SDが腸管で免疫細胞、例えばTh17細胞を活性化し、IL-17、IL-22を増やすことで乾癬様の皮疹を悪化させたと我々は考えた。

結論：慢性皮膚炎症が起きている腸内に存在する特定の細菌は皮膚炎を悪化させる要因となることがわかった。今後の研究がすすみ腸内細菌と皮膚炎疾患の関係が明らかになれば乾癬の治療として皮膚を治療するのみならず、腸を治療する方法が重要となる可能性が示唆される。