

第 8 号様式

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)	氏名	小島 太郎
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目			
皮膚バリア機能障害モデルマウスを用いたアトピー性皮膚炎由来黄色ブドウ球菌の病原性解析			
論文審査担当者			
主 査	教 授	加 藤 功 一	印
審査委員	教 授	兼 松 隆	
審査委員	教 授	杉 田 誠	
〔論文審査の要旨〕			
<p>黄色ブドウ球菌はヒトの鼻腔や皮膚などの常在菌であり、皮膚疾患や全身疾患を引き起こす。アトピー性皮膚炎(AD)患者において本菌が健常人と比較して高頻度に検出され、AD 皮疹の増悪化に関与していることはよく知られているが、本菌感染と AD 増悪化の詳細な機序については不明なままである。</p> <p>黄色ブドウ球菌感染における AD 由来株の特徴を調べるために皮膚バリア機能障害モデル(フィラグリン遺伝子破壊: FLG-KO)マウスを用いて解析を行った。AD 皮膚表面への黄色ブドウ球菌の付着能を解析するために、当教室で保有する疾患別黄色ブドウ球菌株ライブラリーに含まれる AD 由来株を用いて、マウス皮膚付着能実験を行い、他の疾患由来株(non-AD 由来株)の付着能と比較した。その結果、AD 由来株と non-AD 由来株との付着能に大きな違いは認められなかった。一方、感染させて付着した菌が、皮膚上で定着して増殖する能力を菌の固着能として評価した。non-AD 由来株では野生型マウスと FLG-KO マウスとの固着菌数に有意な差はなかったのに対して、AD 由来株では野生型マウスよりも FLG-KO マウスの方が固着菌数の有意な増大が認められた。</p> <p>次に、成獣マウスにおける長期間での感染実験を FLG-KO/HR-1 ヘアレスマウスを用いて行った。AD 患者の皮膚は角質層が脆弱であり、掻痒行動が多いので、角質層が剥がれやすい。粘着テープによる角質剥離法を用いて角質が除去された皮膚を再現し、病変部位への AD 由来株と non-AD 由来株による感染実験を行った。皮膚の創傷治癒により 7 日後</p>			

には各疾患由来株で病変部位は治癒していくが、肉眼所見において AD 由来株は明らかに FLG-KO マウスの病変部位の治癒が遅く、また、病理組織像よりリンパ球の浸潤や上皮の肥厚化が認められた。non-AD 由来株も未処理と比較すると炎症が残存していたが、程度は低く AD 由来株と non-AD 由来株の病変部サイズで有意な差があった。

重度 AD 患者の皮膚は過度の掻痒行動により、角質層だけでなく表皮全体が障害される。サンドペーパーを用いて表皮を傷害した状態で同様の実験を行うと、肉眼的所見では AD 由来株と non-AD 由来株では有意な違いは認められなかった。しかし、病理組織像では、FLG-KO マウスにおいて AD 由来株感染では non-AD 由来株より明らかなリンパ球の浸潤がみられ、炎症の持続が示唆された。

本学位請求者の所属する教室では、全国の医療機関から収集した様々な疾患より分離した黄色ブドウ球菌を選抜した 198 株に、Gene Bank に登録している 4 株を加えた計 202 株をもとに、CGH (comparative genomic hybridization) 比較ゲノム解析を行っている。その結果、黄色ブドウ球菌は単一クローンが様々な疾患を引き起こすのではなく、疾患別に特有のクローンを保有することを明らかにしてきた。AD 由来株のクラスターは系統図の中で 1 つに集まらず点在しており、複数のクラスターを形成した。MLST (multi locus sequence typing) は、様々な菌種で行われている分類法の 1 つであるが、この MLST 解析から、AD 由来株は impetigo 由来株や SSSS 由来株といった皮膚疾患株とは違う型であることがわかり、AD 由来株は多様なクローンから成り立っている。

これまでに、AD 由来株の遺伝子改変は SSSS 由来株や impetigo 由来株、sepsis 由来株と異なり、非常に困難であり、外来性にプラスミドを挿入することが経験的に困難を極めていた。そこで、ゲノム解析から AD 由来株の特徴を明らかにするために、202 株のうち GeneBank に登録済みの 4 株と当教室が配列決定した 6 株に加え、AD 由来株と他の疾患由来株(non-AD 由来株)の計 21 株を選抜し、ドラフトゲノム配列を取得して比較ゲノム解析からアプローチを試みた。

ゲノム配列決定を行った 21 株の病原因子関連遺伝子の保有状況を調べると、non-AD 由来株は病原遺伝子を多数保有するのに対して、AD 由来株は外来性病原因子をほとんど保有しないという特徴を有していた。

AD 由来株の遺伝子を non-AD 由来株の遺伝子や既知配列と比較した結果、AD 由来株に特有な遺伝子が複数明らかにされた。特徴的なものとしてプロテアーゼと相同性が高い遺伝子、enterotoxin と相同性の高い遺伝子、新規のセリンプロテアーゼ遺伝子、新規の制限修飾系遺伝子などであった。

以上の結果から、本論文は AD 由来黄色ブドウ球菌の皮膚バリア機能障害に随伴した病態発現機構を解明するとともに、比較ゲノム解析から AD 由来株の特徴を明らかにした。よって審査委員会委員全員は、本論文が著書に博士(歯学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。