

論文内容要旨

Interferon-gamma and barrier function of keratinocytes
mediate internalization of *Staphylococcus aureus*
derived from atopic dermatitis

(アトピー性皮膚炎由来黄色ブドウ球菌の取り込みはインターフェロン γ と角化細胞バリア機能により制御されている)

主指導教員：酒井 規雄 教授

(医系科学研究科 神経薬理学)

副指導教員：秀 道広 教授

(広島大学病院 皮膚科学)

副指導教員：田中 茂 講師

(医系科学研究科 神経薬理学)

三宅 瑠

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

アトピー性皮膚炎（AD）患者では、表皮の細菌叢が破綻し、皮膚から黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）が高率に検出されることから、*S. aureus* が病態に深く関わっていると考えられている。我々はこれまで、AD 患者皮膚から分離された *S. aureus*（AD 株）はケラチノサイト内に取り込まれること、また、末梢血から分化誘導した樹状細胞とランゲルハンス細胞の反応性を Th2 にシフトさせることを報告してきた。近年、AD の生物学的製剤として IL-4/IL-13 阻害薬であるデュピクセントが普及し、良好な治療成績を示しているが、AD 株がどのようにしてケラチノサイトに取り込まれ、また皮膚免疫環境がどのようにその現象を調整するのかは解明されていない。そこで本研究では、Opera Phenix™を用いてケラチノサイト（HaCaT 細胞）への AD 株と健康人由来 *S. aureus* 株（標準株）の細胞内取り込み量を定量し、Th1/Th2 サイトカイン処置環境下やバリア機能障害下での取り込み量の変化を解析した。

AD 株では取り込み量が経時的に増加し、3 時間でプラトーに達した。一方、標準株では AD 株と比べて取り込み量が有意に少なかった。次に、サイトカインによる *S. aureus* の取り込み量への影響を Th1 サイトカイン（IFN- γ ）および Th2 サイトカイン（IL-4,IL-13）を用いて確認した。その結果、*S. aureus* AD 株において IFN- γ 刺激で取り込み量が PBS 刺激と比べ有意に低下していた。また、IFN- γ 刺激により *S. aureus* がケラチノサイトと結合するのに必要なフィブロネクチンの産生も低下していた。このことから、IFN- γ が、AD 株取り込みを抑制する機序の一部として、IFN- γ がフィブロネクチンの産生量を減少させることが関与していると推察された。一方、Th2 サイトカインの IL-4,IL-13 刺激では、*S. aureus* AD 株の取り込み量やフィブロネクチンの産生に影響を与えなかった。Th2 サイトカイン刺激で AD 株の取り込みが増加しなかった理由として、Th2 サイトカインはケラチノサイトに対してフィブロネクチン産生を促進しない可能性があると考えられた。また、ケラチノサイトのフィブロネクチン産生促進にはファイブロボラストなどの他の細胞の介在が必要であるのかもしれない。今後、初代培養ケラチノサイト、線維芽細胞との共培養系などを用いてより生体に近い環境下で検討する必要があると考えられた。

次に、AD 患者ではフィラグリンの産生が一部の AD 患者で低下していることから、フィラグリンの産生を特異的 siRNA を用いて低下させ、*S. aureus* の取り込みに対する影響を検討した。その結果、AD 株では取り込み量が有意に増加し、一方、標準株では有意な差は得られなかった。フィラグリン産生が低下している状況下で、Th1 サイトカインおよび Th2 サイトカインの AD 株の取り込み量を検討したが、正常状態と同様に IFN- γ は、取り込み量を有意に抑制したが、IL-4,IL-13 は影響を示さなかった。Filaggrin を阻害すると *S. aureus* 取り込み量が増えた理由として、保湿因子として働き、*S. aureus* の定着を阻害することが知られている Filaggrin の分解産物のウロカニン酸やピロリドンカルボン酸の量が低下することが一因になると推測された。

本研究を通じて、OperaPhenix を用いて *S. aureus* 取り込みを形態学的かつ定量的に解析することにより、サイトカインやバリア機能が *S. aureus* の取り込みに重要であることが明らかとなった。今後、この実験系を用いて *S. aureus* のケラチノサイトへの結合を阻害する化合物のスクリーニングを進めたい。

クリーニングを行うことにより、*S. aureus*によるAD増悪機序を抑制させる新たな治療薬の開発につながる可能性がある。