

学 位 論 文 要 旨

氏 名 黒木 香奈

論 文 名 掌蹠膿疱症の「無菌性膿疱」におけるマイクロバイオームの解析

学位論文要旨

掌蹠膿疱症は手掌、足底に多発する膿疱を主徴とする慢性皮膚疾患で、性別、喫煙、病巣感染、金属アレルギーなど様々な悪化因子が報告されており、IL-8やIL-17などのサイトカインとの関連についても報告されているものの、いまだその病態は不明である。掌蹠膿疱症は水疱、膿疱、紅斑、苔癬化などの特徴的な皮疹を認める。掌蹠膿疱症は、その形成過程により、水疱期、水疱内膿疱期、膿疱期の3つのフェーズに分けられる。掌蹠膿疱症で生ずる膿疱は細菌培養検査陰性であり、「無菌性膿疱」と言われている。しかし、この場合の「無菌」とは感染によらない膿疱であるということであり、細菌培養検査で検出できるような生きて細菌、培養で増える細菌が存在しないとは言えるが、培養出来ない細菌、死菌が膿疱内に含まれている可能性は残る。しかし、細菌培養検査では全ての細菌を培養することは出来ないため、この点についてはこれまで詳細に検討されてこなかった。そこで我々は、掌蹠膿疱症の「無菌性膿疱」は実際には無菌ではなく、培養検査で検出出来ない細菌が存在するのではないかとこの仮説をたて、近年次世代型シーケンサーの開発に伴い盛んに行われるようになった、16S rRNA シーケンス法を用いて、細菌叢解析を行うに至った。16S rRNA シーケンス法の開発により、細菌叢を網羅的に解析することが出来るようになったことで、皮膚領域においては、皮膚表面だけではなく毛包や脂腺の細菌叢解析が行われ、さらには、これまで無菌と考えられてきた真皮内にも細菌が存在するということが報告されている。この技術を用いて我々は掌蹠膿疱症の早期病変である水疱内膿疱の内容液より、サンガーシーケンス法と16S ribosomal RNA シーケンス法による細菌叢解析を行った。同時に、手掌・足底に水疱の多発を生じる異汗性湿疹についても水疱内容液の細菌叢解析を行った。陰性コントロールとして、掌蹠膿疱症の水疱内膿疱

氏名 黒木 香奈

および異汗性湿疹の水疱の皮膚表面をアルコール綿で消毒した後に PBS を滴下し、これを回収したものを解析した。掌蹠膿疱症 43 例と異汗性湿疹 15 例について解析し、サンガーシーケンス法では掌蹠膿疱症の水疱内膿疱より *Staphylococcus* 属や *Propionibacterium* 属、*Streptococcus* 属、*Pyrinomonas* 属の DNA が得られたが、異汗性湿疹の水疱からは細菌の DNA はほとんど得られなかった。16S ribosomal RNA シーケンス法では、掌蹠膿疱症の水疱内膿疱より多数の細菌 DNA が得られ、門レベルでは Firmicutes、Proteobacteria、Actinobacteria、Bacteroidetes が、属レベルでは *Staphylococcus*、*Devosia*、*Streptococcus*、*Flavobacterium*、*Sphingopyxis*、*Ehydr obacter*、*Pseudomonas* の DNA が多くみられた。中でも特に DNA 量の多かった *Staphylococcus* について注目し、掌蹠膿疱症患者の性別、罹病期間、水疱内膿疱採取部位、喫煙歴の有無にわけて、DNA 量に差がないかどうか検討した。すると、性別、罹病期間、水疱内膿疱採取部位の違いと *Staphylococcus* 属の DNA 量とに有意な関連は認めなかったが、掌蹠膿疱症の喫煙群では、禁煙群と比較し水疱内膿疱中に含まれる *Staphylococcus* 属の割合が有意に高いという結果が得られた。掌蹠膿疱症の水疱内膿疱内に細菌の DNA が認められる理由については、これまでの報告において、掌蹠膿疱症の膿疱が表皮内汗管部に形成されること、掌蹠膿疱症の水疱内膿疱液では、ヒト汗を比較し抗菌ペプチドである LL-37 の濃度が高いこと、細菌叢は皮膚表面だけでなく、毛包や脂腺、汗腺の深部にも存在するということが明らかとなっていることから、表皮内汗管の常在菌が水疱内膿疱中にみられているのではないかと考察した。また、掌蹠膿疱症の喫煙群では非喫煙群と比較し *Staphylococcus* 属の DNA が含まれている割合が高い理由については、これまでの報告において、喫煙が *Staphylococcus* 属の形質に影響を与え、マクロファージによる殺菌に耐性を得たり、溶菌耐性を得たり、抗菌ペプチドに対する耐性を得たりすることが明らかとなっており、喫煙群では *Staphylococcus* 属のこれらの形質が変化することにより、水疱内膿疱中で他の細菌と比較し増殖している可能性が考えられた。以上より、掌蹠膿疱症の「無菌性膿疱」には細菌の DNA が含まれていること、喫煙が *Staphylococcus* 属の増加に影響を及ぼす可能性があることが示された。

本研究は愛媛大学医学部および旭川医科大学の倫理審査委員会の承認を得ている。

キーワード (3~5)	マイクロバイオーーム 掌蹠膿疱症 無菌性膿疱
-------------	------------------------------