

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：皮膚・腸内細菌叢解析によるアレルギー疾患病態解明
2. 研究開発代表者： 斎藤 博久（国立研究開発法人 国立成育医療研究センター 研究所 副所長）
3. 研究開発の成果

本研究では、小児のアレルギー疾患（食物アレルギー・アトピー性皮膚炎）を発症する児、成人難治性アトピー性皮膚炎患者から皮膚、腸内細菌叢を網羅的に解析し、疾患に特徴的な細菌叢パターンを把握することを目指した。また、アトピー性皮膚炎モデルマウス（Tmem79K0 マウス）の皮膚細菌叢推移と免疫動態との関連を調べることで、治療標的となりうる免疫動態の把握を目指した。

約半年という研究期間内において、小児の検体に関しては、先に行われた2つのランダム化比較試験である乳児アトピー性皮膚炎発症予防研究とアトピー性皮膚炎乳児を対象とした鶏卵アレルギー発症予防研究（PETIT study）の参加者から、1～3歳時点での皮膚・腸内細菌叢の解析用サンプルを採取した。乳児アトピー性皮膚炎発症予防研究参加者に関しては、皮膚由来サンプルを計 39 人から 195 検体、便由来サンプルを計 28 人から 28 検体を採取した。PETIT study 参加者に関しては、皮膚由来サンプルを計 59 人から 295 検体、便由来サンプルを計 41 人から 41 検体を採取した。難治性アトピー性皮膚炎患者の検体は、本研究開始前までに計 349 の皮膚由来検体を採取した実績があったが、本研究期間終了時までに 181 検体分の検体採取を追加し、異なる病勢、部位からなる計 530 検体の収集を完了した。また、Bleach bath（次亜塩素酸ナトリウム含有浴）療法による皮膚細菌叢バランスの制御がアトピー性皮膚炎の寛解維持に対して有効と考えて実施した、Bleach bath 療法施行患者（コントロール治療群を含む）のうち計 6 名から、治療前後 4 タイムポイント、各回 4～8 箇所の皮膚由来検体を採取した。同治療患者からの検体収集は次年度以降も継続され、皮膚細菌叢に与える影響の解明、本治療の奏功患者、非奏功患者間の皮膚細菌叢パターンの把握を目指す予定である。さらに、アトピー性皮膚炎様の慢性皮膚炎を自然発症する Tmem79K0 マウスの皮膚から経時的に計 200 検体を採取し、皮膚炎の発症過程と皮膚細菌叢の推移を詳細に観察した。

研究班全体で取得できた 1200 検体を超える皮膚および糞便検体を正確かつ効率よく 16S 解析するために、DNA 精製ロボットの導入や、16S rRNA 領域の増幅 primer の詳細な検討、データ解析に際しての配列データのクオリティコントロールの検討等を通じて、網羅的 16S 解析パイプラインを構築し、総計 1000 を超える検体に関して細菌種組成を明らかにした。

ヒト由来検体の皮膚・腸内細菌叢解析結果は、病勢、病型や治療経過等の臨床情報や血中バイオマーカーとの相関解析を実施することにより、アレルギー疾患の発症・増悪に関与する皮膚・腸内細菌群の把握、細菌叢パターンと免疫動態の関係性の解明を目指している。Tmem79K0 マウスの解析からは、本マウスの成熟後（8 週齢以降）の皮膚炎では、アトピー性皮膚炎患者の皮膚スワブ検体の培養でよく検出されるブドウ球菌が菌組成の大部分を占める、dysbiosis が起こっていることが明らかになった。同マウスの細菌叢推移と免疫動態との関連を調べることで、ヒトアトピー性皮膚炎の病態解明や新規治療提案につながる知見の創出を目指している。また、本研究で得られた知見を、将来的なノトバイオートマウスを用いたアレルギー性炎症マウスモデルの作成とそれを用いての菌を標的とした新規治療法の考案へつなげていくために、採取した細菌叢サンプルの培養、分離条件の検討を開始している。以上の研究成果、取り組みにより、今後のアレルギー疾患発症予防に関する社会への情報発信、アレルギー疾患克服に向けた重要知見の集積が期待される。

4. その他

特記事項なし