

## 審査の結果の要旨

氏名 國光 真生

クリティカルコロナイゼーション状態の褥瘡では、臨床的な感染徴候が見られない一方で、遷延する炎症により治癒が遅延する。そのため、治療開始の遅れにつながり、致死的な合併症である感染に移行する可能性が高い。本研究は、クリティカルコロナイゼーションを予防するための創部細菌叢をターゲットにした新たな介入方法の確立を目指すものである。まず、褥瘡患者を対象とした前向きコホート研究によって、褥瘡の治癒傾向と創部一創周囲皮膚間の細菌叢類似性の関連を調査した。続いて、動物に作製した創部において、臨床のクリティカルコロナイゼーション創傷で形成されていると考えられるディスバイオシス状態の創部細菌叢を再現した *in vivo* モデルを確立した。そして、同モデルを用いてディスバイオシス状態の創部細菌叢と宿主免疫の関連について検証し、以下の結果を得ている。

1. 治癒傾向と創部一創周囲皮膚間の細菌叢類似性との関連を明らかにするために、65 歳以上の褥瘡患者を対象に前向きコホート研究を実施した。その結果、重症難治性褥瘡において、創部細菌叢と創周囲皮膚細菌叢に有意な系統学的相違が認められ、クリティカルコロナイゼーション創傷では創周囲皮膚との類似性が低いディスバイオシス状態の創部細菌叢が形成されている可能性が示された。
2. モデル開発に向け、ドナーラットの皮膚細菌叢を人工真皮とともに 72 時間嫌気培養した後、その細菌叢をレシピエントラットの創部へ移植したディスバイオシス群と、LB 培地のみを創部へ塗布した常在細菌叢群を比較した。その結果、ディスバイオシス群では移植前後で創部一創周囲皮膚間の細菌叢類似性が有意に低下した。また、感染徴候はないものの、常在細菌叢群と比較して治癒が遅延し、より多くの好中球が肉芽組織に浸潤していた。これらの創部の特徴は臨床症例と一致しており、皮膚常在菌を由来とした細菌叢の移植による *in vivo* クリティカルコロナイゼーションモデルが開発された。
3. 常在細菌叢の定着に対して免疫寛容を誘導することが知られている制御性 T 細胞について、創部における役割を検証するため、組織学および分子生物学的評価を行った。その結果、常在細菌叢群と比較して、ディスバイオシス群では肉芽組織中の制御性 T 細胞の数が有意に少なかった。また、*Foxp3* および *Ctla4* の遺伝子発現量が低い傾向がみられた。この結果より、ディスバイオシス状態の細菌叢を移植した創部では制御性 T 細胞の誘導が少ないことが示唆された。

4. 2. で確立したモデルに対し、制御性 T 細胞を抑制する機能を持つ FK506 を腹腔内投与し、制御性 T 細胞を抑制した時の皮膚常在細菌叢が伝播した創部、およびディスバイオシス状態の細菌叢の創部の特徴を調査した。その結果、皮膚常在細菌叢が伝播した創部では、制御性 T 細胞を抑制していない時と比べてより多くの好中球が肉芽組織に浸潤し、治癒が遅延したのに対し、ディスバイオシス状態の細菌叢の創部では、抑制していない時と同程度に好中球が浸潤し、治癒が遅延した。これらの結果より、常在細菌叢が伝播した創部では、制御性 T 細胞による免疫寛容によって過剰な炎症が制御され、正常に治癒していることが示唆された。さらに、ディスバイオシス状態の細菌叢では、制御性 T 細胞の誘導が少ないことで過剰な炎症が抑制されず、クリティカルコロナイゼーションが惹起されている可能性があることが示された。

以上、本論文はクリティカルコロナイゼーション創傷では、ディスバイオシス状態の細菌叢が制御性 T 細胞を介した免疫寛容の破綻を惹起し、過剰な炎症を抑制できずに治癒が遅延している可能性があることを初めて明らかにした。これまでクリティカルコロナイゼーションがどのようなメカニズムで発症するかは十分には解明されておらず、その原因と考えられている創部上の細菌や創部バイオフィルムを除去する対症療法的なケアが実施されてきた。本研究により、各患者が保有する皮膚常在細菌叢を創部に誘導することで創部組織への制御性 T 細胞の誘導を介して過剰な炎症を抑制するという、創部細菌叢をターゲットにした新たなクリティカルコロナイゼーションの予防戦略の可能性が示されたことから、創傷管理の質向上に重要な貢献をなすと考えられる。

よって本論文は博士（保健学）の学位請求論文として合格と認められる。