

# 化膿レンサ球菌の侵襲性因子に関する分子遺伝学的解析

研究課題名：ゲノム情報を応用したA群レンサ球菌感染症の制御法の確立

大阪大学大学院歯学系研究科 助教授  
川端 重忠

## ● 研究のねらい

A群レンサ球菌 (group A streptococci; GAS) は、ヒトの咽頭部より感染し、咽頭炎、扁桃炎、肺炎などの上・下気道炎を引き起こす。本来は咽頭炎などの局所の炎症にとどまるが、無菌であるべき血液や筋肉、内臓にGASが侵入する侵襲型レンサ球菌感染症が報告されるようになった。この致死率は10%程度とされる。さらに、軟部組織壊死や多臓器不全等を引き起こす劇症型A群レンサ球菌感染症 (streptococcal toxic shock syndrome; STSS) が新たに出現してきた。同感染症は感染症法の5類感染症に分類され、STSS患者の致死率は40%を越える。STSSは急速な病態進行や発症の機構が不明なことから、予防法や治療法は今のところ確立されていない。2001年に米国オクラホマ大学のグループによりGASの全ゲノム情報が公開された。我々はグラム陽性菌の膜貫通型タンパクにみられるLPXTGモチーフなどの配列をプローブとし、GASゲノム情報から菌体表層タンパクのORFを網羅的に探索した。さらに、他のモチーフ検索により未知の機能性タンパクを同定し、侵襲型感染症の発症機構の解明をめざした。同時に劇症化GAS感染症のマウスモデル実験系を確立し、劇症化に関わるGAS以外の因子についても検討を加えた。

## ● 研究結果と考察

我々は、GASの組織侵襲因子や感染拡散因子などについて、GASゲノムデータベース (Mタンパクの血清型であるM1型、M3型、M18型) を活用して、新規の機能性タンパクを同定し、解析を行った。たとえば、STSS発症患者から分離されたM3型菌の菌体表層には、グラム陽性菌の表層タンパクのC末端に存在するLPXTGモチーフをもつ未知のタンパクが認められた。このタンパクFbaBはフィブロネクチンと強い結合親和性を有し、M3型菌における主要な細胞侵入因子であること、世界各地から分離されたM3型 GAS菌株を調べたところ劇症型分離株のみにFbaBタンパクの発現が認められたことなどから、FbaBはM3型菌の劇症化因子のひとつであることが明らかとなった。GASの菌体表層抽出画分より、新規のIgG結合タンパクであるSib35を同定した。Sib35はその中央領域からC末端側にかけてロイシンジッパー様モチーフを有しており、同部分を含めた領域にIgGが結合することが認められた。Sib35はIgGに対して高い親和性を示した。Sib35は直接B細胞に会合し、細胞分裂を促した。完全なロイシンジッパー構造 (LXXXXXXLXXXXXXL) を有するタンパクをデータベース検索した結果、1つの候補タンパクLZPを見いだした。LZPはSib35よりもさらに強力なB細胞マイトジェン活性を有しており、その活性はLPSとほぼ同等であった。マウス脾臓細胞にLZPを添加すると、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-12の産生が非添加群と比較して明らかに亢進した (図)。

呼吸器感染症の代表的な原因微生物であるインフルエンザウイルスとGASの重感染モデル系の構築と侵襲因子の解析を行った。マウスに非致死量のインフルエンザウイルスを経鼻感染後、同じく非致死量のGASを感染させたところ、90%以上のマウスが感染死した。同ウイルスと細菌の重感染は、抗ウイルスヘマグルチニン抗体の添加で完全に阻害され、マウスの致死も回避された。電子顕微鏡および共焦点レーザー顕微鏡によって、GAS菌体周辺には多数のインフルエンザウイルスが付着することを明らかにした。インフルエンザウイルスが肺において感染の足場をつくり、二次的にGASが感染することにより、微生物の病原性が相乗的に亢進することを示した (図)。ついで、この重感染モデル系を用いて、GAS菌側の致死因子を探索した。各病原因子欠失株をインフルエンザウイルス感染マウスに感染させ致死率を算定したところ、荚膜を欠失させたGASはインフルエンザウイルス感染上皮細胞への付着が最も減弱し、さらにウイルスとの直接結合も低下した。これらの事実は、GAS荚膜はインフルエンザ感染細胞への付着と感染動物の致死作用において極めて重要な機能を果たしていることを示している。

● 今後の展望

GASの全ゲノム解析によると、1,750の遺伝子が存在すると推定されるが、未だその1/3については機能が未知である。GASのように炎症性疾患から非炎症疾患まで幅広い疾患を引き起こす細菌は、病原性を発揮する術を幾通りも備えていると思われる。また、GASのゲノムサイズも大腸菌の半分程度であり、各種細菌のなかでもかなりコンパクトなゲノムである。1つのタンパクが複数の機能を有している例も珍しくなく、GASにおいても限られたタンパクを有効に利用している様子が想像出来ることから、これらの機構をさらに解明していきたいと考えている。

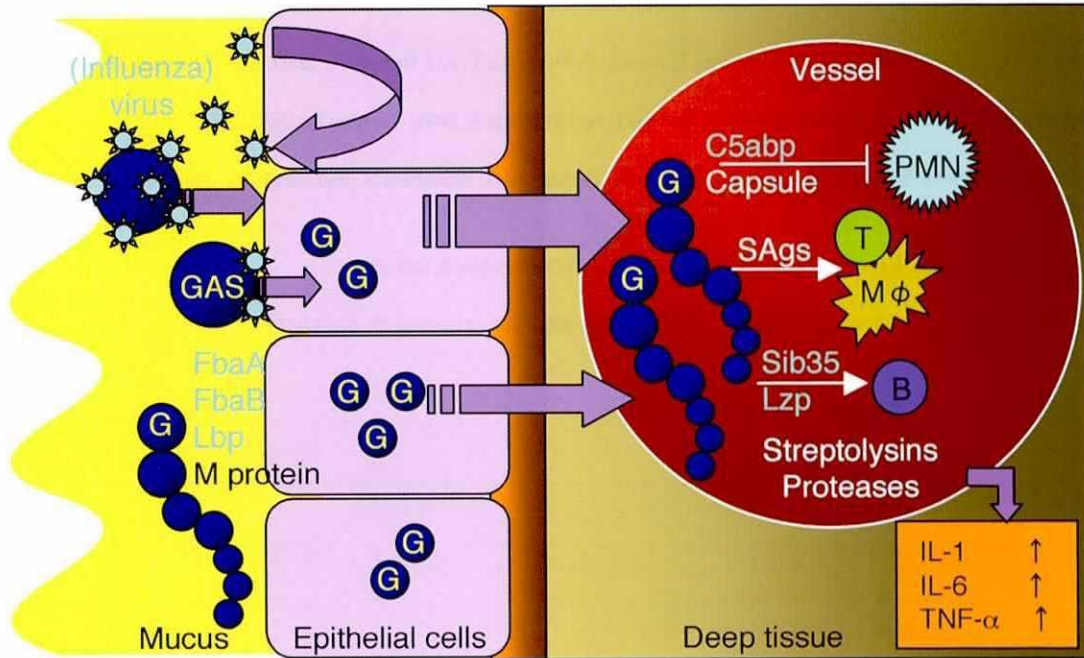


図. 高侵襲性GAS菌株による劇症型感染症の成立機序 (仮説)

#### 主要業績リスト

Kawabata S, Tamura Y, Murakami J, Terao Y, Nakagawa I, and Hamada S. 2002. *Biochem Biophys Res Commun* 296: 1329-1333.

Terao Y, Kawabata S, Nakata M, Nakagawa I, and Hamada S. 2002. *J Biol Chem* 277: 47428-47435.

Okahashi N, Sakurai A, Nakagawa I, Fujiwara T, Kawabata S, Amano A, and Hamada S. 2003. *Infect Immun* 71: 948-955.

Okamoto S, Kawabata S, Nakagawa I, Goto T, Sano K, Okuno Y, and Hamada S. 2003. *J Virol* 77: 4104-4112.

Nakagawa I, Kurokawa K, Yamashita A, Nakata M, Tomiyasu Y, Okahashi N, Kawabata S, Yamazaki K, Shiba T, Yasunaga T, Hayashi H, Hattori M, and Hamada S. 2003. *Genome Res* 13: 1042-1055.

Sakurai A, Okahashi N, Nakagawa I, Kawabata S, Amano A, Ooshima T, and Hamada S. 2003. *Infect Immun* 71: 6019-6026.

Okamoto S, Kawabata S, Fujitaka H, Uehira T, Okuno Y, and Hamada S. 2004. *Vaccine* 22: 2887-2893.

Tamura F, Nakagawa R, Akuta T, Okamoto S, Hamada S, Maeda H, Kawabata S, and Akaïke T. 2004. *Infect Immun* 72: 4836-4847.

Nakagawa I, Nakata M, Kawabata S, and Hamada S. 2004. *Cell Microbiol* 6: 939-952.

Okamoto S, Kawabata S, Terao Y, Okuno Y, and Hamada S. 2004. *Infect Immun* 72: 6068-6075.

#### 特許

新規レンサ球菌タンパク質抗原 (出願番号2003-116240)