





学位論文審査報告書

報告番号	北里大 乙 第 1636 号	氏名	吉田 春乃
論文審査担当者	(主査) 北里大学教授 (副査) 北里大学教授 (副査) 北里大学教授 (副査) 日本薬科大学教授	岡田 信彦 阿部 章夫 清原 寛章 渡邊 峰雄	   
<p>[論文題目] 「溶血性レンサ球菌が保有する病原性機構の解明」</p> <p>[論文審査結果の要旨] <i>Streptococcus</i> 属のうちβ溶血性を示す <i>S. pyogenes</i> (group A streptococcus : GAS) 及び <i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> (SDSE) は、咽頭炎、猩紅熱、レンサ球菌性トキシックショック症候群 (STSS) 等の感染症を惹起する。溶血性レンサ球菌は、ヒトや伴侶動物の常在菌であり、病原性の発揮には何らかの調節機構が働いていることが予想されている。GAS では、膜タンパク質である M protein の構造による M type と特定の病態の関連が指摘されており、致死的な感染症では M1 及び M3 型が多く見られる。M1 型 GAS においては、二成分調節因子である CovR/S の変異が高病原性の原因であると考えられている。しかし、GAS 及び SDSE では、各病原因子の感染における役割には不明な点が多く、定着と感染を分ける条件、感染が深化し侵襲性感染へと至る機構は未だ明らかになっていない。同様に、β溶血性 <i>S. canis</i> は、家畜や伴侶動物から分離され、これら動物と濃厚接触のあったヒトに感染し菌血症等を起こすことが知られている。<i>S. canis</i> は、病原性に関わる因子としては M-like protein (SCM) のみが同定されているが、SCM type と病原性の関連等は未だ明らかとなっていない。</p> <p>本研究では、溶血性レンサ球菌感染症の予防・治療等による感染制御を目指し、その端緒として、溶血性レンサ球菌の病原性発現機構について基礎的な解析を行なった。</p> <p>1. GAS の調節因子 <i>rocA</i> 遺伝子のナンセンス変異が病原性に与える影響の解明 髄膜炎患者よりムコイド型 (MTB313) と非ムコイド型 (MTB314) を示す単一コロニーを分離した。両株の全ゲノム配列を決定し、MTB313 に転写調節関連因子 <i>rocA</i> にナンセンス変異 (G466A) を見出した。MTB313 (<i>rocA</i> 変異株) の遺伝子発現解析より、MTB314 に比べ、<i>sclA</i>, <i>hasABC</i>, <i>spyCEP</i>, <i>slo</i>, <i>scpA</i>, <i>sic</i>, <i>ska</i> 遺伝子では発現量の上昇、<i>speB</i> 及び <i>rgg</i> では発現量の低下が見られた。タンパク質発現解析では、菌体表層のヒ</p>			

アルロン酸量の増加、SLO の分泌促進及び溶血活性の増加を確認した。ヒト CD46 発現トランスジェニックマウス (hCD46Tg マウス) を用いた感染実験では、MTB313 株によるマウス致死率は 75% となり、STB314 株 (致死率 0%) に比べ著しく上昇した。

2. STSS 患者より分離された SDSE である GGS_124 株の、hCD46Tg マウスにおける病態の観察

SDSE によるヒト侵襲性感染症のマウス病態モデルの確立を目的とし、SDSE 臨床分離株 GGS_124 と hCD46Tg マウスの組合せによる感染実験を行った。GGS_124 株を hCD46Tg マウス後足に皮下注射し、感染 3 日後における感染マウスの臓器内菌数を測定した。肝臓、脾臓及び腎臓で、GGS_124 株の増殖が認められたが、GGS_124 株感染野生型マウス (non-Tg マウス) では、これら臓器から GGS_124 株は検出されなかった。感染 35 日後における GGS_124 株感染 hCD46Tg マウスの致死率は、33.3% であったのに対し、non-Tg マウスでは 0% であった。hCD46Tg マウスの接種部位 (左後足) の病理組織学的解析により、足首関節腔における肉芽組織の形成が観察された。一方、多臓器不全患者由来の RE378 株による感染では、hCD46Tg マウス及び non-Tg マウスのいずれも感染 28 日後まで生残した。

3. 国内で伴侶動物及びヒトから分離された *S. canis* の分子特性と細胞内在性の関連の解明

伴侶動物及びヒトから分離された *S. canis* 42 株と参照株 ATCC12394 株を用い、ヒトへの感染能の指標としてヒト大腸癌細胞 Caco-2 及びヒト表皮角化細胞 HaCaT 内への内在化率を比較検討した。また、病原性の指標の 1 つとして溶血活性を測定した。SCM の分子型・MLST による ST 型、薬剤感受性及び薬剤耐性遺伝子型による分類と細胞内在性との関連性を解析し、ヒトへの高病原性を示す菌種の存在について可能性を検討した。Caco-2 細胞に対する内在化率は、分離株によって差があり、19 株が高い内在化率を示した。また、SCM Type10/11 株あるいは MLST ST21/41 遺伝子型に分類されるグループは、他のグループに比べ有意に高い内在化率を示した。ヒツジ赤血球に対する溶血活性と細胞への内在性との関連性は見られなかった。

本研究において、GAS 分離株に見られた自然発生的な *rocA* 変異が病原因子群の発現プロファイルを変化させ、本菌の侵襲性感染の原因になり得ることを示した。また、侵襲性 SDSE 感染症由来の臨床分離株を用いた hCD46Tg マウス感染モデルが、ヒトの病態を一部再現することを明らかにした。さらに、*S. canis* 分離株のうち、SCM type10/11 及び ST21/41 株のグループが、*in vitro* での高い細胞内在性を有することを見出した。これらの研究成果は、溶血性レンサ球菌の感染機構を解明するための分子基盤となるだけでなく、新規の予防・治療法の開発へとつながるものであり、独創的かつ有益な研究として高く評価できる。本研究内容の主要部分は、原著論文として英文雑誌 3 報に投稿受理されている。

以上のことから、本研究は博士 (感染制御科学) の学位授与に値すると判断し、学位審査を合格と判定した。