

Title	化膿レンサ球菌のシステインプロテアーゼSpeBによるヒト補体免疫系回避機構
Author(s)	小川, 真理子
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/52333
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏 名 (小川 真理子)	
論文題名	化膿レンサ球菌のシステインプロテアーゼSpeBによるヒト補体免疫系回避機構
<p>論文内容の要旨</p> <p>【目的】化膿レンサ球菌 (<i>Streptococcus pyogenes</i>) は血液寒天培地上でβ溶血性を示すグラム陽性球菌であり、ヒトの口腔や鼻腔から飛沫感染する。菌の感染部位によって多彩な臨床症状を示すことが知られており、咽頭炎などの粘膜疾患や皮膚創傷部位への感染による膿痂疹などの化膿性疾患を引き起こす。さらに、壊死性筋膜炎や敗血症性ショックを来す劇症型化膿レンサ球菌感染症 (<i>streptococcal toxic shock syndrome</i>; STSS) は同菌の引き起こす重篤な疾患であり、近年、発症率の増加やその侵襲性が問題となっている。<i>S. pyogenes</i>感染症の治療では主にペニシリン系抗菌薬が用いられるが、STSSにおける死亡率は20～50%に及ぶ。過去に、ヒト補体制御因子のひとつであるC1 esterase inhibitor (C1-INH) を補助療法としてSTSS患者に投与し症状が軽減した症例が報告されたが、その作用機序については不明な点が多い。そこで本研究では、<i>S. pyogenes</i>の病原因子と C1-INHを含むヒト補体免疫系との相互作用を解析し、感染メカニズムとの関連を検討した。</p> <p>【方法】<i>S. pyogenes</i>の主要な細胞壁架橋型プロテアーゼであるstreptococcal C5a peptidaseもしくは分泌型システインプロテアーゼであるstreptococcal pyrogenic exotoxin B (SpeB) の組換え体とヒト補体血清(ヒト血清)を反応させ、各プロテアーゼによるC1-INH分解を抗C1-INH抗体で解析した。次に、10種のM血清型の<i>S. pyogenes</i>株の培養上清画分をヒト血清と反応させ、各菌株におけるSpeB産生量とC1-INH分解能を比較した。また、エドマン分解法を用いた解析により、SpeBによるC1-INH切断部位のアミノ酸配列を決定した。続いて、ヒト血清もしくは非働化ヒト血清中における野生株およびspeB変異株の生菌数を比較した。SpeB組換え体と種々の補体関連因子をそれぞれ反応させ、ウェスタンブロット法にて各種補体関連因子の分解を解析した。また、走査型電子顕微鏡を用いてヒト血清と反応させた野生株およびspeB変異株の表層構造を観察した。フローサイトメトリーにより野生株およびspeB変異株表層への膜侵襲複合体(membrane attack complex; MAC) もしくは補体第9因子(C9)の会合量を解析した。</p> <p>【結果】<i>S. pyogenes</i>の既知プロテアーゼのうち高いC1-INH分解能を示したのはSpeBであり、SpeB産生量の多い菌株ほどC1-INH分解活性が高い傾向を示した。また、SpeBはC1-INHのIle⁴⁹とSer⁵⁰間ならびにVal¹²⁷とThr¹²⁸間を分解することが明らかになった。さらに、ヒト血清と反応させたspeB変異株の生菌数は野生株と比較して有意に少なかった。ヒト血清中における野生株の生菌数は非働化血清中と比較して有意に多かった。一方、非働化血清と反応させたspeB変異株の菌数増加率はヒト血清中と比較して有意に高かった。また、SpeBはC2, C3b, C4, C5a, C6, C7, C8, C9およびMACをそれぞれ分解した。血清と反応させたspeB変異株では、野生株と比較して菌体表層構造の著しい破壊が観察された。MACは野生株とspeB変異株の両株に会合したが、C9はspeB変異株のみに会合した。</p> <p>【考察】本研究の結果より、C1-INHがSpeBにより分解されることで補体系の破綻が起こり、菌の生存に有利な環境が形成されると考えられた。また、SpeBはC1-INHに加え、C2, C3b, C4を分解することにより補体活性化経路を阻害することが示唆された。さらに、SpeBは後期補体因子C6, C7, C8, C9を分解することでMAC形成を阻害する結果、<i>S. pyogenes</i>はMACによる殺菌から逃れ、自然免疫を回避すると推察された。</p> <p>以上よりSpeBは、各種補体関連因子を分解することで補体活性化経路を阻害し、<i>S. pyogenes</i>の宿主免疫機構からの回避に寄与することが示唆された。</p> <p>本研究における遺伝子組換え実験については、大阪大学の遺伝子組換え実験安全規程に従い、各委員会の承認を受けて実施した(遺伝子組換え承認番号3398-1)。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (小川 真理子)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 川端 重忠
	副 査 教授 田熊 一敬
	副 査 准教授 永田 英樹
	副 査 講師 伊藤 祥作
論文審査の結果の要旨	
<p>本研究は、化膿レンサ球菌 (<i>Streptococcus pyogenes</i>) の産生するプロテアーゼによる補体関連因子の分解を検討し、<i>S. pyogenes</i> の病原因子によるヒト補体免疫回避機構を解析した。その結果、<i>S. pyogenes</i> の分泌型システインプロテアーゼである SpeB は種々の補体関連因子に対する分解能を有することが示された。さらに、SpeB はヒト血清中の補体成分による菌体表層構造の破壊を阻害した。また、膜侵襲複合体の構成成分であり高い細菌溶解能を有する C9 の菌体表層への会合は、SpeB により抑制されることが明らかになった。以上の結果より、SpeB は各種補体関連因子を分解することで補体活性化経路を阻害し、<i>S. pyogenes</i> の宿主免疫機構からの回避に寄与することが示唆された。</p> <p>以上より、本研究は博士（歯学）の学位論文に値するものと認める。</p>	