



Title	病原レンサ球菌における莢膜と糖鎖分解酵素
Author(s)	山口, 雅也
Citation	大阪大学歯学雑誌. 2017, 61(2), p. 1-4
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/60685
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

病原レンサ球菌における莢膜と糖鎖分解酵素

山口 雅也*

(平成 28 年 12 月 22 日受付)

はじめに

細菌とヒトは相互に影響し合いながら、長い年月をかけて進化を遂げてきた。古くから、レンサ球菌を含む多くの病原細菌で糖鎖から構成される莢膜が重要な病原因子であることが報告されてきた。病原レンサ球菌は様々な糖鎖による擬態を進化させ、それに対してヒトは、免疫細胞上に多様な糖鎖認識受容体を備えるに至っていることが明らかとなってきた¹⁾。これまでの我々の解析によって、病原レンサ球菌において、莢膜と糖鎖分解酵素の間に排他的な関係が存在し、その関係がレンサ球菌の進化の方向性に影響を与えている可能性が示された。本稿では、病原レンサ球菌における莢膜糖鎖と糖鎖分解酵素の関係について解説する。

肺炎球菌と *Streptococcus agalactiae*

日本において肺炎は長らく疾患別死亡原因の第 4 位であったが、2011 年より第 3 位に上昇した。肺炎球菌は肺炎の主たる原因菌であり、高齢の重症肺炎患者の約半数から分離される。さらに、肺炎球菌性肺炎においては、肺炎に引き続きしばしば敗血症や髄膜炎といった侵襲性疾患が引き起こされることが知られている。社会の高齢化が進むにつれて、肺炎球菌による感染者数は今後さらに増加することが予測される。

Streptococcus pneumoniae (肺炎球菌) は、16s rRNA による分類で mitis 群レンサ球菌に分類される口

腔レンサ球菌の一種である²⁾。主に 2 歳以下の小児や 65 歳以上の高齢者に感染し、肺炎や髄膜炎などを引き起こす一方で、健常な小児の口腔からも分離されることが知られている。髄膜炎以外の病態ではペニシリン系抗菌薬が第一選択薬として用いられる。肺炎球菌性髄膜炎においては、組織移行性の問題からカルバペネ

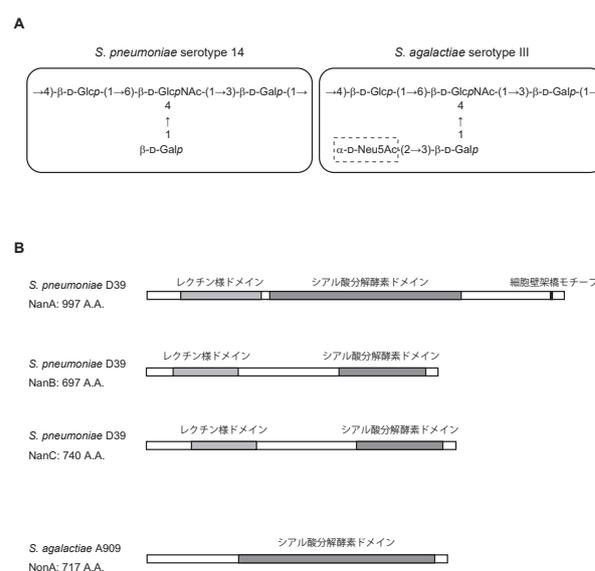


図 1 肺炎球菌と *S. agalactiae* の莢膜とシアル酸分解酵素

A. 肺炎球菌の莢膜血清型 14 型と *S. agalactiae* 莢膜血清型 III 型の糖鎖構造。Galp: ガラクトピラノース, Glcp: グルコピラノース, GlcpNAc: N-アセチルグルコサミン (ピラノース型), Neu5Ac: N-アセチルノイラミニン酸 (ピラノース型)

B. 肺炎球菌のシアル酸分解酵素 NanA, NanB, NanC と *S. agalactiae* のシアル酸分解酵素様分子 NonA のドメイン構造。

* 大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 分子病原口腔微生物学教室

本総説の一部内容は、平成 29 年 1 月 12 日に開催された大阪大学歯学会第 123 回例会において、平成 28 年度弓倉奨励賞の受賞講演 (対象論文: Yamaguchi M., Hirose Y., Nakata M., Uchiyama S., Yamaguchi Y., Goto K., Sumitomo T., Lewis A.L., Kawabata S., Nizet V. Evolutionary inactivation of a sialidase in group B *Streptococcus*. *Sci. Rep.* 2016; 6: 28852.) として発表した。本研究は、ノバルティス科学振興財団 (ノバルティス研究奨励金)、武田科学振興財団 (医学系研究奨励)、日本学術振興会 科学研究費補助金 (若手研究 B: No. 26861546, 基盤研究 B: No. 15H05012), および NIH グラント (No. HL107150, No. HL125352) の支援のもと行われた。

ム系抗菌薬または第三世代セフェム系抗菌薬とバンコマイシンの併用を行う。

Streptococcus agalactiae は、ランスフィールドの分類でB群レンサ球菌に属する、新生児の敗血症や髄膜炎の主要な原因菌である。多くの場合、出産時に保菌母体から新生児に感染する³⁾。日本では、生後4ヶ月未満の乳児において細菌性髄膜炎の主な原因菌である一方で、生後4ヶ月以上の乳児の細菌性髄膜炎からはほとんど分離されない。現在、日本においては全妊婦に対して検査を行っている。妊婦が*S. agalactiae*を保菌している場合は、感染予防のためにペニシリン系抗菌薬による除菌を行う。

莢膜の構造

肺炎球菌と*S. agalactiae*は、多糖から構成される莢膜により、自身の菌体を覆っている。肺炎球菌は、莢膜多糖の抗原性の違いによって97種類以上の血清型に分類されている⁴⁾。一方、*S. agalactiae*の莢膜には少なくとも10種類の血清型が存在する⁵⁾。*S. agalactiae*の莢膜多糖の末端はシアル酸で修飾されている。*S. agalactiae*に対して肺炎球菌は、多様な莢膜構造が存在するにもかかわらず、シアル酸で修飾される莢膜構造は報告されていない。興味深いことに、肺炎球菌と*S. agalactiae*の一部の血清型においては、シアル酸以外の莢膜構造が同一である(図1A)⁶⁾。

*S. agalactiae*のシアル酸は、ヒトのシアル酸と同一のN-アセチルノイラミニン酸(Neu5Ac)である。他の霊長類を含む哺乳類は、N-グリコリルノイラミニン酸(Neu5Gc)とNeu5Acの2種類のシアル酸を発現するが、ヒトは進化の過程でNeu5Gcを合成する能力を失ったため、Neu5Acのみを発現する¹⁾。*S. agalactiae*は、ヒトと同一の糖鎖を修飾することにより、ヒトの免疫機構による認識を回避するとともに、宿主のシアル酸受容体の相互作用を介して免疫を抑制することが報告されている。具体的には、*S. agalactiae*のシアル酸莢膜は、ヒト補体C3bやC5aが菌体に結合するのを防ぐ^{7,8)}。また、シアル酸がヒトのシアル酸結合受容体であるSiglec-9と結合することで、好中球の活性化を抑制する⁹⁾。

シアル酸分解酵素

肺炎球菌は、3種類のシアル酸分解酵素(NanA,

NanB, NanC)を持つ(図1B)。*nanA*遺伝子と*nanB*遺伝子は、ゲノム中で同じオペロン上に存在し、ほぼ全ての臨床分離株に存在する。その一方で、*nanC*遺伝子はおおよそ半分程度の臨床分離株に存在する。NanAは、シアル酸の $\alpha 2,3-$ 、 $\alpha 2,6-$ 、 $\alpha 2,8-$ 結合をそれぞれ切断する典型的なシアル酸分解酵素である。NanBは、 $\alpha 2,3$ 結合したシアル酸から、2,7-anhydro-Neu5Acを産生するトランス-シアル酸分解酵素である。また、NanCは、 $\alpha 2,3$ -sialyllactoseから、2-deoxy-2,3-didehydro-N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac2en)を産生する。しかし、NanBとNanCが肺炎球菌の病原性に果たす分子生物学的な機能は明らかとなっていない。NanAは、シアル酸分解酵素として働くとともに、レクチン様ドメインを介して脳血管内皮細胞に炎症応答を誘導することで、肺炎球菌が血液脳関門を突破して中枢系に感染するための侵入因子として働く^{10,11)}。

*S. agalactiae*は、肺炎球菌のNanAと同一性の高い分子NonAを持つ(図1B)。NonAはシアル酸分解酵素様ドメインにおいて、NanAと58%の同一性を示す。NanB, NanCとは、27~28%の同一性である。レンサ球菌のシアル酸分解酵素の系統関係を解析したところ、

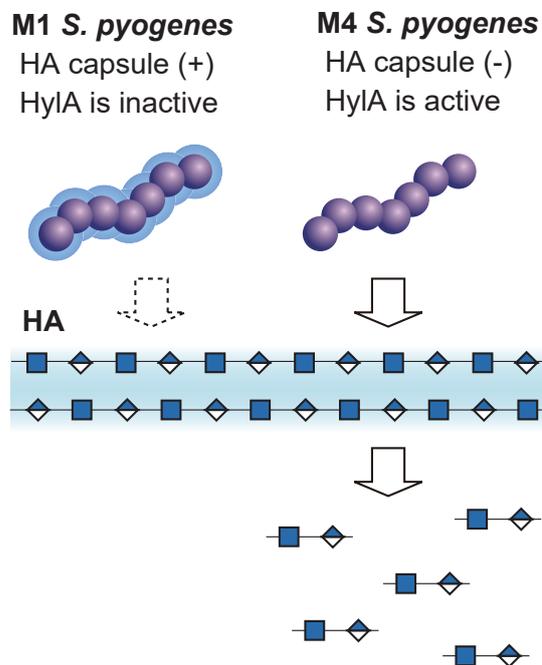


図2 化膿レンサ球菌の莢膜とヒアルロン酸分解酵素
M1血清型の化膿レンサ球菌は、ヒアルロン酸の莢膜で菌体を覆っており、ヒアルロン酸分解酵素が点変異により不活性化されている。一方、M4血清型の化膿レンサ球菌はヒアルロン酸合成能を持たず、ヒアルロン酸分解酵素が活性型である。HA: ヒアルロン酸。

肺炎球菌を含む mitis 群レンサ球菌を主とするクラスターと、*S. agalactiae* と魚類に感染するレンサ球菌である *Streptococcus iniae* からなるクラスターに大別された。肺炎球菌や多くの mitis 群レンサ球菌がシアル酸分解活性を示したのに対して、*S. agalactiae* と *S. iniae* の臨床分離株は、すべてシアル酸分解活性が陰性であった。

S. agalactiae の *nonA* 遺伝子を欠失させても、ヒト脳微小血管内皮細胞への侵入率や、ヒトおよびマウス血中における生存率、経静脈感染における病原性に変化は見られなかった。一方、*S. agalactiae* の *nonA* 遺伝子欠失株に、肺炎球菌の NanA を発現させたところ、ヒト脳微小血管内皮細胞への侵入率は上昇した。その一方で、自身の莢膜に存在するシアル酸を分解し、ヒトおよびマウス血中における生存率と、経静脈感染における病原性は大きく低下した。このことから、*S. agalactiae* においては、活性型のシアル酸分解酵素よりも、莢膜のシアル酸修飾の方が菌の生存において重要な役割を果たすことが示唆された¹²⁾。

化膿レンサ球菌の莢膜とヒアルロン酸分解酵素

2015年に、劇症型溶血性レンサ球菌感染症（いわゆる人喰いバクテリア）の患者数が過去最高の431人となったことが報道された。2016年においては、12月7日時点の国立感染症研究所の速報値で、457人とさらに多い患者報告数となっている。劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、A群溶血性レンサ球菌によって引き起こされる、突発的に発症して急激に進行する敗血症性ショック病態である。発病後数十時間以内に、軟部組織壊死や播種性血管内凝固症候群、多臓器不全などを引き起こす致死率の高い疾患である。劇症型溶血性レンサ球菌感染症に対しては、未だ有効なワクチンや治療法が確立されていないのが現状である。近年、細菌の遺伝子発現制御機構である二成分制御系に変異が生じることで莢膜合成酵素を含む病原因子の転写亢進が起き、侵襲性疾患が引き起こされることが示唆された¹³⁾。

Streptococcus pyogenes（化膿レンサ球菌）は、ランスフィールドの分類でA群レンサ球菌に分類される、咽頭炎や劇症型の壊死性筋膜炎など様々な炎症性の疾患を引き起こすグラム陽性の病原細菌である。毎年、全世界で化膿レンサ球菌による咽頭炎や皮膚感染症が6億件以上発生し、65万人以上が軟部組織壊死やショッ

クを伴う劇症型感染症に罹患している¹³⁾。化膿レンサ球菌は主要な病原因子として、ヒアルロン酸からなる莢膜を持つ。ヒアルロン酸は、*N*-Acetyl-D-glucosamine と D-glucuronic acid の二糖の繰り返しからなるグリコサミノグリカンの一種であり、化膿レンサ球菌の莢膜ヒアルロン酸の構造はヒトのヒアルロン酸と完全に同一である。肺炎球菌や *S. agalactiae* と異なり、莢膜の多様性は存在せず、菌体表層に局在するMタンパク質の抗原性により血清型が分類されている。

化膿レンサ球菌の侵襲性感染症由来株は主に血清型M1型が優勢であった。近年オーストラリアにおいてM4型による劇症型感染症のアウトブレイクが報告された¹⁴⁾。オーストラリアにて分離された17株のM4型のA群レンサ球菌は、ヒアルロン酸定量キットとPCRによるスクリーニングから、ヒアルロン酸莢膜及びヒアルロン酸合成遺伝子オペロン (*hasABC*) を持っていないことが明らかとなった。17株のうち2株について全ゲノム配列を解析したところ、M1型のゲノムと比較して *hasABC* の両隣の遺伝子は保存されているが、*hasABC* 部分は完全に欠落していることが明らかになった。また、既報の主要な病原因子である、SLO, Mac-1, SmeZ, SpeB, C5a peptidaseなどは保存されていた。これらの結果から、莢膜の肥厚化に依存しない、M1型とは異なる劇症化のメカニズムを持つ可能性が推測される。さらに、ヒアルロン酸分解酵素 HylA について解析したところ、大部分のM血清型で点変異により HylA が不活性化しているのに対し、M4血清型では肺炎球菌や *S. agalactiae* と同様に活性型であった¹⁵⁾。つまり、多くの化膿レンサ球菌はヒアルロン酸莢膜を持ち、ヒアルロン酸分解酵素が不活性化しているのに対して、M4型血清型株はヒアルロン酸分解酵素が活性型で、ヒアルロン酸莢膜を持たないことが明らかとなった（図2）。

今後の展望

これまでの研究で、重要な病原因子である莢膜の存在によって、糖鎖分解酵素の形質の進化が影響される可能性が示された。病原細菌は、ヒトの体内で増殖するため、免疫機構や抗菌薬などの治療によって選択圧を受ける。必然的にヒトの免疫や薬剤による殺菌機構を回避する方向へと進化していく。病原細菌の進化機構の一端が明らかになることで、今後の新たな治療・予防方法につながっていくと考えられる。

近年、ゲノム解読技術の発展により、細菌のゲノム

情報の収集が加速している。大量のゲノム情報を利用するには、従来の方法に加えて病原細菌の解析用に調整されたビッグデータ解析技術が必要となってくる。ゲノム情報に基づく分子進化解析の手法はこの一端を担うものであり、今後さらにその重要性を増すものであると考える。

謝辞

本研究活動に際しまして、ご指導とご協力を賜りました大阪大学 大学院歯学研究科 口腔細菌学教室 川端重忠教授、カリフォルニア大学 サンディエゴ校 Victor Nizet 教授に深甚なる謝意を表します。また、研究遂行に関しまして、ご懇意なる協力を賜りました大阪大学 大学院歯学研究科 口腔細菌学教室 中田匡宣准教授、住友倫子助教、広瀬雄二郎先生、後藤花奈先生、カリフォルニア大学 サンディエゴ校 内山聡先生、山口有可先生、ワシントン大学 Amanda L. Lewis 准教授に心より感謝申し上げます。最後に、本研究を行うに際し、幅広いご援助とご協力を頂きました口腔細菌学教室の皆様には厚く御礼申し上げます。

文献

- 1) Varki, A. (2009): Multiple changes in sialic acid biology during human evolution. *Glycoconj. J.* **26**, 231-245
- 2) Kawamura, Y., Hou, X.G., Sultana, F., Miura, H., and Ezaki, T. (1995): Determination of 16S rRNA sequences of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus gordonii* and phylogenetic relationships among members of the genus *Streptococcus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **45**, 406-408
- 3) Edwards, M.S., Nizet, V., and Baker, C.J. (2016): Group B Streptococcal Infections. in Remington and Klein's infectious diseases of the fetus and newborn infant (Wilson CB, Nizet V, Maldonado YA, Remington JS, Klein JO eds.), Eighth edition., Elsevier/Saunders, Philadelphia, PA, 411-456.
- 4) Geno, K.A., Gilbert, G.L., Song, J.Y., Skovsted, I.C., Klugman, K.P., Jones, C., *et al.* (2015): Pneumococcal Capsules and Their Types: Past, Present, and Future. *Clin. Microbiol. Rev.* **28**, 871-899
- 5) Cieslewicz, M.J., Chaffin, D., Glusman, G., Kasper, D., Madan, A., Rodrigues, S., *et al.* (2005): Structural and genetic diversity of group B *streptococcus* capsular polysaccharides. *Infect. Immun.* **73**, 3096-3103
- 6) Moran, A.P., Holst, O., Brennan, P.J., and Itzstein, M.V. (2009): Microbial glycobiology : structures, relevance and applications, Academic, Amsterdam.
- 7) Marques, M.B., Kasper, D.L., Pangburn, M.K., and Wessels, M.R. (1992): Prevention of C3 deposition by capsular polysaccharide is a virulence mechanism of type III group B streptococci. *Infect. Immun.* **60**, 3986-3993
- 8) Takahashi, S., Aoyagi, Y., Adderson, E.E., Okuwaki, Y., and Bohnsack, J.F. (1999): Capsular sialic acid limits C5a production on type III group B streptococci. *Infect. Immun.* **67**, 1866-1870
- 9) Chang, Y.C., Olson, J., Beasley, F.C., Tung, C., Zhang, J., Crocker, P.R., *et al.* (2014): Group B *Streptococcus* engages an inhibitory Siglec through sialic acid mimicry to blunt innate immune and inflammatory responses in vivo. *PLoS Pathog.* **10**, e1003846
- 10) Uchiyama, S., Carlin, A.F., Khosravi, A., Weiman, S., Banerjee, A., Quach, D., *et al.* (2009): The surface-anchored NanA protein promotes pneumococcal brain endothelial cell invasion. *J. Exp. Med.* **206**, 1845-1852
- 11) Banerjee, A., Van Sorge, N.M., Sheen, T.R., Uchiyama, S., Mitchell, T.J., and Doran, K.S. (2010): Activation of brain endothelium by pneumococcal neuraminidase NanA promotes bacterial internalization. *Cell. Microbiol.* **12**, 1576-1588
- 12) Yamaguchi, M., Hirose, Y., Nakata, M., Uchiyama, S., Yamaguchi, Y., Goto, K., *et al.* (2016): Evolutionary inactivation of a sialidase in group B *Streptococcus*. *Sci. Rep.* **6**, 28852
- 13) Cole, J.N., Barnett, T.C., Nizet, V., and Walker, M.J. (2011): Molecular insight into invasive group A streptococcal disease. *Nat. Rev. Microbiol.* **9**, 724-736
- 14) Whitehead, B.D., Smith, H.V., and Nourse, C. (2011): Invasive group A streptococcal disease in children in Queensland. *Epidemiol. Infect.* **139**, 623-628
- 15) Henningham, A., Yamaguchi, M., Aziz, R.K., Kuipers, K., Buffalo, C.Z., Dahesh, S., *et al.* (2014): Mutual exclusivity of hyaluronan and hyaluronidase in invasive group A *Streptococcus*. *J. Biol. Chem.* **289**, 32303-32315