

図1 劇症型レンサ球菌感染症患者血清中のサイトカイン産生

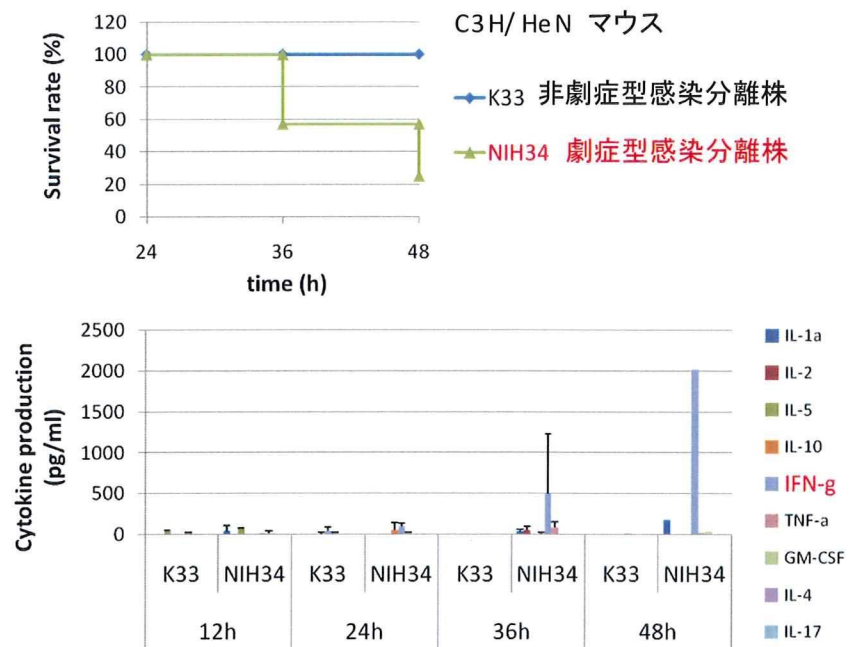


図2 劇症型 *S.pyogenes* 分離株感染マウスにおける血中サイトカイン産生

動物実験モデルによるレンサ球菌感染症発症のメカニズムの解明と
治療に係る基礎的研究

研究分担者 松井 英則 北里大学大学院感染制御科学府&北里生命科学研究所・
病原微生物分子疫学研究室 講師

研究要旨 ヒト CD46 発現トランスジェニック (hCD46Tg) マウスを用いて、A 群レンサ球菌 (group A streptococci, GAS) の感染モデルを構築した。劇症型 GAS 感染症 (STSS) の血液から分離された血清型 M1 の GAS472 株を hCD46Tg マウスの後肢足蹠部 (footpad) へ 1×10^7 CFU 投与すると、敗血症 (sepsis) を生じ、播種性血管内凝固症候群 (DIC) 及び多臓器不全 (MOF) により投与後 7 日以内に全ての hCD46Tg マウスは死亡した。感染局所では、横紋筋融解症 (rhabdomyolysis) を伴った重篤な壊死性筋膜炎 (necrotizing fasciitis, NF) の発症が認められた。更には皮膚及び軟部組織壊死のみならず大腿骨の壊死 (necrosis) が観察された。また、感染初期に肥満細胞 (mast cells) の脱顆粒現象 (degranulation) およびマクロファージによる壊死細胞の貪食 (phagocytosis) が観察された。そこで、肥満細胞の感染防御作用を解析するため、肥満細胞欠損マウスとその対象マウスの footpad へ GAS472 を投与し、病態を比較した。肥満細胞欠損マウスは対象マウスに比較して、感染 72 時間後において感染局所の重症化が観察された。更に、膝下リンパ節 (popliteal lymph nodes, PLN), 脾臓 (spleen), 肝臓 (liver) における感染菌数が有意に多く検出された。次に、hCD46Tg マウスの肥満細胞を移入した肥満細胞欠損マウスと non-Tg マウスの肥満細胞を移入した肥満細胞欠損マウスの footpad へ GAS472 を投与し、致死性を比較したが、両マウスにおける生存曲線に顕著な差は認められなかった。従って、ヒト CD46 は、肥満細胞の感染防御に関与しないと考えられた。一方、GAS472 は、各種遺伝子の発現調節因子である *csrRS* 遺伝子の変異が無いにもかかわらず、hCD46 依存的にストレプトリジン S の高発現が認められた。従って、hCD46Tg マウスにおける劇症型レンサ球菌感染症の発症には菌の溶血活性が関与していると推測できた。

A. 研究目的

ヒトに特異的な病原細菌である GAS は、菌体表層の M 蛋白質がヒトの細胞表層の CD46 に結合することにより感染が成立すると考えられている。そこで hCD46Tg マウスを用いて、レンサ球菌による劇症型感染症の感染モデルを構築し、組織化学・病理学的解析により、劇症型レンサ球菌感染症に特徴的な壊死性筋膜炎、敗血症 (sepsis), DIC, MOF の発症機構の解明を目指す。

B. 研究方法

B-1. マウス：

hCD46Tg マウスは、J. P. Atkinson 教授 (米国ワシントン大学) より分与された。対照と成る C57BL/6J マウスは日本チャールズ・リバー社より入手した。全身の肥満細胞を欠損する WBB6F1-*W/W^u* (*W/W^u*) マウスとその対照となる WBB6F1^{+/+} (*+/+*) マウスは日本エスエルシー社より入手した。

B-2. 菌株：

劇症型ならびに侵襲性を含む M1 型 GAS (11 株) は、生方公子教授 (北里大学, 北里生命科学研究所, 病原微生物分子疫学研究室) より分与された。

B-3. 肥満細胞の移入実験：

hCD46Tg 及び C57BL/6 マウスの骨髄細胞から分化・増殖させた培養肥満細胞を、放射線照射 (4.5 Gy x 2) 後の *W/W^v* マウスへ移入した。また *W/W^v* マウスより調製した骨髄細胞から T 細胞を除去し、同時に移入した。

B-4. 感染実験：

GAS を footpad より感染させ、致死率や各組織の菌数を算定した。組織から切片を調製し各種抗体を用いた免疫染色もしくは、ヘマトキシリン・エオジン (H&E), ギムザ (G) 及びトルイジンブルー (TB) による染色後、病理学的解析を行った。

B-5. 転写活性の測定：

hCD46Tg 及び C57BL/6 マウスの血液と GAS472 株の培養を 1:1 で混合し、CO₂ インキュベーターに設置し経時間的に GAS 遺伝子 (16S rRNA, *sagA*, *emm*, *scpA*, *scpC*, *ska*, *speB*, *csrS*) の発現をリアルタイム RT-PCR 法にて調べた。

B-6. 遺伝子配列の決定：

GAS472, GAS467 (以上, 強毒株), RE386, RE344 (以上, 弱毒株) について *csrRS* 領域の遺伝子配列を決定した。

(倫理面等への配慮)

本研究を開始するにあたり、遺伝子組換え実験の安全確保に係わる第二種使用等拡散防止措置確認申請書を提出し (第二種使用等の名称: ヒト CD46 遺伝子発現トランスジェニックマウスを用いたレンサ球菌劇症型感

染症の感染モデルの構築), 文部科学大臣の承認を得た (19 校文科振第 84 号, 承認日: 平成 19 年 9 月 18 日)。また, 北里大学実験動物委員会規程, 北里大学バイオセーフティ安全管理規定及び北里大学研究倫理規程に従って研究を遂行した。

C. 研究成果

C-1. M1 型 GAS 株感染による NF の発症：

臨床分離の 11 株 (表 1) を hCD46Tg マウスの footpad へ 1×10^7 CFU 投与後の致死性は、菌の病原性の強弱を反映した (図 1)。GAS472 (STSS 患者の血液から分離) 感染 3 日以内に NF を誘発した (図 2)。

C-2. GAS472 感染に対する肥満細胞の防御効果：

GAS472 感染初期に肥満細胞の脱顆粒現象およびマクロファージによる壊死細胞の貪食が認められた (図 3)。更に GAS472 による感染 72 時間後での各組織の菌数は、*W/W^v* マウスの方が ++ マウスに比較して有意に多かった (図 4)。また、感染 72 時間後の感染局所の病態においても顕著な差が認められた (図 5)。このことは、肥満細胞が感染防御に関わっていることを証明するものである。次に肥満細胞の生存率に及ぼす影響を確かめた。しかし、*W/W^v* マウスと ++ マウスにおいて GAS472 感染後の生存率に差は認められなかった (図 6)。更に肥満細胞を移入した *W/W^v* マウスにおいて、ヒト CD46 に依存した生存率の変化は認められなかった (図 7, 8)

C-3. ヒト CD46 に依存した病原遺伝子の発現：

強毒株 (GAS472, GAS467) と弱毒株 (RE386, RE344) の *csrRS* (二成分系発現調節遺伝子) の配列を M1 型 GAS 標準株 (MGAS5005) と比較したが、*csrRS* の coding 領域内の配列は 4 株とも標準株と同じであつ

た。次にヒト CD46 に依存した病原遺伝子の発現を調べたところ、2 時間のインキュベーションで *sagA* (ストレプトリジン S) 遺伝子の発現が認められた (図 9)。しかし他の病原遺伝子 (*emm*, *scpA*, *scpC*, *ska*, *speB*, *csrS*) の発現は認められなかった。

C-4. GAS472 投与 hCD46Tg マウスの DIC 及び MOF の発症 :

hCD46Tg マウスの footpad へ GAS472 を 1×10^7 CFU 投与後、感染局所の NF と同時に肝臓、脾臓、腎臓、心臓に結節(nodules)が認められ、肝臓の壊死が観察された (図 10)。また血液中のフィブリンの分解産物 (fibrin degradation products : FDP), D ダイマー (D-dimer) の増加及び血小板数 (PLT) の減少が観察される (図 11) ことから、DIC を合併した MOF の発症が示唆された。

D. 考 察

本研究に用いた、hCD46Tg マウスはヒト CD46 遺伝子の全長を含み、各組織においてヒトと同じ発現パターンを示す。平成 20 年度の研究報告書において、hCD46Tg マウスを用いることで、皮膚感染による劇症型 A 群レンサ球菌感染症に類似した感染モデルについて発表した。hCD46Tg マウスの感染局所は、腫脹し、血疱、びらんが広範囲に出現し急速に壊死に陥った。対照マウスにおいては、広範囲に渡り緩やかに壊死が進行し、感染 2 週間後には下肢が欠損した。一方、hCD46Tg マウスの網内系組織における感染 48 時間後からの急激な菌の増殖が死の転帰と考えられる。感染 72 時間後の hCD46Tg マウスでは DIC を伴った MOF が観察され、直接の死因と考えられる。従って感染後 48 時間 (2 日) までの適切な処置が劇症型 A 群レンサ球菌感染症にとって重要と考えられる。

GAS 感染による NF の発症機序はよく分かっていないが、今回の実験結果からストレ

プトリジン S の発現が関与している可能性が考えられる。軟部組織における溶血と DIC の組み合わせにより急激な壊死を誘発すると考えられる。感染局所では、好中球の浸潤 (neutrophil infiltration) はもとより、肥満細胞の浸潤・脱顆粒およびマクロファージによる壊死細胞の貪食が観察されるが、急激な壊死の進展に防御機構が追いついて行かないと思われる。

E. 結 論

本感染モデルは、劇症型レンサ球菌感染症の発症機序の解明及び診断・治療法の開発に向けて有益な手段である。GAS472 は *csrRS* 遺伝子の変異は認められなかったが、hCD46Tg マウスに対して高病原性を呈した。従って、GAS の高病原性型への変異は、*csrRS* 遺伝子変異以外の要因も存在すると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) **Hidenori Matsui**, Yukie Sekiya, Masahiro Nakamura, Somay Yamagata Murayama, Haruno Yoshida, Tetsufumi Takahashi, Ken'ichi Imanishi, Kanji Tsuchimoto, Takehiko Uchiyama, Keinosuke Sunakawa, and Kimiko Ubukata. CD46 transgenic mouse model of necrotizing fasciitis caused by *Streptococcus pyogenes* infection. *Infection and Immunity*, **2009**, 77 (11), 4806-4814.

2. 学会発表

- 1) **松井英則**, 関谷幸江, 中村正彦, 高橋哲史, 村山琮明, 内山竹彦, 砂川慶介, 生方公子: ヒト CD46 発現マウスを用いた実験的劇症型 A 群溶血性レンサ球菌感染症の解析. 第 83 回日本感染症学会総会, 京王プラザホテル, 平成 21 年 4 月 23-24 日

- 2) Haruno Yoshida, **Hidenori Matsui**, Yukie Sekiya, Kenichi Imanishi, Tetsufumi Takahashi, Somay Murayama, Masahiko Nakamura, Takehiko Uchiyama, and Kimiko Ubukata. Protective roles of skin mast cells in mouse models of necrotizing fasciitis caused by GAS infection. 第83回日本細菌学会総会, パシフィコ横浜, 平成22年3月27-29日
- 3) Keisuke Okada, **Hidenori Matsui**, Haruno Yoshida, Somay Murayama, Tetsufumi Takahashi, Masahiko Nakamura, Toru Akiyama, Teruo Kirikae, Takehiko Uchiyama, and Kimiko Ubukata:

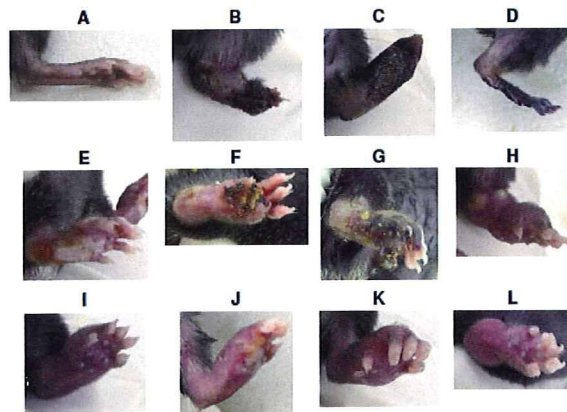
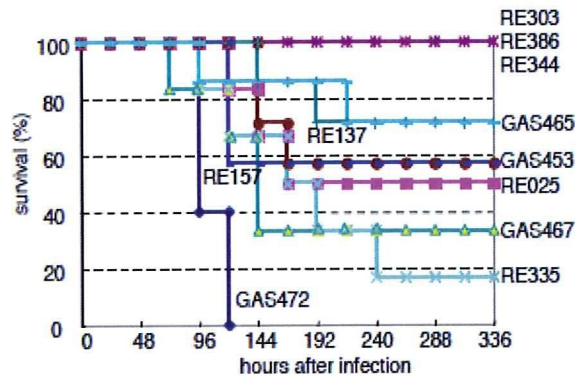
Experimental model of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* infection in CD46 transgenic mice. 第83回日本細菌学会総会, パシフィコ横浜, 平成22年3月27-29日

G. 知的所有権の取得状況

- 1.取得特許
該当なし
- 2.実用新案登録
該当なし
- 3.その他
該当なし

表1 M1型 GAS 臨床分離株

菌株	年齢	性別	疾患名	検査材料
GAS-472	38	男	TSLs	血液
GAS-467	57	男	髄膜炎、敗血症	髄液
RE-335	6	女	化膿性関節炎	血液
RE-137	72	男	髄膜炎(基礎疾患なし)	髄液
RE-303	52	男	敗血症性ショック、慢性腎不全	心内膜下膿瘍
RE-157	75	男	顔面蜂窩織炎(基礎疾患無し)	血液
GAS-453	9	男	化膿性頸部リンパ節炎	上咽頭
GAS-465	7	女	急性咽頭炎	咽頭
GAS-468	4	女	咽頭炎(反復)	咽頭
RE-020	7	女	丹毒(右下腿)	血液
RE-025	76	男	壊死性筋膜炎	膿
RE-184	61	女	蜂窩織炎(DM)	血液
RE-213	75	女	顔面蜂窩織炎、急性中耳炎	血液
RE-261	1	女	急性中耳炎	鼓膜切開液
RE-344	40	女	敗血症(急性肝炎)	血液
RE-386	62	女	咽頭炎・副鼻腔炎	血液



A,非感染; B, GAS472; C, GAS467, D, RE025; E, RE335; F, GAS465; G, GAS453; H, RE303; I, RE386; J, RE137; K, RE157; RE344.

図1 1×10^7 CFU の菌数を hCD46Tg マウスの footpad へ投与した時の生存曲線と投与 72 時間後の足の状態

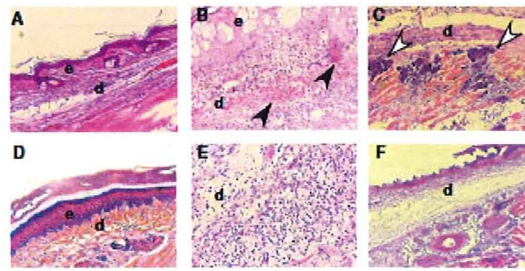


図2 GAS472(1×10^7 CFU)の菌数を hCD46Tg あるいは non-Tg マウスの footpad へ投与した時皮膚組織の変化 (H&E 染色, A,B,C, hCD46Tg マウス ; D,E,F, non-Tg マウス ; A,D, 非感染 x100 ; B,E, 感染後 24 時間 x200; C,F, 感染後 48 時間 x100). The closed arrowheads indicate hemorrhaging in the dermis. The open arrowheads indicate the necrotic striated muscle layers. E, epidermis; d, dermis.

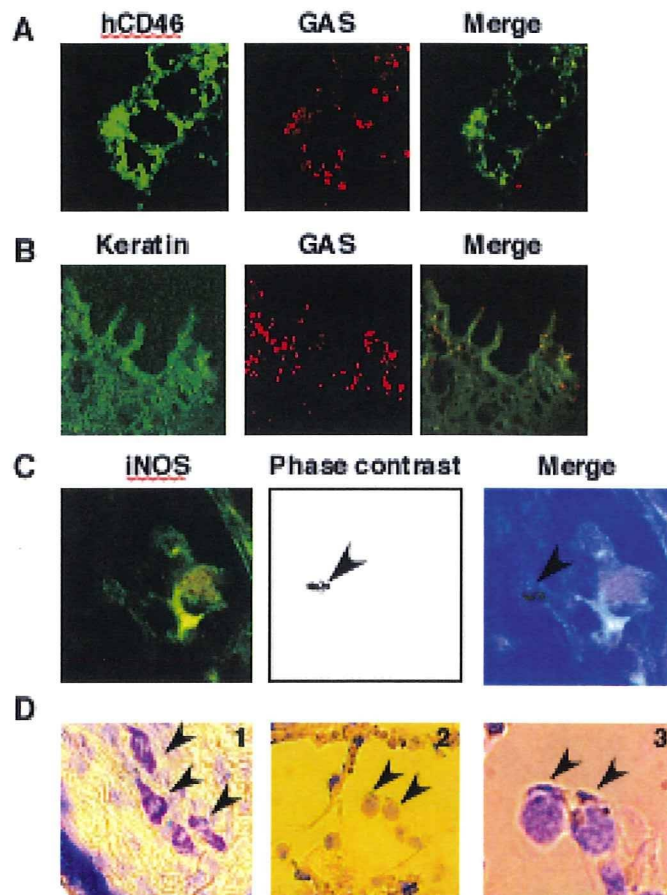


図3 hCD46Tg マウスの footpad へ GAS472 を 1×10^7 CFU 投与 24 時間後の 皮膚の免疫組織化学 (A, anti-human CD46 (緑), anti-GAS (赤) ; B, anti-human epidermal keratin (緑), anti-GAS (赤) original magnification x200; C, anti-iNOS (緑). 矢印は壊死した細胞の断片を示す。original magnification x200; D, TB 染色 (1, 非感染 original magnification x200; 2, 感染真皮 original magnification x100; 3, 感染真皮 original magnification. x400. 矢印は肥満細胞を示す)。

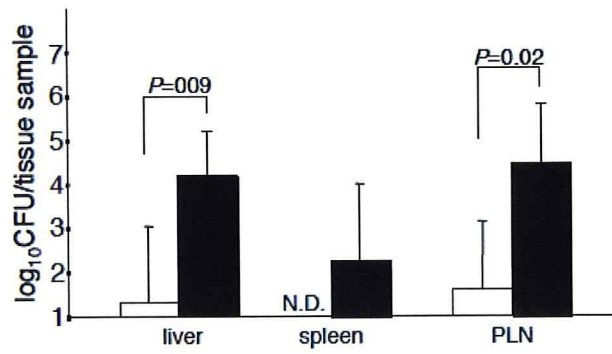


図4 マウスの footpad へ GAS472 を 1×10^7 CFU 投与 72 時間後の各組織の菌数の比較

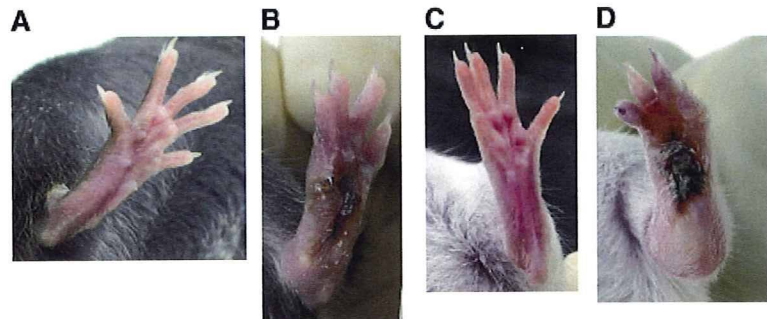


図5 マウスの footpad へ GAS472 を 1×10^7 CFU 投与 72 時間後の足の状態 (A, +/+マウス, 非感染; B, +/+マウス, 感染; C, W/W^v マウス, 非感染; D, W/W^v マウス, 感染)

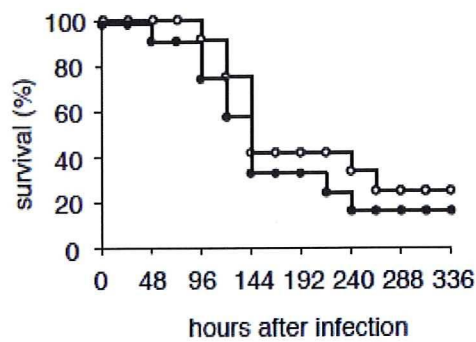


図6 マウスの footpad へ GAS472 を 1×10^7 CFU 投与後の生存曲線 (●, W/W^v マウス n=12; ○, +/+マウス n=12)。

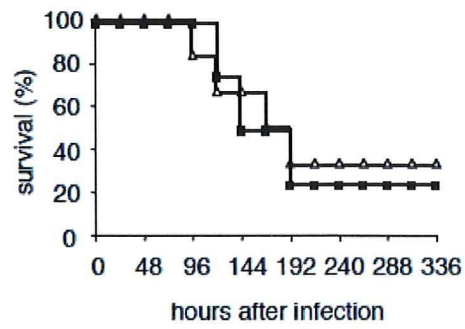


図7 マウスの footpad へ GAS472 を 1×10^7 CFU 投与後の生存曲線 (■, hCD46Tg マウスの骨髄から調製した肥満細胞を移入した W/W^u マウス n=4; △, C57BL/6 マウスの骨髄から調製した肥満細胞を移入した W/W^u マウス n=6)。

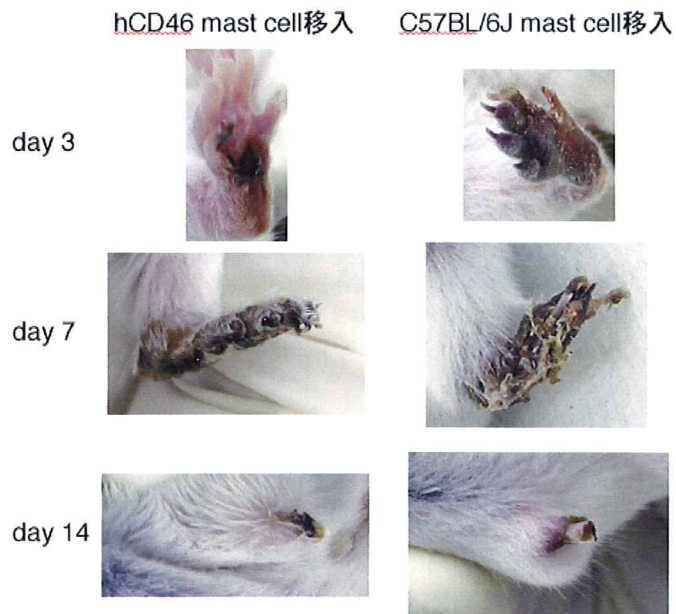


図8 マウスの footpad へ GAS472 を 1×10^7 CFU 投与後の足の状態の変化

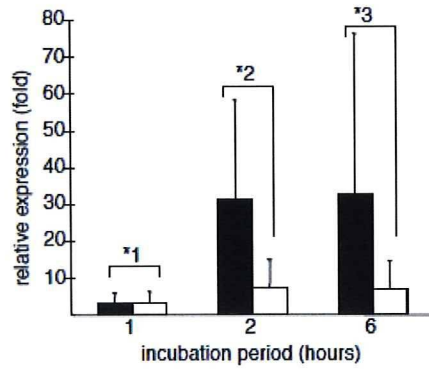


図9 GAS472 の sagA 遺伝子の発現様式

(■, hCD46 依存の発現量; □, マウス CD46 依存の発現量; *1, $P=0.25$; *2, $P=0.08$; *3, $P=0.17$)

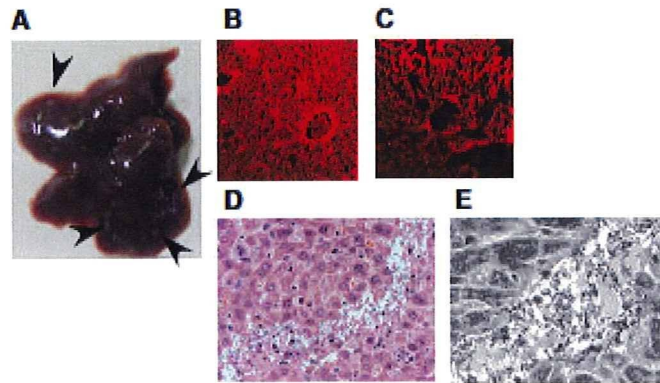


図10 hCD46Tg マウスの footpad へ GAS472 を 1×10^7 CFU 投与後 72 時間経過の肝臓

(A, マクロ観察, 矢印は結節を示す; B, 蛍光ファロイジン染色 (非感染マウス肝臓) original magnification x100; C, 蛍光ファロイジン染色 (投与後 72 時間経過のマウス肝臓) -細胞骨格の収縮が認められる- original magnification x100; D, H&E 染色 (投与後 72 時間経過のマウス肝臓) -細胞の壊死が認められる- original magnification x200 ; E, G 染色 (投与後 72 時間経過のマウス肝臓) -壊死部分に菌が認められる- original magnification x400)。

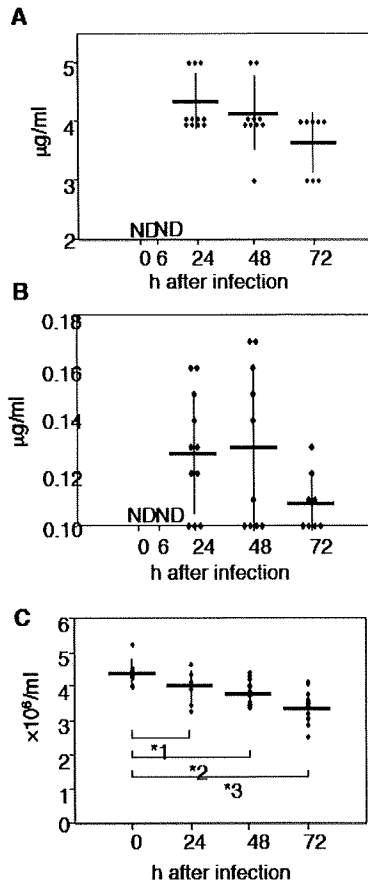


図 11 hCD46Tg マウスの footpad へ GAS472 を 1×10^7 CFU 投与後の
 A, FDP ; B, D-dimer ; C, PLT の変動
 (n=8~15) *1, $P=0.06$; *2, $P=0.0009$; *3, $P=0.00002$.

G 群レンサ球菌による劇症型感染症のモデル構築および分子基盤に関する研究

研究分担者 秋山 徹 国立国際医療センター・研究所感染症制御研究部室長

研究要旨 新規に発生しているレンサ球菌による劇症型感染症の臨床的・細菌学的解析と、診断・治療に関する研究を行うため、起因菌である *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (SDSE)の感染症のマウスモデルを用いた分子レベルでの研究を行う。同菌感染症の疫学調査結果から、発症者には悪性新生物や糖尿病などの基礎疾患が高頻度に存在することが明らかとなっていたので、昨年度までに、1型および2型の糖尿病マウスと非糖尿病対照マウスで同菌に対する感受性を比較し、両型糖尿病モデルとも糖尿病非発症の対照マウスと比較して、SDSE感受性が増加していることが明らかにしている。本年度はこれらのマウスを利用して、SDSE感染時の糖尿病マウスでの宿主側因子発現変化の網羅解析を行った。その結果、糖尿病マウスはSDSE感染時に、対照非糖尿病マウスと比較して、また対照菌である黄色ブドウ球菌を投与した場合と比較して、強い炎症性応答が惹起され、逆に自然免疫応答や獲得免疫応答性が低いことが明らかとなった。以上の結果は糖尿病時のSDSE感染劇症化の宿主側分子基盤を反映すると考えられる。

A. 研究目的

劇症型レンサ球菌感染症(STSS)は致死率が50%にも及ぶ感染症であり、最近の調査ではA群レンサ球菌(GAS)以外にG群レンサ球菌およびC群レンサ球菌、特に *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (SDSE)による症例が増加している。劇症型感染症はGAS劇症型感染症とは異なり、高齢者および糖尿病などの基礎疾患保有患者で明瞭に高頻度であり、今後の日本社会状況を考える場合、その対策は重要である。しかしながらGASの場合と異なりSDSEの研究は進んでいない。筆者等はすでにGASをマウスに腹腔投与するモデルが、GASによるSTSS症例の疫学データと一致するという結果を報告している。本研究では昨年度までにSTSS症例および動物由来の *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* 分離株16株の病原性をマウスモデルで比較し、SDSE研究のための菌株選定

を行い、さらに1型および2型糖尿病のマウスでは、非糖尿病マウスと比較してSDSE感染への感受性が有意に増加していることを明らかにした。そこで、本年度はより日本人に頻発する2型糖尿病のマウスモデルを用いて、選定された菌株を感染させた場合のマウス遺伝子の発現変化の網羅解析を実施し、宿主側のSDSE感染劇症化に影響する因子の探索を試みた。

B. 研究方法

共試菌株：

SDSE菌株は東京女子医科大学・微生物学免疫学教室および北里大学・生命科学研究所・病原微生物分子疫学研究室より分与を受けた。増菌は、凍結保存されているレンサ球菌をブレイン・ハートインフュージョン培地に植菌し、CO₂インキュベーター内で37℃、5%で一晩培養することで行った。マウス感

染実験時の対照菌株として *Staphylococcus aureus* N315 株を使用した。

SDSE のマウス感染実験：

菌を一晩培養後、3100rpm,10min 遠心、培地を除き 1×PBS(-)5ml に懸濁した後、ボルテックス処理を 30 秒間行った。ボルテックス後の菌液を 1×PBS(-)で 0.5ml 投与時に LD50 の 5 倍となるように希釈し、マウスに腹腔内投与した。2 型糖尿病モデルとして糖尿病自然発症型マウスである db/db マウスを使用し、対照として糖尿病非発症型である db/m+マウスを使用した。

マウス遺伝子発現の網羅的解析：

SDSE または *S. aureus* N315 株を投与した 2 型糖尿病マウスから 8 時間後に肝臓を採取し、ISOGENE 中で粉碎し、手順書に従って total RNA の粗抽出を行った。得られた RNA をさらに RNAeasy mini kit(QIAGEN)で精製して遺伝子発現解析に供した。発現解析は Affymetrix 社 Mouse Gene ST 1.0 アレイを用いて行った。

(倫理面への配慮)

動物実験については国立国際医療センター研究所動物実験委員会にて計画の審査・承認を受けて実施した。本計画で使用した菌株は感染症法の対象となる病原体ではないが、所内バイオセーフティ委員会による使用の承認を受けて実施した。

C. 研究結果

2 型糖尿病マウスである db/db マウス、およびその対照非糖尿病マウスである db/m+マウスを使用し、菌投与無し、黄色ブドウ球菌投与、そして SDSE 投与の総計 6 種類の組み合わせで、マウス遺伝子の網羅的発現解析を行った。ブドウ球菌投与の実験を加えることで、SDSE 特異的な宿主応答の解析が可能

な実験系とした。またレンサ球菌投与時に菌が特に集積する臓器である肝臓を標的として解析を行った。

SDSE を投与した糖尿病マウスと非糖尿病マウスの比較：菌投与後に、1)非糖尿病マウスでは T 細胞活性化能を示すと考えられる T cell receptor associated transmembrane adaptor 1 および CD28 の発現が上昇するが、糖尿病マウスではそれらの上昇が認められないこと、2)逆に糖尿病マウスでは IL-33、マクロファージ活性化 2、ケモカイン関連遺伝子、トロンボスポンジン、インターロイキン 1β など炎症状態を示す遺伝子の発現が上昇していた。従って、糖尿病マウスでは細菌感染時の正常な免疫応答が惹起できず、逆に炎症状態が高進していると考えられた。

糖尿病マウスへの SDSE 投与と黄色ブドウ球菌投与の比較：同じ糖尿病マウスへの投与にもかかわらず、SDSE 投与の場合には、黄色ブドウ球菌投与と比べて、前述の炎症状態を示す遺伝子の発現に加えて、好中球の遊走に関する selectin の発現が増加していた。従って、SDSE により発生する糖尿病マウスでの炎症状態の高進は SDSE 特異的と考えられた。

非糖尿病マウスへの SDSE 投与と黄色ブドウ球菌投与の比較：糖尿病マウスへの投与の場合とは対照的に、SDSE 投与マウスでは、CD14, TLR2, IL-1 受容体アンタゴニスト、T cell receptor associated transmembrane adaptor 1, CD28, Runx1 などの発現が上昇していた。従って、非糖尿病マウスでは、SDSE 投与時に、黄色ブドウ球菌投与時よりも強い自然免疫系と獲得免疫系の応答が惹起されていると考えられた。

D. 考察

2 型糖尿病マウスモデルを用いた SDSE の感染時の宿主側因子の網羅的発現解析に黄色ブドウ球菌の投与実験を併用することで、

SDSE 感染時に特異的に発生する宿主側応答の様相が明らかとなった。即ち糖尿病マウスでは、非糖尿病マウスと比較して、SDSE 投与により非常に強い炎症反応が発生し、正常な免疫応答がほとんど起きないことが示された(図)。糖尿病時には生体では弱い炎症状態が継続しており、これらが種々の臓器障害の原因となっていることが示されている。SDSE はブドウ球菌とは異なり、この生体の状況をさらに増悪させると考えられる。そのため SDSE の糖尿病時の感染の劇症化は、SDSE による炎症状態の急激な悪化が寄与していると考えられる。今回同定された SDSE により発現が増加する炎症性因子の発現増加の程度は極めて高く、これらを早期に検出する系を構築して、SDSE 感染に対する早期対策を行うことで、SDSE 感染症の劇症化を未然に防ぐことが可能となるかもしれない。

SDSE がどのように特異的に宿主側の糖尿病時の炎症状態を増悪させているかの機構は現時点では明らかではない。筆者等の全ゲノム解析で、SDSE は多くの病原因子を GAS と共有していることが明らかとなっている。また、GAS による感染症の病態では同菌の持つ多数の因子が複雑に関与していると考えられるため、ある特定の病原因子のみで GAS、さらには SDSE による感染症、特に劇症型感染症の病態を説明することは困難である。その一方で、SDSE ゲノムには GAS において多数の病原因子の発現を制御するグローバルな調節因子が高度に保存されていることが明らかとなっている。そのため、この因子の機能が SDSE の感染症での同菌の作用に大きな役割を担っていると推定される。今後は、この因子の変異株などを利用した実験で、宿主側の遺伝子の発現解析などを実施する予定である。

E. 結論

SDSE の糖尿病マウスへの投与モデルを利

用した宿主側発現遺伝子の網羅的発現解析で、SDSE による劇症型感染症の重症化の機構に、糖尿病背景での炎症反応の増悪が関与することが強く示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okumura K., Shimomura Y., Yamagata Murayama S., Yagi J., Ubukata K., Kirikae T., and **Miyoshi-Akiyama T.** Evolutionary path of streptococcal and staphylococcal superantigens. Submitted.
2. **Miyoshi-Akiyama T.**, Zhao J., Uchiyama T., Yagi J., Kirikae T. Positive correlation of low adhesion ability of group A streptococcus to mammalian cells with virulence in a mouse model. FEBS Microbiol. Lett. 2009. FEMS Microbiol Lett. 293(1): 107-14, 2009

2. 学会発表

1. **秋山 徹**, ゲノム解析からみた *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* の病原性. 第 58 回日本感染症学会東日本地方会学術集会/第 56 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会 H21 年 10 月・東京.
2. **Miyoshi-Akiyama T.**, K. Okumura, Y. Shimomura, S. Murayama, J. Yagi, K. Ubukata, T. Kirikae. Origin of Streptococcal Superantigens Based on Mass Genome Comparison among *Streptococcus pyogenes* and *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. American Society of Microbiology, 109th General Meeting, Philadelphia, USA. 2009.5.
3. 奥村香世, 下村有美, 村山そう明, 八木淳二, 生方公子, 切替照雄, **秋山 徹**. レンサ球菌に存在するスーパー抗原の起源に関する解析. 第 82 回日本細菌学会. H21 年 3 月. 名古屋

4. 下村有美, 奥村香世, 村山そう明, 八木淳二, 生方公子, 切替照雄, 秋山 徹.
Streptococcus dysgalactiae subsp.*equisimilis* GGS_124 株の全ゲノム配列の決定. 第 82

回日本細菌学会. H21 年 3 月. 名古屋

H. 知的財産権の出願・登録状況
 なし

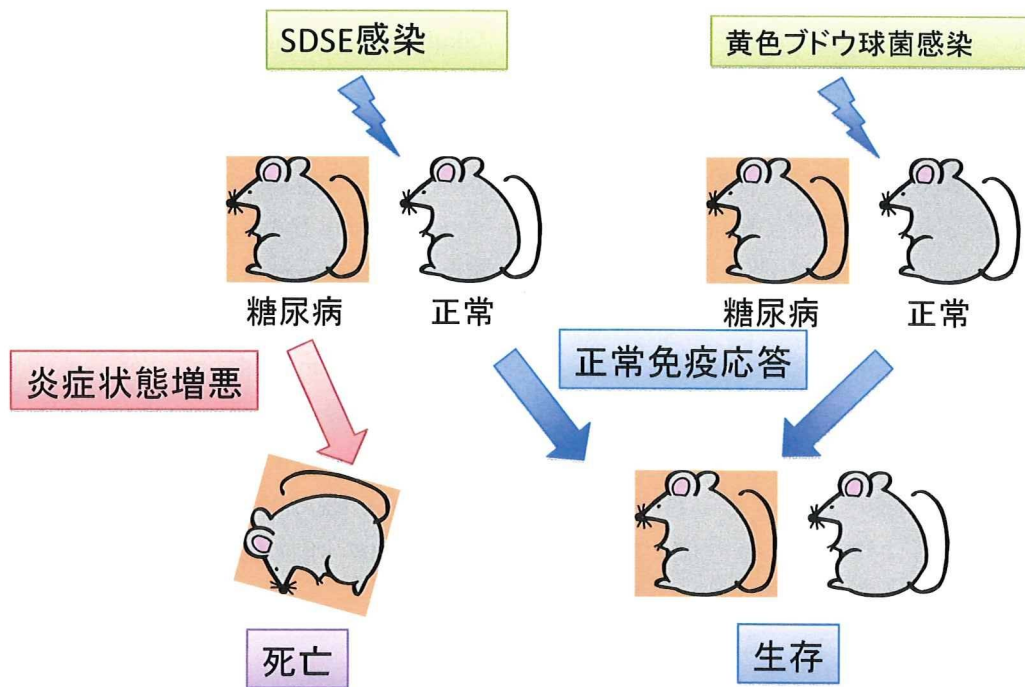


図 SDSE 感染症の糖尿病状態での劇症化機構

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
藤島清太郎	II. 危険因子	相馬一亥	ICTのための人工呼吸器関連肺炎のマネジメント	医薬ジャーナル社	東京	2009	14-20
池辺忠義, 常彬	豚レンサ球菌感染症	岸本寿男, 山田章雄	ズーノシスハンドブック	Medical Science	東京	2009	154-155

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
砂川慶介, 酒井文宜, 平尾百合子, 花木秀明, 野々山勝人, 岩田敏, 秋田博伸, 佐藤吉壮	本邦における小児細菌性髄膜炎の動向 (2007-2008)	感染症学雑誌	84	33-41	2009
Chiba N., Murayama S. Y., Morozumi M., Nakayama E., Okada T., Iwata S., Sunakawa K., Ubukata K	Rapid detection of causative eight pathogens for diagnosis of bacterial meningitis by real-time PCR	J Infect Chemother.,	15	92-98	2009
Sunaoshi K, Murayama SY, Adachi K, Yagoshi M, Okuzumi K, Chiba N, Morozumi M, Ubukata K	Molecular <i>emm</i> genotyping and antibiotic susceptibility of <i>Streptococcus dysgalactia</i> <i>e</i> subsp. <i>equisimilis</i> isolated from invasive and noninvasive infections.	J Med Microbiol.	59	82-88	2009

Murayama S.Y., Seki C., Sakata H., Sunaoshi K., Nakayama E., Iwata S., Sunakawa K., Ubukata K.	Capsular type and antibiotic resistance of <i>Streptococcus agalactiae</i> isolates from patients with invasive infections, ranging from newborn to the elderly.	Antimicrob. Agents and Chemother.,	53	2650-2653	2009
Takahashi T, Morozumi M, Chiba N, Asami R, Kishii K, Murayama SY, Ubukata K.	Co-infection with respiratory syncytial virus subgroup A and <i>Streptococcus pneumoniae</i> detected by a comprehensive real-time polymerase chain reaction assay in an elderly patient with community-acquired pneumonia.	J. of American Geriatrics Society	9	1711-1713	2009
Oikawa J, Ogita J, Ishiwada N, Okada T, Endo R, Ishiguro N, Ubukata K, Kohno Y.	Human bocavirus DNA detected in a boy with plastic bronchitis.	Pediatric Infection Journal.	28	1035-1036	2009
Baba S, Yamanaka N, Suzuki K, Furukawa M, Furuya N, Ubukata K, Totsuka K.	Clinical efficacy, safety and PK-PD analysis of tebipenem pivoxil on a phase II clinical trial in otolaryngological infections.	Jpn J Antibiot.	62	155-177	2009
Isozumi R, Yoshimine H, Morozumi M, Ubukata K, Ariyoshi K.	Adult community-acquired pneumonia caused by macrolide resistant <i>Mycoplasma pneumoniae</i> .	Respirology.	8	1206-1208	2009
Takahashi T, Sunaoshi K, Sunakawa K, Fujishima S, Watanabe H, Ubukata K.	Clinical aspects of invasive infections with <i>Streptococcus dysgalactiae</i> ssp. <i>equisimilis</i> in Japan: differences with respect to <i>Streptococcus pyogenes</i> and <i>Streptococcus agalactiae</i> .	Clin Microbiol Infect.	17	DOI: 10.1111/j.1469-0691.	2009
Peuchant O, Ménard A, Renaudin H, Morozumi M, Ubukata K, Bébéar C M, Pereyre S.	Increased macrolide resistance of <i>Mycoplasma pneumoniae</i> in France directly detected in clinical specimens by real-time PCR and melting curve analysis.	J Antimicrob Chemother.	64	52-58	2009
Takahashi T, Morozumi M, Okada T, Chiba N, Asami R, Murayama SY, Ubukata K.	Prolonged <i>Mycoplasma pneumoniae</i> infection in an elderly patient with community-acquired pneumonia.	J Infect Chemother.	15	243-247	2009
Chiba N., Morozumi M., Sunaoshi K., Takahashi S., Takano M., Komori T., Sunakawa K., Ubukata K.	Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal disease in Japan.	Epidemiol. and Infect.,	138	61-68	2010
Hasegawa M, Hashimoto K, Morozumi M, Ubukata K, Takahashi T, Inamo Y.	Spontaneous pneumomediastinum complicated by pneumonia in children infected with 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus.	Clin Microbiol Infect.	16	195-199	2010

Hasegawa M, Inamo Y, Fuchigami T, Hashimoto K, Morozumi M, Takahashi T, Watanabe H, Ubukata K.	Bronchial Casts due to 2009 Pandemic Influenza A(H1N1).	Emerging Infectious Diseases	16	344-346	2010
Yoshino M, Murayama SY, Sunaoshi K, Wajima T, Takahashi M, Masaki J, Kurokawa I, Ubukata K.	Nonhemolytic <i>Streptococcus pyogenes</i> isolates that lack large regions of the sag operon mediating streptolysin S production.	J Clin Microbiol.	48	635-638	2010
Takahashi T, Asami R, Tanabe K, Hirono Y, Nozawa Y, Chiba N, Ubukata K.	Clinical aspects of invasive infection with <i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> in elderly patients.	J Infect Chemother.	16	68-71	2010
Kishii K, Chiba N, Morozumi M, Hamano-Hasegawa K, Kurokawa I, Masaki J, Ubukata K.	Diverse mutations in the <i>ftsI</i> gene in ampicillin-resistant <i>Haemophilus influenzae</i> isolates from pediatric patients with acute otitis media.	J Infect Chemother.	16	87-93	2010
Morozumi M, Takahashi T, Ubukata K.	Macrolide-resistant <i>Mycoplasma Pneumoniae</i> : characteristics of isolates and clinical aspects of community-acquired pneumonia.	J Infect Chemother.	16	78-86	2010
生方公子	我が国における細菌性髄膜炎の現況とその迅速診断の必要性.	神経内科学会誌	14	1-8	2009
生方公子	マルチプレックス呼吸器ウイルスゲノム・リアルタイム検査.	臨床と微生物	36	61-66	2009
諸角美由紀, 生方公子	Real-time PCR 法を活用した細菌学的検索.	臨床と微生物	37	9-15	2010
坂田 宏	溶連菌感染症を反復した児から検出された A 群溶血連鎖球菌における <i>emm</i> 型別と PFGE パターン解析.	感染症学雑誌	83	647-651	2009
坂田 宏	近年の小児の溶連菌感染後急性糸球体腎炎の実態調査.	日本小児科学会雑誌	113	1809-1813	2009
Sekine K, Fujishima S, Sasaki J, Ishizaka A, Aiso S, Aikawa N	In vivo IL-18 supplementation ameliorates lethal acute lung injury in burn-primed endotoxemic mice: a novel anti-inflammatory role of IL-18.	Shock	32(5)	554-562	2009
Yogo Y, Fujishima S, Inoue T, Saito F, Shiomi T, Yamaguchi K, Ishizaka A	Macrophage derived chemokine (CCL22), thymus and activation-regulated chemokine (CCL17), and CCR4 in idiopathic pulmonary fibrosis	Respir Res	10	80	2009

Fujishima S, Shiomi T, Yamashita S, Yogo Y, Nakano Y, Inoue T, Nakamura M, Tasaka S, Hasegawa N, Aikawa N, Ishizaka A, Okada Y	Production and activation of matrix metalloproteinase-7 in idiopathic pulmonary fibrosis.	Arch Pathol Lab Med (in press)			2010
林田敬, 藤島清太郎, 宮木大, 池田雄一郎, 相川直樹	急激に septic shock を呈し死に至った黄色ブドウ球菌, 緑膿菌の混合感染による劇症型細菌性髄膜炎の1例	日本集中治療医学会雑誌	16(1)	57-60	2009
藤島清太郎	EBMに基づく ALI/ARDS の Up-To-Date	日本肺サーファクタント・界面医学会雑誌	40	137-139	2009
Kerdsin A, Oishi K, Sripakdee S, Boonkerd N, Polwichai P, Nakamura S, Uchida R, Sawanpanyalert P, Dejsirilert S.	Clonal Dissemination of <i>Streptococcus suis</i> serotype 14 in Thailand	J Med Microbiol.	58	1508-1513	2009
大石和徳, 川上和義, 永井英明, 砂川慶介, 渡辺 彰.	肺炎球菌ワクチン再接種承認の必要性に関するアンケート調査研究	日本呼吸器学会雑誌			2009
川上健司, 大石和徳.	肺炎球菌ワクチン-再接種の副反応と有用性-	Medical Practice	26	1161-1164	2009
大石和徳	23 価肺炎球菌ワクチン	内科	104	872-875	2009
Oma K, Zhao J, Ezoe H, Akeda Y, Koyama S, Ishii KJ, Kataoka K, Oishi K.	Intranasal immunization with a mixture of PspA and a Toll-Like Receptor Agonist induces specific antibodies and enhances bacterial clearance in the airways of mice.	Vaccine	27	3181-3188	2009
Ikebe T, Ato M, Matsumura T, Hasegawa H, Sata T, Kobayashi K, Watanabe H.	Highly frequent mutations in negative regulators of multiple virulence genes in group A streptococcal toxic shock syndrome isolates	PLoS Pathogens (in press)			2010
池辺忠義, 阿戸 学, 小林和夫, 渡辺治雄	劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症機序 —菌の免疫回避機構と菌の特性—	感染症学雑誌	83	485-489	2009

阿戸 学, 池辺忠義	劇症型 A 群レンサ球菌感染症における好中球傷害の機序	臨床免疫・アレルギー科	51(4)	406-413	2009
池辺忠義	劇症型溶血性レンサ球菌感染症	公衆衛生	74	34-38	2010
Matsui H., Y Sekiya, M Nakamura, S Y Murayama, H Yoshida, T Takahashi, K Imanishi, K Tsuchimoto, T Uchiyama, K Sunakawa, K Ubukata.	CD46 transgenic mouse model of necrotizing fasciitis caused by <i>Streptococcus pyogenes</i> infection	Infection and Immunity	77	4806-4814	2009
Miyoshi-Akiyama T., Zhao J., Uchiyama T., Yagi J., Kirikae T.	Positive correlation of low adhesion ability of group A streptococcus to mammalian cells with virulence in a mouse model. 2009.	FEBS Microbiol. let.	293	107-14	2009