

人), *S. agalactiae* 36.8% (24 人), *Streptococcus dysgalactiae subspecies equisimilis* (SDSE) 62.5% (9 人), その他のレンサ球菌 20.0% (46 人)であった。

- (2) 2006 年 1 月 1 日～2010 年 12 月 31 日の 5 年間に, 無菌的検体から肺炎球菌が分離された侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) 38 名, 肺炎球菌肺炎 81 名を検索し得た (男性 83 名, 年齢 69±15 歳)。28 日生存群 26 名と同死亡群 92 名との比較では, 年齢, 性別に有意差を認めなかったが, WBC, CRP, IPD の有無, SOFA 臓器別スコア (中枢, 循環, 呼吸, 凝固, 腎, 肝) に各々有意差を認めた。28 日死亡を目的変数とし, WBC, CRP, IPD の有無, SOFA 臓器別スコアを説明変数とした多重ロジスティック回帰分析の結果, IPD の有無は (OR 12.9, 95%CI 1.6-106.2, $p=0.018$), SOFA の呼吸器 (OR 6.2, CI 2.0-19.6, $p=0.002$), 凝固系 (OR 5.9, CI 1.6-21.2, $p=0.007$) スコアとともに有意な予後規定因子として抽出された。一方, 本研究期間中に高齢者の *Streptococcus dysgalactiae subspecies equisimilis* (SDSE) による髄膜炎患者を経験した。本患者では procalcitonin 値が 53.7ng/mL と著明高値をとり, 適切な抗菌療法にもかかわらず急速に病態が進行し死亡した。

D. 考 察

救急専門施設における重症敗血症全体の死亡率は諸外国と同率か低く, 国際的に見ても我が国の敗血症診療レベルが標準以上であることが明らかとなった。ただし, ガイドライン準拠率は未だ低く, 今後救急診療部門のみならず, 他診療科にも広くガイドラインを啓蒙し, 実施率を向上する必要があると思われた。

原因菌別に見ると, 肺炎球菌, *S. pyogenes*, *S. agalactiae* では他の菌種に比しとくに死亡

率は高くはなく, 重症敗血症ガイドラインに基づく標準的治療の確実な実施が有効と思われた。一方, SDSEにより重症敗血症の診断基準を満たした患者では, 標準的治療のみでは救命できない可能性が高いと思われ, 我々の経験例が治療に反応せず病態が急速に増悪したことも, このことを裏付けていた。

肺炎球菌感染症に関しても, 重症敗血症全体の死亡率は他の菌種と同等であったが, IPDや呼吸器, 凝固系の臓器機能不全を呈する症例では死亡率が高いと推察された。

今後は, 予後不良例を早期に鑑別し, 早期から集学的治療を行うことが必要と思われた。

E. 結 論

救急専門施設における重症敗血症の診療レベルは, 国際水準以上であったが, ガイドライン遵守率の改善により更なる生存率の向上を目指す必要性が認められた。SDSE感染症や, 肺炎球菌感染症の一部で死亡率が高く, その予防, 早期診断および治療法の早急な確立が必要と思われた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Goto T, Ishizaka A, Katayama M, Kohno M, Tasaka S, **Fujishima S**, Kobayashi K, Nomori H. Involvement of E-cadherin cleavage in reperfusion injury. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2010; 37(2): 426-431.
- 2) Katayama M, Ishizaka A, Sakamoto M, **Fujishima S**, Sekiguchi K, Asano K, Betsuyaku T, Kotani T, Sato N, Ware LB, Matthay MA, and Hashimoto S. Laminin $\gamma 2$ fragments are increased in the circulation of patients with early-phase acute lung injury. *Intensive Care Med*. 2010; 36(3): 479-486.
- 3) **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*. 2010; 134(8): 1136-1142.
- 4) 多村知剛, 藤島清太郎. Sepsis の細菌学的診断. *救急医学*. 2010; 34: 267-273.
 - 5) 藤島清太郎. *Streptococcus dysgalactiae subspecies equisimilis* 感染症. *化学療法の領域*. 2010; 26(8): 1622-1630.
 - 6) 林田 敬, 藤島清太郎. 呼吸管理プラクティカルガイド III. 呼吸管理中のモニタリング 7. 細菌学的検査. *救急医学*. 2010; 34(10): 1255-1258.
 - 7) 安倍晋也, 佐々木淳一, 藤島清太郎. 高齢者における皮膚軟部組織感染症(下肢). *Geriatric Medicine*. 2010; 48(19): 1351-1355.
 - 8) 藤島清太郎. 急性肺損傷(ALI), 急性呼吸促迫症候群(ARDS)の病態と診療. *日救急医学会誌*. 2010; 21: 819-827.
 - 9) 藤島清太郎. IV 治療 1. 抗菌療法 B. 経験的治療(初期選択, de-escalation など). In: 志馬伸朗, editor. *人工呼吸器関連肺炎のすべて: エビデンスに基づく予防・診断・治療*(南江堂). 2010; 182-191.
 - 10) 中野 泰, 藤島清太郎. ALI/ARDS とサイトカイン. In: 石井芳樹, editor. *別冊・医学の歩み 最新 ARDS のすべて*(医歯薬出版). 2010; 32-37.
 - 11) 藤島清太郎, 関根和彦, 林田 敬, 宮木大, 葉季久雄, 佐々木淳一, 相川直樹, 堀 進悟. 重症患者 lipopolysaccharide (LPS) 高感受性機序の解明: IL-18 の免疫修飾作用. In: 池田寿昭, 谷徹, 嶋田紘, editor. *エンドトキシン研究 13*(医学図書出版). 2010; 41-45.
 - 12) 藤島清太郎, 葉季久雄, 宮木 大, 相川直樹. VII. 各領域別の MRSA 保菌者対策と MRSA 感染症の診断・治療 13. ICU 領域. In: 河野茂, editor. *MRSA: 基礎・臨床・対策改訂版*(医薬ジャーナル社). 2010; 295-310.
 - 13) Kamata H, Fujishima S, et al. Carbon black nanoparticles enhance bleomycin-induced lung inflammatory and fibrotic changes in mice. *Exp Biol Med* (Maywood). 2011; 236(3): 315-324.
 - 14) Hayashida K, Fujishima S, et al. Early administration of sivelestat, the neutrophil elastase inhibitor, in adults for acute lung injury following gastric aspiration. *Shock*. 2011; 36(3): 223-227.
 - 15) Fujishima S. Epithelial cell restoration and regeneration in inflammatory lung diseases. *Inflammation and Regeneration*. 2011; 31(3): 290-295.
 - 16) 藤島清太郎. Sepsis 診断におけるプロカルシトニンの意義. *化学療法の領域*. 2011; 27(1): 134-141.
 - 17) Takesue Y, Oda S, Fujishima S, et al. Clinical efficacy and safety of intravenous itraconazole in the management of invasive candidiasis in patients of surgery and critical care. *J Infect Chemother*. 2012; 18: 515-521.
 - 18) 藤島清太郎. 救急・集中治療領域における感染症と予防対策: 序 重症・劇症型感染症診療と感染制御対策. *化学療法の領域*. 2012; 28(2): 218-219.
 - 19) 多村知剛, 藤島清太郎. 救急・集中治療領域における感染症と予防対策: I 救急・集中治療と重症・劇症型感染症: 1. 重症・劇症型感染症の早期診断と重症度評価. *化学療法の領域*. 2012; 28(2): 221-228.
 - 20) 藤島清太郎. 急性肺損傷(ALI)/急性呼吸窮(促)迫症候群(ARDS). *Emergency Care*. 2012; 25(7): 658-663.

- 21) 林田 敬, 藤島清太郎. Sepsis の急性期治療 適切な抗菌薬を速やかに投与する. 救急・集中治療. 2012; 24(9・10): 1132-1138.
 - 22) 藤島清太郎. ステロイド投与の是非. 感染症道場. 2012; 1(3): 46-53.
 - 23) 小林陽介, 藤島清太郎. 敗血症の治療戦略 ガイドラインを踏まえた初期治療 Q34. 経験的治療薬の選択: 敗血症と敗血症性ショックを対象に 救急・集中治療. 2012; 24(11・12): 1518-1524.
 - 24) 一二三亨, 井上潤一, 藤島清太郎. ER・ICU で問題となる感染症 壊死性筋膜炎 救急・集中治療. 2013; 25(1・2): 33-38.
2. 学会発表
- 1) 藤島清太郎. ALI/ARDS に対し今後期待される薬物療法. 第 50 回日本呼吸器学会学術講演会シンポジウム「ALI/ARDS 薬物療法の現状と将来」(京都). 2010.4.24.
 - 2) Fujishima S, Shiomi T, Yamashita S, Yogo Y, Nakano Y, Inoue T, Nakamura M, Tasaka S, Hasegawa N, Aikawa N, Ishizaka A, Okada Y. Increased expression and activation of matrix metalloproteinase-7 in idiopathic pulmonary fibrosis. 第 50 回日本呼吸器学会学術講演会 English Mini-Symposium 「Interstitial Lung Disease」(京都). 2010.4.25.
 - 3) 藤島清太郎. 第 25 回日本 Shock 学会総会イブニングセミナー「急性肺損傷: 病態の多様性と治療のストラテジー」(東京). 2010.5.28.
 - 4) 藤島清太郎. 薬物療法 up-to-date. 第 25 回日本 Shock 学会総会シンポジウム「ALI/ARDS に対する薬物療法の up-to-date」(東京). 2010.5.29.
 - 5) 藤島清太郎. VAP の治療: 耐性菌を作らないために. 第 32 回日本呼吸療法医学会学術集会 VAP シンポジウム「VAP の現状と予防・診断・治療・医療経済」(東京). 2010.7.24.
 - 6) 藤島清太郎. 炎症性肺疾患と上皮細胞の修復, 再生. 第 31 回日本炎症・再生医学会ミニシンポジウム「上皮再生と炎症性疾患」(東京). 2010.8.5.
 - 7) 藤島清太郎. 今後期待される治療法. 日本集中治療医学会関東甲信越地方会第 3 回セミナー「ALI/ARDS」(東京). 2010.11.27.
 - 8) 藤島清太郎, 杉田香代子, 生方公子, 堀進悟. β 溶血性レンサ球菌感染症の臨床像と原因菌の遺伝子解析. 第 38 回日本救急医学会総会・学術集会(東京). 2010.10.10.
 - 9) 藤島清太郎, 他. 日本救急医学会 Sepsis Registry Basic 版によるデータ収集と診療の質の評価. 第 39 回日本救急医学会総会シンポジウム(東京). 2011.10.20.
 - 10) 一二三 亨, 藤島清太郎, 他. 侵襲性肺炎球菌感染症の臨床病態に関する後ろ向き検討. 第 39 回日本救急医学会総会(東京). 2011.10.19.
 - 11) Fujishima S, Gando S, et al. Japanese Association for Acute Medicine Sepsis Registry Special Committee. Quality of care and mortality of severe sepsis and septic shock in Japan. American Thoracic Society (ATS) 2012 International Conference (San Francisco, USA). 2012.5.23.
 - 12) 藤島清太郎. 救急/ICU が抱える感染症の諸問題 重症・劇症感染症の診断と治療. 第 61 回日本感染症学会東日本地方会/第 59 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会シンポジウム 16 (東京). 2012.10.11.

- 13) 河野 茂, 藤島清太郎, 他. 全国多施設での院内肺炎の病態と治療に関する実態調査成績. 第 61 回日本感染症学会東日本地方会/第 59 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会(東京). 2012.10.11.
- 14) 藤島清太郎, 丸藤 哲, 他. JAAM-SR Basic 症例登録結果から見る我が国の敗血症診療の実態. 第 40 回日本救急医学会総会・学術集会教育講演(京都). 2012.11.14.
- 15) 一二三 亨, 藤島清太郎, 他. 肺炎球菌が原因と判断された成人急性感染症における予後因子の検討. 第 40 回日本救急医学会総会・学術集会(京都). 2012.11.14.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究(総合)報告書

劇症型溶血性レンサ球菌感染発症における宿主因子の解析

研究分担者 阿戸 学 国立感染症研究所免疫部 第二室長

研究協力者 松村 隆之 国立感染症研究所免疫部 第二室研究員

研究分担者 池辺 忠義 国立感染症研究所細菌第一部 主任研究官

研究要旨

劇症型溶血性レンサ球菌感染症において、病態における宿主因子の役割を探索する目的で、劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者血清および劇症型感染マウスモデルの血清において、インターフェロン γ (IFN- γ)およびインターロイキン6 (IL-6)が高い濃度で認められ、これらのサイトカインが病態あるいは予後に関わる可能性がある可能性が示唆された。劇症型感染動物モデルにおいて認められるこの早期のIFN- γ 産生が、従来考えられてきたレンサ球菌スーパー抗原で活性化されたT細胞から産生されるのではなく、新規に見いだされた骨髄系細胞から生じることが明らかとなった。さらに、この細胞群は劇症型感染に対して防御的に働くことが判明した。以上より、重篤な劇症型レンサ球菌感染で産生される宿主防御に関わるサイトカインとその産生細胞が明らかとなり、今後、詳細に解析することにより、診断および治療に対する応用が期待される。

A. 研究目的

劇症型溶血性レンサ球菌感染症(感染症法5類感染症 全数把握疾患)は、いったん発病すると急速に進行し、ショック症状、多臓器不全などを伴う、致死率の高い重篤な感染症である。集団発生が極めてまれで、高齢男性や生活習慣病などの危険因子があり、感染部位に炎症細胞浸潤が乏しいという特徴から、宿主因子の関与が示唆されているが、その詳細は不明である。本邦において、診断基準に基づいて診断された*S. pyogenes*を起因菌とする劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者14名から採取された血清中のサイトカインを測定した結果、インターフェロン γ (IFN- γ)とインターロイキン6 (IL-6)が産生される主要なサイトカインであることが判明した。また、ヒトで得られ

た知見を確認する目的で、劇症感染患者より分離された*S. pyogenes*株のマウス感染モデルおよび非劇症感染患者分離株をそれぞれマウスに感染させ、血清中のサイトカイン発現パターンを解析したところ、ヒトと同様のサイトカイン発現パターンを示し、IFN- γ が病態あるいは予後に関わる可能性がある因子であることが判明した。そのため、その役割および産生細胞を本動物モデルを用いて同定し、劇症型溶血性レンサ球菌感染症の病態解明と治療法の開発につながる知見を獲得することを目的とした。

B. 研究方法

1. 生物材料と培養方法

劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株は、国立感染症研究所と地方衛生研究所か

らなる衛生微生物技術協議会レファレンスセンターシステムに集められた株を用いた。劇症型溶血性レンサ球菌感染症の診断基準は、Working Group on Severe Streptococcal Infections (1993) Defining the group A streptococcal toxic shock syndrome. JAMA 269: 390–391.に従った。確定診断された劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者から採取された血清は、匿名化され解析まで -80°C で保存した。

2. 劇症型感染マウスモデルとサイトカイン濃度の測定

C3H/HeNマウス、C57BL/6マウスは日本SLCより購入した。またB6バックグラウンドIL-6欠損マウスおよびIFN- γ 欠損マウスはJackson Laboratoryより購入し、国立感染症研究所動物実験施設において飼育された。マウスに 3×10^7 cfuのemm3型*S. pyogenes*劇症型感染臨床分離株(NIH34)および咽頭炎分離株(K33)を腹腔注射にて感染させ、経時的に致死率を測定した。マウスおよびヒト血清中のサイトカイン濃度は、FlowCytoplex (eBioscience社)とフローサイトメトリーFACS Calibur (Becton, Dickinson and Company社)を用いて測定した。

3. 劇症型感染マウスモデルにおけるIFN- γ 産生細胞の同定と移入実験

マウス感染42時間後にモネンシン100 μg (Sigma社)を投与し、その6時間後に各臓器を取り出して各種抗体で染色した後、フローサイトメトリーFACS Aria (Becton, Dickinson and Company社)で解析、精製した。 3×10^6 個のIFN- γ 産生細胞またはIFN- γ 10 μg を、レシピエントマウスの静脈内に移入後、レシピエントマウスに*S. pyogenes* NIH34劇症型分離株を致死感染させ、経時的に死亡率の測定を行った。また、血液中の生菌数は、感染24時間後のマウス血液20 μL を羊血液寒天培地(Becton, Dickinson and Company社)上で培養し、得られたコロニーを数えることによって評価した。

(倫理面への配慮)

本研究で使用した検体試料に関しては、国立感染症研究所「ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会」の承認のもと、個人情報削除し完全匿名化を行った検体を研究に使用した。動物実験に関しては、国立感染症研究所動物実験実施規定に基づき、国立感染症研究所動物実験委員会の承認を経て取り行われた。遺伝子組換え実験は、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づいた国立感染症研究所組換えDNA実験実施規則に準拠し、国立感染症研究所組換えDNA実験安全委員会の承認のもと、執り行われた。

C. 研究結果

1. ヒトおよびマウス劇症型溶血性レンサ球菌感染急性期における血清中サイトカイン産生

我々は、一度に多数のサイトカイン濃度を測定できるFlowCytoplexを用いて、劇症型感染患者の急性期および治療開始後7日後以降の回復期より採取された血清中のサイトカイン産生量を測定した。その結果、劇症型感染例の急性期において、回復期と比べて、IL-6と血中IFN- γ が顕著に上昇していることを見いだした(図-1)。以上の知見を経時的に解析する目的で、劇症型レンサ球菌感染マウスモデルを作成して、感染後の血清中サイトカイン産生の動態を解析した。その結果、非劇症型感染分離株K33の感染では、血清中サイトカインの上昇は認められず、劇症型分離株NIH34の致死性感染において、IL-6とIFN- γ 血中濃度が上昇し、他のサイトカインの産生上昇は認められないというヒト患者の急性期と同様の発現パターンがマウスモデルで認められた(図-1)。以上の結果からIFN- γ とIL-6が劇症型感染における宿主要因である可能性が示唆された。

2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染マウスモデルにおけるIFN- γ とIL-6の保護的役割

IFN- γ とIL-6の宿主防御における役割を解析するため、劇症型感染分離株をそれぞれの遺伝子を欠損するマウスに感染させ、感染感受性を解析した。その結果、野生型B6マウスに比べて、IL-6欠損マウスおよびIFN- γ 欠損マウスは感染初期に高い死亡率を認めた(図-2)。また、感染24時間での血液中の生菌数を解析したところ、野生型マウスに比べて、両ノックアウトマウスにおいて血液中菌数の有意な上昇を認めた。以上のことから、IFN- γ 欠損マウスとIL-6欠損マウスが、劇症型溶血性レンサ球菌感染症に対しての高い感受性を示すことが明らかとなった。

3. IFN- γ 産生細胞の同定

次に、IFN- γ 産生細胞を同定するため、感染マウスの脾臓より細胞を単離し、各細胞分画特異的マーカーと細胞内IFN- γ を染色し、フローサイトメトリーで解析した。その結果、劇症型感染マウスにおけるIFN- γ 産生は、これまで主要なIFN- γ 産生細胞と考えられてきた、T細胞、NK細胞、NKT細胞からは感染後期にごくわずか認められる一方、顆粒球マーカーであるGr-1(Ly-6G)と単球マーカーであるF4/80を共発現する新規骨髓系細胞から大量に産生されることが判明した(図-3)。

この新規細胞亜群が生体内で果たす役割を解析するために、感染マウスから精製したIFN- γ 産生骨髓系細胞またはIFN- γ をマウスに投与し、直ちに劇症型感染分離株を致死感染させ、感染経過と血液中の菌数を解析した。その結果、IFN- γ 産生細胞およびIFN- γ の投与により、感染24時間後のマウス血液中の菌数は有意に低下し、IFN- γ が菌のクリアランスに有効な因子であることが判明した。IFN- γ 産生細胞移入マウスは致死感染に対して全例が生存したのに対して、IFN- γ 投与マウスは感染に対して生存率の

延長を認めなかった(図-4)。以上のことから、IFN- γ 産生細胞は劇症型感染に対して防御的に働くのに対し、IFN- γ 投与は菌数を低下させることができるが、宿主の生存を延長できないことが明らかになった。

D. 考 察

劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症および予後に関与する宿主因子として、*S. pyogenes*の産生する種々のスーパー抗原が、T細胞を非特異的に活性化させるためIFN- γ を初めとする炎症性サイトカインが大量に産生される結果、サイトカインストームとよばれる過剰炎症がショック等の主因になるという通説があり、劇症型レンサ球菌感染症における血漿交換療法の有効性に関する根拠のひとつと考えられていた。劇症型レンサ球菌感染症においては、*S. pyogenes*の産生するストレプトリシンOなどの毒素で好中球が傷害され、著しい好中球減少が起こるため、他の白血球による自然免疫応答の活性化が感染防御に重要であると考えられる。これに関して、IL-6やIFN- γ とは、自然免疫の活性化およびその調節に主要な役割を演じるサイトカインである可能性が高い。実際、マウスモデルでは、IFN- γ およびIL-6欠損マウスが劇症型レンサ球菌感染症に対して高い感受性を示したことから、劇症型レンサ球菌感染急性期に産生されるIFN- γ とIL-6は宿主防御に必要なサイトカインであることが示唆された。さらに、感染早期における主要なIFN- γ 産生細胞が、好中球と単球の両方の表面マーカーを発現する未熟骨髓由来細胞であること、かつ、これらの細胞から産生されるIFN- γ が、劇症型感染において宿主防御因子として働いている可能性が示唆された。しかし、IFN- γ のみの投与では、感染細菌数を減少させることはできるが宿主の生存には効果がないことから、この細胞が感染局所において

制御されたIFN- γ 産生を行い、食細胞の活性化を担っているか、別な防御因子の産生を介して宿主防御に貢献している可能性がある。今後、当該細胞による防御機構を詳細に解析するとともに、実際の劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者における同様の細胞を探索して、ヒトにおける防御因子の確認と新規治療法に役立つ知見の蓄積を目指す。

E. 結論

劇症型溶血性レンサ球菌感染症において、感染早期にIFN- γ とIL-6が大量に産生され、当感染症に対して保護的な役割を演じることが判明した。また、IFN- γ 産生細胞は、好中球と単球の両者の性質をもつ新規未熟骨髄系細胞であり、この細胞が劇症型感染に対する防御因子であることが示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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 Pathog.* 2010; 6: e1000832.
- 2) Murase Y, Konnai S, Hidano A, Githaka NW, Ito T, Takano A, Kawabata H, **Ato M**, Tajima T, Tajima M, Onuma M, Murata S, Ohashi K. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in cattle and *Ixodes persulcatus* ticks. *Vet Microbiol.* 2011; 149(3-4): 504-507.
- 3) Matsumura T, **Ato M**, Ikebe T, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K. Interferon- γ -producing immature myeloid cells confer protection against severe invasive group A *Streptococcus* infections. *Nat Commun.* 2012 Feb; 3: 678.

- 4) Matsumura T, Kobayashi K, **Ato M**. Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) and their related cell subpopulations. *The Research and Biology of Cancer.* iConcept Press 2012. ISBN: 978-14775549-9-9.
- 5) Riyapa D, Buddhisa S, Korbsrisate S, Cuccui J, Wren B, Stevens M, **Ato M**, Lertmemongkolchai G. Neutrophil extracellular traps exhibit antibacterial activity against *Burkholderia pseudomallei* and are influenced by bacterial and host factors. *Infect Immunity.* 2012; 80(11): 3921-3929.
- 6) Nakato G, Hase K, Suzuki M, Kimura M, **Ato M**, Hanazato M, Tobiume M, Horiuchi M, Atarashi R, Nishida N, Watarai M, Imaoka K, Ohno H. *Brucella abortus* exploits a cellular prion protein on intestinal M cells as an invasive receptor. *J Immunol.* 2012; 189(4): 1540-1544.

2. 学会発表

- 1) 池辺忠義, **阿戸 学**, 松村隆之, 長谷川秀樹, 小黒祐子, 嶋 智子, 奥野ルミ, 大屋日登美, 勝川千尋, 富永 潔, 緒方喜久代, 佐多徹太郎, 小林和夫, 大西 真, 渡邊治雄. 劇症型溶レン菌感染症臨床分離株で高頻度で見られる負の転写制御因子の変異. 第19回Lancefieldレンサ球菌研究会および第42回レンサ球菌感染症研究会合同学会(東京). 2010.6.
- 2) Matsumura T, T. Ikebe, H. Watanabe, K. Kobayashi, and **M. Ato**. The defensive role of interferon- γ produced by myeloid cells in invasive group A *Streptococcus* infection. 18th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages (熊本). 2010.5.

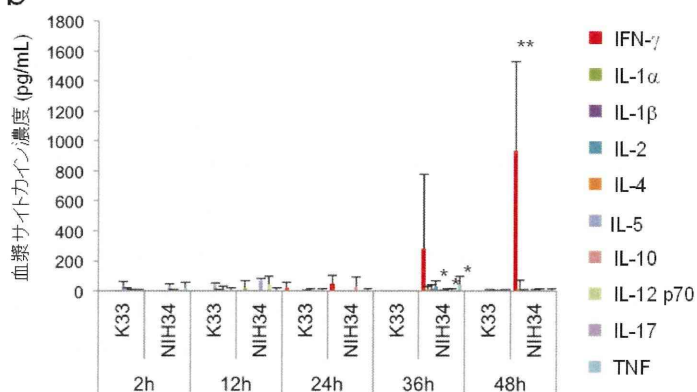
- 3) Matsumura, T., T. Ikebe, H. Watanabe, K. Kobayashi, and **M. Ato**. Identification of IFN- γ producing cells in severe invasive group A streptococcal infection. 14th International Congress of Immunology (神戸). 2010.8.
 - 4) **Ato, M.** Neutrophil dysfunctions by pathogenic bacteria. Symposium on High Throughput Approaches in Infection & Immunity (Hua Hin, タイ王国). 2010.12.
 - 5) 松村隆之, 池辺忠義, 大西 真, 渡邊治雄, 小林和夫, **阿戸 学**. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における環状核骨髄系細胞の保護的役割. 第 9 回感染症沖縄フォーラム(沖縄). 2011.2.
 - 6) Matsumura T, Ikebe T, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K, **Ato M.** A novel IFN- γ -producing subpopulations of immature myeloid cells confers protection from severe invasive group A *Streptococcus* infections. 19th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages (泉佐野). 2011.5.
 - 7) Matsumura T, Ikebe T, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K, **Ato M.** The protective role of a novel population of IFN- γ -producing cells in severe invasive group A streptococcal infections. XVIII Lancefield International Symposium (Palermo, Italy). 2011.9.
 - 8) **Ato M.**, Ikebe T, Matsumura T, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K. Contact with group A *Streptococcus* isolated from severe invasive infections induces rapid necrosis of human neutrophils. International Union of Microbiological Societies Congresses (札幌). 2011.9.
 - 9) **Ato M.** Regulatory genes of multiple virulence factors involved in severe invasive group A streptococcus infection. Singapore-Japan Joint Forum in Emerging Concepts in Microbiology (Singapore). 2011.11.
 - 10) Matsumura T, Kobayashi K., **Ato M.** IFN- γ -producing immature myeloid cells confer protection against severe invasive group A *Streptococcus* infections in mice. 第 40 回日本免疫学会学術集会(千葉). 2011.12.
 - 11) **阿戸 学**, 松村隆之, 池辺忠義, 大西真, 渡邊治雄, 小林和夫. 劇症型レンサ球菌感染症分離株による好中球ネクロシス誘導分子機構 感染症若手フォーラム(長崎). 2012.2.
 - 12) Matsumura T, Ikebe T, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K, **Ato M.** The defensive role of a novel interferon- γ -producing subpopulation of immature myeloid cells in severe invasive group A *Streptococcus* infections. 99th Annual meeting The American Society of Immunologists (Boston). 2012.5.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

a

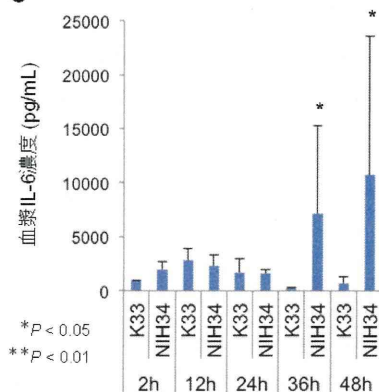
	急性期: n=10 (pg/mL)	慢性期/回復期: n=4 (pg/mL)
IL-6	15915 ± 32357 (1017-106953)**	463 ± 751 (21-1587)
IFN- γ	5532 ± 12616 (0-40740)*	4 ± 8 (0-16)

means \pm SD (range); * p < 0.05, ** p < 0.01.

b

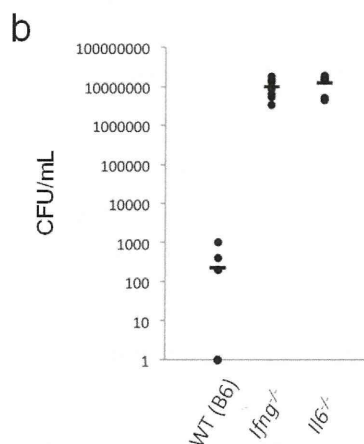
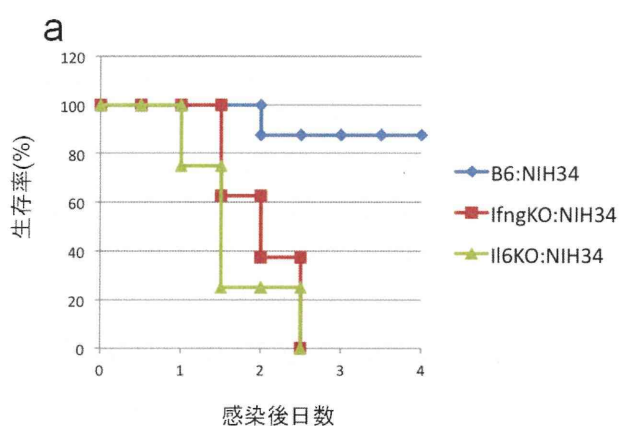


c



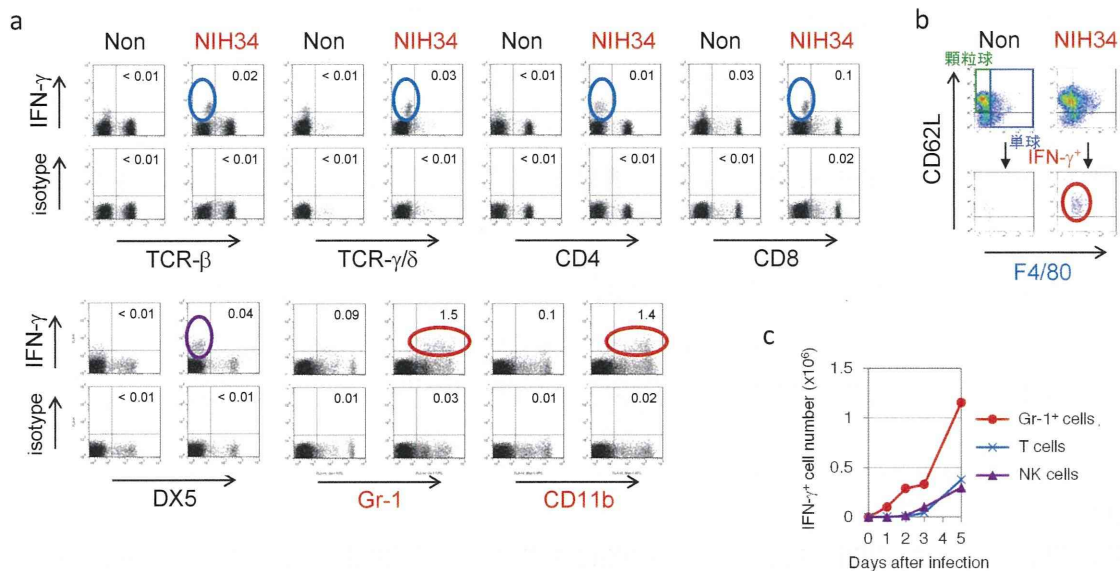
a. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者血清中サイトカイン濃度。(b,c)非劇症型感染分離株K33および劇症型感染分離株NIH34感染C3H/HeNマウスの血漿中b.各種サイトカイン産生, c. IL-6濃度

図-1 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者および劇症型感染マウスモデルにおける血液中サイトカイン産生



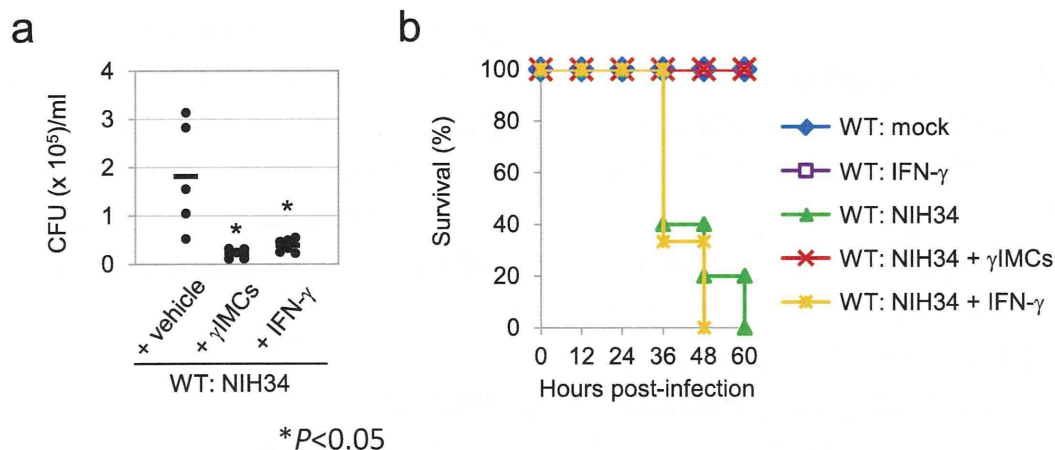
IFN- γ またはIL-6欠損マウスの劇症型感染におけるa.マウスの生存曲線およびb. 血液中菌数

図-2 IFN- γ および IL-6 欠損マウスにおける劇症型溶血性レンサ球菌感染症に対する感染感受性



a. 感染後2日の脾臓におけるIFN- γ 産生細胞。b. 単球マーカーと顆粒球マーカーを発現する新規IFN- γ 産生細胞。c. 感染経過中の脾臓内IFN- γ 産生細胞の種類と細胞数。

図-3 劇症型溶血性レンサ球菌感染マウス脾臓における IFN-g 産生細胞の同定



IFN- γ 投与またはIFN- γ 産生細胞の劇症型感染マウス移入におけるa. 血液中菌数およびb. 移入マウスの生存曲線

図-4 IFN-g 産生の劇症型溶血性レンサ球菌感染に対する保護的役割

分担研究(総合)報告書

劇症型溶血性レンサ球菌感染症の細菌学的解析および重症化に係る病原因子の解析

研究分担者 池辺 忠義 国立感染症研究所細菌第一部 主任研究官

研究分担者 阿戸 学 国立感染症研究所免疫部 第二室長

研究協力者 松村 隆之 国立感染症研究所免疫部 第二室研究員

研究要旨

劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株に特異的に発現制御因子である *csrS/csrR* 遺伝子、あるいは、*rgg* 遺伝子に変異があることを我々は見いだした。本研究では、まずこの *csrS/csrR* 遺伝子と *rgg* 遺伝子の変異が病原性にどのような影響を与えているか比較するため、咽頭炎由来株の *csrS* 遺伝子および *rgg* 遺伝子の変異株を作製し、マウスに対する致死性、および、病原性遺伝子の発現について調べた。その結果、*csrS* 遺伝子変異株は、*rgg* 遺伝子変異株より多くの病原性遺伝子の発現を上昇させ、マウスに対する致死性も強いことが明らかとなった。次に、*csrR/csrS* 遺伝子や *rgg* 遺伝子以外に、どのような遺伝子に変異があるか調べるため、ムコイドコロニーに注目して、新たな変異遺伝子を見いだすことを目的とした。その結果、制御因子である *rocA* 遺伝子や *spy0218* 遺伝子に変異があるものを見いだした。

A. 研究目的

劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、病状の進行が急激かつ劇的で、発病から数十時間以内にショック症状、多臓器不全などが起こり、患者を死に至らしめる可能性が高いことが知られている。その主な原因菌は、A群レンサ球菌である *Streptococcus pyogenes* であり、小児に咽頭炎などを引き起こすありふれた病原体である。劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株において、*csrS/csrR* 遺伝子とは別に、遺伝子の発現制御因子をコードする *rgg* 遺伝子に変異が見られることを見いだした (Ikebe et al., 2010)。まず、劇症型感染患者分離株に認められる *rgg* 遺伝子の変異と *csrS* 遺伝子の変異により、どのような病原性遺伝子の発現が上昇しているか、また、感染マウスモデルにおいて致死性に違いがあるか調べた。

次に、劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株の中に *csrR/csrS* 遺伝子や *rgg* 遺伝子に変異

がないが、別の遺伝子に変異がある可能性について検討した。我々はムコイドコロニーを形成する3株に注目した。そこで、ムコイドとなった株の原因遺伝子を解明し、劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株にどのくらいの頻度この原因遺伝子に変異があるか調べることを目的とした。

B. 研究方法

1. 生物材料と培養方法

劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株は、国立感染症研究所と地方衛生研究所からなる衛生微生物技術協議会レファレンスセンターシステムに集められた164株を用いた。劇症型溶血性レンサ球菌感染症の診断基準は、Working Group on Severe Streptococcal Infections (1993) Defining the group A streptococcal toxic shock syndrome. JAMA 269:390-391.に従った。A群レンサ球菌の生

育には、固形培地としてコロンビア 5%羊血液寒天培地 (Becton Dickinson), 液体培地として Todd Hewitt Broth (Becton Dickinson) を用いた。スペクチノマイシンは, sigma より購入し, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で使用した。

2. RNAの抽出とRT-PCR

S. pyogenes を THY 培地中で 37°C, 5% CO₂ 条件下において, OD600=0.75 まで培養した。RNeasy Mini extraction kit (Qiagen) を用いて, 製品のプロトコールに従って, total RNA を抽出した。RT-PCR は, PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time) (TaKaRa Shuzo) を用い, 製品のプロトコールに従って行った。転写量は, ABI PRISM Sequence Detection System 7000 (Applied Biosystems) を用いて測定した。

3. ゲノムDNAの調製

血液寒天培地に塗末した菌株を TE (pH8.0) に懸濁後, mutanolysin (Sigma) を添加し, 37°C で1時間処理した後, DNA精製キットを用いて精製した。

4. 塩基配列の決定

Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer を用いて, 塩基配列を決定した。

5. emm遺伝子型別

CDC のホームページの方法に従い, primer 1 (TATT(C/G)GCTTAGAAAATTAA), primer 2 (GCAAGTTCTTCAGCTTGTTT) を用いて, PCR により増幅する。PCR 産物を High Pure PCR Product purification kit (Roche) で精製し, emm seq2 (TATTTCGCTTAGAAAATTAAGG) プライマーを用いて塩基配列を決定した。決定した塩基配列を Blast-*emm* 検索サイト (<http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/strepblast.htm>) に入力し, *emm* 遺伝子型を決定した。

6. 好中球遊走試験

S. pyogenes 3 $\times 10^6$ cfu を, 好中球遊走活性をもつケモカイン IL-8 と 37°C で 60 分インキュベートした後, トランスウェル 3415 (Corning 社) の下室に, また, 好中球 3 $\times 10^5$ を上室に入れ, さらに 37°C で 60 分インキュベートして, 下室に遊走した好中球の割合をフローサイトメトリー (Becton Dickinson 社) で解析した。好中球の生死は propidium iodine の細胞内取り込みによって判定した。

7. 動物実験

S. pyogenes を THY 培地中で 37°C, 5% CO₂ 条件下において, OD600=0.6~0.8 まで培養し, 集菌後, PBS で 2 回洗浄し, PBS に懸濁した。1 $\times 10^7$ 個の *S. pyogenes* を腹腔内に 0.5 mL 接種し, 7 日間の生存曲線を調べた。マウスは, 5~6 週齢のオスの ddY マウス (日本 SLC) を用い, 国立感染症研究所動物実験施設において飼育された。

8. rocA および spy0218 遺伝子の塩基配列の決定

spy0218 遺伝子を含む領域を PCR により増幅し, 塩基配列を決定した。アミノ酸配列の変換は, GENETYX Ver.11 遺伝情報処理ソフトウェア (ゼネティックス) を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究で行われた動物実験に関しては, 国立感染症研究所動物実験実施規定に基づき, 国立感染症研究所動物実験委員会の承認を経て取り行われた。

遺伝子組換え実験は, 「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づいた国立感染症研究所組換え DNA 実験実施規則に準拠し, 国立感染症研究所組換え DNA 実験安全委員会の承認のもと, 執り行われた。

C. 研究結果

1. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症で見られる *csrS* および *rgg* 遺伝子変異株における病原性遺伝子の発現

劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株で見られた *csrS* 変異および *rgg* 変異における既知の病原性遺伝子の発現を調べるため、咽頭炎患者分離株 K33 株の *csrS* 変異株 (K33*csrS*) および *rgg* 変異株 (K33*rgg*) を作製し、これらの変異株および親株である K33 から total RNA を抽出し、定量的 RT-PCR を行った (図-1)。その結果、*csrS* および *rgg* 変異株において、細胞障害毒素をコードする *nga*, *slo* 遺伝子やストレプトキナーゼをコードする *ska* 遺伝子の発現量が増大していた。一方、莢膜多糖合成系をコードする *hasA*, C5a peptidase をコードする *scpA* や IL-8 protease をコードする *scpC* などは、*csrS* 変異株でのみ発現の上昇が見られた。このことから、*csrS* 変異株と *rgg* 変異株は、同じ病原性遺伝子の発現を上昇させるものもあるが、いくつかの病原性遺伝子に関して発現制御が異なることが考えられた。

2. マウスに対する病原性の影響

in vivo での *csrS* 変異および *rgg* 変異による病原性の変化を、マウスに対する致死性を指標として調べた (図-2)。その結果、*csrS* 変異株では、1 日目にすべてのマウスが死亡していた。また、*rgg* 変異株では、2 日後までに半分以上のマウスが死亡していたが、7 日経過後、約 10 % のマウスが生存していた。一方、変異のない株では、7 日経過後、約 80 % のマウスが生存していた。以上の結果から、変異株は、変異のない株よりマウスに対する致死性が高いが、*rgg* 変異株より *csrS* 変異株の方が、マウスに対する致死性が強いことが判明した。

3. コロニー形態の観察

劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株のうち約 47 % の株に *csrS/csrR*, あるいは *rgg* 遺伝子に変異が見られた。これらの多くは、*emm3*, *emm28*, *emm49* などの型で、それぞれの型で約 80 % の株で見られた。しかしながら、最も分離頻度の高い *emm1* 型では、約 40 % の株でしか変異が見られなかった。そこで、*csrS/csrR* 変異株で見られるムコイド型コロニーに注目してコロニー形態を調べた結果、3 株において *csrS/csrR* 遺伝子に変異がないにもかかわらず、ムコイド型のコロニーを形成するものが存在した。

4. 好中球への影響

前述のムコイド株で見られる変異が、*csrS/csrR* 制御系へ影響を与えるならば、最近の我々の研究 (Ikebe et al., 2010) で見られたような好中球の遊走能を阻害することや好中球を殺傷することが考えられる。好中球の遊走能阻害実験を行った。その結果、3 株とも、遊走能の強い阻害が認められた (図-3)。また、好中球への殺傷能を調べた結果、3 株とも、好中球を強く殺傷することが明らかとなった (図-4)。このことから、これら 3 株は、少なくとも莢膜多糖の合成系、好中球遊走阻害、好中球殺傷に影響を与えていることが明らかとなった。

5. 原因遺伝子の同定

Biswas and Scott (2003) はトランスポゾンによるランダムミュータジェネシスにより少なくとも 4 つの遺伝子のいずれかの変異でムコイド株になることを見いだした。ムコイド株を示した 3 株について、これら 4 つの遺伝子の塩基配列を決定した結果、1 株 (NIH324-2) において、*rocA* 遺伝子に変異があることが判明した。この株の変異部位は、開始コドンの A を 1 とした場合の 379 番目の T が欠失していた。この 1 塩基が欠失し

たことにより、このムコイド株は RocA の C 末側が欠失したものになった。次に、*rocA* 遺伝子が原因遺伝子であるか調べた。非侵襲性感染患者分離株の *rocA* を破壊した結果、ムコイド型コロニーを形成し、好中球の機能障害を引き起こした(図-5, 6)。また、*rocA* 変異を持った劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株にインタクトの *rocA* 遺伝子を導入した結果、非侵襲性患者分離株同様ムコイド株ではなくなり、好中球の機能障害が減少した(図-5, 6)。このことから、*rocA* 遺伝子の変異が原因であることが証明された。しかしながら、残りの2株は、4つの遺伝子はインタクトであった。

6. 発現調節因子をコードする遺伝子の比較

rocA 遺伝子に変異が見られた株以外の2株は、破壊することによりムコイドを示す既知の遺伝子に変異が見られなかった。好中球の遊走能と好中球への殺傷能の増加に起因していることを考えると、個々の毒素遺伝子の変化よりも発現制御因子の変異が起きている可能性が高い。そこで、発現調節因子をコードする136遺伝子の塩基配列を決定し、インタクトの塩基配列と比較した。1株(NIH204-1)は4つの遺伝子に、もう1つの株(NIH388-2)は2つの遺伝子に変異が見られた。

7. 変異遺伝子におけるコロニー形態と好中球の機能障害の影響

変異の見られた遺伝子について、インタクトの遺伝子をクローニングしたプラスミドを作製し、ムコイド株に導入した。導入後、血液寒天培地に接種し、コロニーの形態を観察した。その結果、NIH204-1株において、*spy0218* 遺伝子を導入した株でムコイドを形成しなかった。NIH388-2株は、変異のあったどの遺伝子を導入してもムコイドコロニーのままであった。次に、*spy0218* 遺

伝子が好中球の機能障害の原因遺伝子であるか調べた。*spy0218* 変異を持った劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株にインタクトの *spy0218* 遺伝子を導入した結果、好中球の機能障害が減少した(図-7)。このことから、*spy0218* 遺伝子の変異が原因であることが証明された。

8. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株における*spy0218*遺伝子の変異頻度

劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株164株の *rocA* および *spy0218* 遺伝子の塩基配列を決定した。その結果、両遺伝子とも本研究で使用した1株でこの変異が見られたが、それ以外の株で変異は見られなかった。非侵襲性感染患者分離株では、この遺伝子に変異は見られなかった。

D. 考 察

本研究において、*csrS*変異株は、*rgg*変異株より、多くの病原性遺伝子の発現を制御しており、かつ、*csrS*変異株の方が、*rgg*変異株よりマウスに対する致死性が高いことが判明した。劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株の57.3%の株に *csrS/csrR* 遺伝子や *rgg* 遺伝子に変異が見られるが、これらの変異の頻度は、*csrS/csrR* 変異株の方が *rgg* 変異株より多く分離されている。このことを考えると、*csrS/csrR* 変異株の方が、*rgg* 変異株より劇症型感染症を引き起こしやすいことが考えられる。

本研究において、*csrS*と *rgg*の両方の変異株において、*slo*、*nga*および *ska* 遺伝子の発現量が上昇していた。*slo* 遺伝子がコードするストレプトリジンO (SLO)は、好中球をネクロシスさせる重要な病原因子であることを我々は以前報告した。*nga* 遺伝子がコードするNucleosidase (NADase)は、侵襲性感染症に重要な役割をすることをBrickerが報告している。*ska* 遺伝子がコードするストレプトキナーゼは、プラスミノゲンに作用し、*S. pyogenes*の侵襲性感染に重要

な役割をしていることが、Sunらにより報告されている。*csrS*や*rgg*遺伝子に変異が見られる劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株において、これらの病原性遺伝子は共通して遺伝子の発現が上昇している。このことから、これらの因子は、変異株において大量産生することで、病原性を上昇させ、劇症型感染症を引き起こすのに重要な役割をしていることが考えられる。

*csrS/csrR*制御系は、直接、莢膜多糖の合成系等の病原性遺伝子を負に制御することが知られている。*csrS/csrR*遺伝子に変異の見られなかったムコイド株3株とも、*csrS/csrR*変異株と同様、ムコイド型を示し、好中球の機能障害を起こすことから、*rocA*遺伝子、*spy0218*遺伝子を含む3株の変異遺伝子は、*csrS/csrR*遺伝子の発現に何らかの影響を与えていることが考えられる。今回見いだした*rocA*遺伝子は、*csrR*遺伝子の発現を正に制御する発現制御因子として同定された。残りの株についても、同様のphenotypeを示すことから、*csrS/csrR*二成分制御系に直接的、あるいは、間接的に影響を与えていることが考えられる。本研究において、*spy0218*遺伝子の変異でムコイドコロニーを形成することを見いだした。この遺伝子は、glucokinaseと相同性がある。glucokinaseは、グルコースをグルコース6リン酸にリン酸化する酵素であり、糖代謝と関係がある。Spy0218は転写因子であると考えられていることから、代謝系と莢膜多糖や好中球の機能障害に関与する遺伝子発現の共役に重要な役割を果たしていると考えられる。

E. 結 論

劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株で見られた*csrS/csrR*遺伝子と*rgg*遺伝子の変異株を比較した結果、*csrS*遺伝子変異株は*rgg*遺伝子変異株より、多くの既知の病原性遺伝子の発現を上昇させており、マウスに対する病原性も強いことが明らかとなった。

劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株において、新たに*rocA*遺伝子、*spy0218*遺伝子に変異がある株を見いだした。この株は、莢膜多糖を大量産生し、好中球の機能障害を引き起こすことが判明した。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) **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 Pathog. 2010;6:e1000832.
- 2) **Ikebe T**, Wada A, Oguro Y, Ogata K, Katsukawa C, Isobe J, Shima T, Suzuki R, Ohya H, Tominaga K, Okuno R, Uchitani Y, Watanabe H, The Working Group for β -hemolytic Streptococci in Japan. Emergence of clindamycin-resistant *Streptococcus pyogenes* isolates obtained from patients with severe invasive infections in Japan. Jpn J Infect Dis. 2010;63:304-305.
- 3) **Ikebe T**, Oguro Y, Ogata K, Katsukawa C, Isobe J, Shima T, Suzuki R, Ohya H, Tominaga K, Okuno R, Uchitani Y, Tada Y, Okabe N, Watanabe H, The Working Group for β -hemolytic Streptococci in Japan. Surveillance of severe invasive group G streptococcal infections during 2002-2008 in Japan. Jpn J Infect Dis. 2010;63:372-375.
- 4) Yamada T, Yamada T, Yamamura MK, Katabami K, Hayakawa M, Tomaru U, Shimada S, Morikawa M, Seki T, Ariga S, Ishikawa K, **Ikebe T**, Gando S, Minakami H. Invasive group A streptococcal infection in pregnancy. J Infect. 2010;60:417-424.

- 5) 池辺忠義. 劇症型溶血性連鎖球菌感染症の病原因子. 化学療法の領域(医薬ジャーナル社). 2010;26:1601-1607.
- 6) Matsumura T, Ato M, Ikebe T, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K. Interferon- γ -producing immature myeloid cells confer protection against severe invasive group A *Streptococcus* infections. Nat. Commun. 2012;3:678.
- 7) McMillan DJ, Drèze P, Vu T, Bessen DE, Guglielmini J, Steer AC, Carapetis JR, Melderer LV, Sriprakash KS, Smeesters PR, The M Protein Study Group. Updated model of group A *Streptococcus* M proteins based on a comprehensive worldwide study. Clin Microbiol Infect. 2013;in press.

2. 学会発表

- 1) 池辺忠義, 阿戸 学, 松村隆之, 長谷川秀樹, 小黒祐子, 嶋 智子, 奥野ルミ, 大屋日登美, 勝川千尋, 富永 潔, 緒方喜久代, 佐多徹太郎, 小林和夫, 大西真, 渡邊治雄. 劇症型溶レン菌感染症臨床分離株で高頻度でみられる負の転写制御因子の変異. 第19回Lancefieldレンサ球菌研究会および第42回レンサ球菌感染症研究会合同学会(東京). 2010.6.
- 2) 外山雅美, 長野則之, 長野由紀子, 池辺忠義, 和田昭仁, 荒川宜親. *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae* による初めてのヒト侵襲性感染症例. 第19回Lancefieldレンサ球菌研究会および第42回レンサ球菌感染症研究会合同学会(東京). 2010.6.
- 3) 松村隆之, 池辺忠義, 大西真, 渡邊治雄, 小林和夫, 阿戸 学. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における環状核骨髄系細胞の保護的役割. 第9回感染症沖縄フォーラム(沖縄). 2011.2.
- 4) Matsumura T, Ikebe T, Watanabe H, Kobayashi K, Ato M. The defensive role of interferon- γ produced by myeloid cells in invasive group A *Streptococcus* infection. 18th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages (熊本). 2010.5.
- 5) Matsumura T, Ikebe T, Watanabe H, Kobayashi K, Ato M. Identification of IFN- γ producing cells in severe invasive group A streptococcal infection. 14th International Congress of Immunology (神戸). 2010.8.
- 6) 池辺忠義. 溶血性レンサ球菌による劇症型感染症の細菌学的解析. 平成23年度第21回学会賞受賞者特別講演会(東京). 2012.1.
- 7) 池辺忠義. 劇症型A群レンサ球菌感染症臨床分離株における遺伝子発現制御因子の変異. 第94回日本細菌学会関東支部総会-若手対象ワークショップ:細菌学の新たな潮流-(東京). 2011.10.
- 8) 池辺忠義, 小黒祐子, 嶋 智子, 奥野ルミ, 大屋日登美, 勝川千尋, 富永 潔, 緒方喜久代, 大西真, 渡邊治雄. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症分離株でみられたクリンダマイシン耐性株の増加. 第20回Lancefieldレンサ球菌研究会および第43回レンサ球菌感染症研究会合同学会(愛知). 2011.6.
- 9) Ikebe T, Katsukawa C, Ohya H, Suzuki R, Oguro Y, Tominaga K, Shima T, Isobe J, Ogata K, Okuno R, Fujimoto T, Tada Y, Okabe N, Ohnishi M, Watanabe H, The Working Group for β -hemolytic *Streptococci* in Japan. Molecular Epidemiology of group A *Streptococcus* isolated from patients with severe invasive infections in Japan during 2004-2010.

- XVIII Lancefield International Symposium (Italy). 2011.9.
- 10) Matsumura T, **Ikebe T**, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K, **Ato M**. The protective role of a novel population of interferon- γ producing cells in severe invasive Group A streptococcal infections. XVIII Lancefield International Symposium (Italy). 2011.9.
- 11) **Ato M**, **Ikebe T**, Matsumura T, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K. Contact with group A *Streptococcus* isolated from severe invasive infections induces rapid necrosis of human neutrophils. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (Sapporo). 2011.9.
- 12) Matsumura T, **Ikebe T**, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K, **Ato M**. A novel interferon- γ -producing subpopulations of immature myeloid cells confers protection from severe invasive group A *Streptococcus* infections. The Joint International Meeting of The 76th Annual Meeting of the Japanese Society for Interferon and Cytokine Research, and The 19th International Symposium of Macrophage Molecular and Cell Biology (Osaka). 2011.5.
- 13) **池辺忠義**. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の細菌学的解析. 第21回Lancefieldレンサ球菌研究会および第44回レンサ球菌感染症研究会合同学会(大阪). 2012.6.
- 14) **池辺忠義**, 奥野ルミ, 緒方喜久代, 嶋智子, 大屋日登美, 渡邊治雄, 大西 真. 2006-2010年に分離された劇症型溶血性レンサ球菌感染症分離株の遺伝子型と薬剤感受性. 第86回日本感染症学会総会(長崎). 2012.4.
- 15) 千葉一樹, 渡邊奈々子, 菅野奈美, 遠藤嘉子, 小黒祐子, 佐藤弘子, **池辺忠義**. 溶血性レンサ球菌レファレンスセンターの活動について. 第44回福島医学検査学会(福島). 2012.5.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

- 1) H23 (2011).4.22 北里柴三郎記念学術奨励賞受賞

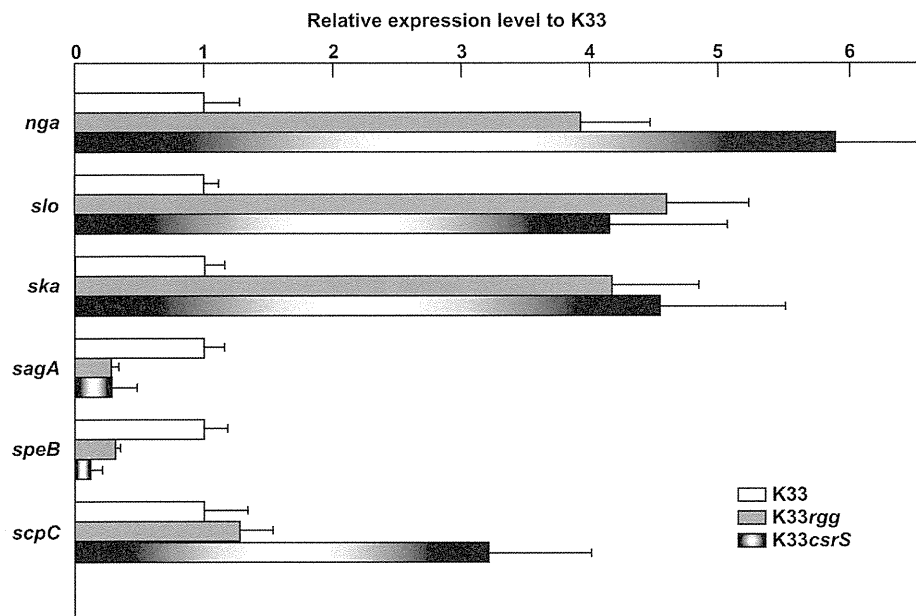


図-1 *csrS*, *rgg* 変異による毒素遺伝子の発現の影響

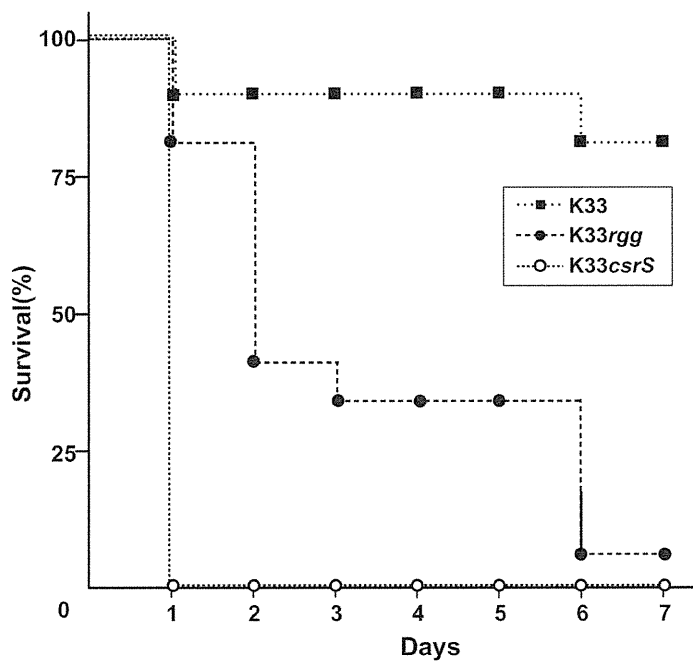


図-2 *csrS*, *rgg* 変異株におけるマウスの生存曲線

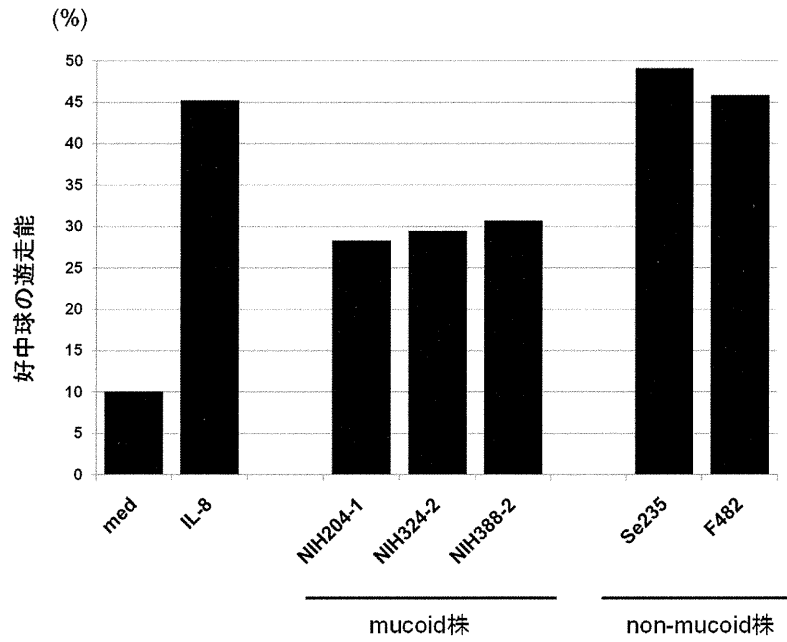


図-3 mucoid 株における好中球の遊走能阻害

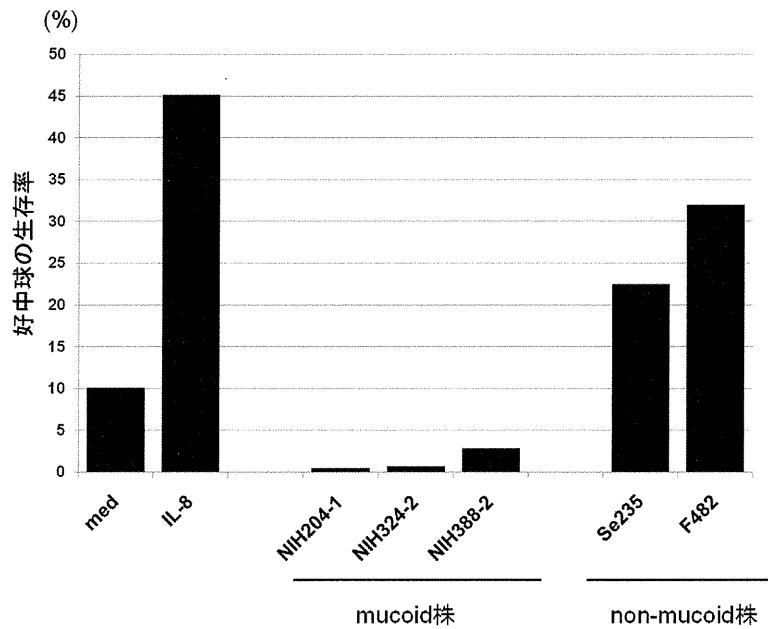


図-4 好中球に対する mucoid 株の殺傷能