

		つつい ななこ
氏 名		筒井 奈々子
学 位		博 士 (医学)
学位記番号		新大院博(医)第1198号
学位授与の日付		平成20年3月24日
学位授与の要件		学位規則第4条第1項該当
博士論文名		Distinct cytokine-inducing ability of <i>Streptococcus pyogenes</i> strains isolated from toxic shock-like syndrome cases (劇症型溶血性レンサ球菌感染症症例から分離された <i>S.pyogenes</i> 株のサイトカイン産生能に関する検討)
論文審査委員	主査 教授	山本 達 男
	副査 教授	下 條 文 武
	副査 教授	藤 井 雅 寛

博士論文の要旨

【目的】 *Streptococcus pyogenes* は A 群レンサ球菌(GAS)で知られるグラム陽性球菌である。*S. pyogenes* により引き起こされる疾患は扁桃炎、蜂窩織炎、リンパ節炎、丹毒などの急性感染症の他に、感染宿主の免疫反応が関与する猩紅熱やリウマチ熱、急性糸球体腎炎など多岐に渡るが、その中でも劇症型レンサ球菌感染症(TSLS)は致死的でより重篤な感染症である。TSLSは黄色ブドウ球菌による毒素性ショック症候群(TSS)に類似した疾患で、大量のサイトカイン産生が惹起される。A群以外の serogroup に属するレンサ球菌も TSLS を引き起こすが、GAS は報告例の 94% を占める。病原因子としては M 蛋白の他にも様々な因子が候補として考えられているが、何故 *S. pyogenes* に TSLS を引き起こす株と起こさない株があるかは不明である。TSLS 症例から分離される菌株の多くは M 蛋白 1 (M1) 型または M3 型である。しかし他の型も分離される他、M1 型や M3 型は無症状の保菌者や軽症の局所感染症患者からも分離される。このことから本研究では M 蛋白以外の病原性因子の関与の可能性を考え、TSLS 症例から分離された M3 型株と非 TSLS 症例から分離された M3 型株をもちいてマウスでの病原性とサイトカイン誘導能力を比較解析した。

【材料と方法】 TSLS 症例から分離された M3 型の *S. pyogenes* 4 株と、無症状または咽頭炎由来の M3 型 *S. pyogenes* 4 株を用いた。マウス感染実験では、各菌株 5×10^7 CFU を腹腔内に接種し、24 時間後に血液を採取して血液中の生菌数を測定した。また、接種 6 時間後と 24 時間後の血清中のサイトカインを ELISA kit を用いて測定した。In vitro においてサイトカイン誘導能を比較した実験では、マウスの腹腔マクロファージを分離し、*S. pyogenes* を加えて培養して 6 時間後のサイトカインを ELISA kit を用いて測定した。溶血活性の測定実験では、各菌株を液体培養し、培養上清を採取して溶血活性を比較した。

【結果】(1) マウスの腹腔内に TSLS 分離株と非 TSLS 分離株を接種し、24 時間後にマウス血液中の生菌数を測定したところ、TSLS 群は非 TSLS 群に比較して、有意に高値を示した。

(2) 接種 6 時間後に血中サイトカイン (TNF- α と IL-1 α) を測定したところ、TSLS 群が非 TSLS 群に比較して、有意に高い値を示した。IL-6 においては有意差を認めなかったが、TSLS 群の多く (4 匹中 3 匹) で IL-6 値は 780 pg/ml に上り、非 TSLS 群の最高値 (465 pg/ml) より高値であった。接種 24 時間後に測定した IFN- γ 値は、TSLS 群が非 TSLS 群に比して有意に高値であった。

(3) マウス腹腔マクロファージに菌株を加え、6 時間後に TNF- α を測定したところ、TSLS 群は非 TSLS 株に比べて有意に高い値を示した。しかし、IL-1 α と IL-6 では有意差を認めなかった。

(4) 各菌株を液体培養し、培養上清を回収してヘモリシン活性を比較したところ、TSLS 群が非 TSLS 由来株に比較して有意に高かった。

【考察】本研究では TSLS の発症に M 蛋白以外の病原性因子が関与する考え、ともに M3 型の TSLS 由来株と非 TSLS 由来株についてマウスでの病原性、サイトカイン誘導能を比較・解析した。TSLS 由来株は非 TSLS 由来株に比べてマウス血液中残存時間が長く、かつ TNF- α などの血清炎症性サイトカイン濃度が高く、より強毒性と考えられた。In vitro においてもほぼ同様の傾向を認めた。TNF- α は敗血症において重要なサイトカインで、ショックや組織障害を引き起こす。このような TNF- α 産生には主にマクロファージが関与するが、SpeA などのスーパー抗原が誘導する T 細胞依存性機序では説明できない。TSLS 由来株がもつ強い SLO 活性が TNF- α などのサイトカイン誘導に関与している可能性がある。

【まとめ】TSLS 由来株は非 TSLS 由来株に比べて、マウスで病原性が強く、高い炎症性サイトカイン誘導能をもつ。TSLS 由来株が示す高い SLO 活性が TSLS の病態に関与している可能性がある。

(論文審査の要旨)

劇症型レンサ球菌感染症 (TSLS) は、*Streptococcus pyogenes* によって引き起こされる致死的な重症感染症である。本研究では同じ M 蛋白型を示す TSLS 由来株と非 TSLS 由来株についてマウスでの病原性とサイトカイン誘導能を解析した。TSLS 由来株は非 TSLS 由来株に比べてマウス血液中残存時間が長く、かつ TNF- α などの血清炎症性サイトカイン濃度が高く、より強毒性と考えられた。In vitro においてもほぼ同様の傾向を認めた。TNF- α は敗血症において重要なサイトカインで、ショックや組織障害を引き起こす。このような TNF- α 産生には主にマクロファージが関与する。SpeA などのスーパー抗原が誘導する T 細胞依存性機序では説明できないため、TSLS 由来株がもつ強い SLO 活性が TNF- α などのサイトカイン誘導に関与しているのではないかと結論した。

以上、本研究は TSLS 由来株の強い病原性を明らかにした点と、SLO が TSLS の病態に関与している可能性を示唆した点に、学位論文としての価値を認める。