

機関番号：32620

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20790711

研究課題名 (和文) 黄色ブドウ球菌の新規免疫攪乱遺伝子によるアトピー性皮膚炎及び感染症への影響を探る

研究課題名 (英文) Effect of staphylococcal gene distracting host-immune system on atopic dermatitis

研究代表者

片山 由紀 (KATAYAMA YUKI)

順天堂大学 医学部 助教

研究者番号：60365591

研究成果の概要 (和文)：黄色ブドウ球菌の新規免疫攪乱遺伝子によるアトピー性皮膚炎及び感染症への影響を探る

研究成果の概要 (英文)：Effect of staphylococcal gene distracting host-immune system on atopic dermatitis

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・感染症内科学

キーワード：黄色ブドウ球菌、皮膚炎発症マウスモデル、ゲノムアイランド、病原性遺伝子群、 β 溶血毒素、皮膚定着因子、MHC ホモログ遺伝子

1. 研究開始当初の背景

黄色ブドウ球菌は、アトピー性皮膚炎の発症に関与する増悪因子の一つである。それ故、アトピー性皮膚炎の治療では、黄色ブドウ球菌の感染をいかにうまくコントロールするかが重要な鍵となる。黄色ブドウ球菌感染症は、今日の病院内に於ける最大の脅威であり、多剤耐性菌の蔓延により、その治療は困難となっているが、その病原性の全体像は未だに解明されていない。そこで、黄色ブドウ球菌の皮膚炎または感染症を予防する為に、1) 申請者らが見出した、黄色ブドウ球菌特有の”

免疫攪乱遺伝子”の感染宿主免疫系への作用機序を解明し、2) ヒト免疫の刺激や破壊のシステムと黄色ブドウ球菌の病原性について、新しい感染症発症のメカニズムを見出し、3) さらに皮膚炎増悪因子や感染症発症に起因する遺伝子の特性を利用し、その臨床応用と実用化を目指し、研究を遂行する。

2. 研究の目的

黄色ブドウ球菌ゲノム上に、種々の免疫系を攪乱すると予想される”新規免疫攪乱遺伝子群”を発見した。そこで本研究では、それ

らの遺伝子と感染宿主免疫系との相互作用を、申請者が独自に開発した *in vivo* 皮膚炎発症マウス、及びルシフェラーゼ発光感染マウス実験系で研究し、黄色ブドウ球菌の遺伝的背景(免疫攪乱物質)、感染宿主への影響、及びアレルギー性皮膚炎憎悪のメカニズムの本質に迫る。

3. 研究の方法

- 1) 黄色ブドウ球菌のβヘモリジンが、黄色ブドウ球菌の皮膚定着性とアレルギー性皮膚炎発症憎悪に関与していたので、この新しい作用機序を立証する。
- 2) 黄色ブドウ球菌由来MHCホモログ遺伝子産物は、ヒトリンパ球活性化に影響した。そこで本研究では、宿主免疫系に与える影響を *in vivo* 条件下にて検討し、その機能を解明する。
- 3) ルシフェラーゼ発光を利用した、*in vivo* imaging system による黄色ブドウ球菌感染マウスモデルの確立。
- 4) 種々の臨床分離黄色ブドウ球菌株のゲノムアイランドと免疫攪乱遺伝子群のゲノタイプングを確立したので、そのゲノタイプとその保菌者、患者における感染症の有無、感染部位、症候、治療経過などの臨床データを相関し、数理解析モデルにより、その関係を分類し、遺伝的背景から病原性を特定できるようなシステムを確立する。

4. 研究成果

- 1) 黄色ブドウ球菌の免疫攪乱物質の同定。黄色ブドウ球菌の全ゲノム配列を決定した際、70以上の新規免疫攪乱遺伝子(または群)を見出しゲノムアイランドと提唱した。アトピー性皮膚炎症を惹起する一つに考えられているセリンプロテアーゼ遺伝子群や、スー

パー抗原(SAg)群等が位置する外来性領域、ヒト主要組織適合遺伝子複合体(MHC;major histocompatibility complex)のホモログ遺伝子、接着因子、白血球走化作用阻害蛋白等を見出した。

- 2) 溶血毒素(βヘモリジン)が、従来から知られていた赤血球溶解の作用以外に、菌の細胞への定着性、及びリンパ球の細胞浸潤に関与している事が分かり、これより、毒素としての従来の概念が変わった。黄色ブドウ球菌の産生するβヘモリジン(溶血毒素)が皮膚定着性の上昇に関与していることを見出した。(マウス皮膚に定着した黄色ブドウ球菌は、ゲノムのリアレンジメントを起こし、結果、βヘモリジンを産生)。

- 3) 菌の表層外にある莢膜が、宿主病原性の作用機序に関与していた。

- 4) 菌由来ヒトMHCホモログが、宿主免疫系に対し、正または負の影響を与える宿主分子として見出された。これら4種類のMHCホモログの病原性の強度は、それぞれ異なり、感染成立のメカニズムに影響している可能性が示唆された。

- 5) “NOA マウスによる皮膚定着マウスモデル(世界初)”を確立した。



図 1.NOA/Jcl マウス (♂25 週齢)

- 6) ルシフェラーゼ発光を利用した、*in vivo* imaging system による黄色ブドウ球菌感染マウスモデルの確立。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

1. Jun Yamakawa, Mayumi Aminaka², Katsuko Okuzumi, Hiroyoshi Kobayashi, Yuki Katayama, Shigemi Kondo, Ayako Nakamura, Toyoko Oguri, Satoshi Hori, Longzhu Cui, Teruyo Ito, Jingxun Jin², Hisashi Kurosawa, Kazuo Kaneko¹, and Keiichi Hiramatsu. Heterogeneously vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (hVISA) emerged before the clinical introduction of vancomycin in Japan: A retrospective study. *Journal of Clinical Microbiology*, Submitted. (2011). 査読有
2. Matsuo, M., Hishinuma, T., Katayama, Y., Cui, L., Kapi, M., & Hiramatsu, K. Mutation of RNA polymerase β subunit (rpoB) promotes vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. mBio00293-10(2010), Submitted. 査読有
3. Watanabe, Y., Cui, L., Katayama, Y., Kishii, K., & Hiramatsu, K. Impact of RpoB mutations on decreased susceptibility to vancomycin in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*. (2011). 査読有
4. Katayama, Y., & Hiramatsu, K.. The mechanisms of resistance to vancomycin. *Rinsho Kensa* 54:481-487

(2010). 査読有

5. Sekine, M., T. Baba, Y. Katayama, Y., Hiramatsu, K. MHC analogues found in *Staphylococcus aureus* affect phagocytosis and other immune responses by human white-blood cells. *Juntendo Medical Journal*. (2010). 査読有
6. Katayama, Y., H. Kuroda-Murakami, & K. Hiramatsu. Selection of Heterogeneous Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus* by Imipenem. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 53, 3190-3196 (2009). 査読有
7. Morimoto, Y., Ito, T., Katayama, Y., Baba, T., Uchikawa, T., Ohishi, K., Hongo, I. & Hiramatsu K. The effects of antibiotics on the production of Panton-Valentine leukocidin (PVL) in *Staphylococcus aureus*. *Juntendo Medical Journal*. 54, 480-491 (2008). 査読有

[学会発表] (計 6 件)

1. Yuki Katayama, Tomomi Hishinuma, Miki Matsuo, Yoshifumi Aiba and Keiichi Hiramatsu. 8th International symposium on Antimicrobial Agents and Resistance (ISAAR) 2011. Apr. 5-8 (Souel, Korea). Complete reconstitution of vancomycin-intermediate resistance in a vancomycin-susceptible *Staphylococcus aureus* strain. (POSTER).
2. 片山 由紀、渡辺 由希子、松尾 美記、菱沼 知美、山川 潤、平松 啓一。第 58 回日本化学療法学会総会。種々の抗

生物質暴露による hVISA (Heterogeneous Vancomycin-Intermediate

Staphylococcus aureus) の出現。

2010. 6. 2-4 (長崎)。(口頭)。

3. 片山 由紀、松尾 美記、菱沼 知美、渡辺 由希子、平松 啓一。第 8 3 回日本細菌学会総会。Vancomycin 感受性黄色ブドウ球菌 (VSSA) 株 ΔIP における段階的 Vancomycin 耐性化機構の解析。2010. 3. 27-29 (横浜)。(口頭)。
4. 片山 由紀、黒田 博子、崔 龍洙、平松 啓一。第 5 7 回日本化学療法学会総会。2009. 6. 3-5 (東京)。Imipenem によるヘテロバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌 (Heterogeneous Vancomycin-Intermediate *S. aureus*; hVISA) の選択。(口頭)
5. 片山 由紀、関根 美和、馬場 理、平松 啓一。第 8 2 回日本細菌学会総会。2009. 3. 12-3. 14 (名古屋)。黄色ブドウ球菌のマウス皮膚定着性への溶血毒素 β-ヘモリジン (H1b) の関与。細菌学雑誌 vol. 82。
6. 片山 由紀、黒田 博子、平松 啓一。第 8 1 回日本細菌学会総会。2008. 3. 24-3. 26. (京都)。黄色ブドウ球菌のヘテロバンコマイシン耐性を起こす Two-component system *vraSR* の活性化について。細菌学雑誌 vol. 81. p152(口頭)。

[図書] (計 1 件)

Katayama, Y.. & Hiramatsu, K.. ブドウ球菌. 病原菌今日的意味、医薬ジャーナル社 (2010).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

片山 由紀 (KATAYAMA YUKI)