

令和 3 年 6 月 30 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08299

研究課題名(和文) 皮膚感染症由来黄色ブドウ球菌の病原因子の情報基盤

研究課題名(英文) Pathogenicity of *Staphylococcus aureus* isolated from Skin infection

研究代表者

久恒 順三 (Hisatsune, Junzo)

国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター・室長

研究者番号：40513180

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：アトピー性皮膚炎(atopic dermatitis, AD)の患者の皮膚から分離された黄色ブドウ球菌(ST20, ST121, ST59等)が保有するエンテロトキシンY(SEY)の性状解析を行なった。SEYは、マウス由来T細胞は活性化せず、ヒト由来T細胞を顕著に活性化する。さらに、SEY刺激によるTCR-V型ユニークなT細胞レパトアのポピュレーションを示すことを明らかにした。加えて、AD由来*S. argenteus*の特定のクローンのゲノム配列から、上記のenterotoxin Y遺伝子が見つかり、同様な活性を有していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アトピー性皮膚炎(atopic dermatitis, AD)の患者皮膚からは高頻度で本菌が分離されるが、ADの発症および増悪化における本菌感染との関連性は不明な点が多くある。本研究課題により、SEY産生黄色ブドウ球菌によるADの増悪化の病態形成機構が分子レベルでSEYの性状の特徴を明らかにできた。これにより本菌による皮膚感染症の予防及び治療戦略の情報基盤となる極めて重要な基礎研究であると位置付けている。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the properties of enterotoxin Y (SEY) possessed by *Staphylococcus aureus* (ST20, ST121, ST59, etc.) isolated from the skin of patients with atopic dermatitis. SEY have not activate mouse-derived T cells, but significantly activates human-derived T cells. Furthermore, it was revealed that it shows a unique population of TCR-V type T cell receptors stimulated by SEY. In addition, the above enterotoxin Y gene was found in the genome sequence of a specific clone of AD-derived *S. argenteus*, and it was revealed that it has similar activity.

研究分野：細菌毒素

キーワード：黄色ブドウ球菌 エンテロトキシンY ヒト由来T細胞 *Staphylococcus argenteus*

## 1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis, AD) の患者患部皮膚からは高頻度で黄色ブドウ球菌が分離されるが、AD の発症および増悪化における本菌感染との関連性は不明な点が多い。皮膚は黄色ブドウ球菌のリザーバーとされているが、健常人の皮膚からの本菌の検出率は極めて低い。一方、AD 患者の患部皮膚から高頻度で本菌が検出されることが一般的によく知られている。また、多くの小児 AD 患者は、皮膚表面に黄色ブドウ球菌が定着し、さらに伝染性膿痂疹などに罹患し易い事が知られている。多様な疾患を引き起こす黄色ブドウ球菌は、様々なゲノタイプの系統クローンが存在し、特定の疾患と関連性が多数報告されている。

## 2. 研究の目的

本菌の分子疫学解析及びゲノム解析から皮膚感染症 (特に AD) 由来株が新規エンテロトキシン Y (SEY) 遺伝子を高頻度で保有していることを見出した。研究協力者の小野らは SEY がヒト T 細胞に強いスーパー抗原活性を示すことを報告した。

本研究は、SEY が皮膚感染症、特に AD 発症・増悪においてどのような生物活性を発揮するか、どのような役割を担っているのかについて究明する。

## 3. 研究の方法

1) 精製 SEY はマウス脾細胞ではスーパー抗原活性を示さないが、ヒト由来末梢血単核球では活性を示し (Ono H et al, Appl. Environ. Microbiol. 2015)、SEY 産生株がヒト T 細胞の増殖及び活性化させることを明らかにした (Iwamoto K et al, J. Dermatol. Sci. 2016)。そこで、まず、活性化される T 細胞の受容体 (TCR) レパートリー (多様性) を検討するため、次世代シーケンサを用いたヒト T 細胞レパトア解析を実施する。また IL-2 や IFN- $\gamma$  などのサイトカインを ELISA 法にて産生量を測定して活性化能を解析する。抗原刺激として精製 SEA や SEB を比較対象として用いる。また IL-2 や IFN- $\gamma$  などのサイトカインを ELISA 法にて産生量を測定して活性化能を解析する。抗原刺激として精製 SEA や SEB を比較対象として用いる。健常人、または、AD 患者の末梢血から単核球を単離し、*in vitro* で LCs または DCs を分化誘導させて作製し、表面マーカーの発現を解析する。精製 SEY、または、*sey* 欠損株で刺激による反応性を FACS 法により検出する。

## 4. 研究成果

アトピー性皮膚炎の患者患部皮膚から分離されたブドウ球菌属の系統株が産生するエンテロトキシン Y (SEY) の性状解析について論文報告した。さらに、*Staphylococcus argenteus* のゲノム比較解析から、AD 患者由来株の ST2250 のクローンにおいて、新規の SEY 様遺伝子 (SEYarg) を見出し、組換え SEYarg を作製して、黄色ブドウ球菌の SEY と比較するために、スーパー抗原活性及び TCR レパトア解析を行い、黄色ブドウ球菌と同様にエンテロトキシンファミリーの中で特有にユニークな性状を有することを明らかにした。加えて、ゲノム比較解析において、公共データベースに登録されている全株のデータセットを入手して、系統比較解析を行った結果、SEYarg を有する *S. argenteus* の系統は、ST2250 のみにみられ、日本国内で検出されている系統は *mecA* 陰性の ST2250-CA-MSSArg であることが判明した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Aziz Fatkhanuddin, Hisatsune Junzo, Yu Liansheng, Kajimura Junko, Sato ' o Yusuke, Ono Hisaya K., Masuda Kanako, Yamaoka Mika, Salasia Siti Isrina Oktavia, Nakane Akio, Ohge Hiroki, Kusunoki Yoichiro, Sugai Motoyuki	4. 巻 88
2. 論文標題 Staphylococcus aureus Isolated from Skin from Atopic-Dermatitis Patients Produces Staphylococcal Enterotoxin Y, Which Predominantly Induces T-Cell Receptor V -Specific Expansion of T Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Infection and Immunity	6. 最初と最後の頁 e00360-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/IAI.00360-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Chiba Naoko, Tanimoto Koichi, Hisatsune Junzo, Sugai Motoyuki, Shibayama Keigo, Watanabe Haruo, Tomita Haruyoshi	4. 巻 16
2. 論文標題 Detection of mcr-1-mediated colistin resistance in E. coli isolate from imported chicken meat from Brazil	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Global Antimicrobial Resistance	6. 最初と最後の頁 249 ~ 250
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jgar.2019.02.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kitagawa Hiroki, Ohge Hiroki, Hisatsune Junzo, Kajihara Toshiki, Katayama Keijiro, Takahashi Shinya, Sueda Taijiro, Sugai Motoyuki	4. 巻 58
2. 論文標題 Prosthetic Valve Endocarditis Caused by ST8 SCC<i>mec</i>IVI Type Community-associated Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 743 ~ 747
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2169/internalmedicine.1415-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Moriwaki Masaya, Iwamoto Kazumasa, Niitsu Yoshie, Matsushima Ayako, Yanase Yuhki, Hisatsune Junzo, Sugai Motoyuki, Hide Michihiro	4. 巻 74
2. 論文標題 Staphylococcus aureus from atopic dermatitis skin accumulates in the lysosomes of keratinocytes with induction of IL-1 secretion via TLR9	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 560 ~ 571
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/all.13622	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Fatkhannudin Aziz, Junzo Hisatsune, Junko Kajimura, Liansheng Yu, Yusuke Sato 'o, Hisaya K. Ono, Akio Nakane, Mika Yamaoka, Yoichiro Kusunoki, Hitoshi Komatsuzawa, Hiroki Ohge and Motoyuki Sugai
2. 発表標題 TCR sequencing facilitates the characterization of human T-cells activation manner following staphylococcal superantigen stimulation
3. 学会等名 日本ブドウ球菌研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 増田加奈子、久恒順三、高橋伸、奥原俊彦、大毛宏喜、菅井基行
2. 発表標題 西日本における皮膚感染症由来ST8 CA-MRSA/Jの分子疫学調査
3. 学会等名 第30回日本臨床微生物学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小幡祥子, 川崎洋, 福島彩乃, 持丸奈央子, 関口文世, 海老原全, 久恒順三, 于連升, 菅井基行, 天谷雅行
2. 発表標題 ゲノタイプ解析を用いたアトピー性皮膚炎患者皮膚に特異的な黄色ブドウ球菌株に関する検討
3. 学会等名 第67回日本アレルギー学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 久恒順三, 川崎洋, 于連升, 増田加奈子, 沓野祥子, 荒井千夏, 小幡祥子, 福島彩乃, 持丸奈央子, 関口文世, 海老原全, 天谷雅行, 菅井基行
2. 発表標題 アトピー性皮膚炎患者と健常人の皮膚由来黄色ブドウ球菌株の解析
3. 学会等名 第63回日本ブドウ球菌研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Aziz F, Hisatsune J, Liansheng Y, Masuda K, Sato ' o Y, Ono K H, Kajimura J, Kusunoki Y, Sugai M
2. 発表標題 A unique staphylococcal enterotoxin SEY : prevalence and it ' s characterization
3. 学会等名 第63回日本ブドウ球菌研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北川浩樹, 久恒順三, 増田加奈子, 大毛宏喜, 菅井基行
2. 発表標題 広島大学病院におけるST8 CA-MRSA/J系統株による菌血症の臨床像と遺伝学的検討
3. 学会等名 第63回日本ブドウ球菌研究会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関