

令和 6 年 5 月 14 日現在

機関番号：32728

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15437

研究課題名（和文）肺炎球菌性肺炎における疾患感受性遺伝子の同定と病態増悪機構の解明

研究課題名（英文）Identification of Susceptibility Genes and Aggravation Mechanisms for Severe Pneumococcal Pneumonia

研究代表者

進藤 綾大（Shindo, Ryodai）

湘南医療大学・薬学部医療薬学科・助教

研究者番号：20807276

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）：本研究では、肺炎球菌性肺炎に対する疾患感受性遺伝子（群）を同定し、その病態増悪への役割について解析した。比較ゲノム解析ならびに連鎖解析からケモカインレセプターである Cxcr2 を責任遺伝子として同定した。Cxcr2 およびそのリガンドである Cxcl1・Cxcl2 の肺における発現量を測定したところ、野生型マウスと比較して重症型マウスでは発現誘導の遅延が認められた。このことに相関して、重症型マウスでは好中球・マクロファージの肺への動員の遅延、炎症性サイトカインの著増が認められた。以上のことから、感染初期の病原体への応答が遅れることが肺炎の重症化に関わることが推察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺炎は、主要な死因別の死亡率において悪性新生物、心疾患に次ぐ第5位に位置しており、その死亡者のうち65歳以上の割合は97%に達する。日本は超高齢化社会に突入しており、更なる肺炎による死亡者数の増加が懸念されることから、肺炎球菌性肺炎による重症化を理解することは喫緊の課題といえる。本研究では肺炎球菌性肺炎の重症化に関わる遺伝因子を特定することができ、それらが肺炎球菌感染の初期応答に不具合を生じることから、結果として肺炎の重症化が進行することが判明した。今後は肺炎球菌性肺炎の重症患者と本疾患因子との相関性を明らかにすることにより、重症化の予防・予測などに役立てられるものと期待している。

研究成果の概要（英文）：In this study, we identified a disease susceptibility gene(s) against *Streptococcus pneumoniae* and analyzed its role and function. Comparative genomic analysis and linkage analysis identified the susceptible gene group, which included the chemokine receptor CXCR2. The expression of Cxcr2, Cxcl1 and Cxcl2 in the lungs was measured. Analysis of neutrophils and macrophages in mice with severe lung inflammation showed delayed recruitment of neutrophils and macrophages to lungs and increased production of inflammatory cytokines in correlation with gene expression results. It was suggested that the delayed response to pathogens in the early stages of infection is related to the severity of pneumonia.

研究分野：免疫学

キーワード：肺炎球菌 重症肺炎 疾患感受性遺伝子 CXCR2 免疫応答 感染制御 CIITA 疾患感受性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺炎球菌は、ブドウ球菌と並びヒトに対して病原性の強いグラム陽性球菌であり、市中肺炎の原因菌として最も高頻度に分離される起炎菌である。市中肺炎の原因菌の分離頻度を見ると、報告地域・国に関わらず肺炎球菌が第1位となり、また成人の髄膜炎症例においても本菌によるものが30~40%と最も重要な病原菌となっている (Arts et al.: Clin Microbiol Rev, 2023)。臨床上問題となる肺炎球菌は限られた莢膜型であること、その莢膜型を考慮してワクチンが創られていることを考慮すると、肺炎球菌の莢膜型はりんしょうに直結する最も重要な病原因子であると考えられる。このため、莢膜型と病原性との関連も複数の検討が行われているが、病態の理解にまで繋がっていないのが現状である (Mitchell et al.; Clin Microbiol Infect, 2010)。宿主側の生体防御反応も肺炎の増悪に関与しており、好中球貪食機能の低下や、好中球により過剰産生されたエラスターゼによる組織破壊などが、その一因となっていることが実験的に明らかとなっている (Cole et al.: Adv Microbiol Physiol, 2014; Krone et al.: Lancet Respir Med 2014)。しかし、いずれも肺炎球菌性肺炎の重症化要因および機序を説明することができるものではなく、臨床研究まで到達することができていないのが現状である。

2. 研究の目的

上記研究背景からも、ヒト宿主に対する本菌の病原性メカニズムおよび本菌に対する宿主側の感染防御メカニズムを解明し、治療・予防戦略をとることが喫緊の課題である。すでに申請者らのグループでは肺炎球菌に対する致死感受性の高いマウス種を見出しており、これをツールに致死感受性に関わる責任遺伝領域の特定を概ね終えている。そこで本研究では、肺炎球菌に対する疾患感受性遺伝子(群)を同定し、その役割・機能を解析する。本研究により得られる知見は、重症細菌性肺炎治療・ワクチン予防に対して新たな方向性を提案することができるものである。

3. 研究の方法

既に申請者らは、肺炎球菌に対する致死感受性の高いマウス種を見出し、これを利用して責任遺伝領域の特定を終えている。そこで本研究では、対象マウスから全ゲノム情報を取得し比較遺伝学的解析を行い、本領域内に存在する遺伝情報から致死感受性要因の特定を行う。また感染免疫学的手法により、肺炎球菌の認識および防御反応に関わる因子を探索し、肺炎の重症化と肺炎球菌の莢膜型との関連性を明らかにする。

(1) ゲノム解析の実施

CBA/JN マウスの全ゲノム配列を決定し、責任遺伝子領域を中心に禁煙マウス種との配列比較解析を実施する。得られた配列データをもとに解析サーバー内にて参照配列 (CBA/J および C57BL/6) に対し取得リードをマッピングすることにより、配列決定および変異の検出を行う。

(2) 生体防御反応と病原体認識機構の解析

責任遺伝領域内に存在するケモカインレセプターである Cxcr2 およびそのリガンドである Cxcl1、Cxcl2 の肺での発現量を調べたところ、肺内菌数の増加と相関して CBA/JN マウスにおいて強く発現が認められた。そこで感染後の経時的变化を解析することで、感染初期・中期・後期のどの時期に反応が強く認められるかを特定する。また、反応性の違いが最も認められた時期の肺を回収し、各種免疫担当細胞等の解析を実施する。

(3) 肺炎の重症化と肺炎球菌の莢膜型との関連性

肺炎球菌は莢膜の構造の違いにより、約100種類の莢膜型が報告されており、莢膜型によりその病原性や薬剤への耐性は異なることが知られている。これまでの我々の検討においても、莢膜型19Fの肺炎球菌では肺炎の重症化が認められるが、莢膜型3や莢膜型14では肺炎の重症化が認められないことが明らかとなっている。そこで19F型の莢膜欠損株を使用することで、CBA/JN マウスの反応性について検討を行う。

4. 研究成果

(1) CBA/JN マウスの全ゲノム解析

CBA/JN マウスの全ゲノム配列を決定した。せきん遺伝子領域を中心に C57BL/6 および CBA/J マウス (CBA/JN マウスの近縁種) との配列比較解析を実施したが、各種構造遺伝子内に塩基置換などの変異は認められなかった。肺炎球菌感染時には、CBA/JN マウス (肺炎重症型) と CBA/J マウス (野生型) との遺伝子発現量に差が認められるため、これらの要因についてさらに検討する必要がある。

(2) 疾患感受性遺伝子の生体防御反応への関与

CBA/JN マウスの責任遺伝領域内に CXCR2 が存在する。予備検討において、責任遺伝領域に存在するケモカインレセプターである CXCR2 およびそのリガンドである CXCL1、CXCL2 の肺における発現量を調べたところ、肺内菌数の増加と創刊して CBA/JN マウスにおいて強く発現が認められた。そのため、これらの遺伝子発現量について詳細な検討を行ったところ、特に感染初期において CBA/JN マウスでの遺伝子発現の遅延が認められた。また、CBA/J および CBA/JN マウスの好中球・マクロファージ数を FACS 解析により検討したところ、遺伝子発現の結果に相関して CBA/JN マウスでは好中球・マクロファージの肺への僧院が遅延していた。これらのことは、CBA/JN マウスにおいて感染後の初期応答が遅延していることを示唆している。今後は、特に感染初期に焦点を当て好中球・マクロファージを単離し、肺炎球菌に対する貪食能・殺菌能の観察、両者のクロストーク、抗原提示に関与する樹状細胞やその後の T 細胞のぶんか・増殖への影響を解明したい。

(3) 肺炎重症化と肺炎球菌莢膜との関連性について

本肺炎球菌モデルでは莢膜型 19F の肺炎球菌が肺炎の重症化に関わっており、その他の莢膜型 (3 型、14 型) では肺炎の重症化は認められない。このため、宿主側の疾患感受性遺伝子と病原体側の病原因子 (莢膜構造) の双方の因子が重なった時に肺炎が重症化する可能性がある。そこで、19F 型の莢膜欠損株を用いて CBA/JN マウスにおける反応性について検討した。19F 型莢膜を保有しない莢膜欠損株を CBA/JN マウスに感染させると、肺炎は重症化せず、欠損株は直ちに排除された。このときの Cxcr2、Cxcl1/2 の遺伝子発現を調べたところ、野生型菌株のような反応の遅延は認められなかった。以上の結果から、莢膜構造が肺炎の重症化に寄与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 進藤綾大、梶原千晶、館田一博、木村聡一郎
2. 発表標題 肺炎球菌性肺炎における疾患感受性遺伝子の同定と病態増悪機構の解明
3. 学会等名 第34回微生物シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ryodai Shindo, Soichiro Kimura, Yoshikazu Ishii, Kazuhiro Tateda
2. 発表標題 Genetic linkage analysis identifies pneumococcal susceptibility locus in mice
3. 学会等名 The 3rd Asian Pneumococcal Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021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
---------	---------