

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 24 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460085

研究課題名(和文) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における未熟骨髄系細胞の機能解析

研究課題名(英文) The defensive role of immature myeloid cells in severe invasive group A streptococcal infections

研究代表者

松村 隆之 (Matsumura, Takayuki)

国立感染症研究所・免疫部・主任研究官

研究者番号：50434379

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：A群レンサ球菌(Group A Streptococcus)は、通常、上気道粘膜もしくは皮膚表面で局所感染を引き起こすが、劇症型レンサ球菌感染では急激なショックと菌血症を伴う致死的全身感染となる。劇症型感染臨床分離株において遺伝子発現パターンに変化が認められる一方、発症には宿主要因の関与が示唆されている。しかし、劇症型感染発症と病態に対する炎症メディエーターの関与は不明な点が多い。申請者らは劇症型感染マウスモデルにおいて、IFN- およびIL-6産生未熟骨髄系細胞を発見し、劇症型感染の発症と病態に対して新規細胞が宿主防御的に働くことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Group A Streptococcus (GAS) infections range from mild symptoms, such as skin infections, to serious infections including toxic shock syndrome. Neutrophils and myeloid cells are important in protecting against GAS infections. However, during severe invasive GAS infections that accompanied with neutropenia, it had been unclear which factors are protective against such infections, and which cell population is the source of them. Here we show that mice infected with severe invasive GAS isolate exhibit excessive levels of plasma interferon (IFN)-g and interleukin (IL)-6. Interestingly, immature myeloid cells (IMCs) are the source of IFN-g and IL-6 in mice infected with severe invasive GAS isolates. Adoptive transfer of IMCs is successful to improve bacterial clearance and survival rate of mice infected with severe invasive GAS isolate. Our results indicate that IMCs have a defensive role in severe invasive GAS infections.

研究分野：医歯薬学

キーワード：劇症型溶血性レンサ球菌感染症 IFN- IL-6

1. 研究開始当初の背景

劇症型溶血性レンサ球菌感染症(感染法:五類全数把握感染症)は、米国では1987年に、日本では1992年に最初に報告されて以来、現在までに500人を超える患者が確認され、このうち約40%が死亡しているというきわめて致死率の高い感染症である。病態の進行が急激かつ劇的で、数十時間以内に急性腎不全、ARDS、DIC、多臓器不全、軟部組織壊死を引き起こし、患者をショック症状から死に至らしめる。劇症型溶血性レンサ球菌感染症の大部分がA群レンサ球菌(Group A *Streptococcus*; GAS)である *Streptococcus pyogenes* 感染によって起こる。上気道炎、猩紅熱、蜂窩織炎などのそれまでの溶血性レンサ球菌感染症と全く異なる病型を示すことから、レンサ球菌が新規病原因子発現を獲得、あるいは既知病原因子の発現が上昇して劇症型感染を引き起こすと考えられてきたが、これまで劇症型感染の発症や病態を説明できる単一のレンサ球菌病原因子は報告されていない。一方、劇症型感染の疫学的特徴として、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、宿主要因の関与があると考えられている。

申請者らは近年、劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株の一部において、様々な病原因子の発現誘導シグナルを負に制御するタンパク質 rgg に遺伝子変異があることを見出した。そこでマウスに emm3 型の非劇症型感染臨床分離レンサ球菌株(K33)、 rgg 遺伝子を変異させた K33 (K33 rgg)、 劇症型感染臨床分離レンサ球菌株(NIH34)、 正常な rgg 遺伝子を導入した NIH34 (NIH34 rgg+)を腹腔内感染させたところ、 K33 rgg および NIH34 感染においてのみ、感染早期から高い死亡率を示すことが明らかとなった。すなわち、変異した rgg を持つ菌株は劇症型感染を引き起こし、正常な rgg を持つ菌株は非劇症型感染を引き起こすことが明らかとなった。したがって、 rgg 変異が溶血性レンサ球菌側の劇症型感染要因の一つであると考えられた。

また劇症型感染マウスにおいては、感染早期から血中 IFN- γ および IL-6 産生量が増加することが確認された。同様に、ヒト劇症型感染例では、血中 IFN- γ および IL-6 産生量が顕著に増加していることが判明した。驚くべきことに、いずれのヒトおよびマウス血中においても IL-1, TNF- α , IL-17 などの炎症性サイトカインはほとんど検出されなかった。以上の結果から、IFN- γ および IL-6 が劇症型感染における宿主要因の一つであると考えられた。これまで、GAS 感染におけるサイトカインは、GAS の産生するスーパー抗原により活性化された T 細胞から大量に産生され、宿主に負の影響を与えると考えられてきたが、申請者らは劇症型レンサ球菌感染症における主要な IFN- γ および IL-6 産生細胞は未熟骨髄系細胞 (immature myeloid cells; IMCs)

であることを発見した。

2. 研究の目的

本研究では、劇症型レンサ球菌感染における IFN- γ および IL-6 産生 IMCs に着目し、抗 IFN- γ 中和抗体投与マウス、抗 IL-6 受容体中和抗体投与マウス、IFN- γ 投与マウス、IL-6 投与マウス、IFN- γ 欠損マウスおよび IL-6 欠損マウスを用いた解析により、劇症型レンサ球菌感染症の発症と病態に対して、IFN- γ および IL-6 が促進的あるいは抑制的に働くかを解明し、劇症型感染における IFN- γ および IL-6 産生 IMCs の役割を明らかにする。本研究の目標は非劇症型および劇症型感染における宿主応答の相違を解明して、宿主応答の分子機構の理解を深め、その知見を応用した劇症型感染症の制御を目指すことである。

3. 研究の方法

まず、抗 IFN- γ 中和抗体投与マウス、抗 IL-6 受容体中和抗体投与マウス、IFN- γ 投与マウス、IL-6 投与マウス、IFN- γ 欠損マウスおよび IL-6 欠損マウスを用いて、劇症型レンサ球菌感染症の発症と病態に対して、IFN- γ および IL-6 が促進的あるいは抑制的に働くかを検証する。また、IFN- γ および IL-6 産生 IMCs を養子細胞移植したマウスにおける病態を解析することで、劇症型感染の発症と病態に対する IFN- γ および IL-6 産生 IMCs の役割を明らかにする。

4. 研究成果

最初に、感染個体レベルにおける IFN- γ および IL-6 の役割について比較検討した。抗 IFN- γ 中和抗体投与マウスや IFN- γ 欠損マウスと同様に、抗 IL-6 受容体中和抗体投与マウスや IL-6 欠損マウスに劇症型 GAS を感染させると、コントロールマウスと比べ早期に死亡したことから、劇症型 GAS 感染症において IFN- γ および IL-6 は宿主防御に必須な因子であると考えられた。

次に、フローサイトメトリー解析により、劇症型 GAS 感染における主要な IFN- γ および IL-6 産生細胞は、環状核を有し、顆粒球と単球の両方のマーカーを発現する IMCs であることを確認した。興味深いことに、IFN- γ 欠損マウスおよび IL-6 欠損マウスを用いた半致死感染モデルにおいて、野生型マウス由来の IMCs に類似した細胞集団の存在が示された。そこで、野生型マウス由来の IMCs、IFN- γ 欠損マウス由来の IMC 類似細胞群あるいは IL-6 欠損マウス由来の IMC 類似細胞群の養子細胞移植実験を行った。IFN- γ 欠損マウス由来の IMC 類似細胞群や IL-6 欠損マウス由来の IMC 類似細胞群を養子細胞移植したマウスにおいては劇症型 GAS、感染に抵抗性を示さなかった。一方で、野生型マウス由来の IMCs を養子細胞移植した場合は、劇症型 GAS 感染マウスの血中の過剰なサイトカイ

ン・ケモカイン産生、菌のクリアランスや生存率が著しく改善した。以上の結果から、IMCsが産生するIFN- γ およびIL-6が劇症型溶血性レンサ球菌感染において宿主防御に寄与すると考えられた。また、IFN- γ についてはIMCsからのNO産生によるGASの排除に寄与し、IL-6については過剰なサイトカイン・ケモカインの産生を抑える可能性が見出され、IMCsは細菌の排除および過剰な炎症の抑制という二つの面を有することで宿主防御的に機能できると考えられた。

さらに、野生型マウス由来のIMCs、IFN- γ 欠損マウス由来のIMC類似細胞群およびIL-6欠損マウス由来のIMC類似細胞群のGASに対する応答性について比較検討を行った。その結果、野生型マウス由来のIMCsに比べ、IFN- γ 欠損マウス由来のIMC類似細胞群およびIL-6欠損マウス由来のIMC類似細胞群はGASに対する初期応答に異常があることが示された。IFN- γ およびIL-6の欠損がIMCsの初期応答に影響することから、これらのサイトカインは細胞の活性化および分化にも寄与することが示唆された。また、このことは野生型マウスに比べ、IFN- γ 欠損マウスおよびIL-6欠損マウスは劇症型GAS感染に抵抗性がない一つの理由であると考えられた。

今後、IMCsの詳細な分化誘導機構や、IMCsのGASに対する宿主応答機構について、さらなる検討が必要であると思われる。

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1件)

Matsumura T, Kobayashi K, Ato M, Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) and their related cell subpopulations, *The Research and Biology of Cancer I*, 査読有, 155-172, 2013

[学会発表](計9件)

Matsumura T, Ikebe T, Ato M, Immature myeloid cells, which produce interferon- γ and/or interleukin-6, play a protective role in severe invasive group A *Streptococcus* infections, Joint Meeting: The 78th Meeting of the Japanese Society for Interferon and Cytokine Research and The 21th International Symposium of Macrophage Molecular and Cellular Biology 2013, 2013年5月20日～平成25年5月21日, 東京

Ato M, Matsumura T, Ikebe T, Interferon- γ -producing immature myeloid cells in severe *Streptococcus* infection, Joint Meeting: The 78th Meeting of the Japanese Society for Interferon and

Cytokine Research and The 21th International Symposium of Macrophage Molecular and Cellular Biology 2013, 2013年5月20日～平成25年5月21日, 東京

松村隆之, 劇症型溶血性レンサ球菌感染症におけるインターフェロン産生未熟骨髄系細胞の役割, 平成25年度北里大学メディカルセンター研究部門学術講演会, 2013年10月22日, 埼玉

Matsumura T, Ikebe T, Ato M, The defensive role of immature myeloid cells in severe invasive group A *Streptococcus* infections, 第87回日本細菌学会総会, 2014年3月26日～2014年3月28日, 東京

Tsuchiya T, Matsumura T, Ikebe T, Kobayashi K, Ato M, *Fat-1* transgenic mice are more susceptible to severe invasive group A *Streptococcus* infections, 第87回日本細菌学会総会, 2014年3月26日～2014年3月28日, 東京

松村隆之, 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における未熟骨髄系細胞の役割, 第15回Pharmaco-Hematology Symposium, 2014年5月24日, 名古屋

Matsumura T, Ato M, Immature myeloid cells are the major producers of IL-6 in severe invasive group A streptococcal infections, 第43回日本免疫学会総会・学術集会, 2014年12月10日～2014年12月12日, 京都

Matsumura T, Ato M, Immature myeloid cells are the producers of host protective factors in severe invasive group A streptococcal infections, 第44回日本免疫学会総会・学術集会, 2015年11月18日～2015年11月20日, 札幌

松村隆之, 池辺忠義, 大西真, 阿戸学, The defensive role of IL-6-producing immature myeloid cells in group A streptococcal infections, 第89回日本細菌学会総会, 2016年3月23日～2016年3月25日, 大阪

[図書](計 件)

[産業財産権]
出願状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:

出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松村 隆之 (Takayuki Matsumura)
国立感染症研究所・免疫部・主任研究官
研究者番号：50434379

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：