

## 学位論文題名

Lipopolysaccharide triggers invasive streptococcal disease in mice through a tumor necrosis factor - $\alpha$ - dependent mechanism

(リポポリサッカライドは腫瘍壊死因子  
-  $\alpha$  依存症に侵襲性A群レンサ球菌感染症を引き起こす)

## 学位論文内容の要旨

A群レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*, *S. pyogenes*) による侵襲性A群レンサ球菌感染症は近年アメリカなどで増加が報告されている。特に、侵襲性A群レンサ球菌感染症としてのレンサ球菌性毒素ショック症候群 (Streptococcal toxic shock syndrome, STSS)は、日本では1990年から報告され、劇症型A群レンサ球菌感染症 (以下劇症型) と言われている。劇症型は短時間のうち、組織壊死 (壊死性筋膜炎及び筋炎を含む) や多臓器不全を引き起こし、高い致死率を示す疾患である。しかし、感染経路や発症機序など、ほとんどの点が未解明のままである。小児に多い*S. pyogenes* 感染と異なり成人例が圧倒的に多く、抗生剤治療の有効性は低い。壊死性筋膜炎においては、局所での爆発的な菌の増殖にもかかわらず、白血球浸潤などの炎症反応に乏しい組織像が特徴的である。また、STSS患者家族からしばしば患者と同じ血清型の*S. pyogenes*が分離されるが、家族内発生は極めて希とされている。これらの事実から、劇症型の発症には宿主側に何らかの原因があることが考えられる。*S. pyogenes*と同じグラム陽性球菌である黄色ブドウ球菌感染においては特定臓器における増殖にサイトカインが促進的に働くことが報告されており、また、劇症型や軽症の*S. pyogenes*感染症の発症にはウイルス感染などの先行感染が重要であるとの指摘がある。

劇症型に特徴的な症候の一つである、壊死性筋膜炎をマウスに誘導するために*S. pyogenes*の筋肉内接種を試みたが、 $5 \times 10^8$ CFUの菌を接種しても筋膜炎も感染症状も認められなかった。そこで宿主体内にサイトカイン産生を誘導し感染経過に変化が認められるか否かを調べるため、強力なサイトカイン誘導能を有するlipopolysaccharide (LPS) をマウス腹膜内に投与したところ、全例に明らかな壊死性筋肉炎と約半数のマウスに感染

48時間以内の斃死が認められた。またその組織像は炎症細胞浸潤像を欠いており、劇症型患者における壊死性筋膜炎の組織像の特徴と一致していた。感染局所における菌の増殖も確認され、*S. pyogenes*筋肉内感染とLPS同時投与によりヒト劇症型に極めて類似した病態を誘導することが確認された。このような症状が宿主体内で産生されたサイトカインにより引き起こされていることを確認するため、まずマウス血中と感染局所の筋肉内の tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )の検出を試みたところ、LPS投与マウスでは血中に90分をピークにしたTNF- $\alpha$ の産生が認められたが、感染局所では検出されなかった。これに対し、対照群マウスでは血中にはTNF- $\alpha$ は検出されなかったが感染局所で検出された。また、このTNF- $\alpha$ が筋壊死を招くことを確認するために抗TNF- $\alpha$ 抗体を投与したところ筋壊死もマウスの斃死も回避された。さらにLPS投与の代わりにリコンビナントマウスTNF- $\alpha$ を投与したところ筋壊死とマウスの斃死が出現し、筋肉内における*S. pyogenes*の増加も認められた。以上のことからLPSによる*S. pyogenes* 筋肉感染時の劇症型様症状発現には全身性のTNF- $\alpha$ の産生が重要であることが確認された。一方、対照群マウスでは、感染局所にTNF- $\alpha$ の産生が認められたが、抗TNF- $\alpha$ 抗体投与は感染局所菌数に影響を与えなかったことから、本感染モデルにおいては感染局所に産生されているTNF- $\alpha$ は感染防御においてそれほど重要ではないことが示唆される。LPS投与マウスでは感染局所のTNF- $\alpha$ の産生が認められなかった原因は、炎症細胞浸潤が抑制されているため、喰細胞などのTNF- $\alpha$ の産生細胞が感染局所に存在しないためと考えられる。

全身性のTNF- $\alpha$ 産生は炎症細胞の局所への浸潤を抑制することにより、感染局所における菌の増殖を招き、筋壊死やマウスの斃死を引き起こしたと考えられる。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 林 邦 彦

副 査 教 授 有 川 二 郎

副 査 教 授 皆 川 知 紀

## 学 位 論 文 題 名

### Lipopolysaccharide triggers invasive streptococcal disease in mice through a tumor necrosis factor $\alpha$ - dependent mechanism

(リポポリサッカライドは腫瘍壊死因子

$\alpha$  依存症に侵襲性A群レンサ球菌感染症を引き起こす)

A群レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*, *S. pyogenes*) による侵襲性A群レンサ球菌感染症は近年アメリカなどで増加が報告されている。特に、侵襲性A群レンサ球菌感染症としてのレンサ球菌性毒素ショック症候群 (Streptococcal toxic shock syndrome, STSS)は、日本では1990年から報告され、劇症型A群レンサ球菌感染症 (以下劇症型) と言われている。劇症型は短時間のうち、組織壊死 (壊死性筋膜炎及び筋炎を含む) や多臓器不全を引き起こし、高い致死率を示す疾患である。しかし、感染経路や発症機序など、ほとんどの点が未解明のままである。小児に多い*S. pyogenes* 感染と異なり成人例が圧倒的に多く、抗生剤治療の有効性は低い。壊死性筋膜炎においては、局所での爆発的な菌の増殖にもかかわらず、白血球浸潤などの炎症反応に乏しい組織像が特徴的である。また、STSS患者家族からしばしば患者と同じ血清型の*S. pyogenes*が分離されるが、家族内発生は極めて希とされている。これらの事実から、劇症型の発症には宿主側に何らかの原因があることが考えられる。*S. pyogenes*と同じグラム陽性球菌である黄色ブドウ球菌感染においては特定臓器における増殖にサイトカインが促進的に働くことが報告されており、また、劇症型や軽症の*S. pyogenes*感染症の発症にはウイルス感染などの先行感染が重要であるとの指摘がある。

劇症型に特徴的な症候の一つである、壊死性筋膜炎をマウスに誘導するために*S. pyogenes*の筋肉内接種を試みたが、 $5 \times 10^8$ CFUの菌を接種しても筋膜炎も感染症状も

認められなかった。そこで宿主体内にサイトカイン産生を誘導し感染経過に変化が認められるか否かを調べるため、強力なサイトカイン誘導能を有するlipopolysaccharide (LPS)をマウス腹膜内に投与したところ、全例に明らかな壊死性筋肉炎と約半数のマウスに感染48時間以内の斃死が認められた。またその組織像は炎症細胞浸潤像を欠いており、劇症型患者における壊死性筋膜炎の組織像の特徴と一致していた。感染局所における菌の増殖も確認され、*S. pyogenes*筋肉内感染とLPS同時投与によりヒト劇症型に極めて類似した病態を誘導することが確認された。このような症状が宿主体内で産生されたサイトカインにより引き起こされていることを確認するため、まずマウス血中と感染局所の筋肉内のtumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )の検出を試みたところ、LPS投与マウスでは血中に90分をピークにしたTNF- $\alpha$ の産生が認められたが、感染局所では検出されなかった。これに対し、対照群マウスでは血中にはTNF- $\alpha$ は検出されなかったが感染局所で検出された。また、このTNF- $\alpha$ が筋壊死を招くことを確認するために抗TNF- $\alpha$ 抗体を投与したところ筋壊死もマウスの斃死も回避された。さらにLPS投与の代わりにリコンビナントマウスTNF- $\alpha$ を投与したところ筋壊死とマウスの斃死が出現し、筋肉内における*S. pyogenes*の増加も認められた。以上のことからLPSによる*S. pyogenes*筋肉感染時の劇症型様症状発現には全身性のTNF- $\alpha$ の産生が重要であることが確認された。一方、対照群マウスでは、感染局所にTNF- $\alpha$ の産生が認められたが、抗TNF- $\alpha$ 抗体投与は感染局所菌数に影響を与えなかったことから、本感染モデルにおいては感染局所に産生されているTNF- $\alpha$ は感染防御においてそれほど重要ではないことが示唆される。LPS投与マウスでは感染局所のTNF- $\alpha$ の産生が認められなかった原因は、炎症細胞浸潤が抑制されているため、喰細胞などのTNF- $\alpha$ の産生細胞が感染局所に存在しないためと考えられる。

全身性のTNF- $\alpha$ 産生は炎症細胞の局所への浸潤を抑制することにより、感染局所における菌の増殖を招き、筋壊死やマウスの斃死を引き起こしたと考えられる。

口頭発表後、副査有川教授より、LPS感受性、抵抗性マウスではどうか。STSS患者では血中サイトカインはどうか。副査皆川よりTLRとの関係について質問があり、主査の小林教授より、臨床的にも興味あるモデルであるが、白血球浸潤が無いのではなく、白血球の機能が抑制された可能性は無いか。などの質問があり、それらに対して申請者は、文献的考察を加え、妥当に解答し得た。

本研究の成果は、「人喰いバクテリア」感染症ともいわれている未解決の感染症に対する予防および治療に多くの示唆を与えるものである。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。