

審査の結果の要旨

田 中 基 嗣

本研究は、化膿レンサ球菌性咽頭扁桃炎の感染初期自然免疫応答に着目し、新規マウスモデルを作製するとともに、薬剤を用いて好中球およびマクロファージを除去することによって、化膿レンサ球菌が鼻粘膜上皮細胞障害を惹起する機序に、自然免疫細胞がどのように関与しているかを検討した新奇性に富む基礎医学的研究である。

1. 化膿レンサ球菌性咽頭扁桃炎患者から分離した菌株である 11434 株を C57BL/6 マウスに経鼻感染させ、感染から 3 日から 6 日後に致死となる化膿レンサ球菌鼻咽頭感染マウスモデルを新規に作製した。本モデルでは、感染 48 時間後から体重減少を認め、72 時間後に全例で菌血症を呈することから、死因として敗血症が疑われた。一方、敗血症患者から分離した 90226 株を C57BL/6 マウスに経鼻感染させた場合、両菌株を BALB/c マウスや ddY マウスに感染させた場合は生存率が高く、感染成立には菌株と宿主の双方の因子が重要であることが明らかとなった。
2. 化膿レンサ球菌 11434 株を C57BL/6 マウスに経鼻感染させたマウスから凍結切片を作製し、上皮糖鎖マーカーである Wheat Germ Agglutinin 染色、アポトーシスを検出する TUNEL 染色を施したところ、感染により鼻粘膜上皮細胞の著しい脱落とアポトーシスが誘導された。免疫組織染色の詳細な検討により、特に好中球が共局在する部位で上皮細胞障害が高度であり、化膿レンサ球菌感染による上皮細胞障害に好中球が関与している可能性が示唆された。さらに、マクロファージは化膿レンサ球菌の菌塊の辺縁にのみ存在し、化膿レンサ球菌が感染部位からマクロファージを排除する何らかの生物学的機序の存在が示唆された。
3. 抗 Ly-6G 抗体を用いて好中球除去マウスを作製し、化膿レンサ球菌を経鼻感染させたところ、対照 IgG 投与マウスと比較して粘膜上皮細胞障害が有意に軽減された。さらに、好中球除去マウスでは感染初期の上顎洞内化膿レンサ球菌数が有意に減少した。一方で、clodronate liposome を用いてマクロファージを除去したマウスでは生菌数が増加した。このことから、化膿レンサ球菌が好中球による殺菌作用を回避していること、好中球の存在が化膿レンサ球菌による上皮細胞障害を助長していること、マクロファージの存在は化膿レンサ球菌の増殖を抑制することが示された。
4. 化膿レンサ球菌は DNase を有しており、11434 株を NETs 由来 dsDNA と 3 時間共培養したところ、化膿レンサ球菌は NETs 由来 dsDNA の 90%以上を分解した。化膿レンサ

球菌と NETs を共培養して得られた上清を、ヒト上皮細胞由来 A549 細胞株およびヒト単球由来 THP-1 細胞株に暴露させた結果、化膿レンサ球菌の培養上清の持つ細胞毒性が増強し、著しい細胞死が誘導された。従って化膿レンサ球菌は、自身の有する DNase によって NETs を分解し、NETs の殺菌能を消去するだけでなく、NETs 分解産物によって、上皮細胞や単球・マクロファージを細胞死させることが明らかとなった。

以上、本論文は、化膿レンサ球菌が NETs を分解して NETs による殺菌過程から逃れるだけでなく、NETs 分解産物を介して上皮細胞を細胞死させ、生体の物理的バリアを破壊することを明らかにした。また、化膿レンサ球菌は、同分解産物を介して、単球・マクロファージを細胞死させ、単球・マクロファージによる貪食作用や炎症性サイトカイン産生、さらには抗原提示による獲得免疫発動をも遮断することによって感染を拡大する能力を持つことを明らかにした。今後、NETs 分解産物の詳細を明らかになることで、NETs が関与する種々疾患の発症機序および治療開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。