

(博士)

論 文 要 旨

学 位 論 文

表 題 黄色ブドウ球菌における TSST-1 産生制御機構の解明

申 請 者 氏 名 瀧 雄介

担当指導教員氏名 崔 龍洙 教授

所 属 自治医科大学大学院医学研究科  
専攻 人間生物学系  
専攻分野 生体防御医学分野  
専攻科 微生物・免疫学

使用文字数 1893 字

## 論 文 要 旨

氏名 瀧 雄介

### 表題

黄色ブドウ球菌における TSST-1 産生制御機構の解明

### 1 研究目的

毒素性ショック症候群（以下、TSS）は現在でも致死率の高い重篤な疾患である。黄色ブドウ球菌の産生する TSST-1 は、TSS の原因毒素である。TSST-1 は、*tst* 遺伝子によってコードされ、*sarA*、*agr*、*sigB*、*rot* など多くの遺伝子が TSST-1 の産生制御に関連する。黄色ブドウ球菌は約 30-50% のヒトの皮膚や粘膜に常在し、臨床分離される黄色ブドウ球菌の 20% は *tst* 遺伝子を有するが、TSS を発症する症例はまれである。多くの黄色ブドウ球菌が *tst* 遺伝子を持つにも関わらず TSS の発症頻度が非常に低い原因は明らかになっていない。

当部門にて、臨床分離された黄色ブドウ球菌に血清を添加して培養すると菌株によって TSST-1 産生量が大きく変化することが見いだされた。さらに、TSS 発症患者から分離された菌株は、血清添加により TSST-1 産生量が増加する傾向があったため、TSS 発症と血清による誘導能の関連性が疑われた。本研究の目的は、TSS 発症患者から分離された黄色ブドウ球菌株（TSS 株）と TSS 非発症患者由来株の TSST-1 産生制御機構を明らかにすることである。

### 2 研究方法

本邦で TSS の症例報告している施設より、TSS 株を 7 株分与頂いた。*tst* 遺伝子を有する非 TSS 発症患者由来の黄色ブドウ球菌（非 TSS 株）7 株および黄色ブドウ球菌の代表株である N315 を比較対照とした。次世代シーケンサー MiSeq (Illumina) および第三世代シーケンサー MinION (Oxford Nanopore Technologies) を用いて、黄色ブドウ球菌株の全ゲノム解析を行った。また、血清誘導下における TSST-1 産生量を ELISA 法により測定した。さらに、*tst* プロモーター領域に同定された変異によるプロモーター直下の遺伝子転写量の変化をレポーターアッセイにより解析した。さらに、プロモーター変異の組換え株を作成し、血清による TSST-1 産生能誘導能を測定した。

### 3 研究成果

黄色ブドウ球菌株 14 株の全ゲノム解析より、TSS 株および非 TSS 株はそれぞれ 3 つの遺伝子型 (Clonal complex (CC)-5、CC-8、CC-30) に分類された。血清を添加して菌株培養を行い培養上清の TSST-1 産生量を ELISA 法により測定したところ、CC-5 の TSS 株では著明に TSST-1 産生量が増加したが、CC-5 の非 TSS 株では有意に TSST-1 産生量が低下した。*tst* プロモーター領域を比較すると *tst* 転写開始点の 107-115 塩基上流に存在する連続する T 塩基の数が、菌株により異なっていた。CC-5 の TSS 株の中で、3 株中 2 株では T 塩基が 8 個であったのに対し、残りの 1 株と非 TSS 株

では9個であった。CC-30とCC-8においてはTSS株、非TSS株ともそれぞれ7個、6個であった。このことから、TSST-1産生量と*tst*プロモーター領域の変異との関連性が疑われた。

*tst*プロモーター内に見出したT塩基数の多様性が*tst*プロモーター活性に与える影響を解析するために、T塩基数が異なる*tst*プロモーターを*egfp*遺伝子上流に組み込みレポーターアッセイを行った。今回作成したレポーター株は、*tst*プロモーター領域にT塩基を6〜9有しており、その全ての株で、血清添加により蛍光強度が増大した。特にT塩基数が8個の株の血清誘導能が一番高かった。さらに、T塩基が9であるN315株と8であるJMUB3007株の*tst*プロモーターを組換えた菌株を作成し、血清添加によるTSST-1誘導能を測定したところ、T塩基数が8の時に血清誘導能が高くなり、9になると減少することを確認した。

#### 4 考察

本研究により、TSS発症株の中に、血清添加によりTSST-1が高産生する株が存在することが見出した。このことから、ヒト血清によるTSST-1誘導能とTSSの発症との間に関連性があることが推測された。ヒト血清誘導能に関わる*tst*プロモーター領域の変異は*tst*の転写開始点の106から114塩基上流に位置し、同変異周辺は黄色ブドウ球菌の病原性の転写調節因子SarAの結合部位との相同性がみられた。T塩基数が変化することで、SarAとの親和性が変化し、*tst*プロモーター活性が変化すると考えられた。

#### 5 結論

黄色ブドウ球菌株の*tst*プロモーター領域に含まれる連続するT塩基領域の変異は、TSST-1産生能に影響し、TSS発症のリスク因子となりうる。