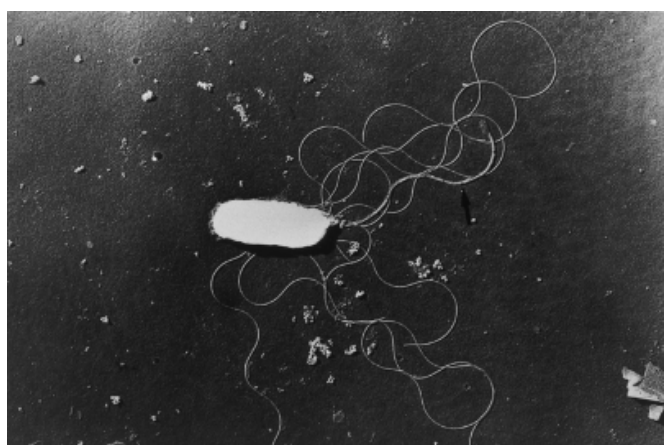


Combined Control Strategy for Mucosal Bacterial Infections 粘膜細菌感染症の集学的制御法

プロジェクトリーダー 本田 武 司

大阪大学 微生物病研究所 教授



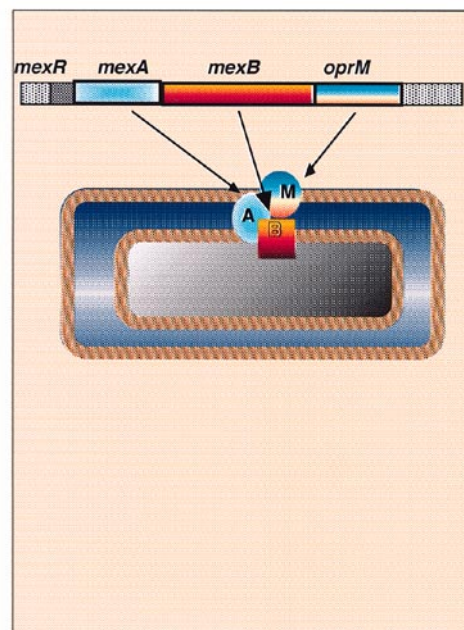
病原細菌の電子顕微鏡写真



1. 研究目的

近年、新興・再興感染症が注目され、効果的な対応策の開発が望まれています。本プロジェクトでは多くの感染症が経粘膜的に感染することに鑑み、粘膜細菌感染症をとりあげ、様々な角度から、つまり感染体－粘膜組織－生体（粘膜免疫を含む）の各角度から解析を加え、感染症の起こり方の詳細を理解すること、さらにその制御法の開拓につながる知見を得ることを目的としています。具体的には、院内感染の原因となりやすい緑膿菌をとりあげ、近年地球的な問題とも言える多剤交叉耐性の獲得機構、特に能動的薬物排出ポンプ機構を分子レベルで解析し、薬剤排出ポンプ阻害剤（つまり抗微生物薬）の開発につなげようとしています。また、A群レンサ球菌を気道粘膜感染症のモデルとして取り上げ、発症に至る病態、特に気道粘膜細胞への付着機構を解析し、感染予防・治療の道を探ります。さらに、頻度の高い粘膜感染症である細菌性腸管感染症を取り上げ、定着機構、毒素、レセプター、シグナル伝達系、など発症に関わる全プロセスを解明し、制御しやすい標的を探ろうとしています。

本プロジェクトでは上記の目的を達成するために、3つの研究（コア）グループにより研究を推進しています。中江グループでは、現状では感染症制御の主役である抗菌薬の問題点である耐性化の機構とその阻害剤の開発という緊要な課題に取り組み、浜田、本田の各グループは、やや長期的視野に立ち、最も頻度が高く、代表的な粘膜感染症である呼吸器系および腸管系感染症をそれぞれ取り上げ、その病態を詳細に解析し、それらの成果に基づいて抗菌薬に依存する現在の治療法とは全く異なった感染症制御法を案出しようと考えています。



排出ポンプをコードする遺伝子と膜蛋白質の関係

MexA、MexB および OprM 蛋白質は1つのオペロンによってコードされており、その発現は制御遺伝子 *mexR* によってコントロールされています。

2. 研究内容

(1) 感染体の能動的薬物、毒物の排出機構と多剤交差耐性（中江グループ）

緑膿菌の自然耐性と獲得耐性に大きな役割を果たしているMex（薬剤排出）-ポンプは3種の異なったサブユニット蛋白質（MexA、MexB、OprM）からなり、菌体内に入ってきた異物、薬物を菌体外に排出しています。このポンプがどのように作用して異物、薬物を排出しているかについては現在のところほとんどわかっていません。そこでこの研究チームは、1) Mex-ポンプ本体の構造を明らかにするために、ポンプを構成する3種の蛋白質の細胞膜上でのトポロジーの解析、2) これらの蛋白質のチャンネル活性を担う構造を各遺伝子に変異を挿入することにより解析したり、3) Mex-ポンプの機能の蛍光色素を用いたリアルタイム測定による解析、などを行っています。この研究の路線の延長上には、このポンプの機能を阻害するような物質の検索があります。このような阻害物質を従来の抗菌薬と同時に使えば抗菌薬の効果を数倍～数十倍高められますので、抗菌薬による副作用の軽減が期待できます。さらにこの研究の応用としては癌細胞の抗癌剤に対する耐性やマラリアの抗マラリア剤に対する抵抗性などの理解に役立つものと考えています。

(2) 病原細菌の粘膜細胞への付着機構の解析とその応用（浜田グループ）

気道粘膜感染症は、感染症の中でも腸管感染症と共に頻度の最も高いものです。気道感染症の原因細菌の例として、劇症型の病気を起こす事で近年注目されているA群レンサ球菌をモデル感染系として取り上げ、病態を解析しています。これまでの研究でフィブロネクチン結合蛋白が本菌の気道上皮細胞への付着に重要な役割を演じていることが明らかになってきたので、これを菌自体はもとより、精製純化した病原因子を用いて、確認・実証を行っています。また、この菌の上皮細胞への付着が粘膜免疫系へ及ぼす作用についても解析しています。病原細菌の専門家で粘膜免疫を手がけている研究者は極めて少ないので、新しい成果が期待できます。これらの成果をもとにして、病原因子を免疫原とする本菌感染症の予防法の開発と、粘膜免疫を誘導する適切なアジュバントの検索、さらにはDNAワクチンの開発などを行っていく予定です。

(3) 細菌性腸管感染症の発症動態の解明と制御（本田グループ）

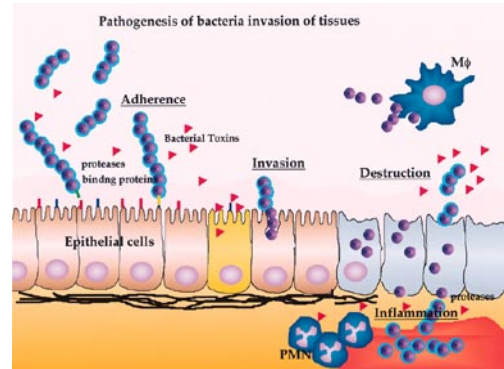
本グループは腸管系細菌感染症を対象とし、その発症機構の理解を深める事により、抗菌薬やワクチンといった既存の感染症制御法とは異なった新規の制御法の開発を目指しています。この目的のため、コレラ菌、腸炎ピブリオ、O157を含む病原性大腸菌をとりあげ、それぞれの病原因子を純化し、標的細胞上のレセプターやそれ以降の情報伝達経路、また対応する生体側の反応などの理解を通して、粘膜感染症の発症機構の全貌を明らかにしようとしています。これまでの研究で、1) コレラ菌の病原因子の1つである溶血毒のレセプターがグリコホリンBである事、2) 腸炎ピブリオの染色体が他の細菌のそれは1つであるのに対し2つの環状染色体からなる事、および、3) EHEC O157の合併症であるHUSの発症にこの菌の産生するVT毒素によるエンドセリン産生促進が関与する事などを見出しています。3種の菌を研究対象とするのは、互いの成果を比較して研究をすすめることで、同一性や特異性が明らかになり、研究を飛躍させることが出来るからと考えるからです。これらの研究を深めることで、感染症の発症を制御しやすい標的を見出し、新規の抗感染症薬の開発をめざしています。

3. 研究の体制等

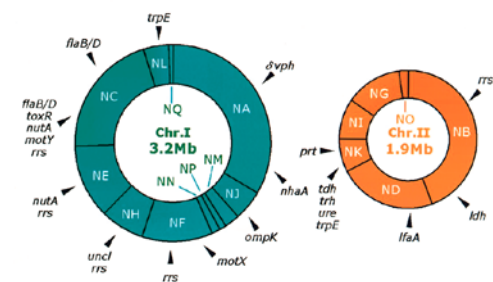
期 間：1997年8月～2002年3月

構 成：3つの研究グループからなり、薬剤排出ポンプ、気道粘膜感染、腸管粘膜感染をそれぞれの直接の研究テーマとし、情報交換しながら将来の感染症制御法の開発をめざしています。

実施場所：大阪大学微生物病研究所細菌感染分野を主拠点に、東海大学医学部分子生命科学教室を副拠点に、大阪大学歯学部細菌学教室をコア研究室として、研究を行っています。

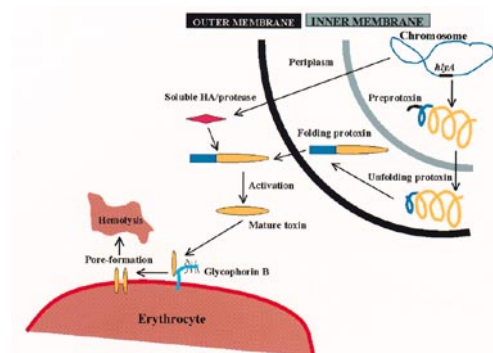


粘膜面における細菌の付着・侵入および組織破壊
皮膚や粘膜に達した細菌は宿主側の細胞表面蛋白などを足がかりとして、組織への付着・定着をはかります。食細胞からの貪食作用から逃れるために菌体表層を莢膜などで覆ったり、あるいは細胞内への侵入を試みるものもあります。このように食細胞から逃れた菌は、さらに深部組織へ広範囲に感染を拡大していきます。



作成された腸炎ピブリオ AQ4673 株の染色体遺伝子地図

細菌で一般的にみられるものと異なり、3.2 Mbと1.9 Mbの大きさの2つの環状染色体から構成されていることが明らかになりました。



コレラ菌の溶血毒の分泌と溶血機構

溶血毒はPreprotoxinとして産生され、Pro領域の分子内シャペロン機能により安定化・分泌され、プロテアーゼの作用により活性化毒素となります。このようにしてできた成熟毒素は、赤血球のグリコホリンBをレセプターとして細胞膜に結合し溶血をひきおこします。