

2022年7月22日

マウスに感染した状態の病原体の遺伝子発現状態の詳細を解明 ～新しい治療法や治療薬の開発に貢献～

帝京大学医真菌研究センター准教授の浜本洋らと薬学部カイコ創薬学講座特任教授の関水和本久の研究グループは、感染した宿主臓器から病原性細菌を回収する「二段階破砕法」を確立し、黄色ブドウ球菌の宿主環境下における遺伝子発現を次世代シーケンサーにより網羅的に解析することに成功しました。本手法を用いて、感染後の症状の進行に従って起こる宿主環境の変化に、黄色ブドウ球菌がどのように対応し宿主を殺傷していくのか、その詳細な様子を明らかにすることができました。本研究によって見出した病原性の発揮に必要な機構を標的とすることで、新しい治療法や治療薬の開発に貢献することができます。

【研究の背景】

新型コロナウイルスの蔓延下においても、多剤耐性菌による感染症が増加していることが明らかになり、その対策が急務とされています。新しい治療薬を開発する必要がありますが、試験管内での増殖に必要な因子を標的とした阻害薬の探索は限界を迎えていると考えられています。試験管内は宿主環境とは異なるため、増殖に必要な因子が必ずしも同じではありません。そのため、試験管内の増殖阻止を指標に探索された化合物の中には、実際の宿主環境では治療効果が低下する可能性が示唆されています。また、宿主環境下での増殖に必要な因子は、耐性菌の出現が低いことが予想されており、新たな治療薬の標的として理想的なものです。しかしながら、感染時における臓器中に存在する細菌数は少なく、宿主細胞由来のRNAが大部分を占めるため、感染初期段階から宿主に感染した状態の菌の遺伝子発現の振る舞いを解析することは困難でした。

【研究の概要】

本研究において、我々は宿主の臓器に感染した状態における黄色ブドウ球菌の遺伝子発現解析手法を確立しました。黄色ブドウ球菌は、哺乳動物細胞と異なり、堅い細胞壁を有していることから細胞の強度が高く、溶解液にも耐性を示します。このことを利用し、最初に大きなビーズを用いて溶解液中で破砕すると哺乳動物細胞だけが破砕され、壊れない細菌を集菌後、哺乳動物細胞由来のRNAを洗い流し、再度、細菌を小さなビーズで破砕することで細菌由来のRNAが濃縮されたサンプルを得ることに成功しました（図1）。このRNAの配列を次世代シーケンサーによって解析を行い、得られた塩基配列を黄色ブドウ球菌またはマウスのゲノムにマッピングさせることで、それぞれの種の遺伝子発現を網羅的に解析できます。我々は本手法を用いて、黄色ブドウ球菌に全身感染させたマウスの肝臓において、感染初期から殺傷される直前までの黄色ブドウ球菌の遺伝子発現を経時的かつ網羅的に解析しました。

以下に具体的な結果を示します。感染の進行に従って、肝臓における黄色ブドウ球菌の定着や菌数の増加が認められ、免疫系の細胞が集積し組織の損傷が認められるようになります（図2A）。

黄色ブドウ球菌は、これらの状況の変化に応じて、感染初期は酸素を必要とする好気的な条件でエネルギー生産していたものが、感染後期では酸素を必要としない嫌気的な条件でのエネルギー生産系に変化していることを明らかにしました（図 2B）。また、病原性に関わる因子も、感染初期から発現量が高い溶血毒素や白血球毒素がありますが、セリンプロテアーゼなどは感染の中期から発現量が増加し、システインプロテアーゼは全体を通してそれほど変わらないなど、病原性に関わる遺伝子であっても発現の変動はそれぞれに特徴が認められました。さらに、本研究において明らかにした病原性因子の一つの例として、宿主環境下で発現量が著しく上昇することが見出されたマンガトランスporterである *mntABC* 遺伝子は、その遺伝子を破壊すると病原性が低下することがわかりました。その他、本研究では脂質の代謝系や、その他の金属トランスporterや、細菌が外界を認識する機構である二成分制御系の遺伝子発現などを解析し、病原性の発揮に必要な遺伝子の同定に成功しております。これらの成果は、黄色ブドウ球菌の宿主環境における振る舞いの詳細を明らかにできただけでなく、あらたな治療薬の標的を提供する上で重要な発見です。

なお、本研究は主に日本学術振興会 科学研究費助成事業(JP24689008, JP19K07140, JP15H05783)、文部科学省科学研究費 新学術領域研究 ゲノム支援 (221S0002)、及び、公益財団法人 武田科学振興財団、公益財団法人発酵研究所の助成を受けて行われました。

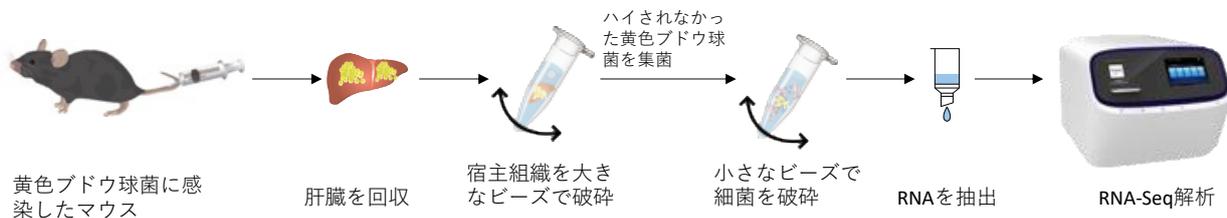


図 1 二段階破碎法による臓器に感染した黄色ブドウ球菌の網羅的な遺伝子発現解析法

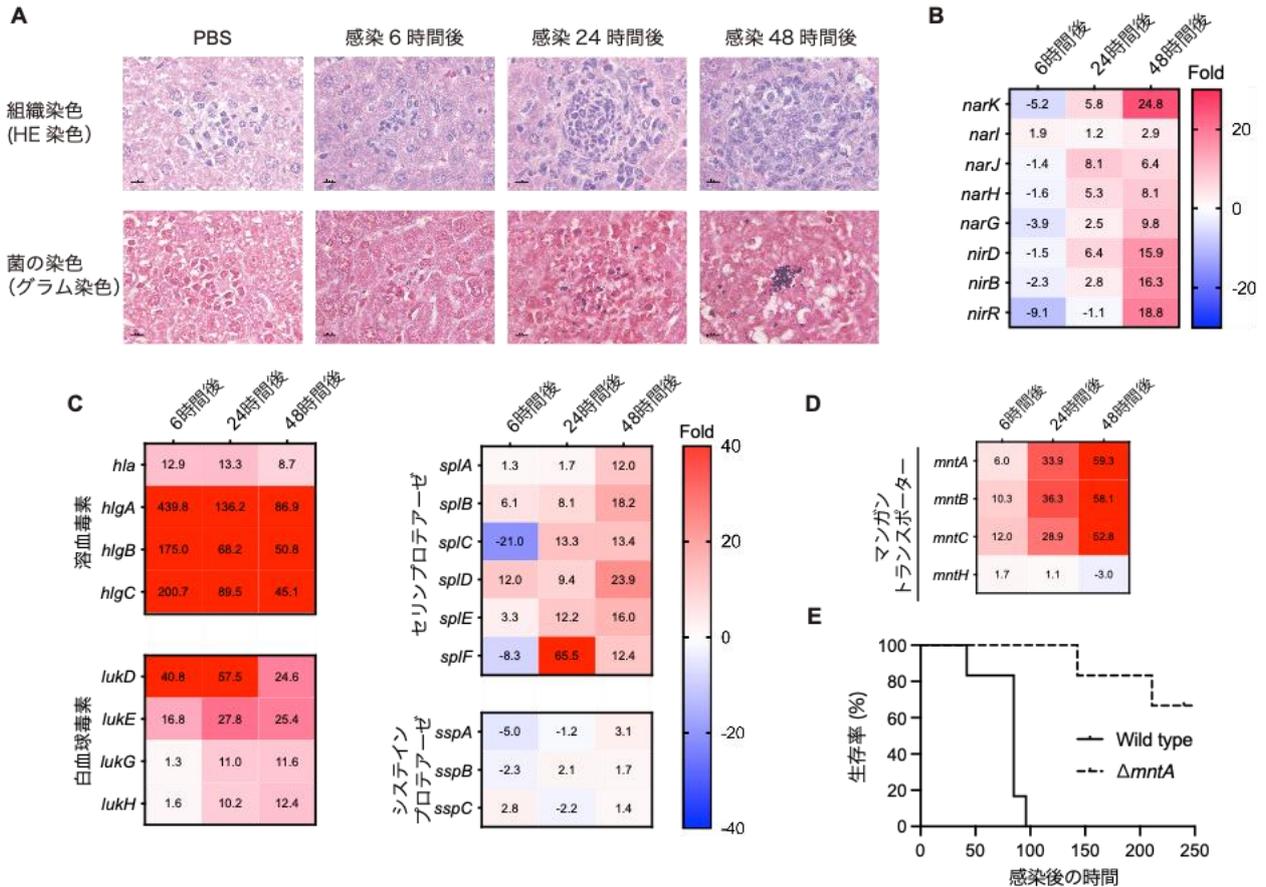


図 2 黄色ブドウ球菌に感染させた肝臓の状態と、黄色ブドウ球菌の遺伝子発現の経時的変化
A, 黄色ブドウ球菌に感染した肝臓の組織染色像。上の組織染色は宿主側の細胞を染色しており、経時的に免疫細胞が集積しているのがわかる。下は同じ領域について黄色ブドウ球菌をグラム染色により紫に染色したもので経時的に肝臓に定着し菌数が増え、小さなコロニーが形成されていることがわかる。B, 嫌気的なエネルギー生産に関わる遺伝子群の経時的な遺伝子発現変動を示す。ボックス内の数字は試験管内での培養時と比較した発現量の比を示す。C, 溶血毒素などの様々な病原性に関わる一部の遺伝子の経時的な遺伝子発現変動を示す。D, 本研究で解析したマンガントランスポーターの経時的な遺伝子発現変動を示す。黄色ブドウ球菌には *mntABC* 遺伝子によって構成されるトランスポーターと、*mntH* 遺伝子から発現するトランスポーターの 2 種類存在する。*mntABC* 遺伝子は発現量が宿主内で大きく上昇するが、*mntH* 遺伝子は感染後も発現量が大きく上昇していないことがわかる。E, *mntA* 遺伝子のマウスに対する黄色ブドウ球菌の病原性発揮における必要性を示す。*mntA* 遺伝子の破壊によって、それが構成するマンガントランスポーターの機能が低下し、病原性が低下することが示されている。

【発表雑誌】

雑誌名：「Communications Biology」

タイトル：Transcriptome change of *Staphylococcus aureus* in infected mouse liver

掲載日：2022 年 7 月 21 日

著者：Hiroshi Hamamoto, Suresh Panthee, Atmika Paudel, Suguru Ohgi, Yutaka Suzuki, Koichi Makimura, Kazuhisa Sekimizu

DOI 番号 : 10.1038/s42003-022-03674-5

URL : <https://www.nature.com/articles/s42003-022-03674-5>

【用語解説】

※1 黄色ブドウ球菌：黄色ブドウ球菌は院内感染を引き起こす主要な起因菌の一つであり、その中でもβラクタム系抗生物質に耐性を示すものは MRSA と呼ばれる。他の抗生物質に対しても耐性を示す場合が多く、治療に難渋するケースが臨床で問題となっている。これまでは、院内での感染が問題とされてきたが、最近、市中感染型 MRSA と呼ばれる病院外での MRSA による感染するケースが問題となってきている。近年では切り札とされているバンコマイシンに対しても耐性を示す黄色ブドウ球菌の出現が懸念されており、新たな作用機序を有する抗生物質の開発は喫緊の課題となっている。我々は、ライソシン E とよぶ新しい作用機序の抗生物質の同定および開発もおこなっている。

※2 次世代シーケンサー：数千万～数十億もの DNA 断片の配列を一度の決定できることから、大量の塩基配列を一気に得ることができる。その特性を活かし、RNA の配列を決定し得られた配列をゲノム上にマッピングすることによって、遺伝子毎の発現量をカウントすることで発現量比較することが可能である。この解析手法を RNA-Seq 解析と呼ぶ。

【本件に関するお問い合わせ先】

帝京大学本部広報課

〒173-8605 東京都板橋区加賀 2-11-1

TEL : 03-3964-4162 FAX : 03-3964-9189

E-mail : kouhou@teikyo-u.ac.jp

※本リリースは、文部科学記者会・科学記者会等に配信しております。