

NIBS LETTER 2010 JANUARY
No. 560

日生研おより

2010年(平成22年)1月号 第56巻第1号(通巻560号)

挨拶・巻頭言

年頭のご挨拶

.....上田 進(2)

獣医病理学研修会

第48回 No. 957 イヌの肝臓

.....岐阜大学獣医病理学教室(3)

第49回 No. 985 イヌの脳

.....大阪府立大学獣医病理学教室(4)

レビュー

豚レンサ球菌の病原因子と強毒株マーカー
について

.....関崎 勉(5)

ユビキチン・プロテアソーム系と免疫機構

.....山元 哲(12)



NIBS

財団法人 日本生物科学研究所

NIPPON INSTITUTE FOR BIOLOGICAL SCIENCE

<http://nibs.lin.go.jp/>

年頭のご挨拶

上田 進

謹んで新年のご挨拶を申し上げます。旧年中は一方ならぬご支援を頂き、無事新年を迎えることが出来ました。心よりお礼申し上げます。

昨年は政権交代という大きな出来事もあり、政治に対する国民の目も厳しいものになっているようです。また、食の安全・安心と人獣共通感染症が依然として大きな社会問題となると共に、一昨年米国のサブプライムローンに端を発した世界金融危機を前に、将来を見通せない不安に駆られる一年でした。なかでも新型インフルエンザが世界中で流行し、日本の感染症に対する危機対応の拙さ故の混乱が生じ、今後エボラ出血熱のような致死性の高い感染症に対する危機対応に不安を抱かせるものでした。

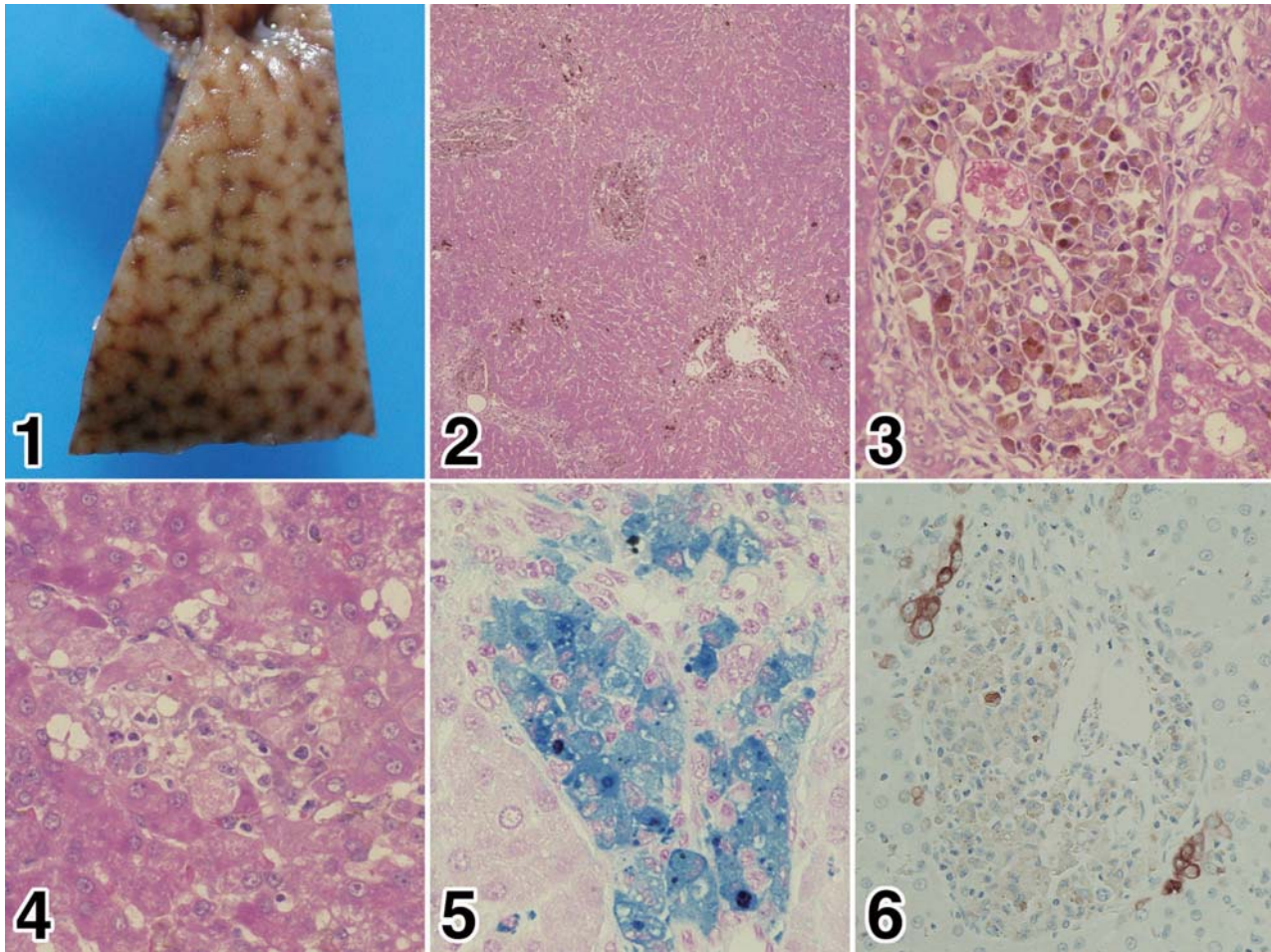
ところで、昨年は我々の世界観に多大な影響をもたらしたダーウィン生誕 200 年、そして「種の起源」が出版されて 150 周年という記念すべき年でした。ダーウィンは生物には無方向に変異があり、それは子孫に受け継がれ、自然淘汰によって環境に適応した子孫が生き残ると主張し、人間が地球とそこに棲む生物を支配するように特殊に創造されたとする西欧思想を打ち砕き、人間を動物界の末裔に帰属せしめた。またダーウィンは自然を解釈するに際して、物質があらゆる存在の基盤であるとする唯物論哲学を用いた。ダーウィンの理論を最も早く理解したのは、19 世紀の熱烈な唯物論者であったマルクスとエンゲルスであった。ダーウィンの世界観の中心をなすものは、進化の主要な担い手を個体にしぼり、自然淘汰が適応の担い手で進化は漸進的であるというものであった。これを踏まえて個体より低いレベルの遺伝子にまで還元して、進化論にしたがえば、遺伝子は自らの利益のために個体を動かしているという要素論が唱えられている。個体を構成する部分としての遺伝子は、個体という環境の外では何の意味も持ちえず、遺伝子が作る形質を遺伝子の増殖のための武器として使用していると考えるのは問題があろう。一方、同一のアミノ酸をコードする DNA の塩基配列は一つではない。一つの配列から別の配列へという変化を自然淘汰が如何にして制御しているのか考察するのは困難である。ダーウィンの進化論にはいまなお決着を見ない部分を多く残しているが、自然全体を理解しようとした彼の思考は、生物学分野でも専門分野が細分化され、それぞれが先鋭化している対極としての統合化も求められている現在、重要なヒントをもたらしてくれるのではないかと思う次第です。地球上でマクロの生物を見ると、それは美しく統合された生物圏を構成し、我々を含む種々の生物がそれぞれ部品として機能している閉じた生態系を作っている。この系の制御能力が異常に大きいことから、ラヴロックとマーグリスはこの世界をガイアと呼んだ。ガイアを構成する部品としての我々は、ガイアの外の生存は不可能であることから、ガイア、すなわち地球のすべての生命形態が、一つの有機体のように相互依存のつながりを持った生態系を崩すことがないように最大限の配慮をしなければならぬ。ガイアの制御能力にもおのずから限界があり、この閉ざされた生態系に可能なかぎり負荷をかけないように配慮する上で、自然全体がどのように動いているのかを理解しようとしたダーウィンの主張は大いに参考になるものと考えられる。奇しくもダーウィンが進化論のヒントを見つけた場所は、隔絶された孤島ガラパゴス諸島である。この島になぞらえて国内市場でのみ通用し、海外では全く通用しない商品やサービスを称してガラパゴス化しているといわれている。生物学に関わる研究をしている私どもは、専門領域の研究、技術に拘泥するあまり、ガラパゴス化することがないように、広い視野を持って研究を進めて行かればと期待しているところで

最後に皆様方のご健勝とご発展をお祈りするとともに、重ねてご指導ご鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。

(理事長)

イヌの肝臓

岐阜大学獣医病理学教室 第48回獣医病理学研修会 No. 957



動物：イヌ，ジャックラッセルテリア，雌，4歳1ヶ月齢。
臨床事項：1週間持続する嘔吐を主訴に岐阜大学付属動物病院に来院。軽度消瘦，重度の黄疸を呈し，T-Bil およびCRPの上昇が認められた。レントゲン検査にて，左側肝臓陰影の縮小および右側肝臓の腫大が認められた。病理検査のため，肝臓内側右葉の生検材料が当教室に送付された。プレドニゾロンとシクロスポリンの併用投与を行ったが，第46病日に死亡した。剖検はされなかった。

肉眼所見：肝臓表面および断面において，不整形の赤色斑が散在性に多数認められ，ニクズク肝様を呈した(図1)。

組織所見：グリソン氏鞘および肝実質の一部において，褐色色素の沈着が認められた(図2)。グリソン氏鞘では褐色色素を貪食した多数のマクロファージ，少数の好中球，リンパ球および形質細胞の浸潤が認められた(図3)。また，小葉間動脈および小葉間静脈は観察されたが，小葉間胆管は消失し，グリソン氏鞘と肝小葉の境界部では，細胞質が淡明で不規則な配列を示す上皮様細胞塊が散見された。胆管壁を有する比較的径の大きい隔壁胆管は残存していた。一方，肝実質では，肝細胞の変性，壊

死が散在性に認められた(図4)。マクロファージに見られた褐色色素はベルリンブルー染色で青色(図5)，シムール反応で暗緑色を示し，ホール染色陰性であったことから，ヘモジデリンであった。免疫染色では，グリソン氏鞘周囲に存在した上皮様細胞はCytokeratin 19陽性であったが，これらの細胞による明確な管腔形成は認められなかった(図6)。

診断：小葉間胆管の消失(破壊性胆管炎を疑う)

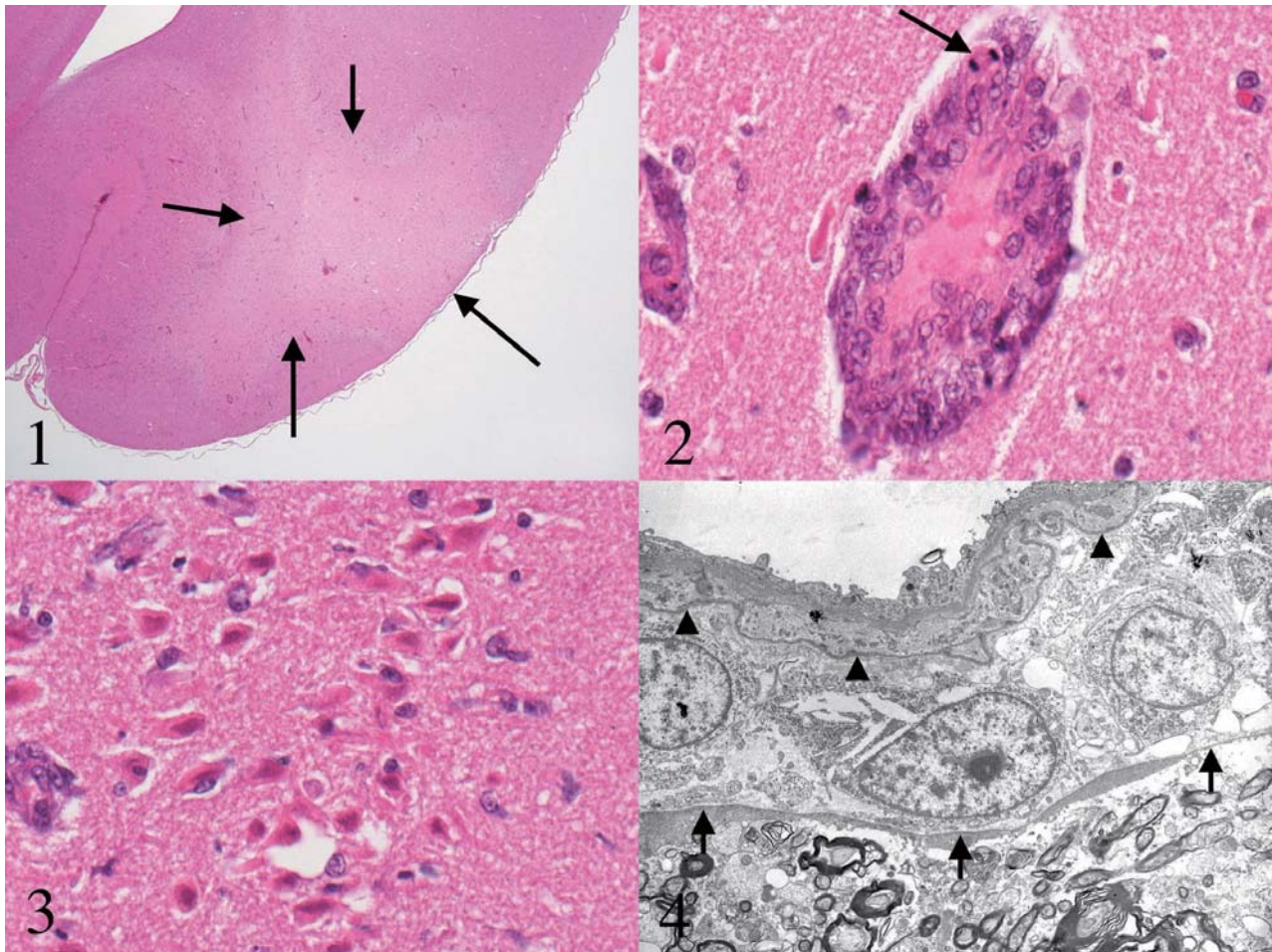
考察：本症例は小葉間胆管の消失とグリソン氏鞘におけるヘモジデリンを貪食したマクロファージの浸潤を特徴とする胆管炎と考えられた。この組織学的特徴は犬における破壊性胆管炎と類似していた。会場からも破壊性胆管炎を推す意見が聞かれたが，胆管の消失にマクロファージの浸潤が無関係との意見もあり，上記診断とした。(酒井洋樹)

参考文献：

1. Ted, S. G. M. van den Ingh *et al.* 2006. Morphological classification of biliary disorders of the canine and feline liver. PP. 61-76. *In:* WASAVA Standards for Clinical and Histological Diagnosis of Canine and Feline Liver Diseases. (WASAVA Liver Standardization Group ed.)

イヌの脳

大阪府立大学獣医病理学教室 第49回獣医病理学研修会 No. 985



動物：イヌ，ビーグル，雌，約6歳。

臨床症状：症例は自家腎移植実験が行われた動物で，移植3ヵ月後に腎生検を行ったところ，直後から痙攣様症状が認められた。ジアゼパム投与により一時的に状態が安定したが，再発を繰り返し，意識レベル低下，起立不能となったため，生検4日後に安楽殺し剖検を行った。MRI検査では，左側大脳にT2強調像で高信号，T1強調像で低信号を示す領域がび漫性に認められた。本例には，腎移植術の3年前に左側頸動静脈吻合術が行われている。

剖検所見：MRIの病変部は肉眼的に水腫様で，皮髄境界が不明瞭であった。また，左側大脳において直径5mm程度の出血巣が認められた。

組織所見：MRIの病変部に一致して，大脳に広範な壊死巣が認められ(図1)，血管周囲性に類円形ないし短紡錘形の核を有する細胞の増殖が観察され，しばしば有糸分裂像がみられた(図2)。海馬では，CA1ニューロンの虚血性壊死が認められた(図3)。また，脳実質や髄膜で拡張した静脈が散見された。肉眼的な出血部に一致して，髄膜から脳実質にかけて重篤な出血巣が認められた。免疫染色の結果，血管周囲の増殖細胞はvimentinに強陽性，vWFおよび α -SMAに陰性で，血管平滑筋の

外側に存在していた。電顕観察の結果，増殖細胞は血管基底膜より外側に位置し，脳実質とはさらに別の基底膜で区切られていた(図4)。

診断：血管周囲性の髄膜上皮細胞の増生を伴う広範な脳実質の壊死(脳静脈高血圧症を疑う)

考察：血管周囲の増殖細胞は，Virchow-Robin腔に存在する髄膜上皮細胞と考えられた。血管増生を伴う髄膜上皮由来の腫瘍には，meningiomaが挙げられるが，本例では増殖性病変だけでなく，虚血性神経細胞壊死，出血などの病変も伴っており，腫瘍性病変とは異なると考えられた。ヒトの脳静脈高血圧症では，慢性的な脳静脈逆流により，髄膜や脳実質に重篤な出血を起こすことがある。本例には左側頸動静脈吻合術が行われており，脳静脈の拡張が認められたことから，背景病変として慢性的な脳静脈高血圧が疑われた。

(井澤武史・桑村 充)

参考文献：

1. Bishop, T. M., Morrison, J., Summers, B. A., deLahunta, A., Schatzberg, S. J. 2004. *J. Vet. Intern. Med.* 18:522-528.
2. van Dijk, J. M., terBrugge, K. G., Willinsky, R. A., Wallace, M. C. 2002. *Stroke* 33:1233-1236.

レビュー1

豚レンサ球菌の病原因子と強毒株マーカーについて

関崎 勉 (東京大学大学院農学生命科学研究科・食の安全研究センター)

1. はじめに

豚レンサ球菌 (*Streptococcus suis*) は、豚に髄膜炎、心内膜炎等を惹起し、致死率も高く経済的損失が大きいことから、世界の主要な養豚国において恐れられている。また、*S. suis* はヒトにも感染し、髄膜炎等を起こすが、近年、中国や東南アジア諸国でヒトの *S. suis* 感染症が続発し、人獣共通感染症としての重要性が注目されている。ヒトは、豚あるいは生の豚肉や内臓肉に接触して感染することから、農場および畜場におけるリスク低減策が求められている。ところが、無視できない割合の豚が *S. suis* の弱毒株を常在菌として保有しており、その中からヒトに危害を与える強毒株を識別する必要がある。これまで、*S. suis* の病原因子あるいは病原性マーカーとして、いくつかの菌体成分が提案されてきた。しかし、多くの症例から分離した菌株は多様性を示し、強毒株を識別できる信頼できるマーカーや病原因子は未だに見つかっていない。本稿では、*S. suis* によって起こる豚とヒトの感染症の発生状況を示すとともに、これまで議論されてきた病原性マーカーについて解説する。

2. ヒトおよび豚のレンサ球菌症について

(1) 人獣共通感染症を起こす動物由来レンサ球菌

レンサ球菌属には約 60 種の異なる細菌種が含まれており、その殆どは病原性のない菌だが、一部のものがヒトや動物に病気を起こす。ヒトに病気を起こすレンサ球菌としては、A 群化膿性レンサ球菌 (または A 群溶連菌, *Streptococcus pyogenes*) が最も強毒で代表的な菌種である。特に小児の感染が多く、急性咽頭炎や扁桃炎を起こし、重篤な場合には猩紅熱に発展することもある。また、成人でも壊死性筋膜炎や毒素性ショック症候群を起こすいわゆる劇症型レンサ球菌症を起こすことでも知られており、病気の経過が急性なことと致死率の高さから恐れられている。一方、動物に病気を起こすレンサ球菌では、牛の乳房炎の原因となる無乳性レンサ球菌 (*S. agalactiae*)、馬に腺疫を起こす腺疫菌 (*S. equi subsp. equi*)、魚類の体表やヒレに潰瘍ができる魚類レンサ球菌 (*S. iniae*)、豚に髄膜炎、心内膜炎などを

起こす豚レンサ球菌 (*S. suis*) などが知られる。これらのレンサ球菌の中には、動物に病気を起こすだけでなくヒトにも強い病原性を示す菌種もある。中でも *S. suis* はヒトに劇症型レンサ球菌症を起こすことと、感染源を豚あるいは豚肉に特定できるという点で他のレンサ球菌とは異なる存在である。

(2) *S. suis* による豚の感染症

S. suis は臨床的に健康な豚の口蓋扁桃や上部気道などから分離されることがある。これらの保菌豚が養豚場に持ち込まれ、同じ豚群または養豚場内の豚に感染が拡大し、ストレスや衛生状態の悪化による豚の抵抗力の低下に伴い、発症するものと思われる。その病態は、軽度のものでは肺炎、関節炎などで、重度のものでは髄膜炎、敗血症となる。髄膜炎を発症した豚は、歩行困難または横臥し、口からの泡沫、運動失調・船こぎ運動などの神経症状が見られる。脳脊髄液は混濁し、解剖すると大脳髄膜の充血が認められる。関節炎では、関節腔内に繊維素性化膿性の液体貯留が見られる。さらに、臨床上健康な豚がと畜場で解体される際、心臓弁膜に疣贅が発見されて心内膜炎として摘発される例も多い。因みに心内膜炎が認められた場合は、一般に、検体採材後、当該内臓と頭部は廃棄処分。枝肉は保留となり、検査が終了するまで保留専用冷蔵庫に保管される。検査の結果、2 カ所以上の臓器から同一菌が分離・同定されたら廃棄処分となり、細菌が分離できなかった場合は、枝肉や内臓の所見を総合的に勘案して廃棄または合格の判定をする。

豚の *S. suis* 感染症は古くは 1954 年のイギリスでの報告 [12] に始まり、その他のヨーロッパ各国、北米・南米諸国、オセアニア諸国、アジア、中近東などでの発生が現在まで続いている。日本でも 1979 年に初めて島根県での発生が報告されて以来、北海道から沖縄まで、ほぼ全国での発生が続いている。豚以外の動物では、牛、馬、山羊、めん羊、狸、猪、犬、猫での報告がある。

(3) *S. suis* によるヒトの感染症

ヒトの *S. suis* 感染症では、主に細菌性髄膜炎を発症する。潜伏期は数時間から 3 日間、その後、頭痛、吐き気に始まり髄膜炎の特徴である項部 (うな

じ)の硬直や運動失調が見られ、昏睡に至る。ヒトでは発症時から聴覚障害が見られることが特徴で、快復後も重い障害として残る。また、まれに敗血症により多臓器不全を起こす。豚および豚肉と職業上接触する機会の多い人、例えば養豚業従事者や獣医師、豚を解体すると畜場職員、豚肉を取り扱う飲食業者などの症例報告が多い。いずれも、感染した豚(またはその生肉)に接触した際に、皮膚の外傷を介して感染したと考えられる。特異な例として、イノシシを解体したハンターの感染もある。さらに、十分に加熱調理されていない豚肉を使った食品を介した感染の報告もあり、職業に関連せず一般の人にも感染する恐れがある。

(4) 2005年中国でのヒトの集団感染

ヒトの *S. suis* 感染症は、1968年にデンマークでの症例が報告されて以来 [26]、オランダ、イギリス、香港、中国、日本、タイ、ベトナムなど多くの国での発生が確認されていた。これらは、いずれも単発的で主に髄膜炎によるものであったが、2005年7月に中国四川省で215名の患者発生に対して39名が死亡する集団感染が起こり、世界中を震撼させた [38]。当初より、患者には農業に従事する成人男性が多く(農民198名、と殺人5名、獣医1名)、子供は含まれていなかったことから、職業や何らかの作業に付随して感染したと思われていた。現地調査の結果、患者は豚の *S. suis* 感染症発生に際し、死亡した豚あるいは発症中の豚を解体処理する過程で感染したと判明した。特に、庭先などで手袋や長靴などの防具を着けずに解体処理作業を行ったため手足の傷などを介して感染したと推定されている。特筆すべきは、そのような外傷が見られない患者もいたことである。恐らく、病豚を解体中に汚染された飛沫を吸入して感染したものと推察される。中国当局の指示により、庭先での解体禁止、防具の着用、作業後の消毒などの処置を施すことによって、この集団発生は急速に鎮火した。この事件を契機に、既に1998年にも中国江蘇省で25名の患者が発生し、うち14名が死亡していたことが判明した。また、後に、この1998年の発生と2005年の発生には、遺伝的にほぼ同一の菌株が関与したことも判明している。

2005年の大発生はWHO(世界保健機関)を介して世界中の注目を浴びた。特に215名の患者中61名が臨床症状から既知の髄膜炎症状とは異なる症状を呈していた点である。すなわち、発熱、悪寒、頭痛、筋肉痛、吐き気、腹痛や下痢は見られたが、髄膜炎の特徴である項部硬直、ケルニッヒ徴候やブルジンスキー反射が見られず、一方、血圧低下、腎不

全、肝機能障害、皮膚にクモ状母斑の出現など、劇症型レンサ球菌症と類似していたことである [38]。近年、*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* など *S. pyogenes* 以外のレンサ球菌によっても同様な劇症感染症が起こることが明らかになってきたが、中国での事件により、期せずして、*S. suis* も劇症型感染症を起こすことが確認されることとなった。実際、この61名中38名(62%)が死亡しており、劇症型を発症した場合の *S. suis* 感染症の脅威を物語っている。

これまで散発的であったヒトの *S. suis* 感染症が2005年中国では何故、一度に多くの患者を出すほどの発生になったのであろうか。一部のゲノムシークエンスの結果、最初に中国株と英国の株の莢膜抗原遺伝子に一部違いがあると報告されたが、これが病原性の違いにそれほど影響するとは考えられない [33]。次に、ヒト末梢血単核球に対する細胞毒性は、豚由来株に比べて有意に強いと報告されたが、*in vitro* における細胞毒性のみの成績であり、トータルの病原性についての成績は無い [37]。その後、2005年及び1998年の中国株の全ゲノム配列が決定された。これらの株にはいずれも欧州の株には無い89kbもの巨大な外来遺伝子群がゲノムに挿入されており、その中には、2成分制御系遺伝子など病原性との関わりを示唆する構造が存在することから、89Kのパソジュニシティアイランド(PAI)と呼ばれた [6]。塩基配列から推定されたもののうち、SalK/SalRと名付けられた2成分制御系については、この遺伝子を破壊した株の病原性が失われ、遺伝子破壊株への相補試験で病原性が復活するという成績が示されている [20]。しかし、そもそもこの遺伝子を保有しない欧州株でも強毒株は存在することや、ゲノム上に1コピー存在する2成分制御系遺伝子に対して、複数コピーのプラスミドベクターを使った相補試験についても疑問な点が多い。さらに、最近ベトナムで分離されたヒト由来株と過去に欧州で分離された豚由来株の全ゲノム配列も決定され、中国株との比較成績が報告されたが、そこでも2005年の中国株がより強毒であるという証拠は見つかっていない [16]。

(5) その他諸外国と日本におけるヒト感染症の発生

中国での集団発生を契機に、他の諸国においてもヒトの *S. suis* 感染の症例報告が急激に増加した。2007年にはオーストラリアで、ペットフード製造工場の労働者が劇症型感染症を起こし、さらに2008年に少なくとも3例の髄膜炎患者が発生している [34]。また、タイやベトナムなどのアジア諸国でも豚あるいは豚肉等を原因とするヒトの集団発

生と死亡例が現在でも続いている [21, 35]。これらの国では、一部の地域の伝統的な料理で、十分に加熱されていない豚肉や内臓肉を食べる習慣があり、そのため一度に大量の感染者を出していることが問題となっている。一方、日本でもこれまで誌上に報告されていないものも含め少なくとも 10 名の患者が確認され、うち 2 名は死亡している [10, 17, 23] (表 1)。この内、記録上の初発例は敗血症と考えられていたが、*S. suis* が劇症型を起こすと分かったこと、および病理所見を総合すると、本症例も劇症型であったと判断された。また、2006 年 5 月に発生したもう 1 件の死亡例も明らかに劇症型によると思われる。

3. *S. suis* の病原因子または強毒株マーカー

S. suis には、現在まで 35 種類の血清型が報告されている。この中で、病豚から分離されるものでは、2 型が圧倒的に多く、次いで 1, 3, 4, 7, 8, 9 型などが続き、健康豚が保菌しているものも含めるとほぼ全ての血清型が検出される。一方、ヒトの患者から分離された株は、豚と同様に 2 型が最も多く、その他に 1 型が 1 例、4 型が 1 例、14 型が 19 例、16 型が 1 例報告されている。このように病豚から最も高頻度に分離される血清型 2 には強毒株が多い。そこで、血清型 2 を中心に強毒株と弱毒株の菌体および菌体外成分を比較することによって、いくつかの分子が病原因子の候補として提案されてきた。ここからは、これまで提唱された菌体および菌体外成分の主なものについて概要を紹介する。

(1) 莢膜・細胞壁

S. suis の莢膜は血清型の主要な抗原であるとともに

に、重要な病原因子であることが証明されている [5, 28]。これまでに、1 型と 2 型の化学組成が明らかにされており、共に *glc*, *gal*, *glcNac*, *neuNac* を保有し、これに *galNac* (1 型) または、*rha* (2 型) が加わる [9]。このうち *neuNac* に関しては、他の病原細菌においても、補体の活性化を阻害し、マクロファージや単球への粘着に関与することが指摘されており、*S. suis* の場合には、これら白血球に粘着することによって細胞と共に脳血液関門を通過するのではないかと考えられている。また、莢膜欠損株はマクロファージの食菌抵抗性が低下することや、莢膜が TLR2 を介した自然免疫回避機構にも関与することが報告されている。実際、*cpsY*, *covR* 遺伝子によって莢膜発現は調節されており、発現の低下 (細胞への粘着向上) と、発現の上昇 (食菌作用への抵抗性増加) を調節しているものと思われる [25]。

細胞壁成分に関しては、ペプチドグリカンの脱アセチル化に関与する遺伝子 *pgdA* [13] とリポタイコ酸への D-アラニンの付加に関与する遺伝子 *dltA* [14] を破壊すると、それぞれ病原性が低下することが分かっているが、その詳細なメカニズムは不明である。

(2) sortase と細胞壁結合タンパク質の表層提示

グラム陽性菌の多くは、タンパク質を細胞壁に共有結合させ表層に提示するための酵素 *sortase* を有している。この酵素は、分泌タンパク質の C 末端付近にある LPXTG モチーフを認識し、T (スレオニン)・G (グリシン) 間で C 末端を切除し、新たな末端の T をペプチドグリカンのペンタペプチド中の G へ共有結合 (ペプチド結合) させる。従って、*sortase* の基質となりえる細胞壁蛋白質には、N 末端に分泌タンパク質の構造と C 末端には LPXTG モ

表 1 日本におけるヒトの豚レンサ球菌症例

発生年月	年齢	性別	診断名	記録された主症状	転帰	職業
1994.7	55 歳	男性	敗血症	Waterhouse-Friderichsen 症候群	死亡	飲食業
2002.2	58 歳	男性	細菌性髄膜炎	頭痛, 関節痛	回復・難聴	養豚業
2002.8	47 歳	男性	細菌性髄膜炎	頭痛, 高熱	回復・難聴	食肉加工業
2003.1	47 歳	女性	細菌性髄膜炎	頭痛, 高熱, 意識障害	回復・難聴	食肉加工業
2005.6	57 歳	女性	細菌性髄膜炎	倦怠感, 食思不振, 発熱	回復・難聴	飲食業
2005.9	56 歳	男性	細菌性髄膜炎	頭痛, 発熱, 頸部硬直, DIC	回復	食肉加工業
2006.1	56 歳	女性	敗血症	発熱, 紫斑, DIC	回復	飲食業
2006.5	63 歳	女性	電撃型紫斑病	意識障害, 紫斑, 敗血症性ショック, DIC	死亡	農業
2008.6	68 歳	男性	細菌性髄膜炎	倦怠, 嘔気, 頭痛, 難聴, 項部硬直, 四肢筋力低下, 急性腎不全, DIC	回復, 難聴, 腎機能障害	食肉加工業
2008.7	49 歳	男性	細菌性髄膜炎	肩頸部疼痛, 難聴, 頭痛, 発熱	回復・難聴	養豚業

参考文献 [10, 17, 23] を元に、筆者らの成績を総合した。尚、日本でヒトから分離された株はすべて血清型 2 である。DIC: 播種性血管内凝固症候群。

チーフおよびそれに続く疎水性領域が保存されており、これらの構造的な特徴から細胞壁タンパク質であると推定できる。*S. suis* でも *sortase* をコードする遺伝子 *srtA* が同定され [24]、その後のゲノム解析で 33 種以上の細胞壁タンパク質が存在すると推定されている。

(3) 細胞壁結合タンパク質 (MRP, OFS, Hly)

Muramidase-released protein (MRP) は、N-アセチルムラミダーゼによって細胞壁から溶出してくる 136kDa の細胞壁結合タンパク質である。その後、多くの株について調べられ、136kDa よりも小さい分子や大きな分子 (それぞれ MRP^S と MRP* と呼ぶ) があることも判った。いずれも典型的な MSCRAMMs (Microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules) の構造を有するタンパク質である。MRP は、extracellular factor (EF) と共に血清型 2 の強毒株に共通の成分として病原性マーカーであると提唱されたが、*mrp* 破壊株の病原性は変わらず [29]、現在では病原因子とは言えないと結論づけられている。また、北米で分離された強毒株の多くは MRP を保有しておらず、必ずしも唯一必須の因子ではないことが分かる。一方、感染時には体内でも発現していることが確認されており、また、MRP 自身の免疫原性も強いことから、抗体上昇も良好である。しかし、感染のマーカーにはなるが、感染防御抗原とはならない。

血清白濁化因子 (Serum opacity factor, SOF) は、血清中の High density lipoprotein particle (HDL) に作用することにより、血清を白濁すると言われており、*S. pyogenes* では病原因子の一つとして報告されている。*S. suis* にもこれと相同なタンパク質の存在が見つかり、serum opacity factor of *S. suis* (OFS) と名付けられた [3]。MRP と同様に典型的な MSCRAMMs の構造を有しており、SOF だけでなく *S. dysgalactiae* の fibronectin 結合タンパク質 (FnBA) とも相同性があるが、fibronectin には接着しない。しかし、*ofs* 遺伝子破壊株では病原性が低下しており、病原性に直接関連する因子の一つとして認められている [3]。一方、OFS は全ての *S. suis* 株には存在せず、遺伝的に近縁な特定の菌株集団にのみ病原因子としての意味をもつと考えられている [31]。

ヒアルロン酸分解酵素である hyaluronidase (HlyA) は、C 末端に LPXTG モチーフを有する 30kDa の細胞壁結合タンパク質であるが、菌体外にも分泌される。*S. suis* では、血清型 3 と 7 の菌で見ついているが、1, 1/2, 5, 6, 9, 10, 14, 22 型にはな

く、特に 1, 2, 5, 14 型では部分的に欠失した活性のないタンパク質しか産生していない。強毒株にはなく、肺炎由来株などやや弱い病原性株の多い 7 型などにあることから肺炎形成に関与しているのではないかと推論されている [2]。

Surface antigen one (Sao) は、感染回復血清と反応する細胞壁結合タンパク質として見つかったもので、その機能は不明である。しかし、大腸菌で産生させた組換えタンパク質は、感染防御効果があったと報告されている [21]。

(4) 線毛関連遺伝子群

細胞壁結合タンパク質の表層提示に関与する *sortase* 遺伝子の探索で、目的の *srtA* 遺伝子以外に少なくともゲノム上の 3 カ所に機能不明の *sortase* 類似遺伝子 (群) が存在することが分かっていた [24]。しかし、その後、ジフテリア菌といくつかのレンサ球菌が線毛を保有し、その線毛形成に同様な *sortase* 類似酵素が関与しているとの報告が続いた。さらに *S. suis* のゲノム配列も部分的にインターネット上で公表され、それらを検索したところ、新たに 2 カ所の *sortase* 類似遺伝子が見つかった [30]。遺伝子群の構造と機能を詳細に調べたところ、後から見つかった *srtF* 遺伝子群および *srtG* 遺伝子群の 2 つが線毛形成に関与すると予想された。しかし、これら線毛と病原性との関係については不明である。

(5) その他の表層タンパク質 (FBPS, AcrA, GAPDH, eno)

Fibronectin/fibrinogen-binding protein (FBPS) は、*in vivo* で特異的に発現する遺伝子の探索法 (*in vivo* expression technology, IVET) により発見された表層タンパク質で、他のレンサ球菌で知られる類似のタンパク質、*S. gordonii* の FlpA、*S. pyogenes* の FBPS54 と 80% 程度の相同性を示す [27]。FBPS 自体は、fibronectin および fibrinogen と結合するが、菌体自身がこれらの分子との接着に関与するかは不明である。*S. suis* では、病原性の強弱に関係なく多くの株に存在し、遺伝子欠失変異株の病原性は親株に比べ一部低下したが扁桃への定着に差は無かった。感染回復血清中に抗体ができるが感染防御はマウス、豚共に認められなかった [8]。

Arginine deiminase (AcrA) は、アルギニンからオルニチンを生成する代謝酵素だが、*S. pyogenes* では、上皮細胞への粘着や侵入に関与する。しかし、*S. suis* では接着への関与は認められず、酸性領域と低酸素環境での生残に関与すると推論されている [15, 36]。

Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) は、解糖系代謝酵素の一つで、*S. suis* ではアルブミン結合タンパク質として発見された。*S. pyogenes* では、宿主タンパク質や細胞との相互作用に関連し、*S. suis* の GAPDH 遺伝子欠失破壊株では、牛と豚の気管上皮細胞への粘着 [4] およびプラスミノゲンへの結合 [18] に関与している。

α -enolase (eno) も、解糖系代謝酵素の一つで、*S. pyogenes* で plasmin および fibronectin への接着が報告されていたが、*S. suis* においても同様な接着が認められた。eno 自身のこれら分子への接着は認められているが、菌体自身の接着に関与するかは不明である。感染回復血清中に抗体ができ、免疫原性は強いようだが、マウスを使った感染防御試験では使うアジュバントによって結果は異なっている (11)。

(6) 分泌タンパク質 (EF, sly)

EF は、強毒株の多くに見られる 110kDa の菌体外分泌タンパク質として報告され、血清型 1, 2, 1/2, 14, 15 でのみ見つかっている。N 末端には分泌タンパク質のモチーフを有し、中央部から C 末端にかけてリピート領域があり、このリピート領域が長いバリエーション (large variant, EF*) も報告されている。当初は病原性マーカーの一つと考えられたが、血清型 2 において MRP+ EF+ が強毒だったのに対し、MRP+ EF* は弱毒であったこと、血清型 9 の強毒株の多くには存在しないこと、北西ドイツの猪由来血清型 2 株が MRP+ EF*、北米の豚由来株で MRP+ EF+、あるいは MRP+ EF* は稀であること、および EF の遺伝子を欠失させた株が依然病原性を示したことから病原性との直接の関連はないと結論付けられている [29]。また、MRP と同様に免疫原性は高く抗体上昇は良いが、感染防御抗原とはならない。

Suilyisin (Sly) は、一部の血清型 2 株が産生する溶血毒で、馬血液寒天で嫌気培養すると明瞭な β 溶血を示す。コレステロール依存性の細胞毒であり、肺炎球菌が産生する同様な溶血毒の pneumolysin (非分泌型) と 82% の相同性を示す。Sly の赤血球溶解性は、ヒト O 型血球で最も強く現れ、次いで馬、羊、牛、豚となり、豚赤血球への溶血性はむしろ弱い。さらに、sly 遺伝子欠失変異変異株はマウスでの病原性は低下したが、豚では依然病原性は変わらないという成績が得られた [1]。また、感染後に体内でも発現しており、肺炎由来株に比べて髄膜炎、敗血症由来株で産生しているものが多い。しかし、北米の豚由来強毒株では産生しない株も多いことから、病原性への関与については、まだ一定の見解はない。

(7) 菌体および菌体外成分と病原性との関係

以上のように、病原性株を中心に多くの菌体および菌体外成分と病原性との関係について調べられてきた。しかし、未だに不明な点が多く、病原性との直接の関連を遺伝学的にも証明できたものは、莢膜、血清白濁化因子、一部の細胞壁修飾酵素遺伝子のみで、現在のところ強毒株を簡便に見分ける適切なマーカーは確立していない。

4. 新たな食の脅威となりうるか?

2008 年香港の研究者によって、スーパーマーケットなどの市販豚肉から *S. suis* が検出されたと報告され、*S. suis* が食の安全を脅かす新たな脅威になりうると注目されている [7]。それによると、豚肉 1 グラムあたり最大 1,000 個もの *S. suis* が存在すると推定されており、調理場での交差汚染によるヒトへの感染の危険性を警告している。また、総検出菌数の多いもの、すなわち汚れた肉ほど *S. suis* の検出数が多いことも判明した。恐らく、他の雑菌も含めて汚れやすい状態でのと殺解体作業により肉が汚染されるもので、そこに豚が潜在的に保有する *S. suis* が紛れ込むものと思われる。

日本での市販豚肉からの *S. suis* の検査成績は出ていないが、健康な豚がどの程度 *S. suis* を保菌しているかについては、日本および諸外国での成績から、子豚で 30 ~ 40%、成豚で 50 ~ 60% ほどと推定されている。しかし、*S. suis* には株ごとに病原性に強弱の差があり、健康豚が保菌している *S. suis* が全て強毒株というわけではない。強毒株はおそらく健康豚が保菌している株の数% ~ 10% だと思われる。従って、*S. suis* による食品を介した人へのリスクを正確に評価するためには、強毒株の識別方法を開発することが必要である。

5. 強毒株識別マーカーの候補

(1) Multilocus Sequence Typing (MLST)

MLST とは、どの株にも基本的に存在する house-keeping 遺伝子の塩基配列を調べることにより、それぞれの菌株の配列パターンを sequence type (ST) として番号付けし、これにより菌株の遺伝的類縁性を比較する方法で、上述のような外来遺伝子の影響は受けにくい。この方法によると、これまで病豚や患者から分離された *S. suis* 株の多くは主に 3 つの遺伝的にクローナルな集団 (ST1 complex, ST27 complex, ST87 complex) に集約できることが明らかとなった [19]。このうち ST1 complex には

ヒトや豚に髄膜炎や敗血症など重篤な疾病を引き起こした ST1 や 2005 年中国での大発生で分離された ST7 など強毒株が多数含まれており、強毒株の集団と考えられている。さらに我々の最近の研究で、もう一つの集団 ST27 complex に属する株も死亡例を含むヒトの *S. suis* 感染症の主要な原因菌であることが判明し、この 2 つの遺伝集団を見分けることが公衆衛生上特に重要と考えている [32]。MLST は、株間の多様性のある程度整理して全体を見渡すことができるため、*S. suis* の病原性を考える上で有用な方法である。しかし、MLST による株の型別には時間と費用がかかり、さらに高価な機器が必要なため、現場での *S. suis* 強毒株識別手法には使えず、これらの遺伝集団に属する強毒株を簡便に検出できる有用なマーカー遺伝子の確立が求められている。

(2) 新たな病原性関連マーカー

我々は、ST1 complex と ST27 complex の 2 つの集団を別な方法で見分けることができなかと研究を行ってきた結果、ST1 complex については、特定のタイプの血清白濁化因子の有無によって、ST27 complex に関しては菌表層の線毛形成に関連する遺伝子の有無によって識別できる可能性を見出した [30]。さらに最近、これらの遺伝子から実際に線毛が作られていることも証明できた。現在、これらの分子が *S. suis* の強毒株を見分けるマーカーと成り得るのか検証中だが、いずれも菌体表層に存在する分子であるため、簡便な検出法の開発につながれるものと期待している。

6. おわりに

S. suis は、保菌している豚あるいはその生肉や内臓肉を介して人に感染すると考えられる。従って、感染を防ぐための一般的な注意点として、①手指などに外傷のある人は、生の豚肉を扱う際に手袋を着用する、②豚肉を調理した後に、手洗いと器具の洗浄を徹底する、③豚肉は表面だけでなく内部まで火を通した上で食べる、などが挙げられる。一方で、本菌感染症による被害の軽減と食の安全を確保するためには、農場および食肉衛生検査所において強毒株と常在する弱毒株を簡便に見分ける技術の開発が不可欠であり、この面での研究を進める必要がある。

謝辞：日本のヒト感染症の情報を提供して戴いた元健康安全研究センター遠藤美代子氏、研究遂行に協力戴いた農研機構・動物衛生研究所大崎慎人氏、高松大輔氏、大倉正稔氏に深謝します。

参考文献

- Allen, A. G., Bolitho, S., Lindsay, H., Khan, S., Bryant, C., Norton, P., Ward, P., Leigh, J., Morgan, J., Riches, H., Easty, S., and Maskell, D. 2001. Generation and characterization of a defined mutant of *Streptococcus suis* lacking suisysin. *Infect. Immun.* **69**:2732-2735.
- Allen, A. G., Lindsay, H., Seilly, D., Bolitho, S., Peters, S. E., and Maskell, D. J. 2004. Identification and characterization of hyaluronate lyase from *Streptococcus suis*. *Microbiol. Pathog.* **36**:327-335.
- Baums, C. G., Kaim, U., Fulde, M., Ramachandran, G., Goethe, R., and Valentin-Weigand, P. 2006. Identification of a novel virulence determinant with serum opacification activity in *Streptococcus suis*. *Infect. Immun.* **74**:6154-6162.
- Brassard, J., Gottschalk, M., and Quessy, S. 2001. Decrease of the adhesion of *Streptococcus suis* serotype 2 mutants to embryonic bovine tracheal cells and porcine tracheal rings. *Can. J. Vet. Res.* **65**:156-160.
- Charland, N., Harel, J., Kobisch, M., Lacasse, S., and Gottschalk, M. 1998. *Streptococcus suis* serotype 2 mutants deficient in capsular expression. *Microbiol.* **144**:325-332.
- Chen, C., Tang, J., Dong, W., Wang, C., Feng, Y., Wang, J., Zheng, F., Pan, X., Liu, D., Li, M., Song, Y., Zhu, X., Sun, H., Feng, T., Guo, Z., Ju, A., Ge, J., Dong, Y., Sun, W., Jiang, Y., Wang, J., Yan, J., Yang, H., Wang, X., Gao, G. F. Yang, R., Wang, J., and Yu, J. 2007. A glimpse of streptococcal toxic shock syndrome from comparative genomics of *S. suis* 2 chinese isolates. *PLoS One.* **2**:e315.
- Cheung, P.-Y., Lo, K. L., Cheung, T. T., Hing, W., Leung, P. H. and Kam, K. M. 2008. *Streptococcus suis* in retail markets: How prevalent is it in raw pork? *Int. J. Food Microbiol.* **127**:316-320.
- de Greeff, A., Buys, H., Verhaar, R., Dijkstra, J., van Alphen, L., and Smith, H. E. 2002. Contribution of fibronectin-binding protein to pathogenesis of *Streptococcus suis* serotype 2. *Infect. Immun.* **70**:1319-1325.
- Elliott, S. D. and Tai, J. Y. 1978. The type-specific polysaccharides of *Streptococcus suis*. *J. Exp. Med.* **148**:1699-1704.
- Endo, M. 2007. Human infection with *Streptococcus suis*. *Monthly epidemiological records of Tokyo*

- metropolitan*. **28**:55–56 (in Japanese)
(<http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/epid/2007/tbkj2806.html>).
11. Esgleas, M., Li, Y., Hancock, M. A., Harel, J., Dubreuil, J. D., and Gottschalk, M. 2008. Isolation and characterization of α -enolase, a novel fibronectin-binding protein from *Streptococcus suis*. *Microbiol.* **154**:2668–2679.
 12. Field, H. I., Buntain, D., and Done, J. T. 1954. Studies of piglet mortality. 1. Streptococcal meningitis and arthritis. *Vet. Rec.* **32**:453–456.
 13. Fittipaldi, N., Sekizaki, T., Takamatsu, D., Domínguez-Punaro, M., Harel, J., Bui, N. K., Vollmer, W., and Gottschalk, M. 2008. Significant contribution of the *pgdA* gene to the virulence of *Streptococcus suis*. *Mol. Microbiol.* **70**:1120–1135.
 14. Fittipaldi, N., Sekizaki, T., Takamatsu, D., Harel, J., Domínguez-Punaro, M. C., Von Aulock, S., Draing, C., Marois, C., Kobisch, M., and Gottschalk, M. 2008. D-alanylation of the lipoteichoic acid contributes to the virulence of *Streptococcus suis*. *Infect. Immun.* **76**:3587–3594.
 15. Gruening, P., Fulde, M., Valentin-Weigand, P., and Goethe, R. 2006. Structure, regulation, and putative function of the arginine deiminase system of *Streptococcus suis*. *J. Bacteriol.* **188**:361–369.
 16. Holden, M. T., Hauser, H., Sanders, M., Ngo, T. H., Cherevach, I., Cronin, A., Goodhead, I., Mungall, K., Quail, M. A., Price, C., Rabinowitch, E., Sharp, S., Croucher, N., J., Chieu, T. B., Mai, N. T. H., Diep, T. S., Chinh, N. T., Kehoe, M., Leigh, J. A. Ward, P. N., Dowson, C., G., Whatmore, A. M., Chanter, N., Iversen, P., Gottschalk, M., Slater, J. D., Smith, H., Spratt, B., Xu, J., Ye, C., Bentley, S., Barrell, B. G., Shultsz, C., Maskell, D. J., and Parkhill, J. 2009. Rapid evolution of virulence and drug resistance in the emerging zoonotic pathogen *Streptococcus suis*. *PLoS One.* **4**:e6072.
 17. Ibaraki, M., Fujita, N., Tada, M., Ohtaki, O., and Nagai, H. 2002. A Japanese case of *Streptococcus suis* meningitis associated with lumbar epidural abscess. *Clin. Neurol.* **43**:176–179 (in Japanese) .
 18. Jobin, M. C., Brassard, J., Quessy, S., Gottschalk, M., and Grenier, D. 2004. Acquisition of host plasmin activity by the swine pathogen *Streptococcus suis* serotype 2. *Infect. Immun.* **72**:606–610.
 19. King, S. J., Leigh, J. A., Heath, P. J., Luque, I., Taradas, C., Dowson, C. G., and Whatmore, A. M. 2002. Development of a multilocus sequence typing scheme for the pig pathogen *Streptococcus suis*: identification of virulent clones and potential capsular serotype exchange. *J. Clin. Microbiol.* **40**:3671–3680.
 20. Li, M., Wang, C., Feng, Y., Pan, X., Cheng, G., Wang, J., Ge, J., Zheng, F., Cao, M., Dong, Y., Liu, D., Wang, J., Lin, Y., Du, H., Gao, G. F., Wang, X., Hu, F., and Tang, J. 2008. SalK/SalR, a two-component signal transduction system, is essential for full virulence of highly invasive *Streptococcus suis* serotype 2. *PLoS One.* **3**:e2080.
 21. Li, Y., Martinez, G., Gottschalk, M., Lacouture, S., Willson, P., Dubreuil, J. D., Jacques, M., and Harel, J. 2006. Identification of a surface protein of *Streptococcus suis* and evaluation of its immunogenic and protective capacity in pigs. *Infect. Immun.* **74**:305–312.
 22. Mai, N. T., Hoa, N. T., Nga, T. V., Linh, le D., Chau, T. T., Sinh, D. X., Phu, N.H., Chuong, L. V., Diep, T. S., Campbell, J., Nghia, H. D., Minh, T. N., Chau, N. V., de Jong, M. D., Chinh, N. T., Hien, T. T., Farrar, J., and Schultsz, C. 2008. *Streptococcus suis* Meningitis in Adults in Vietnam. *Clin. Infect. Dis.* **46**:659–667.
 23. Matsuo, H. And Sakamoto, S. 2003. Purulent meningitis caused by *Streptococcus suis* in a pig breeder. *J. Jan. Assoc. Infect. Dis.* **77**:340–342 (in Japanese) .
 24. Osaki, M., Takamatsu, D., Shimoji, Y., and Sekizaki, T. 2002. Characterization of *Streptococcus suis* genes encoding proteins homologous to sortase of gram-positive bacteria. *J. Bacteriol.* **184**:971–982.
 25. Pan, X., Ge, J., Li, M., Wu, B., Wang, C., Wang, J., Feng, Y., Yin, Z., Zheng, F., Cheng, G., Sun, W., Ji, H., Hu, D., Shi, P., Feng, X., Hao, X., Dong, R., Hu, F., and Tang, J. 2009. The orphan response regulator CovR: a globally negative modulator of virulence in *Streptococcus suis* serotype 2. *J. Bacteriol.* **191**:2601–2612.
 26. Perch, B., Kristjansen, P., and Skadhauge, K. 1968. Group R streptococci pathogenic for man: two cases of meningitis and one fatal case of sepsis. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* **74**:69–76.
 27. Smith, H. E., Buijs, H., de Vries, R. R., Wisselink, H. J., StockhofeZurwieden, N., and Smits, M. A. 2001. Environmentally regulated genes of *Strepto-*

- coccus suis*: identification by the use of iron-restricted conditions in vitro and by experimental infection of piglets. *Microbiol.* **147**:271-280.
28. Smith, H. E., Damman, M., van der Velde, J., Wagenaar, F., Wisselink, H. J., Stockhofe-Zurwieden, N., and Sits, M. A. 1999. Identification and characterization of the *cps* locus of *Streptococcus suis* serotype 2: the capsule protects against phagocytosis and is important virulence factor. *Infect. Immun.* **67**:1750-1756.
29. Smith, H. E., Vecht, U., Wiselink, H. J., Sstockhofe-Zurwieden, N., Biermann, Y., and Smits, H. J., 1996. Mutants of *Streptococcus suis* types 1 and 2 impaired in expression of muramidase-released protein and extracellular protein induce disease in newborn germfree pigs. *Infect. Immun.* **64**:4409-4412.
30. Takamatsu, D., Nishino, H., Ishiji, T., Osaki, M., Fittipaldi, N., Gottschalk, M., Tharavichitkul, P., Takai, S., and Sekizaki, T. 2009. Genetic organization and preferential distribution of putative pilus gene clusters in *Streptococcus suis*. *Vet. Microbiol.* **138**:132-139.
31. Takamatsu, D., Osaki, M., Tharavichitkul, P., Takai, S., and Sekizaki, T. 2008. Allelic variation and the prevalence of serum opacity factor among *Streptococcus suis* population. *J. Med. Microbiol.* **57**:488-494.
32. Takamatsu, D., Wongsawan, K., Osaki, M., Nishino, H., Ishiji, T., Tharavichitkul, P., Khantawa, B., Fongcom, A., Takai, S., and Sekizaki, T. 2008. *Streptococcus suis* in humans, Thailand. *Emerg. Infect. Dis.* **14**:181-183.
33. Tang, J., Wang, C., Feng, Y., Yang, W., Song, H., Chen, Z., Yu, H., Pan, X., Zhou, X., Wang, H., Wu, B., Wang, H., Zhao, H., Lin, Y., Yue, J., Wu, Z., He, X., Gao, F., Khan, A. H., Wang, J., Zhao, G.-P., Wang, Y., Wang, X., Chen, Z., and Gao, G. F. 2006. Streptococcal toxic shock syndrome caused by *Streptococcus suis* serotype 2. *PLoS Medicine.* **3**: e151.
34. Tramontana, A. R., Graham, M., Sinickas, V. and Bak, N. 2008. An Australian case of *Streptococcus suis* toxic shock syndrome associated with occupational exposure to animal carcasses. 2008. *Med. J. Austr.* **188**:538-539.
35. Wangkaew, S., Chaiwarith, R., Tharavichitkul, P., and Supparatpinyo, K. 2006. *Streptococcus suis* infection: a series of 41 cases from Chiang Mai University Hospital. *J. Infect.* **52**:455-460.
36. Winterhoff, N., Goethe, R. Gruening, P., Rohde, M., Kalisz, H., Smith, H. E., and Valentin-Weigand, P. 2002. Identification and characterization of two temperature-induced surface-associated proteins of *Streptococcus suis* with high homologies to members of the arginine deiminase system of *Streptococcus pyogenes*. *J. Bacteriol.* **184**:6768-6776.
37. Ye, C., Zhu, X., Jing, H., Du, H., Segura, M., Zheng, H., Kan, B., Wang, L., Bai, X., Zhou, Y., Cui, Z., Zhang, S., Jin, D., Sun, N., Luo, X., Zhang, J., Gong, Z., Wang, X., Wang L., Sun H., Li, Z., Sun, Q., Liu, H., Dong, B., Ke, C., Yuan, H., Wang, H., Tian, K., Wang, Y., Gottschalk, M. and Xu, J. 2006. *Streptococcus suis* sequence type 7 outbreak, Sichuan, China. *Emerg. Infect. Dis.* **12**:1203-1208.
38. Yu, H., Jing, H., Chen, Z., Chen, Z., Zheng, H., Zhu, X., Wang, H., Wang, S., Liu, L., Zu, R., Luo, L., Xiang, N., Liu, H., Liu, X., Shu, Y., Lee, S. S., Chuang, S. K., ang, Y., Xu, J., Ynag, W., and the *Streptococcus suis* study group. 2006. Human *Streptococcus suis* outbreak, Sichuan, China. *Emerg. Infect. Dis.* **12**:914-920.

レビュー 2

ユビキチン・プロテアソーム系と免疫機構

山元 哲

細胞機能や生命の維持には、細胞内タンパク質を積極的に代謝回転させることが重要である。このために、損傷、修飾を受けたり、誤って生合成されたタンパク質あるいは不必要となったタンパク質は何かの仕組みで認識され、分解されなければならな

い。タンパク質分解の主たる役割を担っている系の一つが、ユビキチン・プロテアソーム系である。

この系はタンパク質分解だけにとどまらず、タンパク質の寿命調節や品質管理、細胞周期調節、遺伝子発現、ストレス応答、免疫反応、発癌、DNA修

復など数多くの生命現象に関与していることが示されている。

ここでは、まずユビキチン・プロテアソーム系の基本について紹介し、次にT細胞の分化やウイルス感染との接点に焦点をあてていくつかのレビューを抜粋して紹介する。

1. ユビキチン

個々のタンパク質には対応する分解シグナルが存在しており、実際に分解シグナルが明らかにされているタンパク質も多い。代表的な分解シグナルがユビキチンであり、76アミノ酸残基からなる小球状のタンパク質である。真核生物に広く分布しており、進化上、保存性が最も高いタンパク質の一つである。標的タンパク質にユビキチンが結合し、その結合したユビキチンへ次々にユビキチンが連結することにより形成されるポリユビキチン鎖が分解シグナルとして機能する。ポリユビキチン鎖により標識された標的タンパク質はプロテアソームへ運ばれ、分解されるが、ユビキチンは分解されずに再利用される。

タンパク質のユビキチン化は、E1 (ユビキチン活性化) 酵素, E2 (ユビキチン転移) 酵素, E3 (ユビキチン結合) リガーゼの3つの酵素により触媒されている。E1 酵素はATP 依存的にユビキチンを活性化する。活性化されたユビキチンはE2 酵素に転移し、E2 酵素とE3 リガーゼとの相互作用を介して標的タンパク質へ結合される。E3 は基質特異性が高く、各々のタンパク質に対して特異的なE3 リガーゼが多数同定されている。

2. プロテアソーム

プロテアソームは、酵母から哺乳類に至る真核生物において高度に保存された構造をもち、哺乳動物細胞では全細胞タンパク質プールの約1%を占める。構造は20S「コア」プロテアソームとその両端の19S 調節タンパク質複合体2個からなる巨大なタンパク質分解複合体である(以下この文中では、20S「コア」プロテアソームを「プロテアソーム」と表記する)。

哺乳類のプロテアソームは、4つの相同的なリングからなり、各々のリングは7つのサブユニットから構成される。リングは α リングおよび β リングが $\alpha\beta\beta\alpha$ の順番に積み重なって、中空円筒状構造のプロテアソームを形成している(図1)。プロテアソームのタンパク質分解活性中心は β リングの内側にあり、3つの β 型サブユニット、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ と $\beta 5$ のみが分解活性をもっている。プロテアソームに運びこまれたタンパク質は円筒状構造内を通過する間に、ペプチド断片へと分解される。

3. プロテアソームと抗原提示

さまざまな免疫反応のうち、非自己抗原の提示は、外来性の抗原(非自己)の侵入をT細胞に知らせる最も特異的な手段であり、特定の病原体へ獲得免疫を開始する際の重要なプロセスである。MHCクラスI分子はプロテアソームによって産生されるペプチドと結合して、細胞障害性Tリンパ球(CD8陽性T細胞)に提示する。MHCクラスI分子上に

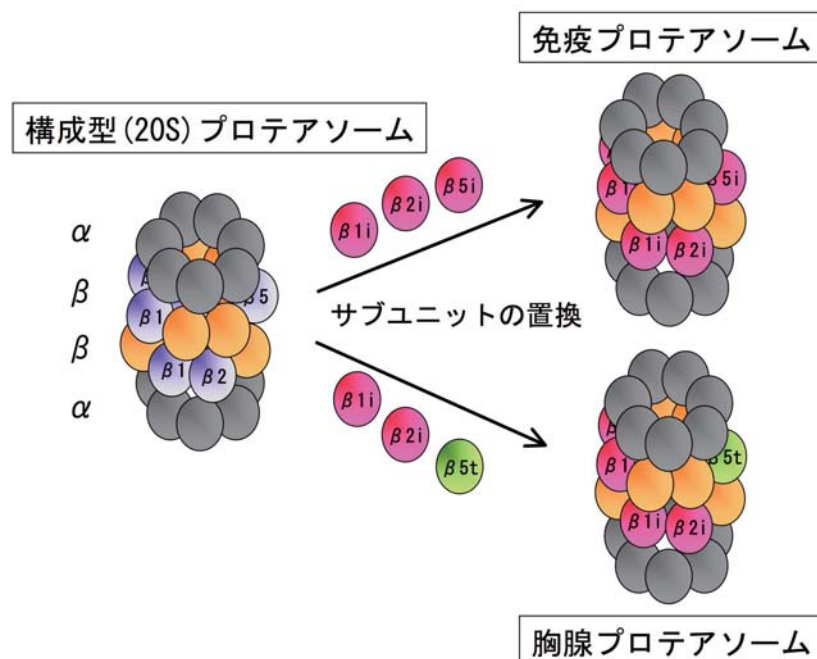


図1 3種類のプロテアソーム

は抗原提示される箇所には溝があり、ペプチドはその溝の中のポケットといくつかのアンカー残基側鎖との相互作用により MHC クラス I 分子と結合する。その際、ペプチドの C 末端は常にアンカー残基の一つとして用いられる。T 細胞は、細胞表面上の特異的な T 細胞レセプター (TCR) を介して MHC に結合した非自己タンパク質由来のペプチド断片と相互作用し、非自己抗原を認識する。

4. 免疫プロテアソーム

プロテアソームのタンパク質の構成には多様性が存在する。代表的な例が脊椎動物における、細胞内に侵入したウイルスの抗原や腫瘍抗原を提示する免疫プロテアソーム (immunoproteasome) である。免疫プロテアソームは、MHC クラス I に結合性の高い抗原ペプチドの産生を促進する専門的なプロテアソームで、通常の構成型プロテアソームと区別される。

免疫プロテアソームは、インターフェロン- γ により強く誘導され、タンパク質分解の活性中心である β 型サブユニットが、新たな $\beta 1i$, $\beta 2i$, $\beta 5i$ (サブユニット) によって置換される (図 1)。一般に、これらのサブユニットで形成された 20S 免疫プロテアソームは、 i を付加して $i20S$ と示される。

免疫プロテアソームの産生するオリゴペプチドは 20S 構成型プロテアソーム ($c20S$ と示される) によって切り出されるペプチドとは異なり、MHC クラス I への結合に適した平均 8-10 アミノ酸残基であることが示されている。また、サブユニットの置換により免疫プロテアソームは高いキモトリプシン様活性をもつ。ほとんどの MHC クラス I 分子のポケットは、疎水性側鎖の結合が優位である。実際に MHC クラス I 分子から溶出されるペプチドの C 末端アンカー残基は疎水性残基に富んでおり、これは $\beta 5i$ のプロテアーゼ活性の特異性によると考えられている。免疫プロテアソームで産生されるペプチドは MHC クラス I の提示部分に親和性が高い C 末端が疎水性アミノ酸残基であるため、効率的に抗原提示されると考えられる。

5. 胸腺特異的なプロテアソーム (胸腺プロテアソーム)

脊椎動物の胸腺皮質上皮細胞 ($cTEC$) には $\beta 5$ と相同性が高い $\beta 5t$ (サブユニット) が特異的に発現している。 $\beta 5t$ の組み込まれた「胸腺プロテアソーム (thymoproteasome)」は他のプロテアソームと比べて、キモトリプシン様活性が 60-70% と低く、産生されるペプチドは特殊なレパートリーとなる

(図 1)。 $\beta 5t$ の組み込まれた 20S 胸腺プロテアソームは、 t を付加して $t20S$ と示される。

$\beta 5t$ ノックアウトマウスの解析から、胸腺プロテアソームが欠失すると CD8 陽性 T 細胞の減少を引き起こし、リンパ球分化における正の選択が障害される。ノックアウトマウスでは胸腺のサイズ、皮質と髄質の構造は正常であるので、CD8 陽性 T 細胞が減少する原因は $cTEC$ の発達が不完全なためではない。また、CD4 陽性胸腺細胞の生成も野生型マウスやヘテロ対立遺伝子型マウスと同等であるため、ノックアウトマウスにおいて CD8 陽性 T 細胞の発達以外には $cTECs$ の機能はよく維持されている。

このことから、胸腺プロテアソームによって産生され MHC クラス I に提示されるペプチドレパートリーが、 $cTEC$ において CD8 陽性 T 細胞の分化・成熟のために必須であることが示唆された。 $\beta 5t$ ノックアウト胸腺細胞では細胞表面上の MHC クラス I の量は減少せず、また、胸腺プロテアソームで産生されるペプチドは確かに MHC クラス I に結合していることから、提示されるペプチドの量ではなく、質の方が強く関係していると考えられる。

6. T 細胞レパートリーの形成

TCR の MHC-抗原ペプチド複合体への親和性と MHC-抗原ペプチド複合体の発現量との積をアビディティ (avidity) といい、T 細胞の選択の度合いはこのアビディティによって決められるというのがアビディティモデルである。この考え方は、T 細胞の要素だけでなく、抗原の量などに応じて選択の幅が広がったり狭くなったりするということを示唆している。

胸腺では $cTEC$ 、胸腺髄質上皮細胞 ($mTEC$)、樹状細胞 (DC) が 3 次元的に配置されている。T 細胞は自己抗原ペプチド-MHC 複合体と TCR を介して相互作用しながら皮質から髄質の方向へ移動する過程で分化・成熟し、CD4 または CD8 陽性 T 細胞となって末梢へ移行する。T 細胞の分化・成熟の調整では 2 つの異なるプロセス、つまり正および負の選択が起こる。両プロセスともに自己タンパク質由来のペプチドが MHC 分子に結合し、認識されることが必要であるが、正反対の結果をもたらす。 $cTEC$ 、 $mTEC$ または DC により提示された自己タンパク質由来のペプチドと弱く相互作用する (低い親和性を示す TCR を発現する) T 細胞は生存し、分化・成熟する (正の選択) が、逆に強く相互作用する自己抗原反応性 T 細胞は、アポトーシスにより死滅し、排除される (負の選択)。特に $mTEC$ では、本来は末梢組織でしか発現しないはずの多くの

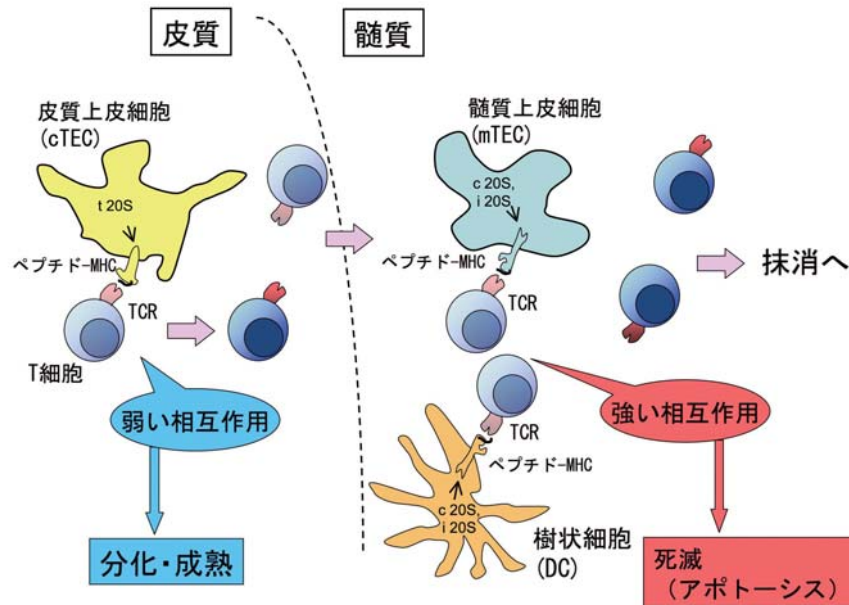


図2 胸腺におけるT細胞の選択

タンパク質が、autoimmune regulator (AIRE) という転写因子によって異所性に発現し、MHCによって提示されることにより負の選択が行われる(図2)。このようにして、自己抗原に対して反応の弱いT細胞のみが生存すると考えられる。

mTECとDCのプロテアソームは末梢の細胞と同様に構成的あるいは免疫プロテアソームであることが示された。したがって、mTECやDCの抗原の処理は末梢の細胞ときわめて類似している。対照的に、特異的なペプチド形成を有する胸腺プロテアソームが発見されたcTECでは、MHCクラスI分子によって提示されるペプチドが他のどの細胞とも異なっている。

$\beta 5t$ はキモトリプシン様活性が減少しているため、生産されるペプチドは主にC末端が親水性アミノ酸残基である。このペプチドは $\beta 5$ や $\beta 5i$ で産生されるペプチドとは異なり、MHCクラスIに対して親和性が低い。胸腺プロテアソームによってT細胞の正の選択が特異的に誘導されることと、正の選択には自己ペプチド-MHC複合体とTCRとの間に弱い相互作用が形成される必要があることを考え合わせると、胸腺プロテアソームで産生される特異的なペプチドが、自己抗原ペプチド-MHC複合体とTCRとの相互作用の持続や強度を決定し、正の選択に寄与していることが示唆される。

しかし、胸腺プロテアソームが親和性とは無関係にCD8陽性T細胞の正の選択を誘発する特殊化されたペプチドを産生することも考えられる。つまり、一種類のペプチドとMHCの複合体でさえ相当多数のT細胞の正の選択を誘導することが可能であるか

ら、胸腺プロテアソームが少数の特異的なペプチドを産生し、その少数のペプチドのみでT細胞の多様なレパートリーの正の選択が行われる可能性もある。

7. ウイルス感染とユビキチン

多くのウイルスは宿主のユビキチンとユビキチン様の機構を修飾することができるタンパク質をコードしている。その修飾により基質特異性を頻繁に変化させ、複製を容易にする。一方、宿主細胞はウイルス感染に対抗するために、T細胞に認識されるウイルス由来のペプチドを産生するユビキチン・プロテアソーム系を利用する。ところが、ウイルスはプロテアソーム分解に係わるタンパク質を変化させ、MHCクラスIによる抗原提示を阻害して、T細胞による認識を回避する(表1)。

さらに、ウイルスの中には自らの複製を亢進して、細胞周期を調節するものがあり、ヒトパピローマウイルス(HPV)、アデノウイルス、シミアンウイルス40などDNA腫瘍ウイルスが一般的である。これらのウイルスは細胞周期の調節因子を分解の標的とする共通の機構を保持し、宿主細胞をトランスフォーメーションに導くことが多い。例えば、HPV16と18のE6タンパク質は細胞に存在するE6APと結合してE3リガーゼ複合体をつくり、ユビキチン依存的なp53プロテアソーム分解を調節する。p53は腫瘍抑制因子であるから、HPVによってp53が分解されると、細胞はアポトーシスが誘導されることなく制御不能な増殖をし、腫瘍原性が惹起される。また、HPVのE2タンパク質やアデノウ

表1 宿主のコピキチン化を修飾するウイルスのタンパク質 (参考文献1より抜粋)

ウイルスのタンパク質	作用機構
ヒトパピローマウイルス E6	E6AP と E3 リガーゼ複合体を形成し、p53 を分解
ヒトパピローマウイルス E7	E3 リガーゼ複合体を形成し、p53 を分解
アデノウイルス E1B55K/E4orf6	E3 リガーゼ複合体を形成し、p53 を分解
EB ウイルス EBNA-1, 単純ヘルペスウイルス -1 infected cell protein 0	USP7 (herpesvirus-associated USP) と相互作用し、 脱ユビキチン化を阻害することにより p53 の分解を促進
ヒト免疫不全ウイルス (HIV) Vif	宿主の E3 リガーゼ複合体の形成を増強し、シチジン デアミナーゼ (APOBEC3G) の分解を誘導
ヒト免疫不全ウイルス (HIV) Vpu	宿主の E3 リガーゼ複合体の形成を増強し、CD4 の分解を誘導
ムンプスウイルスまたは シミアンウイルス 5 の V	宿主の E3 リガーゼの基質特異性を変化させ、STAT (signal trans- ducer and activators of transcription) -1, -2, -3 の分解を誘導
ヒトパピローマウイルス E5	宿主の E3 リガーゼである c-Cbl による上皮成長細胞因子 レセプターの分解を阻害
ヒトパピローマウイルス E2, アデノウイルス E4orf6	サイクリン B の分解を阻害するため E3 リガーゼ複合体である APC (anaphase-promoting complex) を妨害
シミアンウイルス 40 ラージ T 抗原	サイクリン E の分解を阻害するため E3 リガーゼ複合体である SCF (Skp1-Cul1-F-box タンパク質複合体) に結合
ヒトサイトメガロウイルス US2/US11	MHC クラス I を小胞体からサイトゾルへ移動し、ユビキチン化と 分解を誘導

イルスの E4 または E6 タンパク質は、細胞周期を進めるのに必要な APC (anaphase-promoting complex) という E3 ユビキチンリガーゼを阻害して、細胞周期を G2/M 期で停止させてしまう。

E3 (ユビキチン) リガーゼの一種として、MIR (Modulator of Immune Recognition) ファミリーが同定されている。MIR ファミリーにはある種のウイルスのもつ MIR も存在する。Kaposi's sarcoma-associated herpes virus (KSHV) の MIR1 と MIR2 は MHC クラス I の H 鎖細胞質末端のユビキチン化により、MHC クラス I の表面への発現を阻害する。それにより、ウイルス特異的な細胞障害性 T 細胞による感染細胞の認識を阻害するものと考えられている。

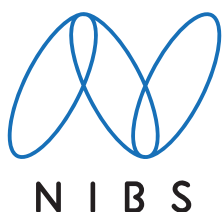
以上の様にユビキチン・プロテアソーム系はタンパク質分解を介して免疫反応やウイルスの増殖に大きな係わりをもっている。また癌におけるプロテアソームの高発現、神経変性疾患や老化におけるプロテアソームの機能低下、さらにユビキチン修飾系の分子異常が癌や神経変性疾患などの原因となってい

ることが明らかになりつつあり、これら疾患の新しい治療法の開発の上からも重要であると考えられる。
(研究員)

参考文献

1. Isaacson, M. K. and Ploegh, H. L. 2009. Ubiquitination, ubiquitin-like modifiers, and deubiquitination in viral infection. *Cell Host Micro.* 5:559-570.
2. Ishido, S., Goto, E., Matsuki, Y. and Ohmura-Hoshino, M. 2009. E3 ubiquitin ligases for MHC molecules. *Cur. Opini. Immunol.* 21:78-83.
3. Jung, A., Catalgol, B. and Grunea, T. 2009. The proteasomal system. *Mol. Asp. Med.* 30:191-296.
4. Murata, S., Takahama, Y. and Tanaka, K. 2008. Thymoproteasome: probable role in generating positively selecting peptides. *Cur. Opini. Immunol.* 20:192-196.
5. Ziegler, A., Müller, C. A., Böckmann, R. A. and Uchanska-Ziegler, B. 2008. Low-affinity peptides and T-cell selection. *Trend. Immunol.* 30:53-60.

日生研たより 昭和30年9月1日創刊(隔月1回発行)
(通巻560号) 平成21年12月25日印刷 平成22年1月1日発行(第56巻第1号)
発行所 財団法人日本生物科学研究所
〒198-0024 東京都青梅市新町9丁目2221番地の1
TEL: 0428(33)1056(企画学術部) FAX: 0428(33)1036
発行人 林志鋒
編集室 委員/竹山夏実(委員長), 入江拓也, 佐藤寛子
事務/企画学術部
印刷所 株式会社 精興社
(無断転載を禁ず)



—— テーマは「生命の連鎖」——
生命の「共生・調和」を理念とし、生命体の豊かな明日と、研究の永続性を願う気持ちを快いリズムに整え、視覚化したものです。カラーは生命の源、水を表す「青」としています。

表紙題字は故中村稔治博士の揮毫