

報道機関 各位

熊本大学

食中毒を引き起こす細菌の毒素 SubAB が 宿主免疫を抑制する仕組みを解明

(ポイント)

- 腸管出血性大腸菌が作る **SubAB** という毒素が宿主の免疫力を低下させ、感染を増悪させることを発見した。
- **SubAB**はインフラマソームという免疫複合体の活性阻害を介して、免疫調節因子であるインターロイキンの産生を抑制していた。
- 本研究の成果は、今後起こりうる**SubAB**産生病原菌による感染症の治療に役立つことが期待される。

(概要説明)

熊本大学大学院生命科学研究部微生物学講座の津々木博康(つつき ひろやす)助教、澤智裕(さわ ともひろ)教授らのグループは、京都薬科大学、国立感染症研究所、東北大学との共同研究により、腸管出血性大腸菌が産生する毒素subtilase cytotoxin (**SubAB**)の新しい病原性発現メカニズムを明らかにしました。

SubABは、一部の腸管出血性大腸菌^{注1}が産生する毒素ですが、感染病態におけるその病原性についてはほとんど分かっていませんでした。本研究では、**SubAB**が宿主の免疫力を低下させ、それによって宿主による病原菌の排除を妨げていることを発見しました。菌が分泌した**SubAB**は、インフラマソーム^{注2}と呼ばれる免疫複合体の作用を阻害し、その結果、インターロイキン(interleukin; IL)と呼ばれる免疫調節因子の産生が顕著に低下することを明らかにしました。

本研究の成果は、腸管出血性大腸菌感染病態における**SubAB**の病原性のひとつを明らかにしたものであり、これまで知られていなかった毒素を介した細菌の生存メカニズムの解明に繋がると考えられます。また今後起こりうる新たな感染症の発症メカニズムの理解とそれを標的とした治療戦略の構築に大きく貢献することが期待されます。

本研究成果は、令和4年3月23日に、Cell Pressが発行する国際学術誌「iScience」にオンライン掲載されました。

本研究は、科学研究費補助金ならびに武田科学振興財団などの支援を受けて行われました。

(説明)

[背景]

大腸菌は、ヒトの腸内にも存在する常在菌で、ほとんどのものは無害ですが、毒素を作る能力を獲得した大腸菌は病原性大腸菌としてヒトに様々な病気を引き起こします。例えば、腸管出血性大腸菌（EHEC）は志賀毒素^{注3}という毒素を産生し、ヒトに出血性の腸炎や下痢を起こします。EHECとしてはO157:H7株が食中毒の原因菌として有名です。我が国でもEHECによる食中毒が問題となっており、死に至ることもある警戒すべき新興感染症です。EHECは、志賀毒素に加えて他の毒素を産生するようになることでさらに高病原性になることが懸念されています（図1）。

高病原性の腸管出血性大腸菌(?)



図1 腸管出血性大腸菌とSubAB

腸管出血性大腸菌は、志賀毒素を産生し、出血性の下痢などを引き起こします。本菌は他の病原因子を獲得することで高病原性になることが懸念されています。SubABは最近発見された毒素で、これまで本感染病態における病原性は分かっていません。

病原体の感染を経験して獲得する獲得免疫があります。SubABは自然免疫において重要な働きを担っている生理活性物質であるサイトカインのうち、特にインターロイキン-1 β とインターロイキン-18の産生を強力に抑制することを今回の研究から発見しました。その結果、自然免疫がうまく働かず、SubABを作るようになった菌が宿主の体内で増殖を続けることが分かりました。

[研究の内容と成果]

私たちはヒトから分離されたSubABを産生するEHEC O113:H21株を入手しました。また、この菌株からSubABを産生しないように遺伝子を欠失させた株も作製しました。これらの菌株と、マウスのマクロファージ細胞を用いて比較実験を行った結果、SubABが存在すると、マクロファージから産生されるインターロイキン-1 β とインターロイキン-18が抑制されることが分かりました。これまでに、インターロイキンの産生にはインフラマソームと呼ばれる免疫複合体とcaspase-1というタンパク質の働きが必要であることが知られています。SubABの作用を詳細に調べた結果、SubABがcaspase-1とインフラマソームの活性化を阻害することが分かりました。さらに、これらの働きに必要なcaspase-11というタンパク質をSubABが抑制することを突き止めました。これらの阻害作用は、SubABがマクロファージに与える小胞体ストレス^{注4}という細胞応答が原因であることも分かりました。

Subtilase cytotoxin (SubAB) は、オーストラリアで集団食中毒を起こしたEHEC O113:H21株からPaton博士によって同定された毒素です。これまでにSubABが培養細胞に対して毒性を示したり、マウスに対して腸管出血を引き起こすことが分かっていますが、EHECを始めとする病原性大腸菌が感染した宿主の体内で、菌の増殖や排除にどのように関わるのかは分かっていませんでした。

ヒトを含め生物は、体内に侵入した病原体を排除する免疫という仕組みを持っています。免疫には、生まれながらに持っている自然免疫と、病

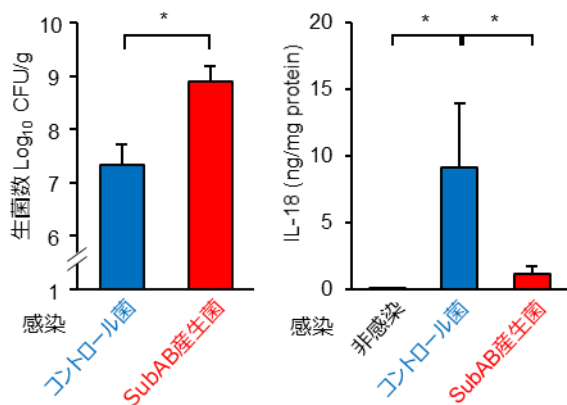


図2 SubAB産生菌感染マウスの解析 (感染11日後)
 (左) SubABを産生しないコントロール菌感染マウス(青)と比べてSubAB産生菌感染マウス(赤)は糞便(腸内内容物)の生菌数が多いことが分かりました。(CFU/g: 糞便1g中の菌数を示す単位で、値が大きいほど生菌数が多いことを示します)
 (右) コントロール菌感染マウス(青)と比べてSubAB産生菌感染マウス(赤)は腸内インターロイキン-18 (IL-18)の産生が低下していました。

がうまく働かず、腸内の病原性大腸菌を排除できなくなっていることが分かりました。そしてその結果、感染病態が悪化してしまうことが考えられました(図3)。

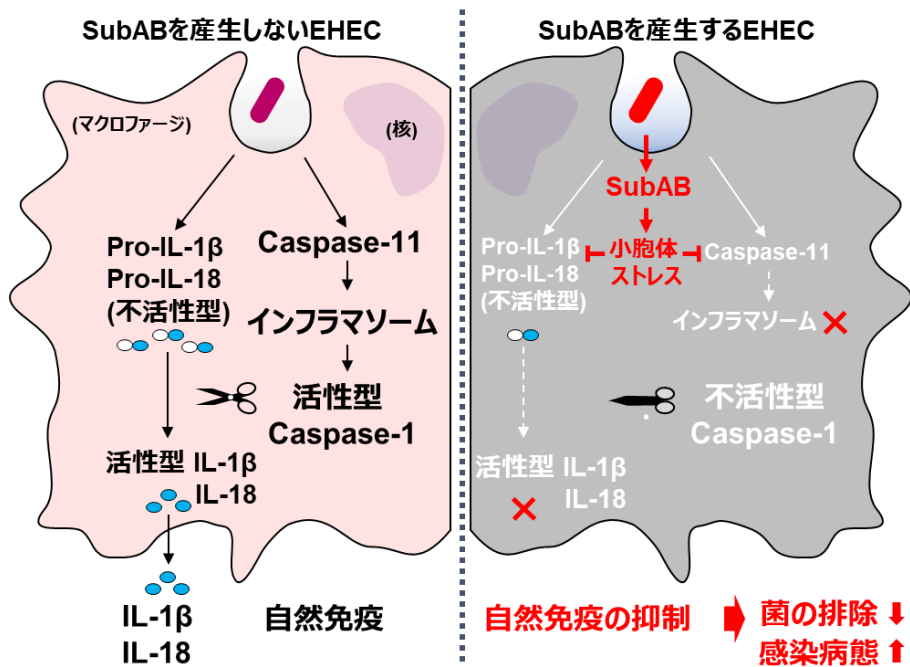


図3 本研究の概略

(左) SubABを産生しない腸管出血性大腸菌(EHEC)を取り込んだマクロファージは、インフラマソームで活性化されたインターロイキン(IL-1βやIL-18)を産生します。これによって活性化された自然免疫は菌の排除、炎症の惹起などにより感染から宿主を守ります。

(右) SubABを産生するEHECはSubABによる小胞体ストレスを介してインフラマソームの活性化を阻害し、インターロイキン(IL-1βやIL-18)の産生を抑制します。その結果、菌をうまく排除することができなくなり、感染病態が悪化してしまうことが分かりました。

私たちは感染病態におけるSubABの病原性を明らかにするため、ヒトには無害なマウスの病原性大腸菌モデルにSubABを産生させ、これをマウスに感染させる実験モデルを樹立しました。感染11日目にマウスの糞便(腸内容物)の中で生きている菌数を調べたところ、SubAB産生菌感染マウスの糞便で最も多くの菌が検出されました。そしてこの時のマウスの腸内ではインターロイキン-18の産生が抑制されていることが分かりました(図2)。また、感染14日以降のSubAB産生菌感染マウスの腸では、下痢や腸管組織の異常が観察され、感染病態が悪化していることが分かりました。以上のことから、SubABにより宿主のインフラマソームという自然免疫

[展開]

EHEC感染病態においてSubABがどのような役割をもっているか、これまで明らかになっていませんでした。そのなかで、宿主の免疫を抑えて腸内の病原菌を排除できなくするというSubABの病原性を明らかにした意義は大きいと考えられます。わが国では大規模な食中毒事例はまだありませんが、SubABを産生するEHECがすでに複数見つかっています。本研究の成果は、SubABを産生するEHECを原因とした感染症に対する予防や治療法の開発に役立つものと期待されます。また、今後も新たな病原細菌や毒素の出現が心配されており、そのような新しい感染症に対しても適切に対応するための予防研究として重要だと考えています。

[用語解説]

(注1) 腸管出血性大腸菌 (*enterohemorrhagic Escherichia coli* ; EHEC) : 出血性の腸炎や溶血性尿毒症症候群など重篤な合併症をおこす病原性の大腸菌。志賀毒素産生性大腸菌 (*Shiga toxin-producing E. coli* ; STEC) とも呼ばれる。血清型として O157 が有名だが、ほかにも O26、O111、O113 など多くの血清型による集団食中毒事例が世界中で報告されている。

(注2) インフラマソーム : 免疫調節因子として働くインターロイキン-1 β およびインターロイキン-18 の産生に必要なタンパク質複合体の総称。センサータンパク質が微生物由来物質などを認識すると構造変化を起こして不活性型の caspase-1 (pro-caspase-1) などを含んだ複合体を形成する。活性がない状態で発現したインターロイキン-1 β やインターロイキン-18 は、ここで活性化された caspase-1 による切断を受けて、活性型に変換される。

(注3) 志賀毒素 : 腸管出血性大腸菌が産生する強力な毒素で、大きく 1 型と 2 型に分類される。宿主細胞のタンパク質合成を阻害し細胞毒性を示す。アフリカミドリザルのベロ細胞を殺してしまうことからベロ毒素とも呼ばれる。

(注4) 小胞体ストレス : 宿主細胞の小胞体に異常なタンパク質が蓄積することによって引き起こされる細胞応答。小胞体はタンパク質の品質管理を担う重要な細胞内小器官であり、細胞は小胞体ストレスを回避しようと様々な反応を起こす。回避できない場合は細胞死が誘導される。

(論文情報)

論文名 : Subtilase cytotoxin from Shiga-toxigenic *Escherichia coli* impairs the inflammasome and exacerbates enteropathogenic bacterial infection

著者 : Hiroyasu Tsutsuki, Tianli Zhang, Kinnosuke Yahiro, Katsuhiko Ono, Yukio Fujiwara, Sunao Iyoda, Fan-Yan Wei, Kazuaki Monde, Kazuko Seto, Makoto Ohnishi, Hiroyuki Oshiumi, Takaaki Akaike, and Tomohiro Sawa

掲載誌 : iScience

doi : <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104050>

URL : <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104050>

【お問い合わせ先】

熊本大学大学院生命科学研究部

先端生命医療科学部門

感染・免疫学分野 微生物学講座

担当 : 助教 津々木 博康

電話 : 096-373-5320

e-mail : tsutsuki@kumamoto-u.ac.jp