

研究者：中村 卓（所属：九州歯科大学地域健康開発歯学分野）

研究題目：*Streptococcus anginosus* の β C-S lyase の膿瘍形成における病因論的役割の解析

目 的：

アンギノーサスグループレンサ球菌は全身の膿瘍形成部位から頻繁に単離され、膿瘍形成との関連が疑われている。中でも、*Streptococcus anginosus* は L- システインから硫化水素、アンモニア、ピルビン酸を生成する、システイン分解酵素（ β C-S lyase）を有することが明らかになっており、これまで我々は *S. anginosus* の β C-S lyase の膿瘍形成への関与について明らかにしてきた。本研究では、*S. anginosus* が有する β C-S lyase によるマウスおよびヒト線維芽細胞への影響について組織学的に解析した。

対象および方法：

まず、*S. anginosus* FW73 株（CFU = 1.0×10^9 ）に最終濃度 0 mM, 100 mM の L- システインを添加し、PBS に懸濁したものをそれぞれ、BALB/c マウスの背部に皮下注射し、1 日毎に経過を観察し、*S. anginosus* と L- システインによる膿瘍形成能への影響、および病理組織学的変化について解析を行った。次に、L- システインを基質として β C-S lyase により生成される硫化水素、アンモニア、ピルビン酸を、培養した線維芽細胞 NIH3T3 にそれぞれ加えて 5 日間培養し、10%ホルマリンで固定した後、ヘマトキシリン染色を行って培養細胞 NIH3T3 への影響を解析した。

結果および考察：

まず、BALB/c マウス背部に *S. anginosus* FW73 株を皮下注射し、L- システインの濃度別に膿瘍形成の経過と組織像を観察したところ、L- システイン濃度依存的に潰瘍の形成が著しくなり（図 1）、組織の壊死の程度も高くなった（図 2）。次に、培養線維芽細胞にアンモニア、ピルビン酸を加えて 5 日間培養した場合では細胞死は認められなかったが、硫化水素徐放剤 GYY4137 を加えた場合では細胞死が認められた（図 3）。以上の結果から、L- システインと *S. anginosus* の β C-S lyase により生成される硫化水素が細胞障害に関与する可能性が示唆された。

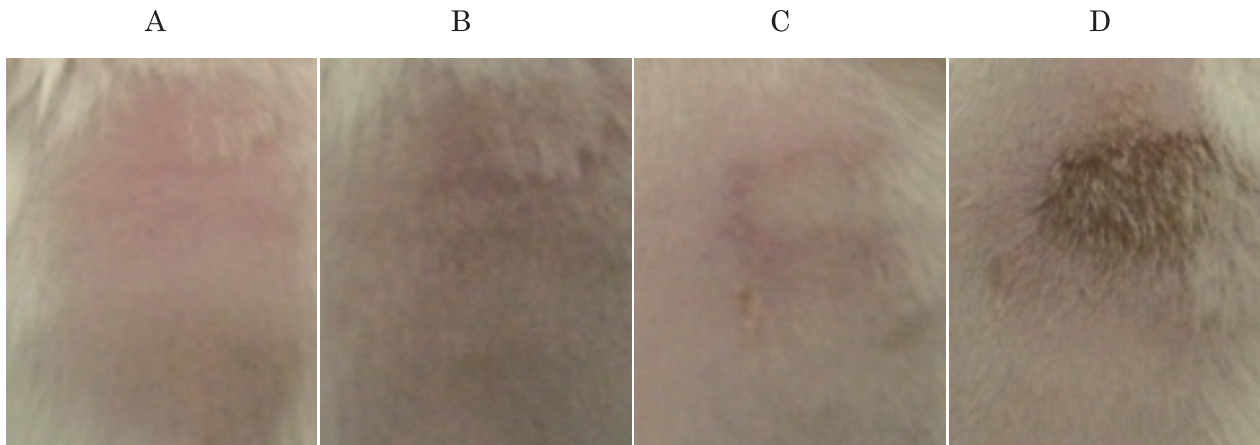


図1 BALB/c マウス背部の *S. anginosus* FW73 株皮下注射後の経過

- A. *S. anginosus* FW73 株 L- システイン非添加 注射 5 時間後
- B. *S. anginosus* FW73 株 L- システイン非添加 注射 1 日後
- C. *S. anginosus* FW73 株 L- システイン 100 mM 注射 5 時間後
- D. *S. anginosus* FW73 株 L- システイン 100 mM 注射 1 日後

S. anginosus FW73 株を皮下注射した際、L- システイン 100 mM 添加時のみ膿瘍の形成とその自壊による潰瘍が認められた。

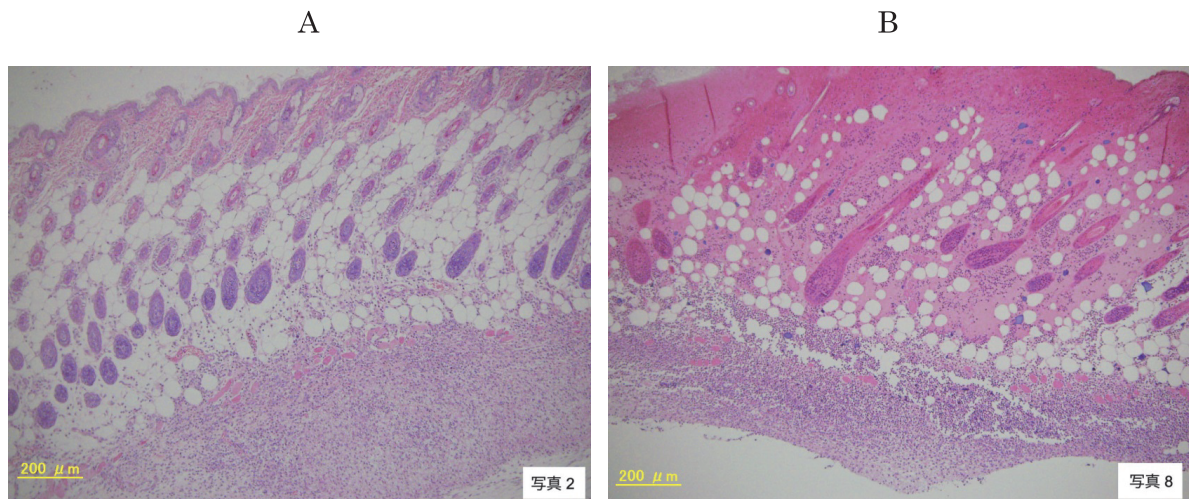


図2 膿瘍形成相当部のマウス組織標本

- A. *S. anginosus* FW73 株 L- システイン非添加 注射 5 日後
- B. *S. anginosus* FW73 株 L- システイン 100 mM 注射 1 日後

L- システイン非添加時では、好中球、リンパ球の炎症性細胞浸潤巣が認められるが、潰瘍は認められない。一方、L- システイン添加時には潰瘍が広範囲に認められ、潰瘍下の真皮や皮下組織は凝固壊死し、毛包や毛根も壊死し、その下部の筋層の筋細胞は変性・壊死、消失し、好中球の多量の浸潤が認められる。

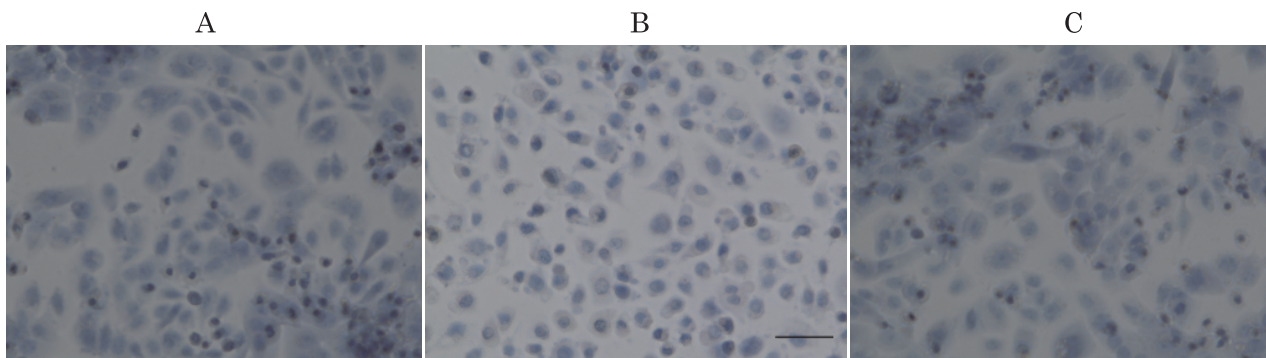


図3 培養5日後の線維芽細胞 NIH3T3 のヘマトキシリン染色像

- A. 線維芽細胞のみ
- B. GYY4137 4mM
- C. アンモニア 4mM

硫化水素徐放剤 GYY4137 を加えて培養した際にのみ細胞死が認められた。

成果発表：

第 66 回日本細菌学会九州支部総会。長崎大学。2013/9/6-7。口頭発表