



大規模比較ゲノム解析による病原細菌の進化と病態発症機構の解明

○山口 雅也^{1,2}, 大野 誠之³, 東 孝太郎³, 小林 桃子³, 川端 重忠^{2,3}

¹ 阪大・院歯・バイオインフォ, ² 阪大・CiDER, ³ 阪大・院歯・微生物

研究の背景

近年、薬剤耐性菌の増加が世界的な問題となっている。肺炎球菌は耐性化が強く懸念されている菌の一つであり、世界の下気道感染症による死亡の約半数（120万人弱）の原因である。また、肺炎球菌と同じレンサ球菌に属する、化膿レンサ球菌による劇症型感染症も大きな問題となっている。肺炎球菌と化膿レンサ球菌は、致命的な感染症を引き起こす一方で、健康人からも分離されることも報告されている。しかし、そのような無症候的に定着している菌株と重篤な疾患を引き起こす菌株の間に、どのような違いがあるのかという点は明らかになっていない。

本研究では、侵襲性疾患由来株ならびに無症候性定着株の全ゲノム情報を比較し、ゲノムワイド関連解析（GWAS）と分子進化解析を行うことで、病態形成に必要な分子または無症候的に定着するための機構の解明を試みる。得られた情報をもとに、細胞やマウス感染モデルを用いた細菌および宿主のシングルセル解析などの実験で因果関係を検証するとともに、侵襲性病態の制御手段を探索する。

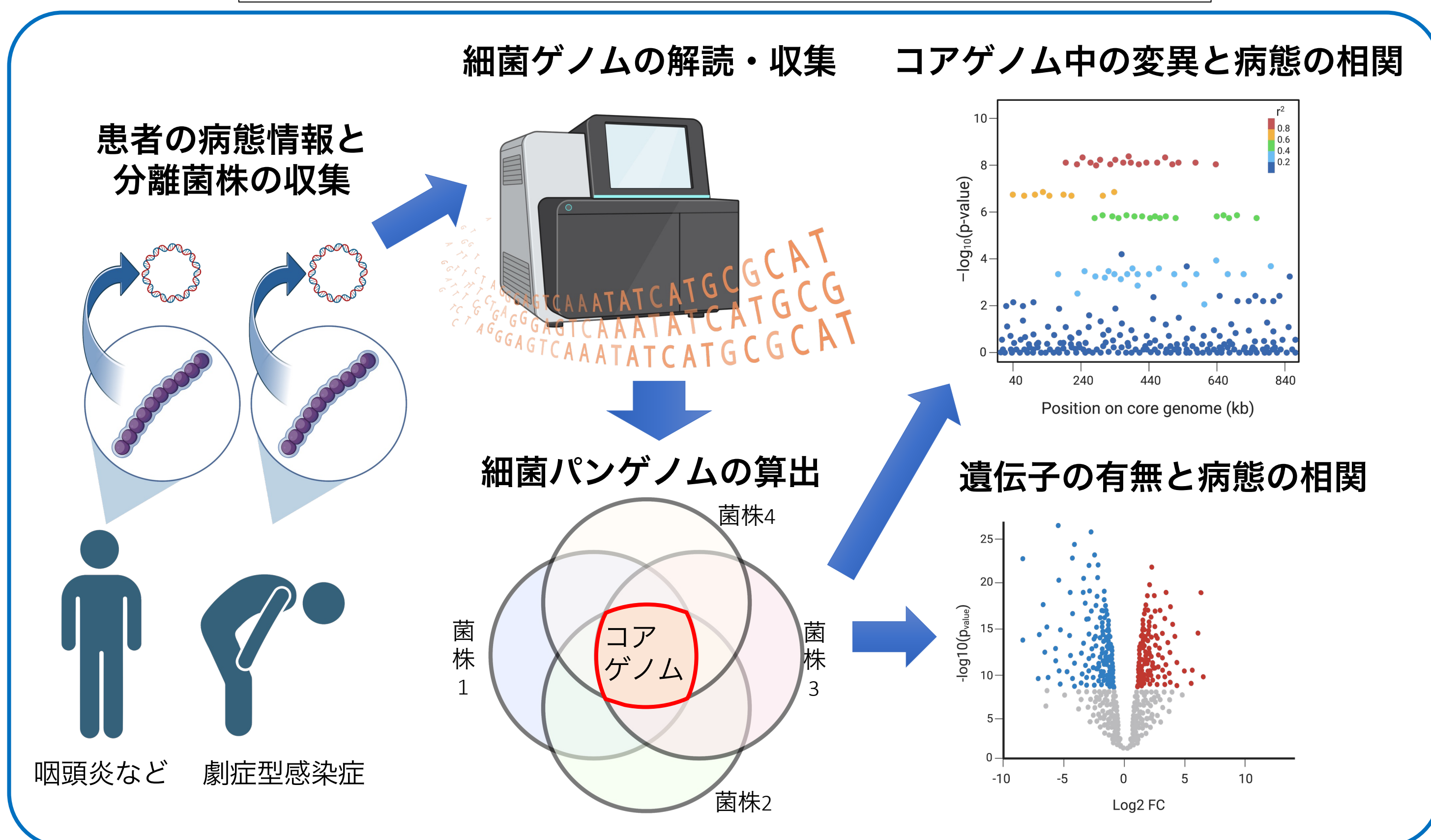
研究の意義

日本において、病態と相関する因子を探索する大規模な GWAS の論文報告は、申請時点で未だなされていない。なお、細菌は真核生物と異なる遺伝様式であるため、細菌 GWAS ならびに細菌シングルセル解析においては、「計算計画」に示す細菌専用のプログラムを用いる。

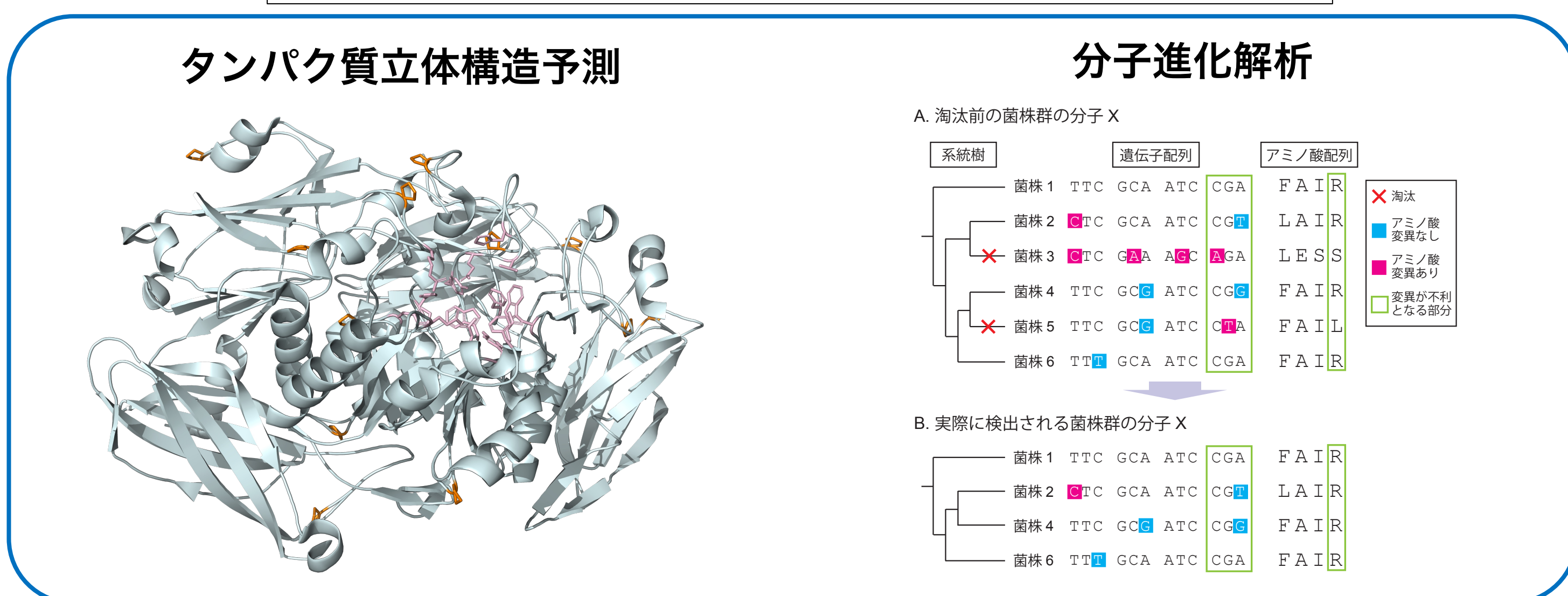
GWAS と分子進化的解析を行うことで、ゲノム情報から病態と相関する因子を探索するとともに、自然淘汰に基づいた種における重要性を評価する。すなわち、感染モデルを用いた解析のみでは難しい、ヒトの臨床病態を反映した高解像度の解析戦略が可能となる。

本研究計画における解析戦略

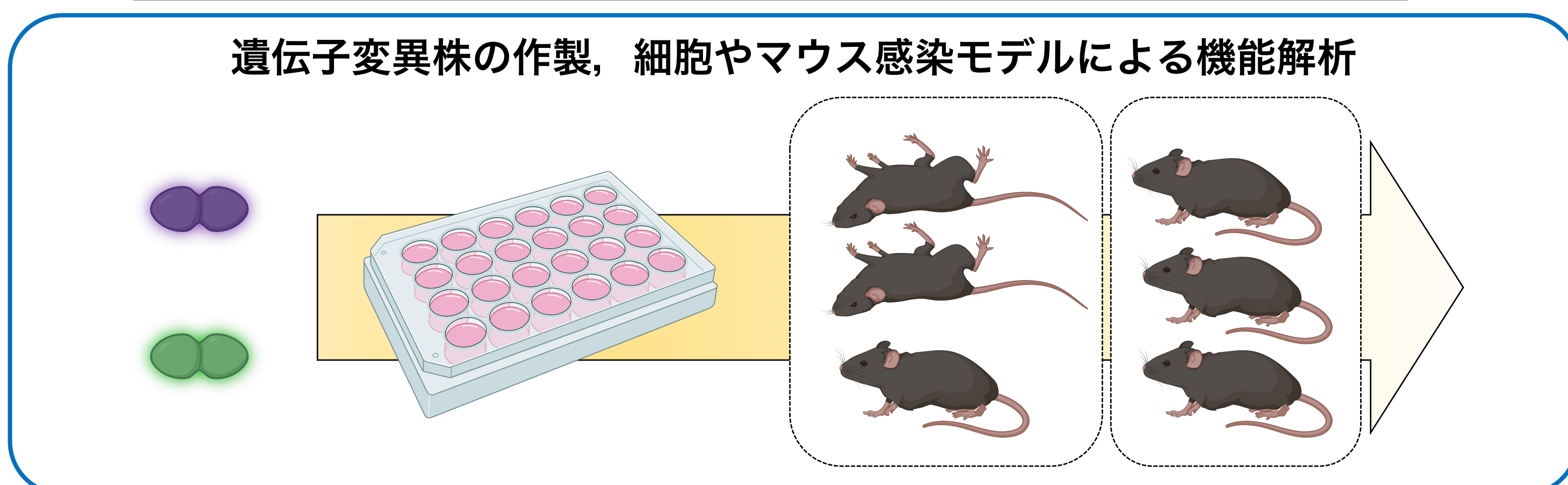
ビッグデータを用いたファーストアプローチ



スモールデータを用いたセカンドアプローチ

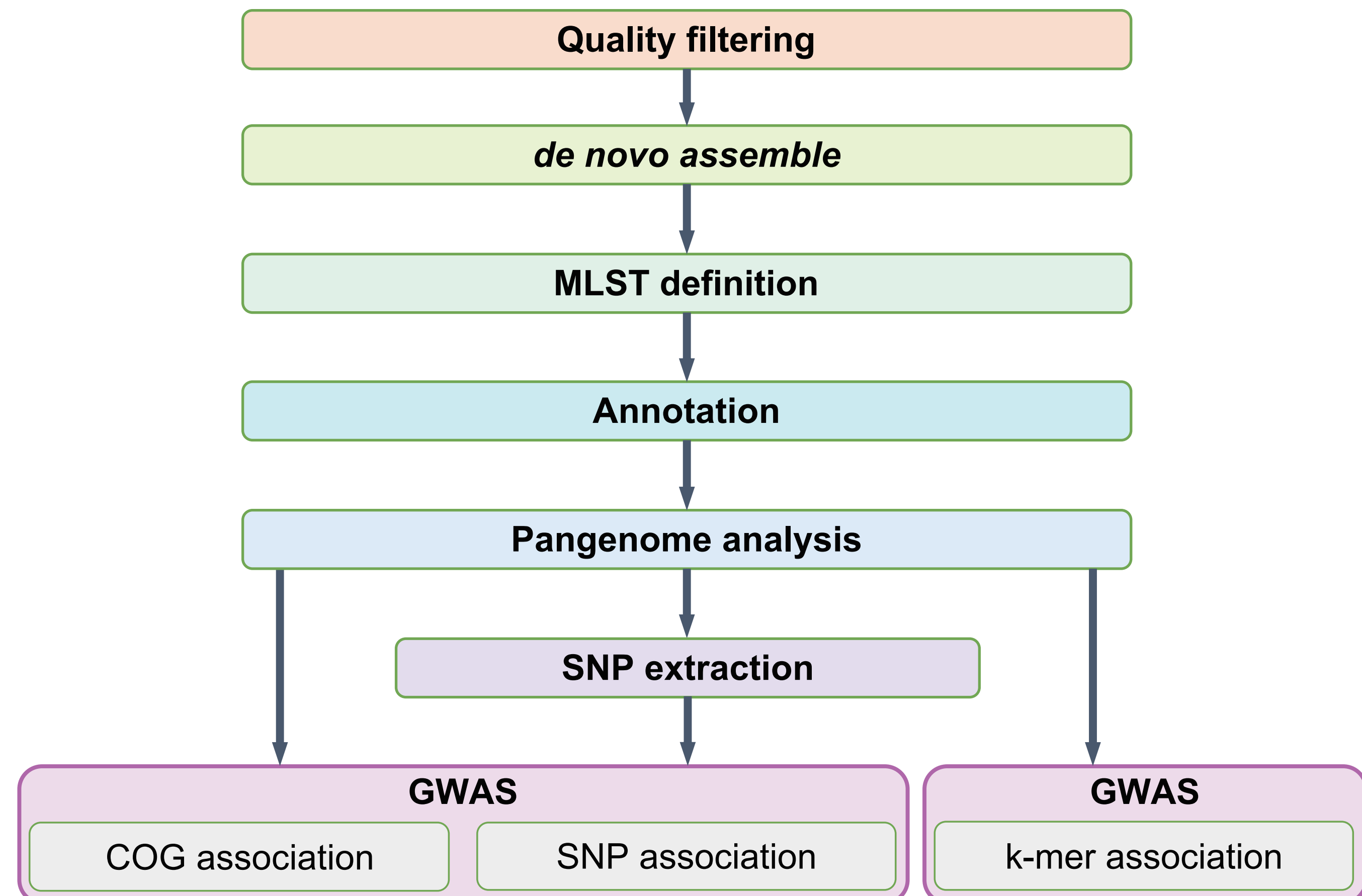


相関関係と一定の因果関係を踏まえた上での機能解析



本研究計画では、バイオインフォマティクス解析技術によって、仮説なしに臨床病態と相関する細菌側の遺伝要因を同定する。実際の病態との相関関係を抑えた上で、分子生物学的解析によって感染過程において果たす役割を解明し、因果関係を明らかにする。

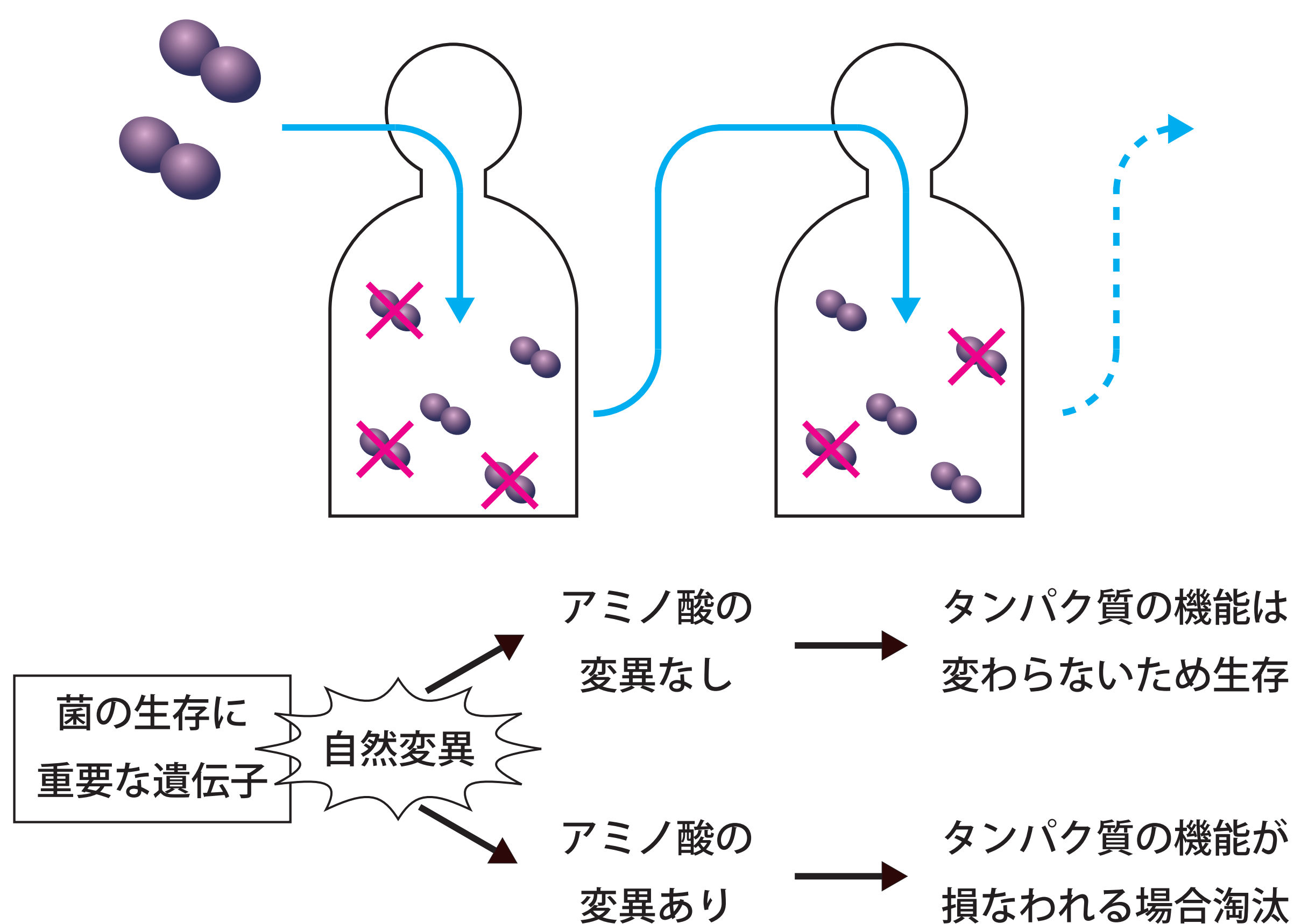
細菌ゲノムワイド関連解析



細菌ゲノムワイドに病態と相関する因子を探索するため、共通する遺伝子群における SNP 単位、集団内で分布している遺伝子単位、31 塩基単位の k-mer 単位で、病態と相関する因子の探索を行う。

分子進化解析の概念

病原細菌は感染過程でヒトの免疫などにより淘汰を受ける



A. 淘汰前の菌株群の分子 X

系統樹	遺伝子配列	アミノ酸配列	
菌株 1	TTC GCA ATC CGA	FAIR	
菌株 2	CTC GCA ATC CGT	LAIR	× 淘汰
菌株 3	CTC GAA AGC AGA	LESS	× 淘汰
菌株 4	TTC GC G ATC CGG	FAIR	
菌株 5	TTC GC G ATC CTA	FAIL	× 淘汰
菌株 6	TTT GCA ATC CGA	FAIR	

B. 実際に検出される菌株群の分子 X

菌株 1	TTC GCA ATC CGA	FAIR
菌株 2	CTC GCA ATC CGT	LAIR
菌株 4	TTC GC G ATC CGG	FAIR
菌株 6	TTT GCA ATC CGA	FAIR

A. ランダムに遺伝子変異が起こると、アミノ酸が変わらない変異（同義置換）とアミノ酸が変わらない変異（非同義置換）はほぼ等確率に発生する。

B. 実際は、菌の生存を妨げるような変異は淘汰される。その結果、菌の生存に重要な役割を果たす分子をコードする遺伝子には、進化の過程でアミノ酸が変わらない遺伝子変異が蓄積されていくと考えられる。コドン単位の解析を行うことで、DNA やアミノ酸単位の比較では検出できない変異の蓄積が検出可能となる。

我々は、アミノ酸が変わらない遺伝子変異が蓄積されているコドンの割合が多い分子が、特に菌の生存に重要であると考えて解析を行っている。