

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08959

研究課題名(和文)肺炎球菌感染症の重症化に関わる免疫と感覚神経の相互作用の解明

研究課題名(英文)The role of transient receptor potential channels in developing invasive pneumococcal infection.

研究代表者

杉田 玄 (Sugita, Gen)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：20407274

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：侵害受容体であるTransient receptor potential (TRP) チャンネルは、炎症反応制御に関連することが知られているが、肺炎球菌感染症におけるTRPチャンネルの役割は不明である。本研究では、マウスモデルにおいて侵襲性肺炎球菌感染症発症におけるTRP Vanilloid 1 (TRPV1) とTRPV4の役割を調査した。TRPV1、TRPV4はいずれも、侵襲性感染症の発症に制御的に作用していた。とりわけ鼻腔への好中球集簇とオプソニン殺菌活性は、TRPV4KOマウスで有意に抑制された。様々な病原微生物による感染症に対し、TRPチャンネルは宿主免疫応答の制御による新たな戦略の基点となる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

TRPチャンネルは生体の恒常性を維持する非常に重要な機構の一つである。近年、病原微生物により惹起された炎症におけるTRPチャンネルの関与が示唆されていたが、上気道感染症から全身感染症まで様々な感染症の原因菌となる肺炎球菌との関連については報告がなかった。本研究では侵襲性肺炎球菌感染症において、TRPチャンネルが疾患の重症化を制御していることを動物モデルにより世界で初めて証明し、肺炎球菌感染症の重症化を予防するための新たな治療法開発における重要な基礎的知見を提供した。

研究成果の概要(英文)：Transient receptor potential channels, neuronal stimulations widely known to be associated with thermal responses, pain induction and osmoregulation, have been shown in recent studies to have underlying mechanisms associated with inflammatory responses. It may vary among types of channels, however, it is not known how TRP channels function during pneumococcal infections. This study examined the role of Transient receptor potential Vanilloid (TRPV) 1 and TRPV4 for nasal colonization and subsequent development of invasive disease in a mouse model. Both TRPV1 and TRPV4 channels were related to regulation of the development of invasive diseases. In particular, the influx of neutrophils in the nasal cavity and the bactericidal activity were suppressed among TRPV4 knockout mice. This may lead to severe pneumonia, causing high mortality during influenza virus co-infection. Regulating host immune responses with TRP channels would be a novel strategy against various pathogenic microorganisms.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：肺炎球菌 侵襲性肺炎球菌感染症 TRP channel インフルエンザウイルス

1. 研究開始当初の背景

肺炎球菌は、ヒト鼻咽腔常在菌であると同時に、気道感染症の重症化に関与し、時には菌血症や髄膜炎などの侵襲性感染症を引き起こす。肺炎球菌は生後早期にヒト鼻咽腔へ定着することが知られているが、その詳細な機序および病原性を発揮する理由は十分な解明はなされていない。我々は肺炎球菌が鼻咽腔へ定着する最初の過程において、肺炎球菌の産生する病原因子により局所炎症を引き起こされることに着目した。炎症は外来物質に対する免疫応答の一部と捉えることができるが、肺炎球菌はこれを利用して宿主の鼻咽腔に定着するとともに感染成立へ進展することから、感染症の成立と重症化を制御する上で極めて重要な課題である。しかし、感染症発症については、これまで局所粘膜免疫応答を中心に検討され、感染を局所炎症と捉え局所の炎症性組織障害と創傷治癒の視点からの検討は未だなされていない。炎症が起こった場合には、痛みを制御したり創傷治癒を促進したりする炎症関連メディエーターが放出されるとともに、好中球の浸潤、さらにはマクロファージ、リンパ球が遊走する。近年、炎症性組織障害と創傷治癒において、感覚神経に特異的に発現して侵害刺激受容に関わるイオンチャネル型受容体の関与が明らかにされつつある。

2. 研究の目的

近年明らかになりつつある組織障害と創傷治癒における感覚神経に特異的に発現し侵害刺激受容に関わるイオンチャネル型受容体の関与：感覚神経 transient receptor potential (TRP)チャネルの関与について明らかにする。

3. 研究の方法

肺炎球菌の鼻咽腔定着、肺炎、全身感染において、炎症に対する制御機構である TRP がどのように関与しているかについて、鼻咽腔保菌および肺炎球菌感染症自然発症モデルを確立し、詳細に評価した。

【肺炎球菌の鼻咽腔保菌における TRP チャネルの役割】

TRPV ノックアウトマウス (TRPV1 KO, TRPV4 KO) および野生型マウス (C57BL/6J) に肺炎球菌臨床分離株 (血清型 6A) を覚醒下に経鼻接種し、2 日後の鼻腔洗浄液中の菌量を評価するとともに、フローサイトメトリーおよび ELISA 法にて鼻咽腔粘膜の炎症反応 (好中球・マクロファージ集簇と炎症性サイトカイン) の変化について評価した。

肺炎球菌の保菌量を増加させる因子として知られるインフルエンザウイルスを肺炎球菌経鼻接種の 2 日前に先行感染させた重感染モデルについても、鼻腔洗浄液中の菌量および鼻咽腔粘膜の炎症反応を評価した。

【肺炎球菌の菌血症発症における TRP チャネルの役割】

TRPV ノックアウトマウス (TRPV1 KO, TRPV4 KO) および野生型マウス (C57BL/6J) に肺炎球菌 (血清型 6A) を経鼻接種し、2 日後の血液中の菌量を評価するとともに ELISA 法にて血液中の炎症反応 (炎症性サイトカイン) の変化について評価した。

肺炎球菌感染症の重症化因子として知られるインフルエンザウイルスを肺炎球菌経鼻接種の 2 日前に先行感染させた重感染モデルについても、血液中の菌量と炎症反応を評価した。

【肺炎球菌の肺感染における TRP チャネルの役割】

TRPV ノックアウトマウス (TRPV1 KO, TRPV4 KO) および野生型マウス (C57BL/6J) に肺炎球菌 (血清型 6A) を経鼻接種し、2 日後の肺組織を採取し、ホルマリン固定後切片を作成した。各マウスの肺組織障害の程度を病理組織学的に評価した。

インフルエンザウイルスの重感染モデルについても、同様の項目を評価した。

【肺炎球菌の全身感染における TRP チャネルの役割】

TRPV ノックアウトマウス (TRPV1 KO, TRPV4 KO) および野生型マウス (C57BL/6J) に肺炎球菌 (血清型 6A) を経鼻接種し、3 日後の脳、肺、脾臓、心臓を採取した。各組織をホモジナイズし、組織中の肺炎球菌菌量を測定した。

インフルエンザウイルスの重感染モデルについても、同様の項目を評価した。

【肺炎球菌の侵襲性感染症における TRP チャネルの役割】

TRPV ノックアウトマウス (TRPV1 KO, TRPV4 KO) および野生型マウス (C57BL/6J) に肺炎球菌 (血清型 6A) を経鼻接種し、マウスを 12 時間おきに観察した。活動性の低下、震え、毛羽立ち等の症状を呈したマウスを直ちに安楽死させ、血液中の肺炎球菌の有無を確認した。肺炎球菌の経鼻接種から 12 日後までの侵襲性感染症発症率について評価した。

インフルエンザウイルスの重感染モデルについても、同様の項目を評価した。

【肺炎球菌に対するオプソニン化殺菌能における TRP チャンネルの役割】

TRPV ノックアウトマウス(TRPV1 KO, TRPV4 KO)および野生型マウス(C57BL/6J)のそれぞれの骨髄より好中球を採取し、ウサギ標準補体、肺炎球菌(血清型 6A)とともに培養を行い、好中球による肺炎球菌貪食殺菌能の評価を行った。

4. 研究成果

【肺炎球菌の鼻咽腔保菌における TRP チャンネルの役割】

TRPV ノックアウトマウス(TRPV1 KO, TRPV4 KO)および野生型マウス(C57BL/6J)の間に有意な鼻咽腔保菌量の差は認めなかった。

インフルエンザウイルスの重感染モデルについても、各マウスの間に有意な鼻咽腔保菌量の差は認めなかった。

【肺炎球菌の菌血症発症における TRP チャンネルの役割】

野生型マウスと比較し、TRPV ノックアウトマウスでは、肺炎球菌の経鼻接種の2日後における菌血症の発症率が高かった。とりわけ TRPV4 KO マウスでは野生型マウスと比較して有意に菌血症の発症率が高くなるとともに、血液中の TNF- α が有意に高値であった。

インフルエンザウイルスの重感染モデルについても、肺炎球菌の経鼻接種の2日後における菌血症の発症率が高かった。

【肺炎球菌の肺感染における TRP チャンネルの役割】

野生型マウスと比較し、TRPV ノックアウトマウスでは、肺炎球菌(血清型 6A)の経鼻接種より2日後の病理組織学的評価において、肺組織の炎症所見が強い傾向を認めた。

とりわけインフルエンザウイルス重感染モデルにおいて、その傾向は顕著であり、TRPV4 KO マウスでは野生型マウスと比較して有意に肺障害スコアが高かった。

【肺炎球菌の全身感染における TRP チャンネルの役割】

肺炎球菌(血清型 6A)の経鼻接種より3日後の遠隔臓器の検討において、肺炎球菌単独感染モデルでは、野生型マウス・TRPV ノックアウトマウスいずれも遠隔臓器(肺、心臓、脾臓、大脳)中に肺炎球菌は検出されなかった。

一方で、インフルエンザウイルス重感染モデルでは、野生型マウスと比較し、TRPV ノックアウトマウスでは、各遠隔臓器における肺炎球菌の検出率が高かった。

【肺炎球菌の侵襲性感染症における TRP チャンネルの役割】

肺炎球菌の経鼻接種後における侵襲性感染症自然発生モデルにおいて、肺炎球菌単独感染モデルでは、野生型マウス・TRPV ノックアウトマウスいずれも侵襲性感染症の発症率に有意差は認めなかった。

一方で、インフルエンザウイルス重感染モデルでは、野生型マウスと比較し、TRPV ノックアウトマウスでは、侵襲性感染症の発症率が高かった。

【肺炎球菌に対するオプソニン化殺菌能における TRP チャンネルの役割】

TRPV ノックアウトマウス由来の好中球は野生型マウスと比較し、好中球による肺炎球菌殺菌能が低かった。とりわけ TRPV4 KO マウス由来の好中球の肺炎球菌殺菌能は野生型マウスのそれと比較し、有意に低下していた。

以上の結果から、TRPV1、TRPV4 はいずれも、菌血症、侵襲性感染症の発症に制御的に作用していた。とりわけ鼻腔への好中球集簇、好中球によるオプソニン殺菌能は、TRPV4 KO マウスで有意に抑制されており、肺炎球菌感染症の重症化因子であるインフルエンザウイルスの重感染モデルにおいて、菌血症発症率、遠隔臓器への播種率、肺組織障害、侵襲性感染症発症率がいずれも野生型マウスと比較し、有意に高い結果となった。様々な病原微生物による感染症に対し、TRP チャンネルは宿主免疫応答の制御による新たな戦略の基点となる可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Denisa Nanushaj, Muneki Hotomi, Masamitsu Kono
2. 発表標題 The Role of TRP in Pathogenesis of Streptococcus pneumoniae
3. 学会等名 International Symposium on TRP (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河野正充
2. 発表標題 感染症研究の新たな展開：肺炎球菌の保菌と感染における感覚受容体の関与
3. 学会等名 第1回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河野正充
2. 発表標題 肺炎球菌の保菌・感染・伝播のメカニズム
3. 学会等名 第91回日本感染症学会西日本地方会学術集会・第64回日本感染症学会中日本地方会学術集会・第69回日本化学療法学会西日本支部総会合同学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masamitsu Kono, Denisa Nanushaj, Hideki Sakatani, Daichi Murakami, Gen Sugita, Muneki Hotomi
2. 発表標題 The Roles of Transient Receptor Potential Vanilloid 1 and 4 in Pneumococcal Nasal Colonization and Invasive Disease
3. 学会等名 The 3rd Asian Pneumococcal Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 河野正充、酒谷英樹、村上大地、大谷真喜子、保富宗城
2. 発表標題 温痛覚受容体による鼻腔保菌から侵襲性肺炎球菌感染症への進展制御
3. 学会等名 第2回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 河野正充、酒谷英樹、村上大地、大谷真喜子、保富宗城
2. 発表標題 侵襲性肺炎球菌感染症発症過程における侵害受容体 (Transient receptor potentialチャネル) の役割について
3. 学会等名 第70回日本化学療法学会総会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	大谷 真喜子 (Ohtani Makiko) (00795594)	和歌山県立医科大学・医学部・講師 (24701)	
研究分担者	河野 正充 (Kono Masamitsu) (20511570)	和歌山県立医科大学・医学部・講師 (24701)	
研究分担者	保富 宗城 (Hotomi Muneki) (90336892)	和歌山県立医科大学・医学部・教授 (24701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------