

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791139

研究課題名(和文) インフルエンザウイルス・肺炎球菌重複感染マウスにおけるマクロライド系抗菌薬の効果

研究課題名(英文) The effect of macrolide antibiotics on co-infection of influenza virus and Streptococcus pneumoniae in mice.

研究代表者

森田 十和子(永田十和子)(Morita, Towako)

長崎大学・医歯(薬)学総合研究科・客員研究員

研究者番号：50569960

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：インフルエンザウイルス感染後の二次性細菌性肺炎はインフルエンザウイルス感染症の最も重要な合併症の一つである。また、マクロライド系抗菌薬(MCLs)は、抗菌活性以外にも免疫調節機能、抗ウイルス作用などを持つことについて注目されている。今回、インフルエンザウイルス感染後に肺炎球菌を感染させた二次性肺炎マウスモデルを用いてMCLsの二次性細菌性肺炎の重症化における抑制効果を検討した。MCLsはTh1サイトカインであるIL-12、IFN- γ を誘導させ、肺炎球菌の気道定着因子であるPAFレセプターの発現を抑制させることにより、生存期間を延長させる効果を持つと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Secondary bacterial pneumonia is one of the complications in patients with influenza virus infection. Macrolide antibiotics (MCLs) are known to have immunomodulatory effects beyond antibacterial activity and recently reported to have direct effect on influenza epidemic. Based on these backgrounds, the aim of our study was to determine the inhibitory effect of macrolide antibiotics on coinfection of influenza virus and *S. pneumoniae* in mice. We conclude that CAM improved survival time of influenza virus and *S. pneumoniae* coinfection mice model and that CAM could play a beneficial role in influenza virus and *S. pneumoniae* coinfection by inducing Th1 cytokines and suppressing PAF receptor expression.

研究分野：医歯薬学

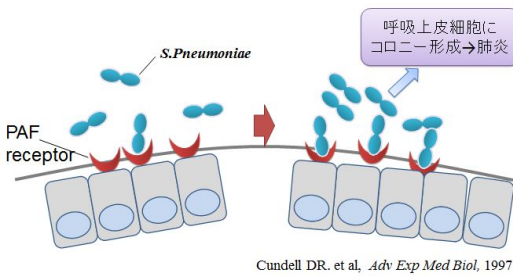
科研費の分科・細目：内科系臨床医学・感染症内科学

キーワード：感染症防御学 インフルエンザウイルス

1. 研究開始当初の背景

インフルエンザウイルス感染症の重要な合併症の一つである二次性肺炎は、細菌性肺炎単独と比較して重症化することが知られており、その機序の一つとして、肺炎球菌感染の接着に關与する血小板活性化因子 (Platelet activating factor:PAF) レセプターの關与が考えられている。また近年、マクロライド系抗菌薬 (MLs) のもつ抗菌活性以外の薬理作用の中に、直接的な抗インフルエンザ作用なども報告されている。そこで、今回インフルエンザ感染後の二次性肺炎重症化に対する MLs の効果について PAF レセプターの關与も含めて検討した。

肺炎球菌とPAFレセプター

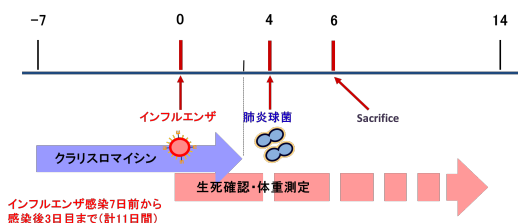


2. 研究の目的

インフルエンザウイルス感染後に肺炎球菌を感染させる二次性重症肺炎マウスモデルを作成し、そのモデルを用いて MCLs の二次性細菌性肺炎の重症化における抑制効果を検討する。

3. 研究の方法

雄性 6 週齢 CBA/JN マウスにインフルエンザウイルス (A/PR8/34, H1N1 type) 1×10^4 PFU/ml を経鼻感染後 (Day0) 肺炎球菌 1×10^5 CFU/ml を感染させた (Day4) 重複感染モデルを作成。同モデルに関して、生存曲線、体重変化、病理学的所見を単独感染モデルと比較した。また、本モデルに対する MCLs の効果を検討するために、クラリスロマイシン (CAM) 400mg/kg を 11 日間 (Day-7 ~ Day3) 連日経口投与した CAM 投与群と非投与群において、上記項目に加えて、肺内生菌数、サイトカイン濃度を測定した。PAF レセプターの mRNA 発現量に関しては Day4 (肺炎球菌感染前) に定量的リアルタイム PCR 法を用いて定量した。



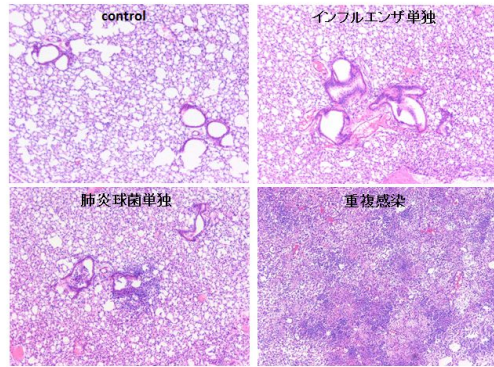
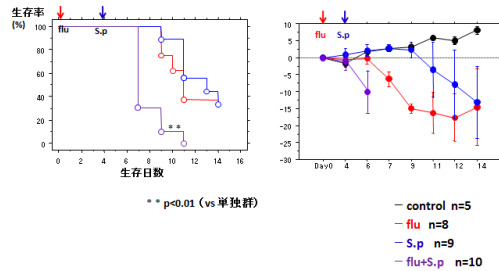
4. 研究成果

(1). 重複感染マウスモデル

重複感染モデルでは、インフルエンザあるいは肺炎球菌単独感染と比較して、早期の時点で体重の減少を認め、生存期間は有意に短縮した。

肺病理組織では、単独感染群と比較して高度な炎症細胞の浸潤が認められた。

重複感染モデル

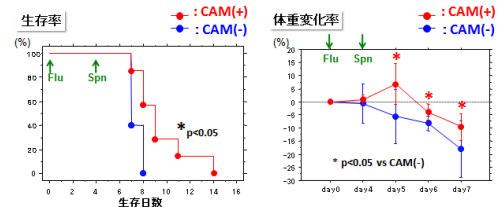


(2). CAM の効果

(a) 生存曲線および体重変化

この重複感染マウスモデルにおいて、CAM 投与群と非投与群の比較したところ、CAM は生存期間を延長させ、体重減少を遅らせる効果をもつことが認められた。

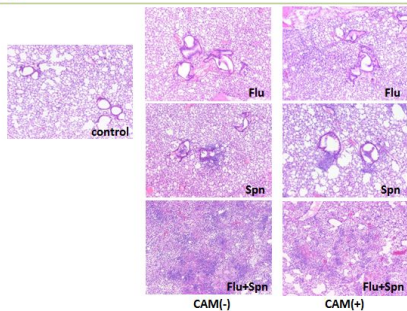
2. 重複感染モデルに対するクラリスロマイシンの効果 (a) 生存曲線および体重変化



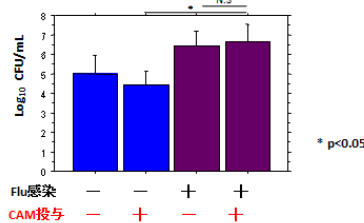
(b), (c)病理組織像、生菌数

また、Day 6 (肺炎球菌感染 2 日後) で、肺炎球菌生菌数には有意差を認めなかったが、CAM 投与群では病理所見における炎症細胞浸潤は抑制されている傾向を認めた。つまり、CAM はその抗菌活性により細菌性肺炎を改善したのではなく、抗菌活性以外の作用により、二次性肺炎の重症化を抑制させたと考えられた。

**2. 重複感染モデルに対するクラリスロマイシンの効果
(b) 病理組織像**



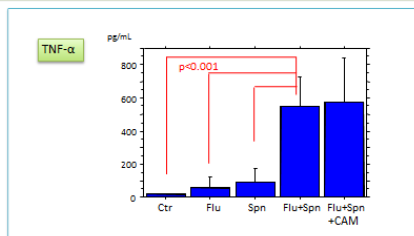
**2. 重複感染モデルに対するクラリスロマイシンの効果
(c) 肺ホモジネートにおける肺炎球菌生菌数**



(d) サイトカイン測定

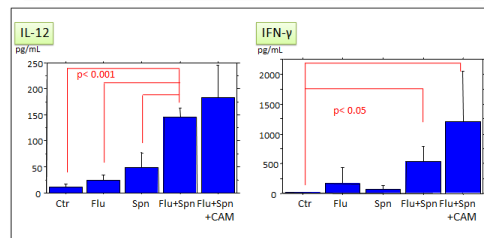
肺ホモジネートのサイトカイン濃度においては、炎症性サイトカインである TNF- α は重複感染群において、単独感染群に比較して有意に上昇していたが、CAM 投与による差は認められなかった。

**2. 重複感染モデルに対するクラリスロマイシンの効果
(d) サイトカイン測定-1: TNF α**



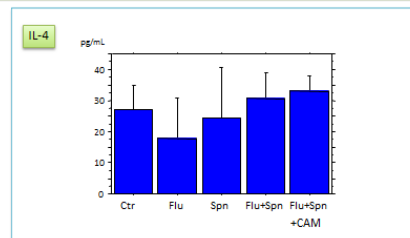
Th1 サイトカインの IL-12、IFN- γ では、CAM 投与群で産生が誘導される傾向が認められた。

**2. 重複感染モデルに対するクラリスロマイシンの効果
(d) サイトカイン測定-2: Th1 サイトカイン**



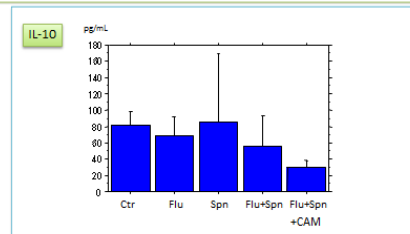
Th2 サイトカインの IL-4 は、重複感染群においてもあまり変動せず、CAM 投与の影響も認められなかった。IL-5 においても同様の結果であった。

**2. 重複感染モデルに対するクラリスロマイシンの効果
(d) サイトカイン測定-3: Th2 サイトカイン**



IL-10 に関しては、CAM 投与において産生が抑制される傾向が認められた。IL-10 の関与については、インフルエンザウイルスおよび肺炎球菌の重複感染モデルにおいて、肺炎球菌前に抗 IL-10 抗体を投与すると生存率が改善される、という報告や、IL-10 欠損マウスではインフルエンザ感染における生存率が高いなどといった報告もあり、これらの報告と矛盾しない結果と考えられた。

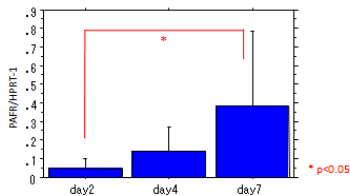
**2. 重複感染モデルに対するクラリスロマイシンの効果
(d) サイトカイン測定-4: IL-10**



(e) PAF レセプター

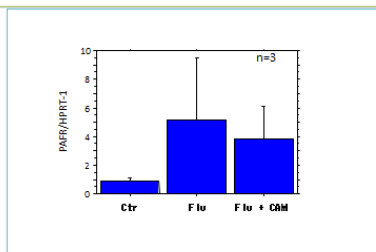
また、Day4（肺炎球菌感染前）の PAF レセプター mRNA 発現量に関しては、インフルエンザ感染後、経時的に発現が亢進していた。

PAFR 発現 (RT-PCR)



また、Day4 における PAF レセプター mRNA の発現量は、CAM 投与群において抑制される傾向を認めた。

PAFR 発現の検討 (RT-PCR)



(3). 結論

本研究では、インフルエンザ・肺炎球菌の重複感染マウスモデルにおいて、クラリスロマイシン (CAM) は生存期間の延長および体重減少を抑制する効果が認められた。

その機序としては、サイトカインに関して、CAM による Th1 サイトカインの IL-12、IFN- γ 産生亢進および IL-10 抑制の関与が示唆された。

また、PAF レセプター (PAFR) に関して、インフルエンザ感染後に発現が亢進し、これが CAM により抑制されることで、肺炎球菌の接着が抑制され、気道上皮におけるコロニー形成を抑制していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

1) Tatsuhiko Harada, Towako Morita, Yuji Ishimatsu, et al. The effect of macrolide antibiotics on co-infection of influenza virus and *Streptococcus pneumoniae* in mice. American Thoracic Society International Conference. 2013年5月22日. Pennsylvania convention center (Philadelphia, America)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森田 [永田] 十和子 (Morita, Towako)

長崎大学医歯薬学総合研究科 客員研究員
研究者番号：50569960

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：