

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24390403

研究課題名(和文) グラム陰性菌の 抗原及びその相同タンパクに対する血清疫学調査

研究課題名(英文) Epidemiological study of serum titers against V-antigens of gram-negative bacteria

研究代表者

佐和 貞治 (Sawa, Teiji)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10206013

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：病原性グラム陰性菌の 抗原およびその相同体(緑膿菌PcrV, エルシニア菌LcrV, ビブリオ菌VcrV, エアロモナス菌AcrV, Photobacterium luminescens菌LssV)の遺伝子組み換え大腸菌タンパクを作成し、これらに対するヒト血清抗体価測定システムを構築し、約200名のボランティアから採取した血清における抗体価を測定する疫学調査を実施し、各V抗原抗体価の相関関係や抗体価の個人差について調査した。その結果、個々人によって相当の変動が認められ、これらが易感染性等に関わる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We made the following five recombinant V-antigen proteins of pathogenic gram-negative bacteria (*Pseudomonas aeruginosa* PcrV, *Yersinia* LcrV, *Vibrio* VcrV, *Aeromonas* AcrV, and *Photobacterium* LssV). Then, we developed measurement system for human anti-V-antigen titers, and performed an epidemiological study to examine serum titers against these V-antigens in 200 volunteers. As a result, we found that there are wide variations in V-antigen titers and these variations may have some effects on the infectivity of individuals.

研究分野：集中治療医学

キーワード：グラム陰性菌 V抗原 血清抗体価 三型分泌システム 感染 免疫 PcrV

1. 研究開始当初の背景

重症肺炎や敗血症の高頻度起炎菌である病原性グラム陰性細菌の多くが多剤耐性化し、集中治療医学の現場において、免疫不全患者や高齢者に対して致死的な感染を引き起こしている。一方、近年、多くのグラム陰性菌において菌種間で極めて相同性の高い毒素分泌メカニズムであるⅢ型分泌システムが発見され、主要な病原性に関わっていることが解明されてきた。さらに、Ⅲ型分泌システムを抑制できる標的として抗原とその相関体が発見され、欧米では緑膿菌やエルシニア菌感染に対するそれらを標的とした免疫療法の開発が進められている。

2. 研究の目的

本研究では、各菌種の抗原とその相関体に対する血清抗体価測定システムを構築し、感染罹患・重症化等との相関を見る血清疫学調査を実施した。

3. 研究の方法

今回の研究では、まず各病原性グラム陰性菌の抗原およびその相関体(緑膿菌 PcrV, エルシニア菌 LcrV, ピブリオ菌 VcrV, エアロモナス菌 AcrV, Photolabhdus luminescence 菌 LssV, 病原性大腸菌 EspA, 赤痢菌 IpaB, サルモネラ菌 SseB, SipD)の遺伝子組み換え大腸菌タンパクを作成した。続いて、5つのV抗原相関体(緑膿菌 PcrV, エルシニア菌 LcrV, ピブリオ菌 VcrV, エアロモナス菌 AcrV, Photolabhdus luminescence 菌 LssV)に対するヒト血清抗体価測定システムを構築し、約200名のボランティアから採取した血清における抗体価を測定する疫学調査を実施し、各V抗原抗体価の相関関係や抗体価の個人差について調査した。

4. 研究成果

個々人によって相当の変動が認められ、これらが易感染性等に関わる可能性が示唆された。特定のV抗原に対して非常に高い血清抗体価を持つ人がおり、それらの血清にはその病原体のⅢ型分泌毒性に対する強い中和作用が含まれていると考えられた。

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20件)

1. Sawa T, Naito Y, Katoh H, Amaya F. Cellular Stress Responses and Monitored Cellular Activities. *Shock*, 査読有, 2016 Mar 3. [Epub ahead of print]. PMID: 26954943
2. Shimizu M, Katoh H, Hamaoka S, Kinoshita M, Akiyama K, Naito Y, Sawa T. Protective effects of intravenous immunoglobulin and antimicrobial agents on acute pneumonia in

leukopenic mice. *J Infect Chemother*, 査読有, 22(4):240-7, 2016. doi:

10.1016/j.jiac.2016.01.006. PMID: 26867796

3. Yasumoto H, Katoh H, Kinoshita M, Shimizu M, Hamaoka S, Akiyama K, Naito Y, Sawa T. Epidemiological analysis of serum anti-*Pseudomonas aeruginosa* PcrV titers in adults. *Microbiol Immunol*, 査読有, 60(2):114-20, 2016, doi: 10.1016/j.jiac.2016.01.006., PMID: 26696420
4. Katoh H, Yasumoto H, Shimizu M, Hamaoka S, Kinoshita M, Akiyama K, Sawa T. IV Immunoglobulin for acute lung injury and bacteremia in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Crit Care Med*, 査読有, 44(1):e12-24, 2015 doi: 10.1097/CCM.0000000000001271. PMID: 26317571
5. Sawa T, Shimizu M, Moriyama K, Wiener-Kronish JP. Association between *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion, antibiotic resistance, and clinical outcome: a review. *Crit Care*, 査読有, 18(6):668, 2014 doi: 10.1186/s13054-014-0668-9 PMID 25672496.
6. Sawa T, Ito E, Nguyen VH, Haight M. Anti-PcrV antibody strategies against virulent *Pseudomonas aeruginosa*. *Hum Vaccin Immunother*, 査読有, 10(10):2843-52, 2014 doi: 10.4161/21645515.2014.971641. PMID 25483637
7. Sawa T, Katoh H, Yasumoto H. V-antigen homologs in pathogenic gram-negative bacteria. *Microbiol Immunol*, 査読有, 58:267-85, 2014 PMID: 24641673 doi: 10.1111/1348-0421.12147
8. Sawa T. The molecular mechanism of acute lung injury caused by *Pseudomonas aeruginosa*: from bacterial pathogenesis to host response. *J Intensive Care*, 査読有, 2:10, 2014. doi:10.1186/2052-0492-2-10
9. 清水優, 秋山浩一, 濱岡早枝子, 木下真央, 安本寛章, 加藤秀哉, 木村武史, 藤田直久, 佐和貞治. 薬剤耐性緑膿菌臨床分離株の病原毒性評価. 第49回緑膿菌感染症研究会講演記録, 査読無, 49:84-87, 2015
10. 秋山浩一, 清水優, 濱岡早枝子, 木下真央, 安本寛章, 加藤秀哉, 木村武史, 藤田直久, 佐和貞治. 薬剤耐性緑膿菌分離株のⅢ型分泌毒素遺伝子型解析 第49回緑膿菌感染症研究会講演会記録, 査読無, 49:79-83, 2015.2.20.
11. 佐和貞治. 緑膿菌性急性肺傷害に対する分子標的治療. 麻酔, 査読無, 64(増刊): 5078-5084, 2015.
12. 佐和貞治, 加藤秀哉, 清水優. 感染症治療薬の新しい試み. 難治性感染症に期待される抗菌免疫療法 化学療法の領域, 査読無, 32(1):96-106, 2016.
13. 佐和貞治, 加藤秀哉, 安本寛章, 清水優, 濱岡早枝子, 木下真央, 秋山浩一. 緑膿菌の主要肺傷害因子 パタチン様ホスホリパーゼA2-

- 型分泌毒素ExoU . 京都府医大誌, 査読有, 124(7),475-487, 2015.
14. 佐和貞治, 加藤秀哉. 細菌の分泌装置-緑膿菌を中心に-. Surgery Frontier, , 査読無, 22:56-61, 2015.
 15. 佐和貞治. 手術室における感染予防. 感染予防のための麻酔管理-整形外科医と麻酔科医の間での知識の共有. 日本骨・関節感染症学会雑誌, 査読無, 28:17-21, 2015.
 16. 佐和貞治. 細菌感染と急性肺傷害. 日本薬理学雑誌, 査読無, 145(3): 112-116, 2015.
 17. 佐和貞治. 敗血症に対する免疫調節経腸栄養の効果と多価不飽和脂肪酸合成の栄養化学. 日本集中治療医学会誌, 査読無, 21(2):127-129, 2014.
 18. 佐和貞治. 緑膿菌感染症に対する抗体療法の作用機序と治療薬としての展望. 感染症 The Infection, 査読無, 259:155-60, 2014.
 19. 加藤秀哉, 安本寛章, 清水優, 濱岡早枝子, 木下真央, 秋山浩一, 佐和貞治. マウス緑膿菌性急性肺傷害モデルにおけるガンマグロブリン製剤の有効性の検討. 第48回緑膿菌感染症研究会講演記録, 査読無, 48:50-53, 2014.
 20. 佐和貞治, 加藤秀哉, 安本寛章, 清水優, 濱岡早枝子, 木下真央, 秋山浩一. 抗体・ガンマグロブリン療法のポテンシャル. 第48回緑膿菌感染症研究会講演記録, 査読無, 48:27-32, 2014.

[学会発表](計24件)

1. Kato H, Shimizu M, Hamaoka S, Yasumoto H, Akiyama K, Kinoshita M, Sawa T. Therapeutic Effect of Commercially Available Gamma-Globulin Solutions in Pseudomonas Aeruginosa-Induced Acute Lung Injury in the Murine Model. American Thoracic Society Conference 2015, May 17, 2015, Denver USA.
2. Akiyama K, Kato H, Shimizu M, Hamaoka S, Kinoshita M, Yasumoto H, Sawa T. Genotyping the Type III Secretory ExoU and Phenotyping Cytotoxicity in Carbapenem-Resistant Clinical Isolates of Pseudomonas Aeruginosa. American Thoracic Society Conference 2015, May 19, 2015, Denver USA.
3. Sawa T. Invited speaker The molecular pathogenesis of acute lung injury induced by Pseudomonas aeruginosa in intensive care units 2014 Annual Meeting of Chinese Association of Anesthesiologist, 2014.4.19, Shang Hai China
4. 佐和貞治. 細菌感染と グロブリン療法. 敗血症forum, 2015, 2015年2月7日, 品川プリンスホテル(東京).
5. 佐和貞治. 生体侵襲と細胞性ストレス応答. 岡山周術期セミナー, 2015年2月21日, ANAホテル岡山(岡山).
6. 佐和貞治. 招請公演. 緑膿菌に対する分子標的治療. 第62回日本麻酔科学会学術集会, 2015年5月28日, ポートピアホテル(神戸).
7. 佐和貞治. 教育講演 緑膿菌に対する抗体療法 第63回日本化学療法学会総会, 2015年6月6日, 京王プラザホテル(東京).
8. 佐和貞治. 教育セミナー 生体侵襲と細胞性ストレス応答 第23回日本集中治療医学会東海北陸地方会, 2015年6月20日, ホテルフジタ福井(福井).
9. 佐和貞治. 教育講演 急性肺傷害・炎症性メディエータと細胞性ストレス応答 第37回日本呼吸療法学会学術集会, 2015年7月18日, 国立京都国際会館(京都).
10. 佐和貞治. 講演 急性肺傷害のなぞ 研究から臨床へ. 巨椋池集中治療アカデミー, 2015年8月13日, 宇治徳洲会病院(宇治).
11. 佐和貞治. 緑膿菌の病原毒性メカニズム解明と新規予防・治療法の開発. COI研究会2015年11月5日, グランヴィアホテル大阪(大阪).
12. 佐和貞治. シンポジウム 病原因子と病態の接点を求めて. 緑膿菌ワクチンの開発. 第50回緑膿菌感染症研究会. 2016年2月6日, ホテル日航(東京).
13. 佐和貞治. 細菌感染症に対する免疫療法. ランチョンセミナー. 第29回 日本救命医療学会. 2014年9月20日, 京王プラザホテル八王子(八王子).
14. 佐和貞治. 細菌性肺炎と急性肺傷害. 北陸集中治療フォーラム. 2014年10月18日, 金沢.
15. 佐和貞治. 麻酔科学の進歩. 青嵐会学術講演会. 2014年10月19日, 青蓮会館(京都).
16. 佐和貞治. 緑膿菌性急性肺傷害とその分子機構. Shiga Sepsis Forum. 2014年2月20日, 滋賀医科大学(大津).
17. 佐和貞治. 急性肺傷害のトランスレーショナル・リサーチ. 福井県麻酔科講演会, 2014年3月14日, ホテルフジタ福井(福井).
18. 佐和貞治. 抗体・ガンマグロブリン療法のポテンシャル. ランチョン・シンポジウム, 耐性緑膿菌の治療. 第48回緑膿菌感染症研究会, 2014年1月25日, 長崎県医師会館(長崎).
19. 佐和貞治. 細菌感染と急性肺傷害シンポジウムARDS最新治療戦略のためのトランスレーショナル・リサーチ. 第89回日本薬理学会, 2014年3月19日, 仙台国際センター(仙台).
20. 佐和貞治. 招待講演:手術室における感染予防感染予防のための麻酔管理:整形外科医と麻酔科医の間での知識の共有. 第37回骨・関節感染症学会, 2014年6月21日, 京王プラザホテル(東京).
21. 佐和貞治. 教育講演 細菌感染症に対する免疫療法 第40回日本集中治療医学会学術集会, 2013年2月28日, 松本文化会館(松本).
22. 佐和貞治. 細菌感染と肺傷害. 近畿バイタルサインセミナー, 2013年4月20日, 国際交流会館(大阪).
23. 佐和貞治. 敗血症の病態メカニズム. 京滋クリティカルケア・ヤングアカデミー第6回セミナー 2013年11月8日, 烏丸京都ホテル(京都).

[図書](計3件)

1. 佐和貞治. 抗ウイルス薬, 抗真菌薬. 麻酔科医のための周術期の薬物使用法. 専門編集: 川

- 真田樹人, 監修: 森田潔, 編集委員: 川真田樹人, 廣田和美, 横山正尚. 中山書店. 2015. 東京. pp. 482-488. ISBN978-4-8306-2827-6
2. 佐和貞治. TEXT 麻酔・蘇生学 第6章外科的侵襲に対する生体反応. 改訂4版 土肥修司, 澄川耕二編 p.149-153 南山堂 東京. 2014 ISBN978-4-525-30844-5
 3. 佐和貞治. 感染症. よくある術前合併症. 研修ノートシリーズ 麻酔科研修ノート 改訂第2版. 総監修永井良三, 責任編集者稲田栄一, 編集:上村裕一, 土田英昭, 村川雅洋. 診断と治療社. 2014. 東京. pp.145-150. ISBN978-4-7878-2046-4

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

- 佐和 貞治 (Sawa, Teiji) 京都府立医科大学・医学(系)研究科・教授, 研究者番号: 10206013

(2) 研究分担者

- 森山 潔 (Moriyama, Kiyoshi) 杏林大学・医学部・准教授, 研究者番号: 10296717
- 上野 博司 (Ueno, Hiroshi) 京都府立医科大学・医学(系)研究科・講師, 研究者番号: 20381965
- 倉橋 清泰 (Kurahashi, Kiyoyasu) 横浜市立大学・大学病院・准教授, 研究者番号: 50234539
- 天谷 文昌 (Amaya, Fumimasa) 京都府立医科大学・医学(系)研究科・准教授, 研究者番号: 60347466
- 橋本 壮志 (Hashimoto, Soshi) 京都府立医科大学・医学(系)研究科・客員講師, 研究者番号: 60515279
- 松山 広樹 (Matsuyama, Hiroki) 京都府

立医科大学・医学(系)研究科・客員講師,
研究者番号: 80515289