

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462583

研究課題名(和文)14員環マクロライドはカニクイザルの高病原性鳥インフルエンザウイルス感染に有効か

研究課題名(英文)Efficacy of clarithromycin against avian influenza A virus

研究代表者

有方 雅彦 (ARIKATA, MASAHIKO)

滋賀医科大学・医学部・助教

研究者番号：50634383

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：鳥インフルエンザウイルス感染に対する新たな治療薬としてのクラリスロマイシン(CAM)の有効性を、カニクイザルを用いて検証した。H5N1感染ではCAM投与群で早期に解熱傾向を示したが、H7N9感染ではCAMの効果は乏しかった。気管拭い液中のウイルス量はH5N1、H7N9感染ともにCAM投与群で早期に減少した。感染7日目の肺組織内の炎症性サイトカイン産生量は、H5N1感染ではCAM投与群で減少し、H7N9感染でも減少した。以上のことからCAMは、鳥インフルエンザウイルスの感染・増殖を抑制し、生体側の過剰なサイトカイン産生も抑制して、新たな治療薬としての有用性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：To examine the efficacy of Macrolide antibiotics, including clarithromycin (CAM), a 14-membered ring macrolide against avian influenza virus (H5N1, H7N9) infection, we examined the effects of oral CAM administration in H5N1- or H7N9-infected cynomolgus macaque monkeys.

H5N1 infection caused a severe infection in monkeys, while H7N9 infection resulted in a mild disease. CAM significantly suppressed H5N1-induced severe infection evaluated by the lower clinical score and by the lower body temperature at 5 days after the infection. CAM also significantly inhibited the virus titers in tracheal swab and the production of inflammatory cytokines in lungs in both H5N1- and H7N9- infected monkeys. These findings suggest that orally administered CAM attenuates the severity of avian influenza A virus (H5N1, H7N9) infection in monkeys by inhibiting the infection and reproduction of viruses and by suppressing the cytokines responses of infected lung.

研究分野：感染免疫

キーワード：インフルエンザウイルス マクロライド クラリスロマイシン カニクイザル

## 1. 研究開始当初の背景

14 員環マクロライド系抗生物質は、さまざまな免疫調節作用や細菌機能の制御作用を有していて、慢性副鼻腔炎などの慢性気道疾患に対する少量長期投与（マクロライド療法）の有用性が標準的な薬物療法として確立されている。最近、14 員環マクロライドが抗ウイルス作用も有していることが注目され、特にインフルエンザウイルス感染に対して、上皮細胞における接着因子発現を抑制し、ウイルスの感染・増殖を抑制し、感染時の生体側の過剰な免疫反応（サイトカインストーム）を抑制することが、気道上皮の培養細胞やマウスを用いた検討で明らかになっている。また、小児のインフルエンザ感染に抗ウイルス薬の Oseltamivir と併用することで、咳症状が有意に早く改善したとする臨床研究や、大規模なプラセボを対象とした二重盲検試験で、同様な作用を有する 15 員環マクロライドが 1 年間の少量長期投与で COPD 患者の急性増悪数（ウイルス感染）を抑制したことが報告されている。こうしたマクロライドの作用は通常の季節性インフルエンザ感染症での役割には乏しいが、重症ウイルス感染症における抗ウイルス薬との併用薬としての有用性が考えられる。

一方、高病原性鳥インフルエンザウイルスは、肺以外でも増殖できる病原性の強さから、生体に過剰な免疫反応（サイトカインストーム）を引き起こし、高い致死率を有している。ひとたびパンデミック感染が広がれば人的・社会的被害は莫大で、人類の脅威になっている。

14 員環マクロライドは抗ウイルス薬とは作用機序が異なり、ウイルスの感染・増殖の抑制のみならず、生体側の過剰な免疫反応（サイトカインストーム）を抑制できることが特徴である。病原性の強いウイルス感染では、生体に引き起こされたサイトカインストームが制御できずに死に至ることが多く、抗ウイルス薬に 14 員環マクロライドを併用することで、サイトカインストームを抑制して致死率を低下させ、重症ウイルス感染症に特に効果を発揮することが期待できる。

## 2. 研究の目的

よりヒトに近いカニクイザルを用いて、14 員環マクロライドの高病原性鳥インフルエンザウイルス感染に対する有用性を明らかにし、将来のパンデミック感染時の抗ウイルス薬の併用薬あるいは代替薬としての可能性を検討することが本研究の目的である。

具体的な研究目的は、カニクイザルに高病

原性鳥インフルエンザウイルスを感染させ、14 員環マクロライド（クラリスロマイシン、CAM）の内服投与の効果を検証することである。

## 3. 研究の方法

- (1) カニクイザルに高病原性鳥インフルエンザウイルス（A/Vietnam/UT3040/2004(H5N1), A/Anhui/1/2013(H7N9)）を感染させ、CAM 内服群と対照群で体温、臨床スコアを経時的に測定する。
- (2) 感染 7 日目に解剖して得た肺を用いて、ウイルス量を測定し、さらに網羅的に血清サイトカイン量を測定する。

## 4. 研究成果

- (1) 体温、臨床スコア  
H7N9 ではそれほど重症化せず、両群間で差は認めなかったが、H5N1 では、CAM 内服群で 3 日目より早期に解熱傾向を認め、5 日目からは有意差を認めた（図 1）。臨床スコアも H5N1 では 5 日目から早期に改善した。

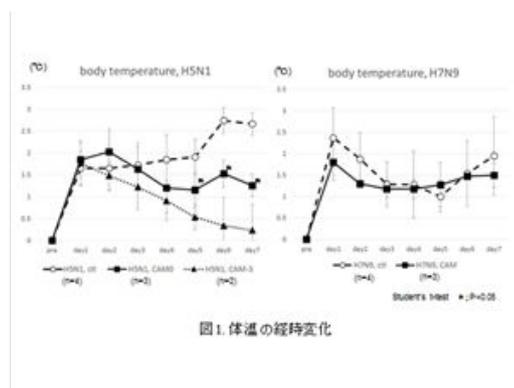


図 1. 体温の経時変化

- (2) 気管内拭い液のウイルス濃度  
気管内より拭い液を毎日採取し、ウイルス濃度を測定した。H5N1, H7N9 とともに CAM 内服 6 日目で有意にウイルス量の減少を認めた（図 2）。

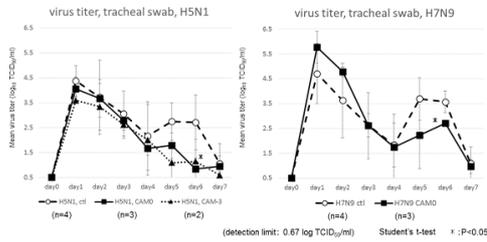


図2. 気管内拭い液中のウイルス濃度の経時変化

(3) 肺組織内のサイトカイン  
 感染7日目に解剖して得た肺組織内のサイトカイン; IFN- $\gamma$ , IL(interleukin)-1, IL-6, IL-8 を測定した。H5N1 ではいずれも CAM 内服群で減少傾向を認めた。H7N9 においても, IFN- $\gamma$ , IL-8 は CAM 内服群で有意に減少していた(図3)。

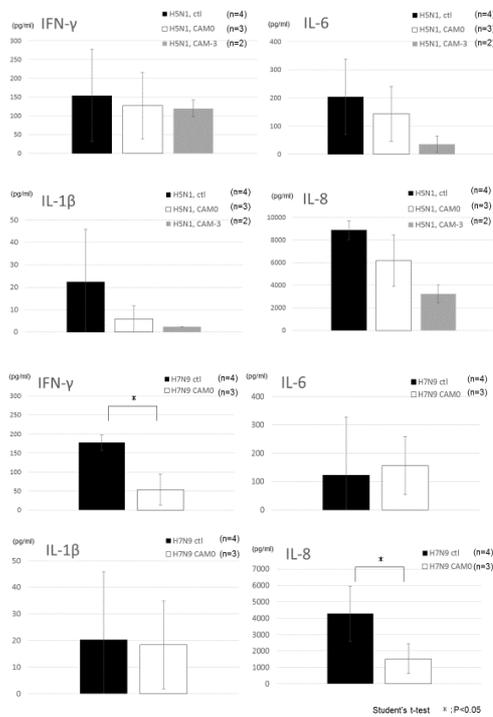


図3. 感染7日目(解剖)の肺組織内サイトカイン

以上の結果から、将来生じる可能性のあるパンデミック感染時にマクロライド系抗生物質が治療薬として可能性を有し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0件)

〔学会発表〕(計4件)

有方雅彦、Clarithromycin suppresses avian influenza A virus (H5N1, H7N9) infection in cynomolgus macaque monkey, 18<sup>th</sup> Asian Research Symposium in Rhinology, 2016.5.26-28、クアラルンプール(マレーシア)

有方雅彦、カニクイザルにおける鳥インフルエンザウイルス(H5N1、H7N9)感染に対するクラリスロマイシンの有効性評価、第34回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2016.2.4-6、鳥羽国際ホテル(三重県)

有方雅彦、カニクイザルにおける鳥インフルエンザウイルス(H5N1)感染に対するクラリスロマイシン予防的投与の有効性評価、第22回マクロライド新作用研究会、2015.7.17-18、飯田橋レインボービル(東京都)

有方雅彦、カニクイザルにおける鳥インフルエンザウイルス(H5N1, H7N9)感染に対するクラリスロマイシンの有効性評価、第21回マクロライド新作用研究会、2015.7.17-18、飯田橋レインボービル(東京都)

〔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 特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有方 雅彦 (ARIKATA, Masahiko)  
滋賀医科大学・医学部・助教  
研究者番号： 5 0 6 3 4 3 8 3

(2) 研究分担者

清水 猛史 (SHIMIZU, Takeshi)  
滋賀医科大学・医学部・教授  
研究者番号： 0 0 2 0 6 2 0 2

安岡 公美子 (YASUOKA, Kumiko)  
滋賀医科大学・医学部・助教  
研究者番号： 8 0 7 1 1 8 3 7

(3) 連携研究者

( )

(4) 研究協力者

( )