

平成 30 年 5 月 16 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09181

研究課題名(和文) 肺コレクチンによる肺炎球菌感染症の重症化阻止機構の解明と臨床応用

研究課題名(英文) Pulmonary collectin regulates the severity of Streptococcus pneumoniae infection

研究代表者

黒沼 幸治 (Kuronuma, Koji)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：40563250

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肺炎球菌感染症は重症化しやすく、侵襲性肺炎球菌感染症は致死率も高い。肺炎球菌感染症の莢膜血清型による重症度の違いが疫学研究により報告されており、我々のサーベイランスにおいても肺炎球菌ワクチンの普及に伴い、北海道における侵襲性肺炎球菌感染症の血清型にも変化がみられている。肺コレクチンが肺炎球菌成分と特異的に結合し、また、マクロファージを活性化させて菌の貪食に必要な受容体を増加させることで抗菌活性を発揮することを確認した。肺炎球菌の病態としてワクチン効果、宿主の免疫状態、肺コレクチンなどの制御因子との関連が重要であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Pneumococcal infections tend to be severe, especially invasive pneumococcal infections also have a high mortality rate. Differences in the severity of pneumococcal infection caused by capsular serotypes have been reported by epidemiological studies. Our surveillance in Hokkaido has also revealed the serotype replacement of invasive pneumococcal infections which is related to the spread of pneumococcal vaccines. We confirmed that lung collectin specifically binds to pneumococcal components and activates macrophages and increases antibiotic activity by increasing the receptors necessary for phagocytosis of bacteria. It became clear that the relation with the regulatory factors such as vaccine effect, host immune status and pulmonary collectin is important as a pathological condition of pneumococcus.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：肺コレクチン 肺炎球菌 感染症

1. 研究開始当初の背景

肺炎は衛生環境の改善や抗菌薬の進歩により死因の上位から後退していたが、世界に先駆けて超高齢化社会を迎えた日本では、高齢者の死因として肺炎の比率は増え続けており、近年全疾病の中で第3位となった。高齢者肺炎の特徴は、免疫能の低下、嚥下能の低下により感染を繰り返すことであり、抗菌薬耐性菌の増加も問題となっている。

肺炎の起因菌として約20-30%を占めるのが肺炎球菌であり、重症化しやすく、侵襲性肺炎球菌感染症は致死率も高い。2014年10月からは高齢者に対する肺炎球菌ワクチンが定期接種化され、感染予防効果が期待されているが、94種の莢膜血清型ある中での23型に対する多糖体ワクチンでは Serotype replacement により非ワクチン型の増加がみられ、問題視されている。

肺炎球菌感染症の莢膜血清型による重症度の違いが疫学研究により報告されている。しかし、重症化の機序解明は十分ではない。これまでに申請者らは、肺コレクチンであるサーファクタント蛋白質A (SP-A)が肺炎球菌感染と特異的に結合し【図1】、また、マクロファージを活性化させて菌の貪食に必要な受容体を増加させることで抗菌活性を発揮することを示してきた。

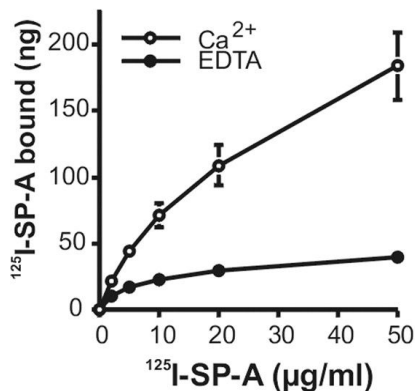


図1：SP-AはCa依存性に肺炎球菌と特異的に結合する。

Kuronuma K et al.

J. Biol. Chem. 2004;279:21421-21430

また、SP-Aが肺炎球菌感染に対して抗炎症作用を持つことも明らかにしてきた。その作用機序の一つがマクロファージ上のTLR2と菌体側リガンド(ペプチドグリカン)との結合阻害に基づく過剰炎症の制御であるとの知見を得た【図2】。以上のように、肺コレクチン(SP-A)には肺炎球菌に対して様々な生体防御機構を活性化作用がある。

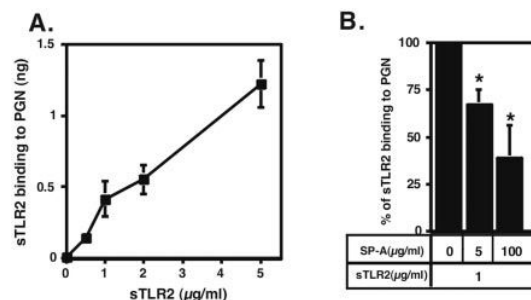


図2：ペプチドグリカンとTLR2の結合はSP-Aにより阻害される。

Murakami S et al.

J. Biol. Chem. 2002;277:6830-6837

2. 研究の目的

肺炎球菌が惹起する炎症亢進・重症化の機序にTLR介在シグナルが深く関与している事実を踏まえ、本研究では、このシグナル伝達系の抑制因子であるSP-Aの効果に莢膜血清型による差異がみられるかについて検討する。

3. 研究の方法

過去のインフルエンザウィルス流行時に死亡した例の多くが二次性肺炎を併発しており、とくに肺炎球菌肺炎が多いことが明らかになっており、Richard ALらは宿主自然免疫がインフルエンザ後の肺炎球菌感染に重要な役割を果たすことを報告している(PLoS Pathog. 2014; 10(8):e1004339)。侵襲性肺炎球菌感染症の疫学を以前から検討しており、ワクチン接種や血清型、免疫不全の有無

について調べる。

肺炎球菌の SP-A リガンドを同定し、肺炎球菌莢膜血清型による結合の違いを調べることで、宿主による重症度の違いを規定する因子を同定する。

肺炎球菌ワクチンと宿主免疫についてワクチン接種した健常者と呼吸器疾患患者を比較し、血清型特異的 IgG を測定する。免疫抑制剤の使用有無について統計的検討を行う。

我々がこれまでに示してきた肺炎球菌感染における SP-A の重要性を鑑みると、肺炎球菌感染に SP-A が宿主自然免疫を阻害することにより防護的な役割を果たしていることが推察される。また、SP-A が作用する部位を明らかにすることで SP-A を用いた新規治療薬の開発に寄与する可能性を模索する。

4. 研究成果

成果 1 ; 肺炎球菌のサーベイランス

肺炎球菌感染症の莢膜血清型による重症度の違いが疫学研究により報告されている。札幌市で発症した比較的若年の侵襲性肺炎球菌感染症で高度や薬剤耐性を有する株であったことを報告した(論文 1 3)。また、我々のサーベイランスにおいても肺炎球菌ワクチンの普及に伴い、北海道における侵襲性肺炎球菌感染症の血清型にも変化がみられている(図 3)(学会発表 2, 3)。

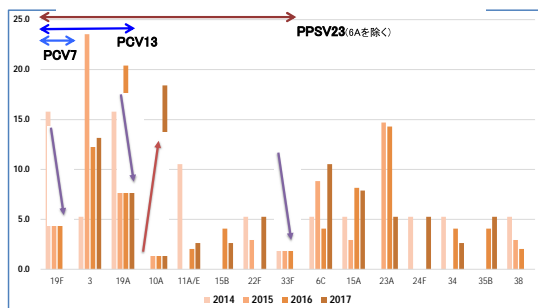


図 3 ; 北海道における IPD 血清型の年別比較

成果 2 ; 肺炎球菌と肺コレクチン

以前から我々の研究室で行っている検討を進展させ、肺コレクチンであるサーファクタント蛋白質 A (SP-A) が肺炎球菌成分と特異的に結合し、また、マクロファージを活性化させて菌の貪食に必要な受容体を増加させることで抗菌活性を発揮することを確認した。SP-A が肺炎球菌感染症において炎症を制御することにより保護的な役割を有していると考えられた。ディフェンシンを介した下気道の炎症制御においても SP-A が関与しており、その機能部位を特定し、役割についても解析することが出来た(図 4)(論文 5)。

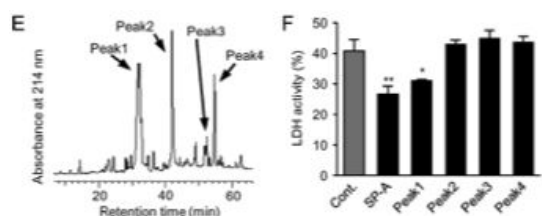


図 4 ; 炎症制御に関わる SP-A の機能部位の特定

成果 3 ; 肺炎球菌ワクチンと宿主免疫

肺炎球菌ワクチンによる呼吸器疾患患者の特異的 IgG の検討では十分な抗体価上昇が認められていたが、特発性肺線維症患者においては免疫抑制剤使用下で肺炎球菌ワクチンによる特異的 IgG の上昇が低かった(図 5)(学会発表 1, 論文投稿中)。

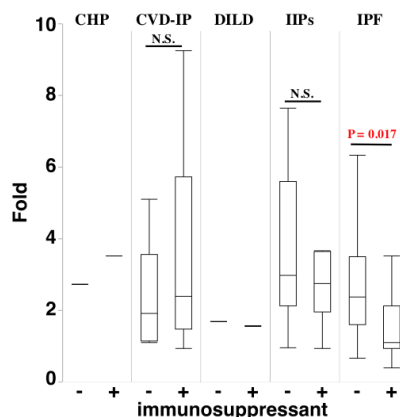


図 5 ; 肺炎球菌ワクチン接種後血清型 19F に対する特異的 IgG の上昇

成果 4 ; 呼吸器疾患とマイクロバイオーム

肺炎球菌はフィルミクテス門に属するが、特定の呼吸器疾患（特発性肺線維症）において肺の細菌叢（マイクロバイオーム）が変化しており、フィルミクテス門の増加、微生物叢の多様性低下が疾患の増悪と関連することがわかった（図 6）（論文 1 2 ）。

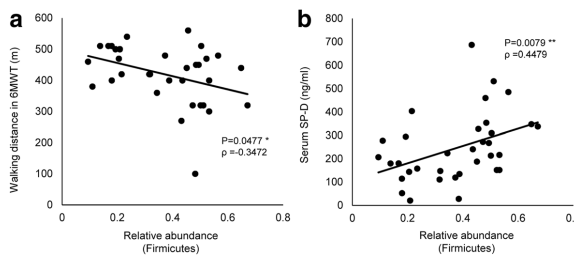


図 6 ; 肺胞洗浄液中 16S rRNA 解析による特発性肺線維症患者の重症度とマイクロバイオーム変化との相関

肺炎球菌に対する新規治療の開発が本研究の真の目的であるが、ワクチン効果、宿主の免疫状態、肺コレクチンなどの制御因子との関連が重要であることが明らかとなった。今後はこれらの知見をもとに宿主免疫制御の観点から新たな治療法の開発に取り組むことを計画している。

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 13 件）

1. Kondoh S, Chiba H, Nishikiori H, Umeda Y, Kuronuma K, Otsuka M, Yamada G, Ohnishi H, Mori M, Kondoh Y, Taniguchi H, Homma S, Takahashi H. Validation of the Japanese disease severity classification and the GAP model in Japanese patients with

idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Investig.* 2016;54:327-33.

2. Murata M, Otsuka M, Ashida N, Yamada G, Kuronuma K, Chiba H, Takahashi H. Surfactant protein D is a useful biomarker for monitoring acute lung injury in rats. *Exp Lung Res.* 2016;42:314-21.

3. 池田 貴美之, 錦織 博貴, 近藤 瞬, 小林 智史, 多屋 哲也, 森 勇樹, 汐谷 心, 黒沼 幸治, 高橋 弘毅. 北海道における外国籍結核患者とその HIV 感染症合併の現状. *結核* 2016;91:33-39.

4. Fukusumi M, Chang B, Tanabe Y, Oshima K, Maruyama T, Watanabe H, Kuronuma K, Kasahara K, Takeda H, Nishi J, Fujita J, Kubota T, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K; Adult IPD Study Group.. Invasive pneumococcal disease among adults in Japan, April 2013 to March 2015: disease characteristics and serotype distribution. *BMC Infect Dis.* 2017 Jan 3;17(1):2.

5. Uehara Y, Takahashi M, Murata M, Saito A, Takamiya R, Hasegawa Y, Kuronuma K, Chiba H, Hashimoto J, Sawada N, Takahashi H, Kuroki Y, Ariki S. Surfactant protein A (SP-A) and SP-A-derived peptide attenuate chemotaxis of mast cells induced by human α -defensin 3. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;485:107-112.

6. Yamada YI, Yamada G, Otsuka M, Nishikiori H, Ikeda K, Umeda Y, Ohnishi H, Kuronuma K, Chiba H, Baumbach JI, Takahashi H. Volatile Organic Compounds in Exhaled Breath of Idiopathic Pulmonary Fibrosis for Discrimination from Healthy Subjects. *Lung.* 2017;195:247-254.

7. Umeda Y, Hasegawa Y, Otsuka M, Ariki S, Takamiya R, Saito A, Uehara Y, Saijo H, Kuronuma K, Chiba H, Ohnishi H, Sakuma Y, Takahashi H, Kuroki Y, Takahashi

M. Surfactant protein D inhibits activation of non-small cell lung cancer-associated mutant EGFR and affects clinical outcomes of patients. *Oncogene*. 2017;36:6432-6445.

8. Ikeda K, Shiratori M, Chiba H, Nishikiori H, Yokoo K, Saito A, Hasegawa Y, Kuronuma K, Otsuka M, Yamada G, Takahashi H. Serum surfactant protein D predicts the outcome of patients with idiopathic pulmonary fibrosis treated with pirfenidone. *Respir Med*. 2017;131:184-191.

9. Hasegawa Y, Takahashi M, Arika S, Saito A, Uehara Y, Takamiya R, Kuronuma K, Chiba H, Sakuma Y, Takahashi H, Kuroki Y. Surfactant protein A downregulates epidermal growth factor receptor by mechanisms different from those of surfactant protein D. *J Biol Chem* 2017;292:18565-18576

10. Kuronuma K, Kobayashi T, Takahashi Y, Takahashi H. Congenital pulmonary vein atresia in an adult. *Internal Medicine* 2017;56:877-878.

11. Otsuka M, Shiratori M, Chiba H, Kuronuma K, Sato Y, Niitsu Y, Takahashi H. Treatment of pulmonary fibrosis with siRNA against a collagen-specific chaperone HSP47 in vitamin A-coupled liposomes. *Exp Lung Res* 2017;43:271-282.

12. Takahashi Y, Saito A, Chiba H, Kuronuma K, Ikeda K, Kobayashi T, Arika S, Takahashi M, Sasaki Y, Takahashi H. Impaired diversity of the lung microbiome predicts progression of idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Res*. 2018;19:34.

13. Ohkoshi Y, Sato T, Wada T, Fukushima Y, Murabayashi H, Takakuwa Y,

Nishiyama K, Honda H, Shiraiishi T, Kuronuma K, Takahashi H, Nakajima C, Suzuki Y, Yokota SI. Whole genome analysis of a multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolate from a patient with invasive pneumococcal infection developing disseminated intravascular coagulation. *J Infect Chemother*. 2018 in press.

〔学会発表〕(計3件)

1. Koji Kuronuma, Hiroyuki Honda, Tessei Mikami, Yuichiro Asai, Youhei Takahashi, Tomofumi Kobayashi, Atsushi Saito, Kimiyuki Ikeda, Hiroataka Nishikiori, Mamoru Takahashi, Mitsuo Otsuka, Hirofumi Chiba, Gen Yamada, Hiroki Takahashi, Toyotaka Sato. Pneumococcal vaccination in interstitial lung disease patients receiving systemic immunosuppressive treatment. 27th European Respiratory Society Annual Congress 2017. Sep 9-13:Milan, Italy

2. 黒沼幸治、大石和徳、高橋弘毅. 北海道における侵襲性細菌感染症サーベイランス構築の取組第112回日本内科学会講演会 2015年4月10~12日, 京都

3. 黒沼幸治、千葉 弘文、山田 玄、大石和徳、高橋弘毅. 北海道における侵襲性肺炎球菌感染症症例の検討. 第55回日本呼吸器学会学術講演会 2015年4月17~19日, 東京

〔図書〕(計3件)

1. 黒沼 幸治. 【呼吸器感染症の最新動向】重症肺炎と肺炎球菌ワクチンの動向. *医学と薬学* 72(5):819-824, 2015

2. 有木 茂, 上原 康昭, 村田 雅樹, 高宮 里奈, 長谷川 喜弘, 斎藤 充史, 千葉 弘文, 黒沼 幸治, 高橋 素子, 高橋 弘毅,

黒木 由夫. SP-A および SP-A 由来ペプチドは
ヒト -デフェンシン 3 による肥満細胞の遊
走を抑制する. 分子呼吸器病 20(1):

120-123, 2016

3. 黒沼 幸治, 本田 宏幸. インフルエ
ンザワクチンと肺炎球菌ワクチンの最近の
考え方. Medicina 2017;54:106-108.

〔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

黒沼 幸治 (KURONUMA KOJI)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号: 40563250

(2) 研究分担者

高橋 弘毅 (TAKAHASHI HIROKI)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号: 60231396

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

()