

令和元年5月15日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09942

研究課題名(和文)非結核性抗酸菌細胞壁脂質に対する宿主免疫応答の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the host immune response to nontuberculous mycobacterial cell wall lipids

研究代表者

西村 知泰(NISHIMURA, Tomoyasu)

慶應義塾大学・保健管理センター(日吉)・講師

研究者番号：90348649

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：肺非結核性抗酸菌(NTM)症の肺Mycobacterium avium complex (MAC)症の病態解明のため、菌細胞壁脂質であるglycopeptidolipid (GPL)に対する宿主免疫応答、ならびにGPLの病原性を検討した。MAC菌体からGPLを抽出し、質量分析により、GPLの分子構造を解析した。更に、ヒトマクロファージやマウスを用いたMAC感染実験より、GPLが肺MAC症の病態に関与していることが推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本において、肺NTM症の罹患率は増加の一途をたどっており、肺NTM症の内、肺MAC症が約90%を占めている。しかし、肺MAC症はその病態において依然不明な点が多い、診断が困難かつ、難治性の慢性呼吸器感染症である。本研究で、菌細胞壁脂質であるGPLの肺MAC症の病態への関与が示唆されたことから、今後、GPLに着目した精度の高い検査法や治療効果の高い薬物が開発され、より良い肺MAC症診療が可能になることが期待される。

研究成果の概要(英文)：To investigate the pathophysiology of Mycobacterium avium complex (MAC) pulmonary disease, a nontuberculous mycobacterial infection, we studied the host immune response to a bacterial cell wall lipid, glycopeptidolipid (GPL), as well as the pathogenicity of GPL. We extracted GPL from MAC and assessed its molecular structure by mass spectrometry. Experiments with MAC-infected human macrophages and mice suggested that GPL is involved in the pathophysiology of MAC pulmonary disease.

研究分野：感染症

キーワード：非結核性抗酸菌症 肺MAC症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本における、非結核性抗酸菌の *Mycobacterium avium* complex (MAC) による呼吸器感染症 (肺 MAC 症) の罹患率は、中年女性を中心に増加傾向にある。しかし、肺 MAC 症は、病態に関して依然不明な点が多く、診断が困難かつ難治性の慢性呼吸器感染症である。

結核菌も MAC も同じ抗酸菌であり、細菌学的性質は似ている部分があるものの、肺結核症と肺 MAC 症の臨床像は宿主免疫応答を反映して大きく異なることから、肺結核症、肺 MAC 症に対する治療戦略は異なる。近年、宿主免疫担当細胞が抗酸菌細胞壁脂質を認識し、様々な免疫応答が誘導され、抗酸菌症の病態が形成されることが明らかになってきた。結核菌と MAC の細胞壁脂質の違いにより、異なる宿主免疫応答が誘導され、肺結核症と肺 MAC 症の異なる病態が形成される可能性がある。具体的には、MAC は細胞壁に glycopeptidolipid (GPL) を有するが、結核菌は GPL を有さないことから、GPL が肺 MAC 症の特徴的な病態に関連している可能性がある。

2. 研究の目的

肺 MAC 症の病態解明のため、菌細胞壁脂質、特に GPL に対する宿主免疫応答、その病原性を検討する。

3. 研究の方法

(1) MAC は同じ菌株でもコロニー形態が異なることがあり、smooth opaque (SmO)、smooth transparent (SmT)、rough (Rg) の 3 つに分類される。 *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* (MAH)104 株の SmO、SmT、Rg から菌細胞壁脂質を抽出し、薄層クロマトグラフィ (TLC) にて成分を分離後、質量分析を実施し、比較検討した。

(2) MAH104 株の SmO、SmT、Rg で GPL の含有量、分子構造が異なることが判明した。そこで、マウス (C57BL/6) を用いた SmO、SmT、Rg の感染実験を行い、肺炎の重症度を評価するために、肺病理像等を比較した。また、ヒト末梢血単核球由来マクロファージ (ヒトマクロファージ) を用いた SmO、SmT、Rg の感染実験を行い、宿主免疫応答の評価のために、サイトカイン産生等を比較した。

4. 研究成果

(1) GPL は lipopeptide core と血清型特異糖鎖からなる。MAH104 株の SmO、SmT、Rg の菌細胞壁脂質を抽出し、TLC で成分を分離後、質量分析したところ、コロニー形態によって GPL の血清型特異糖鎖の分子構造が異なること、更に SmO、SmT に比べ、Rg の GPL 含有量が有意に少ないことを確認した。

(2) マウスに MAH104 株の SmO、SmT、Rg をそれぞれ経気道感染させたところ、Rg 感染マウスでは、強い肉芽腫性炎症を伴った肺炎の発症を確認した (図)。また、ヒトマクロファージに MAH104 株の SmO、SmT、Rg をそれぞれ感染させたところ、Rg 感染ヒトマクロファージで、interleukin-6 (IL-6) 産生の亢進を確認した。以上より、MAC の菌細胞壁脂質である GPL と病原性の関連性が示唆された。

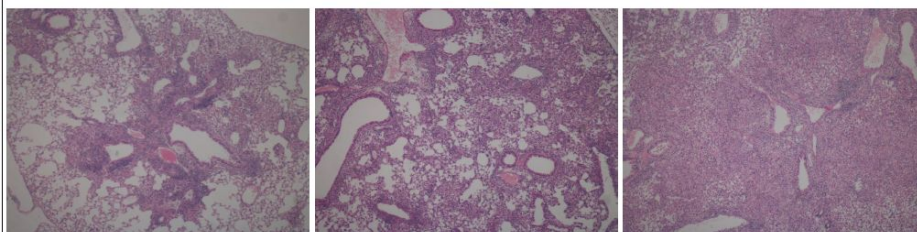
(3) 大量の MAC 菌体から菌細胞壁脂質である GPL を抽出し、リポソーム作製装置を用いて、GPL 含有リポソームを作製した。今後、この GPL 含有リポソームを用いて、細胞実験、動物実験を実施し、GPL に対する宿主免疫応答を解析していく予定である。

図. MAC感染マウスの肺病理像

SmO

SmT

Rg



(HE染色 4x)

感染3週間後のMAC感染マウスでは、コロニー形態に関わらず、気管支周囲に肉芽腫性炎症を認めた。特に、Rg感染マウスでは気管支周囲の強い肉芽腫性炎症、肺胞腔に多数の炎症性細胞浸潤を伴った肺炎像を認めた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

1. Nishimura T, Ota M, Mori M, Fujiwara H, Takano Y, Kato S, Kawabe H, Hasegawa N. Risk of tuberculosis infection among health care workers and nursing students in Japan. *J Infect Chemother*. 査読有. 24(11): pp. 921-924, 2018. doi: 10.1016/j.jiac.2018.08.006.
2. Nishimura T, Ota M, Mori M, Hasegawa N, Kawabe H, Kato S. Estimating latent tuberculosis infection using interferon- γ release assay, Japan. *Emerg Infect Dis*. 査読有. 24(11): pp. 2111-2113, 2018. doi: 10.3201/eid2411.171948.
3. Suzuki S, Asakura T, Namkoong H, Okamori S, Yagi K, Kamata H, Uwamino Y, Funatsu Y, Nakano Y, Nishimura T, Ishii M, Ebihara T, Betsuyaku T, Hasegawa N. Aspergillus precipitating antibody in patients with *Mycobacterium avium* complex lung disease: A cross-sectional study. *Respir Med*. 査読有. 138: pp. 1-6, 2018. doi: 10.1016/j.rmed.2018.03.013.
4. Kamata H, Asakura T, Suzuki S, Namkoong H, Yagi K, Funatsu Y, Okamori S, Uno S, Uwamino Y, Fujiwara H, Nishimura T, Ishii M, Betsuyaku T, Hasegawa N. Impact of chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection on health-related quality of life in *Mycobacterium avium* complex lung disease. *BMC Pulm Med*. 査読有. 17(1): p. 198, 2017. doi: 10.1186/s12890-017-0544-x.
5. Nishimura T, Tamizu E, Uno S, Uwamino Y, Fujiwara H, Nishio K, Nakano Y, Shiono H, Namkoong H, Hoshino Y, Iwata S, Hasegawa N. hsa-miR-346 is a potential serum biomarker of *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease activity. *J Infect Chemother*. 査読有. 23(10): pp. 703-708, 2017. doi: 10.1016/j.jiac.2017.07.015.
6. Morimoto K, Namkoong H, Hasegawa N, Nakagawa T, Morino E, Shiraiishi Y, Ogawa K, Izumi K, Takasaki J, Yoshiyama T, Hoshino Y, Matsuda S, Hayashi Y, Sasaki Y, Ishii M, Kurashima A, Nishimura T, Betsuyaku T, Goto H; Nontuberculous Mycobacteriosis Japan Research Consortium. Macrolide-resistant *Mycobacterium avium* complex lung disease: Analysis of 102 Consecutive Cases. *Ann Am Thorac Soc*.

査読有 . 13(11): pp. 1904-1911, 2016.

〔学会発表〕(計 4 件)

1. 西村知泰. 肺 MAC 症の新規検査法 . 第 101 回日本細菌学会関東支部総会 . 2018 年 .
2. 西村知泰. 肺 *Mycobacterium avium* complex 症における血清バイオマーカーの探索 . 第 57 回日本呼吸器学会学術講演会 . 2017 年 .
3. Nishimura T. hsa-miR-346 is a potential serum biomarker of *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease activity. 第 92 回日本結核病学会総会 . 2017 年 .
4. 西村知泰. 肺 *Mycobacterium avium* complex 症の病態における microRNA の役割 . 第 65 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 63 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会 . 2016 年 .

〔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 :
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 :
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名 : 長谷川 直樹

ローマ字氏名 : HASEGAWA, Naoki

所属研究機関名 : 慶應義塾大学

部局名 : 医学部

職名 : 教授

研究者番号 (8 桁) : 20198724

研究分担者氏名 : 下田 将之

ローマ字氏名 : SHIMODA, Masayuki

所属研究機関名 : 慶應義塾大学

部局名 : 医学部

職名 : 講師

研究者番号 (8 桁): 70383734

(2)研究協力者

研究協力者氏名：杉浦 悠毅

ローマ字氏名：SUGIURA, Yuki

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。