

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09610

研究課題名(和文) IL-7を基軸とした重症呼吸器感染症に対する新規免疫療法の開発

研究課題名(英文) Development of novel immunotherapy including IL-7 for severe respiratory tract infections

研究代表者

進藤 有一郎 (Shindo, Yuichiro)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60608884

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：重症感染症モデルとして、敗血症+二次性緑膿菌肺炎モデルマウスを作成し、敗血症発症後に免疫賦活作用をもつIL-7を投与したマウス群の生存割合が対照群よりも有意に高いことを証明した(JLB 2017)。また抗PD-L1ペプチド投与による敗血症モデルマウスの生存改善効果も証明した(JSR 2017)。重症市中肺炎、外科手術後肺炎患者において、死亡群と生存群間には肺炎発症後の数日間でリンパ球数や好中球数の推移に乖離がある結果を報告した(ATS 2019)。これらの結果から重症感染症患者において今後考慮すべき免疫療法の展望を国際シンポジウムで発表した(IRIC 2017, IRIC 2019)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重症呼吸器感染症である肺炎ではステロイドが再注目されているが、その効果は過剰な炎症状態を呈する患者に限定されている。抗炎症作用を有するマクロライド系抗菌薬も院内肺炎(2次感染)や緑膿菌肺炎での有効性は認められていない。我々の先行研究で明らかにした適切な抗菌治療を受けた肺炎患者における死亡リスク因子は自然・獲得免疫機能低下との関連が示唆され(Lancet ID 2015)、免疫賦活療法の必要性が示唆される。本研究成果は新たな免疫療法である免疫賦活療法を開発に関わるものであり、その対象患者候補を探索し、将来の重症呼吸器感染症患者の予後改善に貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：We developed a two-hit mouse model of sepsis and secondary Pseudomonas pneumonia. The results showed that IL-7 administration after sepsis onset improved the survival of the two-hit model (JLB 2017). Anti-PD-L1 peptide was also effective for improving the survival of septic mouse model (JSR 2017).

In patients with severe community-acquired pneumonia and those with post-operative pneumonia, we reported that time courses of absolute counts of lymphocytes and neutrophils were different between survivors and non-survivors in both pneumonia groups (ATS 2019). From these results, we made presentations on the perspectives on possible immunotherapeutic strategies in patients with severe respiratory tract infections (IRIC 2017, IRIC 2019).

研究分野：感染免疫

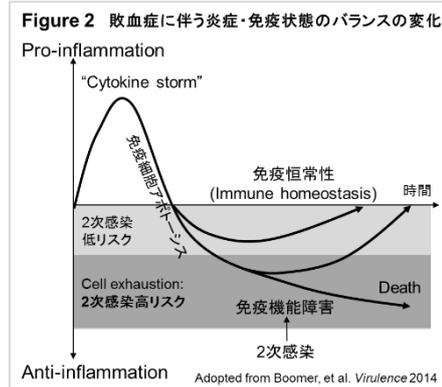
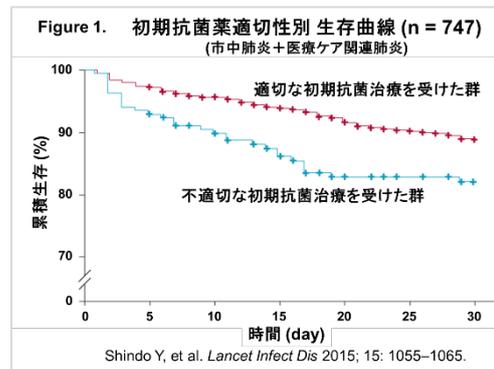
キーワード：免疫療法 感染免疫 重症呼吸器感染症 敗血症

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

感染症治療では不適切な抗菌治療をすると患者予後が悪化するため、適切な抗菌治療をすることが必要である(Figure 1)。診断時に適切な抗菌薬を選択するには耐性菌リスクの評価が重要であり、我々はそのリスク評価方法を提案した(参考文献1)。しかし、抗菌薬が適切であっても10.5%の肺炎患者は死亡する(Figure 1)。我々は適切な抗菌治療を受けた肺炎患者における死亡リスクを国際的に初めて明示し、そのリスク因子の累積数により30日死亡を予測できることを示した(Lancet ID 2015)。では、抗菌治療だけでは予後が改善しない患者にはどのような治療が必要なのか？

肺炎の中でも市中肺炎より院内肺炎の予後が悪く、とくに敗血症患者に続発する院内肺炎は重篤である。敗血症発症初期は cytokine storm に代表される強い炎症状態になる。この過剰な炎症を抑える抗炎症治療による臨床試験が今まで数多く行われてきたが、患者予後を改善できずに失敗してきた。この理由の一つが、敗血症発症初期の強い炎症状態の後に免疫細胞の過剰なアポトーシス、細胞疲弊に伴うサイトカイン産生能低下などの免疫機能障害が起こることである(Figure 2)。この状態下で緑膿菌肺炎に代表される2次感染が起こり、患者予後が悪化する(Lancet ID 2013)。実際、敗血症患者では自然・獲得免疫に関わる細胞のアポトーシスが亢進し(Nat Rev Immunol 2013)、末梢血免疫細胞上には PD-1, PD-L1 などの共抑制分子の発現が増え、免疫細胞疲弊の可能性が示唆される。つまり、初期の高度な炎症状態に続発する免疫機能障害を阻止あるいはこの状態から免疫機能を修復させる治療が望まれる。



## 2. 研究の目的

我々はこれまでの動物実験において免疫賦活療法として recombinant human Interleukin-7 (IL-7)および抗 PD-1/PD-L1 抗体が候補になると考えた。本研究の目的は以下のである：

- 臨床的に問題となる敗血症に続発する院内肺炎モデルとして敗血症+2次性緑膿菌肺炎モデルを作成し、IL-7、抗 PD-1/PD-L1 抗体などの生存改善効果とそのメカニズムを検証すること。
- 死亡リスクの高い重症肺炎患者の血中免疫細胞の機能解析にて、IL-7、抗 PD-1/PD-L1 抗体などによる免疫療法候補患者を同定し、将来の臨床試験への基盤をつくること。

## 3. 研究の方法

IL-7 が敗血症+2次性緑膿菌肺炎モデルで生存改善を検証し、さらに発展させる形で同じモデルを用いて、IL-7 の生存改善効果に関わる免疫機序の解析を行う。免疫細胞(とくに自然リンパ球 (ILC) を含めたリンパ球サブセット) のアポトーシスの抑制効果、それらの免疫細胞におけるサイトカイン分泌能をなど主にフローサイトメトリー法により2次性緑膿菌肺炎前後の検体を用いて解析する。

患者血液検体を用いた研究では、リンパ球、単球におけるアポトーシス、共刺激/共抑制

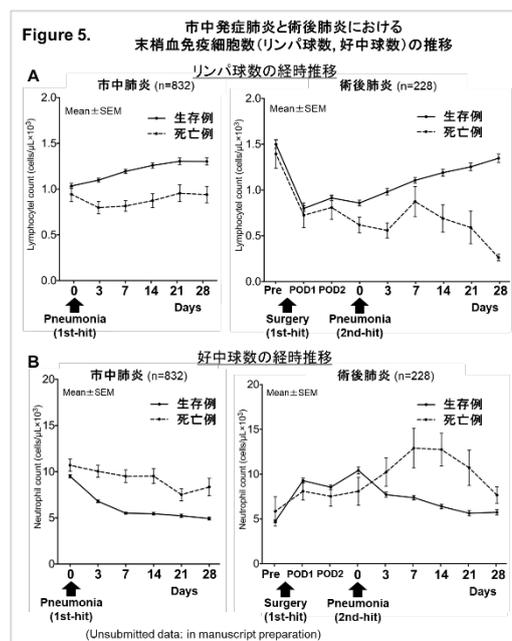
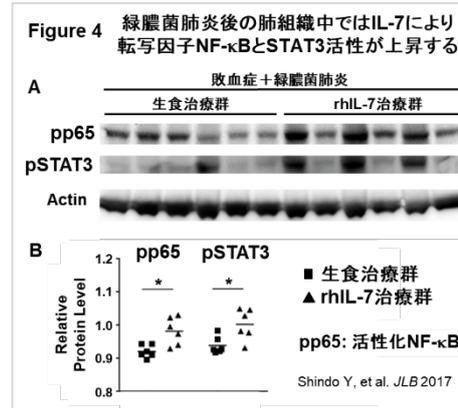
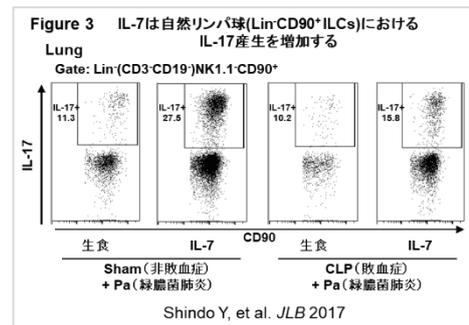
分子の発現、サイトカイン分泌能を評価し、臨床情報から推定される死亡高リスク群の免疫学的特徴を明らかにし、*ex vivo*でのIL-7の効果の検証も加えてIL-7による免疫療法の候補者を探索する。

#### 4. 研究成果

重症感染症における二次性感染モデルとして、汎発性腹膜炎による敗血症＋二次性緑膿菌肺炎モデルマウスを作成し、敗血症発症後に免疫賦活作用をもつ recombinant human Interleukin-7 (IL-7)を投与したマウス群の生存割合がコントロール群よりも有意に高いことを証明し、IL-7はリンパ球数回復、リンパ球のサイトカイン分泌能回復 (Figure 3)、緑膿菌肺炎後の肺組織中のNF- $\kappa$ B, STAT-3活性の亢進 (Figure 4)に寄与する結果を得た (Shindo, et al. JLB 2017)。また免疫チェックポイント阻害作用をもつ抗PD-1ペプチド投与により敗血症モデルマウスの生存割合が有意に改善されることも証明した (Shindo, et al. JSR 2017)。

現在も重症呼吸器感染症、敗血症に対する上記IL-7に代表される新規免疫療法の開発をすすめるために、上記マウスモデルを使用した免疫機序を解明するための実験を継続している。IL-7はリンパ球系の細胞の発達、増殖、恒常性維持に重要な役割をもつサイトカインである。我々の重症呼吸器感染症 (重症肺炎)、敗血症モデルにおいて、T細胞、B細胞、自然リンパ球などのリンパ球系細胞のアポトーシス、細胞増殖能、サイトカイン分泌などの機能がどのように変化し、これらがIL-7によりどのように変化し治療効果が得られるかをみるための研究を推進している。

さらに、市中発症の重症肺炎、外科手術後に肺炎を発症した患者におけるリンパ球と好中球の役割を生存群と死亡群で比較する臨床研究も実施し、死亡群と生存群間には、肺炎発症後にかけてリンパ球数や好中球数の推移に乖離がある結果を得た (Figure 5)。これらの機序解明に向けた患者サンプルを用いた研究を展開し、死亡高リスク群とリスク群を比較すると、肺炎診断時において死亡高リスク群ではT細胞上の共抑制分子の発現が増加し細胞機能も傷害されている傾向にある結果を得ており、現在も患者サンプルを集積しさらなる解析を進めている。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Falcone M, Russo A, Shindo Y, Farcomeni A, Pieralli F, Cangemi R, Liu J, Xia J, Okumura J, Sano M, Jones C, Vannucchi V, Mancone M, Micek S, Xu F, Violi F, Kollef M	4. 巻 63
2. 論文標題 A Hypothesis-Generating Study of the Combination of Aspirin plus Macrolides in Patients with Severe Community-Acquired Pneumonia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Antimicrob Agents Chemother	6. 最初と最後の頁 pii: e01556-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/AAC.01556-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kobayashi D, Shindo Y, Ito R, Iwaki M, Okumura J, Sakakibara T, Yamaguchi I, Yagi T, Ogasawara T, Sugino Y, Taniguchi H, Saito H, Saka H, Kawamura T, Hasegawa Y	4. 巻 11
2. 論文標題 Validation of the Prediction Rules Identifying Drug-Resistant Pathogens in Community-Onset Pneumonia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Infect Drug Resist	6. 最初と最後の頁 1703-1713
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/IDR.S165669	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Okumura J, Shindo Y, Takahashi K, Sano M, Sugino Y, Yagi T, Taniguchi H, Saka H, Matsui S, Hasegawa Y	4. 巻 23
2. 論文標題 Mortality in patients with community-onset pneumonia at low risk of drug-resistant pathogens: Impact of $\beta$ -lactam plus macrolide combination therapy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Respirology	6. 最初と最後の頁 526-534
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/resp.13232	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 進藤有一郎、田中文彦	4. 巻 133
2. 論文標題 病棟管理栄養士のための臨床検査ファーストガイド 疾患別検査値の意味と読み方のポイント 肺炎	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 臨床栄養	6. 最初と最後の頁 589-592
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 進藤有一郎、長谷川好規	4. 巻 35
2. 論文標題 院内肺炎、医療・介護関連肺炎の抗菌薬治療	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Medical Practice	6. 最初と最後の頁 617-622
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okumura J, Shindo Y, Takahashi K, Sano M, Sugino Y, Yagi T, Taniguchi H, Saka H, Matsui S, Hasegawa Y	4. 巻 23
2. 論文標題 Mortality in patients with community-onset pneumonia at low risk of drug-resistant pathogens: Impact of $\beta$ -lactam plus macrolide combination therapy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Respirology	6. 最初と最後の頁 526-534
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/resp.13232	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shindo Y, Hasegawa Y	4. 巻 22
2. 論文標題 Regional differences in antibiotic-resistant pathogens in patients with pneumonia: Implications for clinicians	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Respirology	6. 最初と最後の頁 1536-1546
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/resp.13135	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shindo Y, Fuchs AG, Davis CG, Eitas T, Unsinger J, Burnham CA, Green JM., Morre M, Bochicchio GV, Hotchkiss RS	4. 巻 101
2. 論文標題 Interleukin 7 immunotherapy improves host immunity and survival in a two-hit model of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pneumonia	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Leukoc Biol	6. 最初と最後の頁 531-542
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1189/jlb.4A1215-581R	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shindo Y, McDonough JS, Chang KC, Ramachandra M, Sasikumar PG, Hotchkiss RS	4. 巻 208
2. 論文標題 Anti-Programed Cell Death Ligand 1 Peptide Improves Survival in Sepsis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Surg Res	6. 最初と最後の頁 33-39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jss.2016.08.099	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 進藤有一郎、長谷川好規	4. 巻 35
2. 論文標題 院内肺炎、医療・介護関連肺炎の抗菌薬治療	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Medical Practice	6. 最初と最後の頁 617-622
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 進藤有一郎、長谷川好規	4. 巻 21
2. 論文標題 肺炎における薬剤耐性菌のリスクと抗菌治療	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 分子呼吸器病	6. 最初と最後の頁 52-55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件(うち招待講演 1件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 村上靖, 進藤有一郎, 佐野将宏, 奥村隼也, 榊原利博, Nancy Thabet, 小林 弘典, 八木哲也, 長谷川好規
2. 発表標題 術後肺炎の臨床的特徴, 死亡リスク因子
3. 学会等名 第59回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Thabet N, Shindo Y, Okumura J, Sano M, Sakakibara T, Murakami Y, Kobayashi H, Yagi T and Hasegawa Y
2. 発表標題 Risk factors for 30-day mortality in patients with Staphylococcal pneumonia: an observational cohort study
3. 学会等名 第93回日本感染症学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shindo Y
2. 発表標題 Immunotherapeutic strategies for sepsis and pneumonia
3. 学会等名 The International Respiratory Infections Conference 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sano M, Shindo Y, Okumura J, Sakakibara T, Matsuda T, Yagi T, Matsui K, Takahashi K, Matsui S, Hasegawa Y
2. 発表標題 Risk Factors for Severe Adverse Outcomes in Patients with Hospital-Acquired Pneumonia
3. 学会等名 American Thoracic Society 2017 International Conference
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sano M, Shindo Y, Okumura J, Sakakibara T, Matsuda T, Yagi T, Hasegawa Y
2. 発表標題 Risk factors for drug-resistant pathogens in patients with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia
3. 学会等名 European Respiratory Society International Congress 2017
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 進藤有一郎、長谷川好規	4. 発行年 2018年
2. 出版社 公益財団法人 長寿科学振興財団	5. 総ページ数 1-231
3. 書名 高齢者の感染症とその対策. 第3章 各論1 高齢者の各種感染症 高齢者の肺炎	

1. 著者名 Shindo Y, Hasegawa Y	4. 発行年 2017年
2. 出版社 European Respiratory Society	5. 総ページ数 1-311
3. 書名 Anti-infectives and the Lung, Section 12: Macrolide therapy for patients with pneumonia: a triple-edged sword	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----