

令和 3 年 6 月 27 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16545

研究課題名(和文) MRSA肺炎に対するDDSを利用した複合抗体療法の開発

研究課題名(英文) Development of Combined Antibody Therapy Using DDS for MRSA Pneumonia

研究代表者

清水 優 (SHIMIZU, MASARU)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：40800131

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は院内感染の主要な菌であり、多剤耐性化と新規抗菌薬開発の遅滞により、新しい治療戦略が求められている。そこで本研究では、これらの先行研究・技術を応用してMRSAの複数の表面抗原を見つけ出し、それに対する特異的抗体を精製する。さらに複数の特異的抗体をリポソーム製剤で含有にすることにより、少量投与・長時間作用となり抗体の単剤投与より効果が発揮できると考えた。MRSAの臨床株を集め、動物感染モデルは完成した。今後の展開として、他の薬剤耐性菌の表面抗原の特異的抗体の種類を変えることにより、薬剤耐性菌感染症への応用、発展も可能があると考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果の学術的意義は次の2点である。(1) MRSA保菌、一ヶ月以内の抗菌薬暴露、カテーテル留置の患者はMRSA菌血症を常に念頭におき、適正抗菌薬使用までの時間を極力早めることが重要と考えられた。また遺伝子配列型を解析し感染対策に貢献できた。(2) 多剤耐性化と新規抗菌薬開発の遅滞により、新しい治療戦略の可能性を見つけ出した。今後の展開として、薬剤耐性菌感染症への応用、発展を考えて社会的意義は高い。

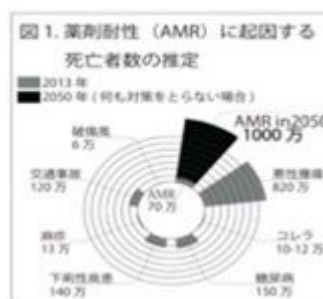
研究成果の概要(英文)：Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is a major nosocomial pathogen, and the development of multiple drug resistance and delays in the development of new antibiotics have led to a need for new therapeutic strategies. In this research, we apply these prior studies and techniques to identify multiple surface antigens of MRSA and purify specific antibodies against them. In addition, by containing a plurality of specific antibodies in a liposome preparation, a small dose and a long time action are obtained, and it is considered that the effect can be demonstrated more than the single agent administration of the antibody. Clinical strains of MRSA were collected and animal infection models were completed. As a future development, by changing the type of specific antibody of the surface antigen of other drug-resistant bacteria, application and development to drug-resistant bacteria infectious diseases are thought to be possible.

研究分野：感染症

キーワード：MRSA 多剤耐性 リポソーム drug delivery system 抗体療法

1. 研究開始当初の背景

2017年にWHOは、「新規抗菌薬が緊急に必要な薬剤耐性菌」の12種類の細菌を初公表した。その中に黄色ブドウ球菌があげられる。薬剤耐性菌感染症は、病院などで感染が広がると死亡する患者が出る可能性があり、その死者数は 2050年までに年間1000万人を超え、最も多い死亡要因になると推測されている(図1. The Review on Antimicrobial Resistance 2014)。また国内での2015年における薬剤耐性菌感染症の新規発症患者の総数は18,977人であり、そのうち MRSA 感染症による新規患者は17,756人(93.4%)を占めた。MRSA 感染症の疾患別に見ても人工呼吸器関連肺炎を含む肺炎が37%と最も多かった(図2.3. 厚生労働省「院内感染サーベイランス事業」)。このように MRSA が薬剤耐性菌感染症の主要な起因菌であることがわかる。



2. 研究の目的

主な目的として新たな治療戦略として、複数の抗体に細胞類似の構造をもつ薬剤カプセルとしてDDSを組み合わせた 複数の特異的抗体含有リボソーム製剤の開発する。

3. 研究の方法

菌血症患者から分離されたMRSA臨床株を収集し、薬剤感受性、PCR-based open reading frame typing型、MLSTを明らかにした。

MRSA菌血症患者の患者背景を明らかにする。

MRSA臨床株を免疫抑制マウスに気管内投与して、致死量を検討した。

並行して行っていた抗菌薬に頼らない新たな治療戦略としてのフェージ療法で検討する。

4. 研究成果

①②についての検討

解析対象は、41例(年齢中央値60歳[四分位範囲:28-70]、男女比は24:17)であった。患者背景としてMRSA保菌患者は20例(49%)、CCIは平均3.1、ICU入室経験ありは12例、一ヶ月以内の抗菌薬暴露があったのは19例、発熱から適正抗菌薬が投与されるまでの時間は中央値31時間[四分位範囲:7-73]であった。感染源はカテーテルが最も多く18例(44%)、そのほかに尿路感染4例、術後創部感染4例などであった。(表1.)抗MRSA薬が使用されたのは37例で、そのうちバンコマイシンが29例(71%)で最も多かった。MRSA菌血症が原因となり死亡したのは7例(17%)で、発熱から適正抗菌薬が投与されるまでの時間が生存より遅い傾向にあった(70vs25,P=0.15)。(表2.)遺伝子配列型によりCA-MRSA(communitary-acquired MRSA)が大半と推定できた。(図3.)一部同様の遺伝子配列であったが、入院患者の院内感染はなかった。

表 1.

感 染 源	カテーテル	18 (44%)
	尿路	4 (10%)
	術後創部	4 (10%)
	その他	15 (36%)
治 療 抗 菌 薬	バンコマイシン	29 (71%)
	テイコプラニン	6 (15%)
	ダプトマイシン	1 (2%)
	なし	5 (12%)

図 3.

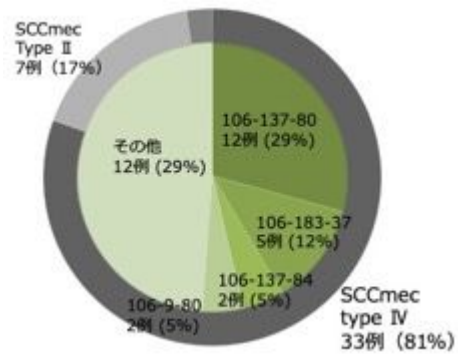


表 2.

	全体	生存	死亡	p 値
年齢	41 (28-70)	55 (21-68)	66 (65-73)	0.03
M R S A 保 菌 者 数	20 (49%)	16	4	0.70
I C U 入 室 経 験 者 数	12 (29%)	11	1	0.65
チャールトン併存疾患指数	3.4±2.5	3.3±2.6	4.4±2.4	0.23
1ヶ月以内の抗菌薬暴露あり	19 (46%)	2	17	0.42
発熱から適正抗菌薬までの時間	31 (7-73)	25 (4-68)	70 (40-114)	0.15

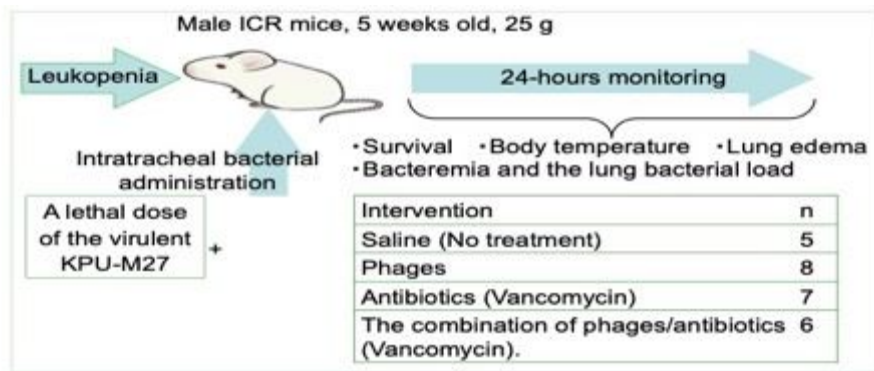
結論

MRSA 保菌、一ヶ月以内の抗菌薬暴露、カテーテル留置の患者は MRSA 菌血症を常に念頭におき、適正抗菌薬使用までの時間を極力早めることが重要と考えられた。また遺伝子配列型を解析し感染対策に貢献し、当院での流行性クローンの把握に努めたい。

③④についての検討

ICR マウスに感染実験 2 日と 4 日 前シクロフォスファミドをそれぞれ皮下投与して、免疫抑制マウスを作製し、MRSA 臨床株を経気管的に肺内投与して感染を誘発した。また感染と同時にファージまたは抗菌薬を肺内投与した。(図 4.)

図 4



未治療群と比較してファージ群と抗菌薬群では生存率の改善、肺浮腫の程度の減少傾向が認められた。ファージ群と抗菌薬群で体温、肺/体重比、肺内細菌数、肺浮腫の程度に有意な差を認めなかった。(図 5, 図 6)

図 5.

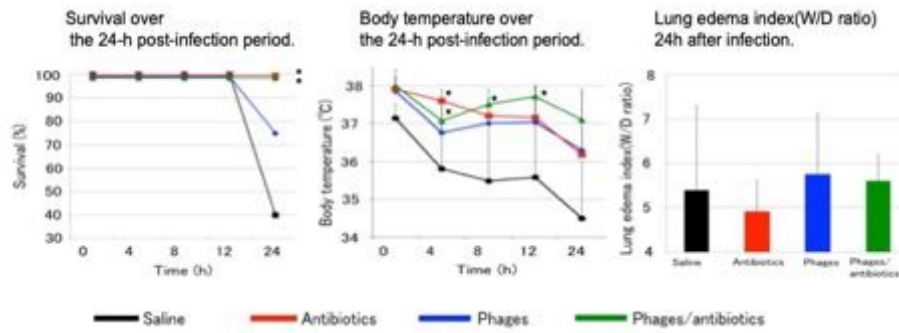
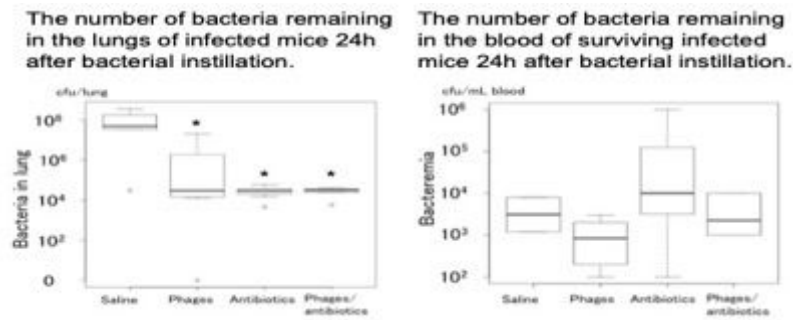


図 6.



結論

ファージセラピーには抗菌薬と同等の効果があると考えられた。ファージセラピーが免疫抑制状態の宿主に生じる MRSA 肺炎の治療で抗菌薬に頼らない新たな治療戦略となり、薬剤耐性感染症の新たな戦略となる可能性があることを示唆した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Shimizu Masaru, Amaya Fumimasa, Kinoshita Mao, Yamasaki Masaki, Yokota Isao, Sawa Teiji	4. 巻 14
2. 論文標題 Reduction of the rocuronium-induced withdrawal reflex by MR13A10A, a generic rocuronium with a novel solution: A randomized, controlled study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 0223947 ~ 0223947
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0223947	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 該当する
1. 著者名 Mihara Toshihito, Kimura Takeshi, Momiyama Kyoko, Kainuma Atsushi, Akiyama Koichi, Ohara Junya, Inoue Keita, Kinoshita Mao, Shimizu Masaru, Moriyama Kiyoshi, Fujita Naohisa, Sawa Teiji	4. 巻 26
2. 論文標題 Secondary in-hospital epidemiological investigation after an outbreak of Pseudomonas aeruginosa ST357	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 257 ~ 265
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2019.09.014	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 該当する
1. 著者名 Kinoshita Mao, Shimizu Masaru, Akiyama Koichi, Kato Hideya, Moriyama Kiyoshi, Sawa Teiji	4. 巻 15
2. 論文標題 Epidemiological survey of serum titers from adults against various Gram-negative bacterial V-antigens	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 0220924 ~ 0220924
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0220924	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 該当する
1. 著者名 Kainuma Atsushi, Momiyama Kyoko, Kimura Takeshi, Akiyama Koichi, Inoue Keita, Naito Yoshifumi, Kinoshita Mao, Shimizu Masaru, Kato Hideya, Shime Nobuaki, Fujita Naohisa, Sawa Teiji	4. 巻 24
2. 論文標題 An outbreak of fluoroquinolone-resistant Pseudomonas aeruginosa ST357 harboring the exoU gene	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 615 ~ 622
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2018.03.008	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 該当する

1. 著者名 Naito Yoshifumi, Hamaoka Saeko, Kinoshita Mao, Kainuma Atsushi, Shimizu Masaru, Katoh Hideya, Moriyama Kiyoshi, Ishii Ken J., Sawa Teiji	4. 巻 62
2. 論文標題 The protective effects of nasal PcrV-CpG oligonucleotide vaccination against Pseudomonas aeruginosa pneumonia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microbiology and Immunology	6. 最初と最後の頁 774 ~ 785
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1348-0421.12658	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 該当する

1. 著者名 Nakamura Yuki, Shimizu Masaru, Yamaki Taeka, Kushimoto Kohsuke, Yamashita Ayahiro, Hayase Kazuma, Yamazaki Masaki, Hashimoto Satoru, Ohta Bon	4. 巻 27
2. 論文標題 Myocardial injury in a patient with severe coronavirus disease: A case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 364 ~ 368
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2020.09.023	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 該当する

1. 著者名 木下 真央, 小原 潤也, 三原 聡仁, 井上 敬太, 清水 優, 佐和 貞治	4. 巻 54
2. 論文標題 各種病原性グラム陰性菌V抗原で免疫化したマウスによる交差抗原性についての検討	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 緑膿菌感染症研究会講演記録 54回	6. 最初と最後の頁 91-93
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 小原 潤也, 藤木 純平, 三原 聡仁, 井上 敬太, 木下 真央, 清水 優, 岩野 英知, 佐和 貞治	4. 巻 54
2. 論文標題 緑膿菌に対するバクテリオファージの治療効果の検討	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 緑膿菌感染症研究会講演記録 54回	6. 最初と最後の頁 83-85
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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 清水 優, 木下 真央, 三原 聡仁, 橋本 悟, 佐和 貞治
2. 発表標題 MRSAの血液培養陽性患者の解析: 単施設後方的観察研究
3. 学会等名 第47回日本集中治療医学会学術集会, 名古屋 (web開催)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 清水 優, 木下 真央, 藤木 純平, 佐和 貞治
2. 発表標題 抗菌薬に頼らない新治療法ファージセラピー : 免疫抑制マウスを用いたMRSA肺炎での検討
3. 学会等名 日本麻酔科学会第67回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木下 真央, 清水 優, 佐和 貞治
2. 発表標題 緑膿菌感染症の抗体価推移からみる呼吸器感染病態
3. 学会等名 日本麻酔科学会第67回学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masaru Shimizu, Mao Kinoshita, Hideya Kato, Junya Ohara, Keita Inoue, Toshihito Mihara, Jumpei Fujiki, Hidetomo Iwano, Teiji Sawa
2. 発表標題 Effects of phage therapy and antibiotics against acute pneumonia caused by MRSA in leukopenic mice
3. 学会等名 International Anesthesia Research Society (IARS) Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------