

令和 4 年 5 月 24 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08936

研究課題名（和文）菌細胞壁脂質に着目した肺MAC症の病態解明

研究課題名（英文）Elucidation of the pathophysiology of MAC pulmonary disease focusing on bacterial 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） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：肺非結核性抗酸菌症である肺Mycobacterium avium complex (MAC)症の病態解明のため、菌細胞壁脂質のglycopeptidolipid (GPL)、trehalose 6,6'-dimycolate (TDM)、trehalose 6-monomycolate (TMM)の生物活性を検討した。MAC菌体から抽出したGPL、TDM、TMMとヒトマクロファージを用いた実験を実施し、これらの菌細胞壁脂質が肺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、肺非結核性抗酸菌症の罹患率は増加の一途をたどっており、肺非結核性抗酸菌症の内、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、TDM、TMMの肺MAC症の病態への関与が示唆されたことから、今後、菌細胞壁脂質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 figure out the pathophysiology of Mycobacterium avium complex (MAC) pulmonary disease, which is a nontuberculous mycobacterial pulmonary disease, we studied about the biological activity of bacterial cell wall lipids, glycopeptidolipid (GPL), trehalose 6,6'-dimycolate (TDM), and trehalose 6-monomycolate (TMM). We conducted the experiments with GPL, TDM, and TMM extracted from MAC, and human macrophages. The experimental results suggested that these bacterial cell wall lipids were associated with 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

1. 研究開始当初の背景

日本において、肺非結核性抗酸菌 (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 *Mycobacterium avium* complex (MAC) 症が約 90% を占めているが (Morimoto K, et al. Ann Am Thorac Soc. 2016.)、肺 MAC 症はその病態において依然不明な点が多い、難治性の慢性呼吸器感染症である。

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、抗酸菌症の病態を形成することが明らかになってきている。しかし、MAC の細胞壁脂質に対する宿主免疫応答や MAC 細胞壁脂質の肺 MAC 症の病態における役割は未だに解明されていない。MAC 細胞壁脂質、特に、MAC 細胞壁に特異的に存在する glycopeptidolipid (GPL) が肺 MAC 症の特徴的な病態に関与していると考え、MAC 細胞壁脂質の GPL に着目し、肺 MAC 症の病態を解析した。MAC は、同じ菌株でも主に 3 つのコロニー形態、smooth opaque (SmO) 型、smooth transparent (SmT) 型、rough (Rg) 型を呈することが知られている。C57BL/6 マウスに *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* (MAH)104 の SmO 型、SmT 型、Rg 型をそれぞれ経気道感染させたところ、Rg 型感染マウスで重症肺炎を発症した。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) に MAH104 の SmO 型、SmT 型、Rg 型をそれぞれ感染させたところ、Rg 型感染ヒトマクロファージで、炎症性サイトカインの分泌亢進を確認した。GPL が肺 MAC 症の病態に関連していることが示唆された。

MAC 細胞壁には、GPL 以外にも糖脂質である trehalose 6,6'-dimycolate (TDM)、trehalose 6-monomycolate (TMM) が存在する。TDM は抗酸菌細胞壁の共通成分で多量に存在し、肉芽腫形成や炎症性サイトカイン産生に関与することが知られている。しかし、マウスに異なる抗酸菌由来の TDM を経静脈投与すると、肺の肉芽腫形成が異なったという報告があり (Fujita Y, et al. Microb Pathog. 2007)、菌種によって、TDM の分子構造が異なり、宿主免疫応答が異なることが推測される。また、TMM は TDM 合成の前駆体と考えられ、TDM と同様に、菌種によって分子構造が異なることが報告されているが (Fujita Y, et al. Microbiology. 2005)、TMM に対する宿主免疫応答は詳細不明である。

2. 研究の目的

菌細胞壁脂質の GPL が肺 MAC 症の病態に関連していることを確認しており、その詳細な機序を解析する。更に、菌細胞壁脂質である TDM、TMM が肺 MAC 症の病態においてどのような役割を担っているかを解明する。

3. 研究の方法

- (1) MAH104 の SmO 型、SmT 型、Rg 型をヒトマクロファージに感染させ、生細胞数、細胞傷害性、感染後菌数、ケモカインの分泌を評価した。
- (2) Rg 型は SmO 型、SmT 型に比べ凝集しやすいことを確認したため、MAH104 の Rg 型の凝集を機械的に阻害し、ヒトマクロファージに感染させ、炎症性サイトカイン、ケモカインの分泌、生細胞数、感染後菌数を評価した。
- (3) MAH104 から抽出した TDM、TMM でヒトマクロファージを刺激し、炎症性サイトカインの遺伝子発現を評価した。

4 . 研究成果

(1) ヒトマクロファージに MAH104 の SmO 型、SmT 型、Rg 型をそれぞれ感染させ、感染 96 時間後の生細胞数と細胞傷害性を比較すると、SmO 型、SmT 型に比べ、Rg 型で有意な生細胞数の減少と細胞傷害性を認めた。感染 96 時間後の菌数も Rg 型で有意な増加を認めた。更に、Rg 型感染マクロファージでは感染 4 時間後に tumor necrosis factor (TNF-)や interleukin 6 (IL-6)といった炎症性サイトカインだけでなく、C-C motif chemokine ligand 5 (CCL5)、CCL3 といったケモカインの分泌亢進を認めた。

(2) Rg 型は SmO 型、SmT 型に比べ凝集しやすい性質があり、フィルターを通し、Rg 型の凝集を阻害した状態でヒトマクロファージに感染させると、生細胞数の減少や細胞傷害性は認めず、感染 96 時間後の菌数も有意に減少した。以上の結果から、MAC の Rg 型は、SmO 型、SmT 型に比べ、ヒトマクロファージにおいて高い病原性を示し、GPL 含有量の少ない Rg 型が SmO 型、SmT 型に比べ凝集しやすいという特徴が、病原性の高い理由の一つと考えられた。一方、Rg 型感染マクロファージからの感染 4 時間後の TNF- α 、IL-6、CCL5、CCL3 の分泌は、凝集を阻害しても低下しなかった。Rg 型は SmO 型や SmT 型に比べ菌細胞壁外層に存在する GPL の含有量が少なく、他の菌細胞壁脂質とマクロファージの受容体が結合しやすいため、TNF- α 、IL-6、CCL5、CCL3 の分泌が亢進する可能性がある。

(3) 培養プレートに MAH104 から抽出した TDM、TMM を固相化し、そこにヒトマクロファージを加え培養したところ、炎症性サイトカインである TNF- の遺伝子発現が有意に亢進した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 4件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Asakura T, Kimizuka Y, Nishimura T, Suzuki S, Namkoong H, Masugi Y, Sato Y, Ishii M, Hasegawa N. | 4. 巻 26(1) |
| 2. 論文標題 Serum Krebs von den Lungen-6 level in the disease progression and treatment of Mycobacterium avium complex lung disease. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Respirology. | 6. 最初と最後の頁 112-119 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/resp.13886. | 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 - |
| 1. 著者名 Nishimura T, Shimoda M, Tamizu E, Uno S, Uwamino Y, Kashimura S, Yano I, Hasegawa N. | 4. 巻 69(7) |
| 2. 論文標題 The rough colony morphotype of Mycobacterium avium exhibits high virulence in human macrophages and mice | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 J Med Microbiol. | 6. 最初と最後の頁 1020-1033 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1099/jmm.0.001224. | 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 - |
| 1. 著者名 Nishimura T, Ota M, Mori M, Takano Y, Fujiwara H, Uwamino Y, Uno S, Hasegawa N. | 4. 巻 26(8) |
| 2. 論文標題 The annual risk of tuberculosis infection in newly hired researchers and healthcare workers using interferon-gamma release assay in Japan | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 J Infect Chemother. | 6. 最初と最後の頁 818-822 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jiac.2020.03.020. | 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 - |
| 1. 著者名 Kimizuka Y, Hoshino Y, Nishimura T, Asami T, Sakakibara Y, Morimoto K, Maeda S, Nakata N, Abe T, Uno S, Namkoong H, Fujiwara H, Funatsu Y, Yagi K, Fujie T, Ishii M, Inase N, Iwata S, Kurashima A, Betsuyaku T, Hasegawa N; Non-Tuberculous Mycobacteriosis-Japan Research Consortium (NTM-JRC). | 4. 巻 14(4) |
| 2. 論文標題 Retrospective evaluation of natural course in mild cases of Mycobacterium avium complex pulmonary disease. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 PLoS One. | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0216034. | 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 Asakura T, Suzuki S, Fukano H, Okamori S, Kusumoto T, Uwamino Y, Ogawa T, So M, Uno S, Namkoong H, Yoshida M, Kamata H, Ishii M, Nishimura T, Hoshino Y, Hasegawa N. | 4. 巻 6(4) |
| 2. 論文標題 Sitafloxacin-Containing Regimen for the Treatment of Refractory Mycobacterium avium Complex Lung Disease. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Open Forum Infect Dis. | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ofid/ofz108. | 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 Uwamino Y, Nishimura T, Sato Y, Tamizu E, Asakura T, Uno S, Mori M, Fujiwara H, Ishii M, Kawabe H, Murata M, Hasegawa N. | 4. 巻 19(1) |
| 2. 論文標題 Low serum estradiol levels are related to Mycobacterium avium complex lung disease: a cross-sectional study. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 BMC Infect Dis. | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12879-019-4668-x. | 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 Uwamino Y, Nishimura T, Sato Y, Tamizu E, Uno S, Mori M, Fujiwara H, Kawabe H, Murata M, Hasegawa N. | 4. 巻 26(3) |
| 2. 論文標題 Showering is associated with Mycobacterium avium complex lung disease: An observational study in Japanese women. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 J Infect Chemother. | 6. 最初と最後の頁 211-214 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2019.09.003. | 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 - |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Uwamino Y, Sakai A, Nishimura T, Noguchi M, Uno S, Fujiwara H, Mori M, Wakui M, Murata M, Hasegawa N. | 4. 巻 26(3) |
| 2. 論文標題 Effect of refrigeration of blood samples in lithium-heparin tubes on QuantiFERON TB Gold Plus test result. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 J Infect Chemother. | 6. 最初と最後の頁 312-314 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2019.10.002. | 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 - |

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 Uno S, Nishimura T, Nishio K, Kohsaka A, Tamizu E, Nakano Y, Kagyo J, Nakajima Y, Arai R, Hasegawa H, Arakawa K, Kashimura S, Ishii R, Miyazaki N, Uwamino Y, Hasegawa N. | 4. 巻 129 |
| 2. 論文標題 Potential biomarker enhancing the activity of tuberculosis, hsa-miR-346. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Tuberculosis (Edinb). | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tube.2021.102101. | 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 Namkoong H, Omae Y, Asakura T, Ishii M, Suzuki S, Morimoto K, Kawai Y, Emoto K, Oler AJ, Szymanski EP, Yoshida M, Matsuda S, Yagi K, Hase I, Nishimura T, Sasaki Y, Asami T, Shiomi T, Matsubara H, Shimada H, et al. | 4. 巻 58(2) |
| 2. 論文標題 Genome-wide association study in patients with pulmonary Mycobacterium avium complex disease. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Eur Respir J. | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1183/13993003.02269-2019. | 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 |

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 西村知泰 |
| 2. 発表標題 肺非結核性抗酸菌症の疾患活動性の指標(バイオマーカー)について |
| 3. 学会等名 第95回日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 西村知泰 |
| 2. 発表標題 医療従事者の入職健診でIGRAはまだ必要か Proの立場から |
| 3. 学会等名 第95回日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 西村知泰, 森正明, 和井内由充子, 広瀬寛, 牧野伸司, 横山裕一, 武田彩乃, 畔上達彦, 後藤伸子, 河邊博史. |
| 2. 発表標題 外国人留学生を対象とした結核感染調査 |
| 3. 学会等名 第116回日本内科学会総会・講演会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 上養義典, 西村知泰, 宇野俊介, 森正明, 長谷川直樹, 佐藤泰憲, 田水映子, 村田満. |
| 2. 発表標題 閉経後女性における血清エストラジオール低値と肺Mycobacterium avium complex感染症の関連性 |
| 3. 学会等名 第94回日本結核病学会総会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 酒井昭子, 上養義典, 西村知泰, 森正明, 宇野俊介, 藤原宏, 村田満, 長谷川直樹. |
| 2. 発表標題 QuantiFERON TBゴールドプラスの検体のヘパリン管採血と, その冷蔵保存による検査結果への影響 |
| 3. 学会等名 第31回日本臨床微生物学会総会・学術集会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|------------------------------------|
| 1. 発表者名 西村知泰 |
| 2. 発表標題 外国人留学生の感染症対策 結核対策を中心として |
| 3. 学会等名 第19回日本旅行医学会大会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 西村知泰 |
| 2. 発表標題 抗酸菌の宿主免疫 マクロファージなどのinnate immunityと抗酸菌感染 |
| 3. 学会等名 第96回日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021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 |
|-----------|---|--|----|
| 研究 分担者 | 長谷川 直樹 (Hasegawa Naoki) (20198724) | 慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授 (32612) | |
| 研究 分担者 | 下田 将之 (Shimoda Masayuki) (70383734) | 慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師（非常勤） (32612) | |

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 |
|---------|---------|