

令和 6 年 5 月 14 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16537

研究課題名（和文）マクロファージ貪食能に基づく肺非結核性抗酸菌症の新たな治療戦略

研究課題名（英文）A new therapeutic strategy for pulmonary non-tuberculous mycobacteriosis based on macrophage phagocytosis

研究代表者

山崎 啓 (Yamasaki, Kei)

産業医科大学・医学部・准教授

研究者番号：50441861

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）：慢性下気道感染症患者から採取した気管支肺胞洗浄液に対して肺胞マクロファージのフェノタイプの評価と、貪食能測定をflow cytometryを用いて検討した。対象症例（n=30）は肺NTM症患者群（n=11）と対照群（n=19）の2つのグループに分けて検討を行った。肺NTM症患者群では肺胞マクロファージの貪食能が対照群と比べて有意に低下していた。この研究結果から、肺胞マクロファージの機能不全が他の細菌による持続的な感染に寄与し、MAC肺疾患の進行につながる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で、肺非結核性抗酸菌（NTM）症患者の肺胞マクロファージは一般細菌に対する貪食能が低下していることが初めて明らかになった。今までは肺NTM症に対して、非結核性抗酸菌に対する薬剤での治療が中心であったが、肺NTM症は難治例も多く、非結核性抗酸菌のみならず、一般細菌に対する抗菌薬治療も肺NTM症治療において考慮すべき治療選択の一つとなる可能性が示唆され、肺NTM症の予後改善や合併症予防に寄与する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the phenotypes of alveolar macrophages and their phagocytic activity using flow cytometry in bronchoalveolar lavage fluid collected from patients with chronic lower respiratory tract infections. The study included 30 subjects, divided into two groups: patients with pulmonary NTM disease (n=11) and a control group (n=19). The results showed that phagocytic activity of alveolar macrophages in the pulmonary NTM disease group was significantly reduced compared to the control group. These findings suggest that dysfunction of alveolar macrophages may contribute to persistent bacterial infections and the progression of MAC lung disease.

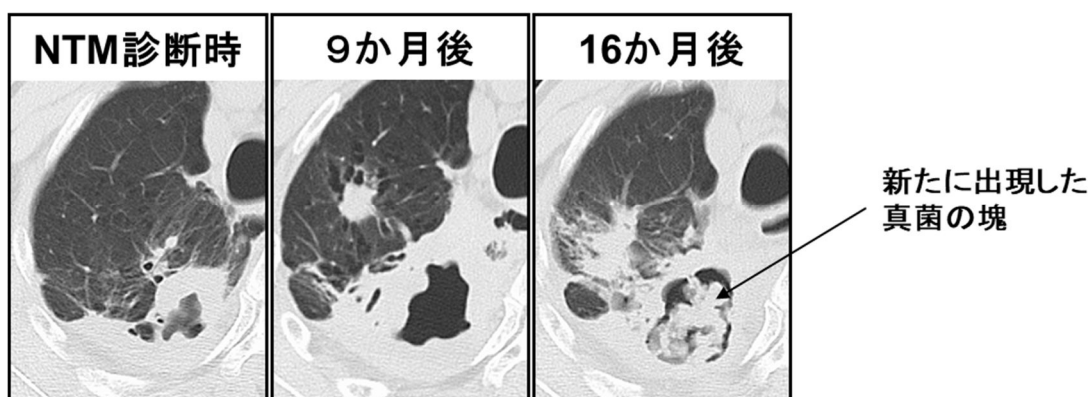
研究分野：呼吸器感染症

キーワード：肺非結核性抗酸菌症 マクロファージ 慢性下気道感染症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺 NTM 症は、結核菌および、らい菌を除く抗酸菌感染症の総称であり、*Mycobacterium avium* complex (MAC)症がその約 8 割を占める。本邦を含めて近年増加傾向であることが報告されており、結核症と異なりヒト-ヒト感染はきたさないものの、抗菌薬に対してもともと自然耐性である菌種が多いため、抗菌薬治療に対する反応に乏しく、難治性症例も多い。さらに、原因となる NTM の菌種により抗菌薬治療の反応性や予後が大きく異なることや、治療中に肺 NTM 症の原因菌の菌交代や一般細菌、真菌の混合感染例(下図)も、しばしば経験される。



肺 NTM 症の増悪の病態生理は、基礎疾患、肺内の肺胞マクロファージ、各種サイトカイン、一般細菌、真菌などの関与が推察されているが、詳細については未だに不明な点が多い。

我々は、これまでに網羅的細菌叢解析法を用いて、肺 NTM 症が疑われる気管支拡張症患者の気管支洗浄液を用いた解析で、従来は注目されていなかった非結核性抗酸菌以外の細菌について、*Fusobacterium* 属などの嫌気性菌をはじめとする一般細菌が肺 NTM 症の進行に深く関与していることを世界で初めて報告した(Yamasaki K. et al *Respirology*, 2015)。

しかしながら、肺 NTM 症発症や増悪についての詳細な機序はこれまで分かっておらず、肺 NTM 症の病態の予後を予測することは臨床的には困難である。このため、抗菌化学療法の治療介入における適切な時期・期間は個々の患者の状況や担当医の経験的判断によるところが未だに大きいのが実情である。そこで我々は、肺 NTM 症患者の病態において菌側の要因と併せて生体側の要因として肺胞マクロファージの種類や機能に着目した。本研究の核心の問いは「肺胞マクロファージの機能は、臨床病態により差異があるか」である。肺胞マクロファージの種類や機能などの関連性を調べることで、臨床経過がよい患者群と、増悪群とに分類し統計学的に解析する。その結果、肺 NTM 症に対する適切な抗菌薬、抗真菌薬介入の時期や一般細菌に対する抗菌薬治療の意義などの新たな治療戦略に対する知見が得られることで、肺 NTM 症の予後改善や合併症予防に寄与する可能性がある。

2. 研究の目的

肺 NTM 症が疑われた患者の肺胞マクロファージの貪食能を調べ、疾患との関連性を明らかにすることである。

3. 研究の方法

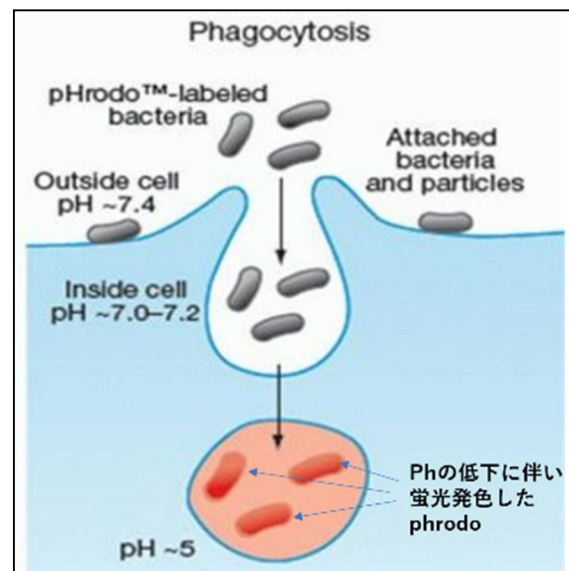
本研究では、産業医科大学病院で、胸部 CT にて肺 NTM 症疑い症例とされた患者の気管支洗浄液を肺病巣部から直接採取し以下の方法で評価する。

肺胞マクロファージのフェノタイプング、貪食能検査 (pH rodo[®])

肺胞マクロファージは、肺の主たる免疫担当細胞であり、周囲の環境によりそのフェノタイプ

を変化させる。外因性あるいは内因性の danger signal に呼応してマクロファージは M1 マクロファージ（炎症性マクロファージ）へと分化し、IL-1、IL-6 などのサイトカインを産生する一方で、アポトーシス細胞の貪食や IL-4、IL-13 などのサイトカインの刺激により M2 マクロファージ（抗炎症性マクロファージ）へと分化する。

本研究では、気管支肺胞洗浄液中の肺胞マクロファージのフェノタイプと貪食能検査を、フローサイトメトリーを用いて同時に評価する。具体的には気管支肺胞洗浄液から汎マクロファージマーカーやサイズスキャターを用いてマクロファージを分離し、M1 マーカー（CD40）、M2 マーカー（CD163）を用いて M1 マクロファージと M2 マクロファージとに分類し、各グループ毎に貪食能を測定する。貪食能測定については、pH rodo^R-labeled bacteria（周囲の pH が低下すると蛍光発色する標識試薬で、細胞内 pH は通常低い(5 未満)ため、貪食されると蛍光発色する(右図)を用いて定量的に評価する。貪食能のコントロールは肺 NTM 症患者以外の気管支肺胞洗浄液を用いる。



4. 研究成果

慢性下気道感染症患者から採取した気管支肺胞洗浄液に対して肺胞マクロファージのフェノタイプの評価（M1 マクロファージ、M2 マクロファージ、M1/M2 double positive、M1/M2 double negative）と、pH-rodo labeled bacteria（貪食されると蛍光発色し貪食量と蛍光量が比例するため貪食能を定量評価可能）を用いて貪食能測定を flow cytometry を用いて検討した。対象症例（n = 30）は American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America guidelines に基づいて肺 NTM 症患者群（n = 11）とその他の慢性下気道感染症患者群（n = 19）の 2 つのグループに分けて検討を行った。肺 NTM 症患者群では肺胞マクロファージの貪食能が対照群と比べて有意に低下し、さらに M1/M2 double negative マクロファージの割合が増加した。さらに、M1/M2 double negative マクロファージはその他 3 つのフェノタイプと比較して最も貪食能が低下していることを確認した。in vitro では、非 NTM 感染マクロファージと比較して、NTM 感染マクロファージにおける殺菌能の低下および上清中の炎症性サイトカイン値が上昇することを明らかにした。これまでの研究結果から、肺胞マクロファージの機能不全が他の細菌による持続的な感染に寄与し、MAC 肺疾患の進行につながる可能性が示唆された。結果は、英文誌（Reduced phagocytic activity of human alveolar macrophages infected with Mycobacterium avium complex. J Infect Chemother. 2022 Nov;28(11):1506-1512.）に報告した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ikegami H, Yamasaki K, Ogawa M, Nemoto K, Akata K, Noguchi S, Fukuda K, Kawanami T, Mukae H, Yatera K.	4. 巻 28
2. 論文標題 Reduced phagocytic activity of human alveolar macrophages infected with Mycobacterium avium complex	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Infect Chemother	6. 最初と最後の頁 1506-1512
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jiac.2022.07.018.	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 池上博昭、山崎 啓、小川みどり、根本一樹、 福田和正、川波敏則、矢寺和博
2. 発表標題 Mycobacterium intracellulare感染マクロファージ における黄色ブドウ球菌に対する貪食及び殺菌能の検討
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
4. 発表年 2021年～2022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
---------	---------