

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461158

研究課題名(和文) インフルエンザと関連する重症肺炎の「ネッツ」制御による新たな治療戦略の可能性

研究課題名(英文) Neutrophil Extracellular Traps in Severe influenza-related pneumonia

研究代表者

関 雅文 (SEKI, Masafumi)

東北医科薬科大学・医学部・教授

研究者番号：80432970

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)：本研究は、インフルエンザウイルス感染症や関連する細菌性肺炎に代表される重症肺炎および重症感染症において、個体側の因子=免疫因子が過剰に反応していることで、かえって組織障害を促進し、肺炎や感染症の重症化に寄与している可能性を検討することにあつた。特に好中球を中心とする免疫の活性化焦点を当て、さらに臨床上の治療および感染予防・重症化対策へフィードバックすることを大きな目標とした。

この点において、重症インフルエンザ肺炎や敗血症症例を多く報告できた。また、マウスモデルを用いた免疫学的解析も多く報告できた。さらに、臨床の現場における重症感染症の診断に関する多くの報告ができた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is that examination whether excessive immunological reaction, including NETs (Neutrophil Extracellular Traps) make the damage to host and patients although these regularly could control the infectious pathogens. We reported these possible cases including severe influenza-related pneumonia, and analyzed mice models of sepsis and influenza infection. In addition, we investigated the diagnosis method including biomarkers (eg. procalcitonin) in clinical fields.

研究分野：呼吸器感染症

キーワード：インフルエンザ 肺炎 サイトカインストーム 好中球 敗血症 ネッツ ワクチン 耐性菌

1. 研究開始当初の背景

2013年には中国でH7N9鳥インフルエンザが発生し、2011年の医療・介護関連肺炎(NHCAP)ガイドラインにおいても、特に高齢者や慢性肺疾患を有する患者におけるインフルエンザに関連する重症肺炎・肺障害発症の危険性が指摘された。また、いったん発症した重症肺炎は抗菌薬や抗ウイルス薬への反応が不良で、しばしば致命的となる。したがって、インフルエンザならびにインフルエンザウイルス感染に伴う重症肺炎の治療の確立は、超高齢社会を迎えている我が国でも急務であった。

我々は、長年研究してきたインフルエンザウイルス感染に細菌感染が合併した症例において、重症肺炎の発症に、ウイルスや重複感染する細菌など微生物側の要因のみならず、宿主側の過剰な免疫反応が大きく関与する可能性を示してきた(Seki M, et al, *Eur. Resp. J.* 2004 ~ 他、下図1)。

その中でも、好中球の過剰な活性化は極めて大きな問題であり、重複感染時には、好中球エラスターゼおよび関連する酵素(アンチトリプシン: A1AT)発現が特異的に上昇していることを突き止めている(Kosai K, Seki M et al. *Clin Exp Immunol* 2008)(図2)。

また、いわゆる「サイトカインストーム」から、最終的に好中球の過剰な活性化が、重症肺炎を誘導する可能性も、ノックアウトマウスを用いた解析にて実証していた(Seki M et al *J. Immunol.* 2010)。

2. 研究の目的

これらのヒトでの解析やマウスを用いた実験系の結果を受けて、肺炎の発症や重症化に関与する宿主側のさらなる機序を解明し、抗インフルエンザ薬や抗菌薬のみならず、免疫調節薬を用いることで、肺炎の重症化を抑制することを目指した。特に、好中球の活性化に焦点を当て、「NETs」の関与を検討したいと考えた。

「NETs (NETs: Neutrophil

Extracellular Traps)」とは、感染により活性化された好中球が自らのDNAやgranule proteinを含む網目状の構造物を能動的に放出する現象であり、感染防御のために病原体を捕獲し、排除するためのものとされるが、過剰な好中球活性として、かえって組織障害を強める可能性も指摘されている。特に重症肺炎、敗血症症例において、NETsの放出は顕著であるが(Hirose T, Seki M et al. *Am J Crit Care Med* 2012, Hamaguchi S, Seki M, et al *J Inflamm Res* 2012)、NETsと重症感染症の臨床病態との関連は必ずしも明らかでなかった。

我々は、まずは、このNETsの発現が、他の重症感染症、すなわちインフルエンザ肺炎症例やマウスモデルにおいても、強く見られることを確認したいと考えた。

3. 研究の方法

インフルエンザ肺炎をはじめとする様々な重症感染症症例で、NETsの発現が、見られることを確認することとした。

その結果を受けて、主にマウスモデルを用いて、好中球活性阻害薬(遊走もしくは貪食阻害)抗体などを投与し、病態が抑制される可能性を検証することとした。さらに、抗インフルエンザ薬や抗菌薬と併用することで、肺炎の発症や重症化が抑制できるのかを検討することとした。

また、近年、原因微生物を検出、同定するのに、次世代シーケンサーによる遺伝子解析が注目されていたため(Seki M et al. *J Med Microbiol* 2013)特に重症化した症例では、新たな菌種や重複病原体の存在が明らかとなってきたため、重症肺炎症例でのこれらの解析も進め、かつNETsの関与も確認していきたいと考えた。

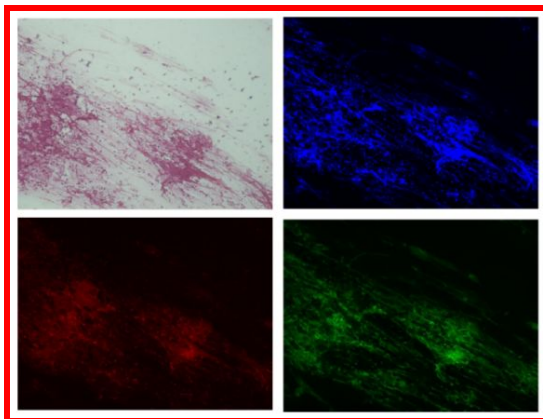
4. 研究成果

まず、我々は、これまで見られなかった比較的弱毒の無荚膜型インフルエンザ菌感

染症においてさえ、菌血症も呈するきわめて重症な敗血症症例も見られるようになり、これらの症例でも大量の菌とともに、**ネッツが大量かつ遷延して存在し、組織障害的の機能した可能性**を確認した(Hamaguchi S, Seki M, et al *J Inflam Res* 2012(下図、**浸潤影まで呈したインフルエンザ菌性重症肺炎**)。)



同時に、重症肺炎で NETs の放出が顕著であることを報告した(Hirose T, Seki M et al. *Am J Crit Care Med* 2012,)(下図、**ヒストン, DNA, NE の免疫染色により、それらが「ネッツ」と確認された**。)



この他、症例解析によって、**マクロライド系抗菌薬が重症インフルエンザ肺炎を抑制する可能性や、肺炎球菌感染症で、浸潤影を見られないにもかかわらず、顕著な低酸素血症を呈した症例で、次世代シーケンサーを用いて、実はヒトメタニューモウイルスが重複感染していたことを発見した。**

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 5 件) *代表作のみ

- 1) Seki M, et al, Association of influenza with severe pneumonia/empyema in the community, hospital, and healthcare-associated setting. *2016, Resp Med Case Rep. 2016*, 19:1-4. doi: 10.1016/j.rmcr.2016.05.005.
- 2) Watanabe Y, Oikawa N, Hariu M, Fuke R, Seki M, Ability of procalcitonin to diagnose bacterial infection and the bacteria types compared with blood culture findings. *Inter J Gen Med. 2016*, 9:325-331. PMID:27757046
- 3) Nakamura S, Iwanaga N, Seki M, et al. Toll-like Receptor 4 Agonistic Antibody Promotes Host Defense against Chronic *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infection in Mice. *Infect Immun. 2016* 23, 1086-93..doi:10.1128/IAI.01384-15
- 4) Seki M, Y et al Severe Bronchiolitis by human metapneumovirus coinfecting with *S pneumoniae*. *2014 Resp Med Case Rep* 12; 13-15. doi: 10.1016/j.rmcr.2013.12.007
- 5) Takeya H, Seki M, et al. Efficacy of combination therapy with oseltamivir phosphate and azithromycin for influenza. *2014 PLoS One* 9:e91293. doi: 10.1371/journal.pone.0091293

(学会発表)(計 5 件) *代表作のみ

- 1) 2016 年 4 月 日本呼吸器学会総会 京

都国際会館（京都府、京都市）ICD 講習
会 高齢者における呼吸器感染症～ウイル
ス感染症

- 2) 2016年4月 日本感染症学会総会 仙台
国際センター（宮城県、仙台市）ランチ
ョンセミナー インフルエンザ診療の
最近の動向
- 3) 2016年4月 日本感染症学会総会 仙
台国際センター（宮城県、仙台市）イブ
ニングセミナー 重症感染症にどう対
応するか？
- 4) 2016年10月 感染症学会東日本総会
朱鷺メッセ：新潟コンベンションセンタ
ー（新潟県、新潟市）シンポジウム 多職
種連携による感染対策の現状と今後～臨
床現場が求める微生物検査と抗菌薬適正
使用支援～
- 5) 2016年10月 感染症学会東日本総会
朱鷺メッセ：新潟コンベンションセンタ
ー（新潟県、新潟市）特別企画 呼吸器感
染症の新世代への課題 臨床医の立場か
ら～これまでのガイドライン作成でわか
ったこと、よかったこと～

〔図書〕(計 1 件) *代表作のみ

関 雅文 他、じほう、抗菌薬おさらい帳
2016、282

〔その他〕

ホームページ等

http://www.tohoku-mpu.ac.jp/medicine/about/infection_control/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関 雅文 (SEKI, Masafumi)

東北医科薬科大学・医学部・教授

研究者番号：80432970,