

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 28 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461500

研究課題名(和文) SIRSを本体とする重症感染症に対する抗菌薬のサイトカイン産生抑制の意義

研究課題名(英文) Significance of suppression of cytokine production by antibiotics against severe infections based on SIRS

研究代表者

酒巻 一平 (Sakamaki, Ippei)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・講師

研究者番号：30722037

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)：日本紅斑熱に対してミノサイクリン(MINO)とシプロフロキサシン(CPFX)の併用が有効であると考えられているが、実験的にCPFXおよびシタフロキサシン(STFX)の単独、あるいはMINOとの併用によるサイトカイン産生抑制作用を検討した。MINO、CPFX、STFX単独でもそれぞれサイトカイン抑制を示し、MINO + CPFX、MINO + STFXの比較ではMINO + STFXの方がより強くサイトカインを抑制しており、このことはニューキノロン系抗菌薬にサイトカイン産生抑制作用があることを示すと同時にこれまで日本紅斑熱に対して使用されてこなかったSTFXも新しい治療戦略の候補となることを示している。

研究成果の概要(英文)：The combination of minocycline (MINO) and ciprofloxacin (CPFX) is thought to be effective against Japanese spotted fever (JSF). However, it is not yet clear why this combination therapy is effective. We examined whether MINO, CPFX or sitafloxacin (STFX) inhibit the production of inflammatory cytokines in vitro. MINO, CPFX and STFX alone inhibited production of cytokines, respectively. Production of TNF- α and some inflammatory cytokines was significantly inhibited by MINO, CPFX or STFX alone, and was further suppressed by the combination therapy with MINO + CPFX or MINO + STFX compared to the mono-therapy by MINO, CPFX or STFX alone, respectively. In addition, MINO + STFX suppressed inflammatory cytokines more strongly compared with MINO + CPFX. These results indicate that the enhancement of cytokine modulation by antibiotics may be a key mechanism to treat severe JSF. At the same time, STFX may be one of the candidates for a new treatment strategy against severe JSF.

研究分野：感染症学

キーワード：日本紅斑熱 炎症性サイトカイン 抗菌薬 SIRS

1. 研究開始当初の背景

日本紅斑熱は重症化することが知られ、感染対策上の大きな課題となっている。つつが虫病はテトラサイクリン系抗菌薬投与により臨床症状が劇的に軽快する例が多いが、日本紅斑熱では同薬の有効性が低いことが報告されている。テトラサイクリン系抗菌薬およびニューキノロン系抗菌薬の併用が重症化回避のために最も有効性が高いと推測されているが、その機序は明らかでない。

感染症の重症化の原因の一つとしてとして SIRS (systemic inflammatory response syndrome) の存在がある。テトラサイクリン系抗菌薬およびニューキノロン系抗菌薬の併用が日本紅斑熱に有効であることから、抗菌薬併用の抗リケッチア作用に加え、サイトカイン、ケモカイン産生抑制作用、すなわち抗炎症作用が関与している可能性がある。

リケッチア症をモデルとして抗菌薬の炎症性サイトカイン産生抑制につき、*in vitro* で検討することにより、エビデンスを伴った標準治療法の確立に寄与するものと思われる。

日本紅斑熱において重症例に対する有効な治療法はまだ確定されるには至っていないことより、紅斑熱群としての病態解明への展開とともに、重症化回避のための治療法の確立が早急に求められる中で、臨床的な基盤研究を継続している。

2. 研究の目的

感染症の重症化の原因の一つとしてとして SIRS (systemic inflammatory response syndrome) の存在があるが、リケッチア症をモデルとして抗菌薬の炎症性サイトカイン産生抑制につき検討する。予想以上の病原種の多様化と患者発生の急増をみた新興紅斑熱群リケッチア症につき、改めて有効かつ重症化回避も保証できるエビデンスを伴った標準治療法を確立する。特にテトラサイクリン系、マクロライド系およびニューキノロン系抗菌薬の炎症性サイトカイン産生抑制につき、単球系細胞株である THP-1 を使用したモデルを用いて検討する。

3. 研究の方法

THP-1 細胞を用い、細胞刺激後に産生されるサイトカイン、ケモカインのテトラサイクリン、マクロライドおよびニューキノロンによる修飾を検討する。とくに、日本紅斑熱において、これまでの臨床的検討からはテトラサイクリン単独投与の有効性は乏しいことが推測されるが、サイトカイン、ケモカイン産生に与える影響について考察を加える。有

効性が示唆されるニューキノロン (Iwasaki *et al.*, *J Clin Microbiol*, 2001) における、サイトカイン、ケモカイン産生に与える影響も実験的に確認する。とくに TNF- α および MIP-1 α の動態に注目し、アポトーシス制御や NF- κ B 活性化に係わるシグナル伝達系に及ぼすこれらの抗菌薬の作用についてウエスタンブロット法を用いて抗菌薬の作用点を明らかにする。つつが虫病と異なり、日本紅斑熱のテトラサイクリン単剤治療は難反応性を示し重症化を助長するため、テトラサイクリン系抗菌薬の投与、ニューキノロン系抗菌薬の併用により日本紅斑熱に対する有効性が改善するメカニズム解明は極めて興味深く、本研究でも注目すべき点の一つとなる。

THP-1 細胞を用い、LPS にて刺激後に産生されるサイトカイン、ケモカインのテトラサイクリン、マクロライドおよびニューキノロンによる修飾を検討する。

単球系細胞である THP-1 細胞を LPS で刺激し、4 時間後の上清のサイトカイン、ケモカインを ELISA 法もしくは Multiplex 法にて測定する。とくに TNF α 、IL-8、MIP-1 α 、MIP-1 β の動態に注目する。テトラサイクリン系抗菌薬、ニューキノロン系抗菌薬の単独もしくは併用によるサイトカイン、ケモカイン産生抑制に関して検討する。特に実臨床で使用されている MINO + CPFX の併用効果に関して検討する。

4. 研究成果

研究分担者岩崎らは臨床検体を用いた研究において、日本紅斑熱患者とツツガムシ患者の血清サイトカイン、ケモカイン濃度を比較したところ、日本紅斑熱では有意に高いサイトカイン、ケモカイン血症を示すことを報告した。

テトラサイクリン系抗菌薬およびニューキノロン系抗菌薬の併用が日本紅斑熱に有効であることから、抗菌薬併用の抗リケッチア作用に加え、サイトカイン、ケモカイン産生抑制作用、すなわち抗炎症作用が関与している可能性がある。

テトラサイクリン系抗菌薬であるミノサイクリン (MINO) に抗炎症作用があることはすでに報告されている。我々は各種ニューキノロン系抗菌薬の抗炎症作用を実験室にて検討した。

MINO、シプロフロキサシン (CPFX) は有意に TNF α の産生抑制効果を示したが、シタフロキサシン (STFX) はさらに強い TNF α 産生抑制作用を示した (図 1)。

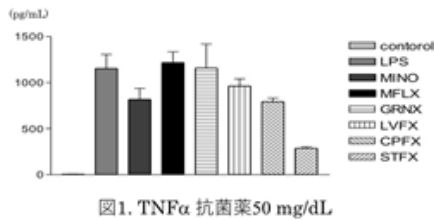


図1. TNF α 抗菌薬50 mg/dL

このことは日本紅斑熱に対してニューキノロン系抗菌薬が効果を示すことの機序の一つとして炎症性サイトカイン産生抑制の可能性を示すと同時に、これまで日本紅斑熱に対して使用されてこなかった STFX が新たな治療戦略の一つとなりうることを示している。

日本紅斑熱に対して日常診療にて用いられる MINO と CPMX の併用に関しても検討した。TNF α 、IL-8、MIP-1 α 、MIP-1 β 産生抑制に関して検討したが、炎症作用に関しては少なくとも濃度依存性に併用効果を示した(図 2-1、2-2、2-3、2-4)。

図2-1 TNF α

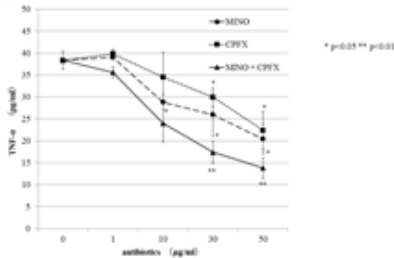


図2-2 IL-8

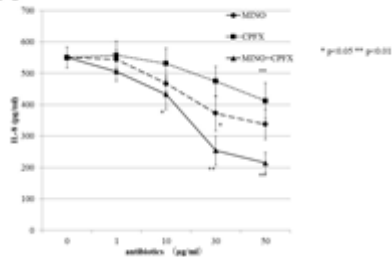


図2-3 MIP-1 α

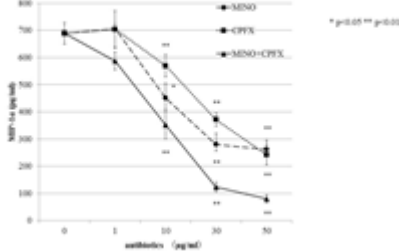
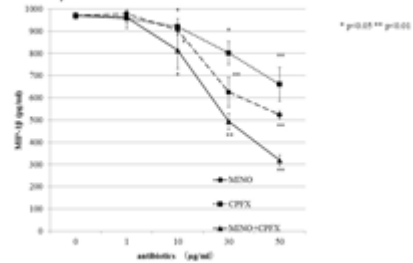


図2-4 MIP-1 β



テトラサイクリン系抗菌薬、ニューキノロン系抗菌薬併用により TNF α をはじめとするサイトカイン、ケモカイン産生が抑制されており、日本紅斑熱に対する重症化回避の一因として抗菌薬併用によるサイトカイン産生抑制の可能性があることが考えられた。

また、今後の課題として、ニューキノロン系抗菌薬の詳細な抗リケッチア作用は確認されておらず、各抗菌薬のリケッチアに対する MIC の測定が必要であると思われる。

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 1 件)

Tai K, Iwasaki H, et al. Significantly higher cytokine and chemokine levels in patients with Japanese spotted fever than in those with Tsutsugamushi disease. J Clin Microbiol. 2014 Jun;52(6):1938-46.

〔学会発表〕(計 2 件)

酒巻一平、田居克則、伊藤和弘、山本善裕、岩崎博道. 日本紅斑熱に対するテトラサイクリン系抗菌薬およびニューキノロン系抗菌薬併用によるサイトカイン産生抑制の意義. 第 91 回日本感染症学会・学術講演会. 2017 年 4 月 7 日、東京.

酒巻一平、田居克則、伊藤和弘、山本善裕、岩崎博道. 日本紅斑熱に対するテトラサイクリン系抗菌薬およびニューキノロン系抗菌薬によるサイトカイン産生抑制に関する実験モデルによる検討. 第 9 回日本リケッチア研究会、2017 年 1 月 8 日、大津

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：

種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

6. 研究組織

(1) 研究代表者

酒巻 一平 (Sakamaki, Ippei)
富山大学大学院医学薬学研究部
感染予防医学講座講師
研究者番号：30722037

(2) 研究分担者

岩崎 博道 (Iwasaki, Hiromichi)
福井大学学術研究院医学系部門
(附属病院部)教授
研究者番号：10242588

田中 幸枝 (Tanaka, Yukie)
福井大学学術研究院医学系部門助教
研究者番号：10197486

(3) 連携研究者

()

(4) 研究協力者

()