

岩永 直樹 論文内容の要旨

主 論 文

Macrolides Promote CCL2-Mediated Macrophage Recruitment and Clearance of
Nasopharyngeal Pneumococcal Colonization in Mice

マクロライドのマクロファージ活性化による肺炎球菌の鼻咽頭定着抑制効果

岩永直樹、中村茂樹、大島一浩、梶原俊毅、高園貴弘、宮崎泰可、泉川公一、
柳原克紀、菅原章公、砂塚敏明、大村 智、河野 茂

The Journal of Infectious Diseases
(accepted 5 March 2015, Advance Access published April 17, 2015)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員：泉川 公一教授)

緒 言

肺炎球菌は市中肺炎で最も分離頻度の高い原因微生物であり、菌血症を合併した場合の致死率は高い。肺炎球菌の鼻咽頭定着は感染症発症への第一段階であり、その制御は侵襲性感染症の制御に極めて重要である。結合型肺炎球菌ワクチンによる定着抑制効果が報告されているが、非ワクチン対象株による感染症の増加などの問題も指摘されている。

マクロライド系薬は様々な免疫修飾作用が報告されており、肺炎球菌の血清型に依存せずに上気道への定着を抑制できる可能性がある。今回我々はマクロライド系薬による肺炎球菌の鼻咽頭定着抑制効果について検討した。

対象と方法

使用動物：C57BL/6 マウス (6 週齢, 雌)、使用菌株：肺炎球菌 P1121 (血清型 23F、マウスの鼻咽頭に高率に定着)、P1547 (血清型 6A)、P173 (血清型 2)、使用薬剤：EM900 (抗菌作用を有しないエリスロマイシン誘導体)、クラリスロマイシン、アジスロマイシン。

1) 肺炎球菌鼻咽頭定着実験：EM900 を肺炎球菌鼻咽頭定着モデルマウスに投与し、経時的に鼻咽頭定着菌数定量、炎症細胞数解析、及び炎症性サイトカイン及びケモカ

インの定量 (RT-PCR)を行った。また、liposome-Cl₂MDP の経鼻投与による鼻腔内マクロファージの欠損が与える影響について、同様の検討を行った。

2) マウス腹腔マクロファージを各種薬剤と共培養後、上清中の炎症性サイトカインを定量した (ELISA, RT-PCR, and cytokine array)。RNA interference、Western blot を用いてシグナル伝達経路について検討した。

3) 肺炎球菌感染実験:EM900 を 21 日間前投与後に P1547 及び P173 を経鼻感染させ、生存解析を行った。

結 果

肺炎球菌鼻腔内定着菌数 (Log CFU/ml) はコントロール群と EM900 投与群でそれぞれ、感染 3 日後 (5.36±0.23, 5.52±0.23)、感染 7 日後 (4.77±0.29, 4.75±0.16)、感染 14 日後 (4.52±0.15, 3.86±0.17; $p<0.01$) であり、感染 14 日後に EM900 投与群で肺炎球菌鼻咽頭定着が抑制される傾向が認められた。また、鼻腔内のマクロファージ数及び CCL2 産生量が有意に増加していた。更に、liposome-Cl₂MDP の経鼻投与により鼻腔内マクロファージを欠損させると定着抑制効果が失われたことから、マクロファージ依存性の効果であることが示唆された。

腹腔マクロファージを用いた *in vitro* の検討では、マクロライド系薬投与により CCL2 産生量が有意に増加し、貪食能の増強効果も認められた。また、cytokine array を用いてサイトカインプロファイルを網羅的に検討したところ、TNF- α 等の組織障害性炎症性サイトカインの産生は認められなかった。

MAPK family/NF- κ B 阻害実験では、NF- κ B 阻害時に CCL2 産生量は有意に低下した。また、RNA interference により MyD88、TRIF をノックダウンすると、それぞれの系において、NF- κ B のリン酸化及び CCL2 産生効果が阻害された。以上より、マクロライド系薬による CCL2 産生効果は NF- κ B 依存性であり、MyD88 および TRIF の両方に作用することが示唆された。

Invasive strain (P1547, P173) を用いた感染実験では、EM900 投与群では非投与群と比較し有意に生存率の改善効果を認めた。

考 察

本研究により、マクロライド系薬が自然免疫賦活によって肺炎球菌定着を抑制することが明らかとなった。また、複数の異なる血清型の肺炎球菌に効果を示しており、その効果は血清型に依存しない可能性がある。マクロライド系薬が、新しい侵襲性肺炎球菌感染症予防法の候補となり得る可能性が示唆された。