The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	マイコプラズマ肺炎の炎症惹起メカニズムの解明
Author(s)	民谷, 繁幸
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/82192
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（民谷　繁幸）	
論文題名	マイコプラズマ肺炎の炎症惹起メカニズムの解明

論文内容の要旨

Mycoplasma pneumoniae(以下、Mp)は、ヒトにおいて肺炎の原因となる病原体である。Mpに起因する肺炎は、市中肺炎の約20-40%を占め、特に14歳以下の小児において好発しやすく、重篤化し、入院の原因となる例も少なくない。また日本において、肺炎で入院した6歳以上の小児のうち、約30%がMp感染に起因した肺炎であると報告されているなど、Mp肺炎は、小児領域において問題となっている呼吸器疾患の1つである。一方、成人においても、肺炎球菌やインフルエンザウイルスによる肺炎と比較すると症状は軽度ではあるが、長期間持続する乾性咳嗽や、気管支喘息の悪化を誘発するなど、日常生活に影響を及ぼすことが知られている。また、2011年、2012年、2016年に大流行し、第一選択薬であるマクロライド系抗菌薬に対する耐性菌の出現も相まって、大きな社会問題となっている。さらに、年間約10000人の罹患者が報告されているものの、潜在的には数十万から数百万人ほどの感染者が存在すると推定されている。

Mp感染時に観察される肺傷害は、主に、自然免疫系が過度に活性化した結果として引き起こされると考えられており、Mp感染後のマウスやヒトにおいて、好中球浸潤を伴う炎症が病理所見として認められる。一般に好中球は、自然免疫を担う主たる免疫細胞であり、外界からの異物や病原体の排除に寄与する反面、好中球が過度に活性化すると活性酸素などを放出し、組織傷害を引き起こすことが知られている。また、好中球がMpの排除に寄与しないとの報告も存在することから、Mp感染早期の好中球浸潤は生体にとって少なくとも有益ではない可能性があり、Mp肺炎の治療標的となり得ると推察される。しかし、Mp感染時における好中球浸潤メカニズムは未だ不明である。そこで本研究では、Mp肺炎の病態形成メカニズムの解明を目指し、肺組織への好中球浸潤メカニズムを含む、炎症惹起メカニズムの解明を図った。また、Mp肺炎の病態を長期間評価するために、遺伝子背景の異なる様々な近交系マウスを用い、Mpに対して感受性の高いマウスの探索を試みた。さらに、新規ワクチン開発に向けて大きな障壁となっている、不活化Mpワクチン接種による肺炎悪化メカニズムの解明も試みた。

まず、マウスにMpを経鼻より感染させたところ、感染1日後において好中球浸潤を伴う炎症および肺組織傷害が観察された。次に、Mp感染後の肺組織傷害における好中球の寄与を評価したところ、感染早期に浸潤する好中球が肺組織傷害の主体であること、さらにMpの排除には寄与しないことが明らかとなり、好中球浸潤の抑制がMp感染時における肺炎悪化の予防に繋がることが示された。そこで、詳細な好中球浸潤メカニズムを解明するために、Mpが有するTLR2リガンドであるリポタンパク質に着目し、TLR2シグナルが好中球浸潤に及ぼす影響をTLR2欠損マウスを用いて評価した。その結果、Mp感染時におけるTLR2シグナルは、好中球浸潤を促進する一方で、Mpの排除にも重要であることが示された。従って、Mp感染時における肺炎の抑制を目的としてTLR2シグナルを抑制することは、菌量の増加を誘発してしまう問題が考えられた。そこで、TLR2の下流のシグナルを追及した結果、興味深いことに、TLR2依存的に誘導されるIL-1αおよびIL-12 p40は単独では好中球浸潤に寄与しない一方で、共存在下において、好中球浸潤に寄与することが明らかとなった。さらに、重要な点として、これらサイトカインがMpの排除には影響を与えないことも明らかとした。以上の結果より、IL-1αとIL-12 p40の両方を標的とした治療戦略がMp肺炎をコントロールする上で有効である可能性が考えられた。次に、肺での感染防御や恒常性維持を司る肺胞マクロファージに着目し、これらサイトカインの産生メカニズムの解明を図ったところ、IL-1αおよびIL-12 p40の産生は、TLR2シグナル依存的に産生されたROSに依存する可能性が示された。また、IL-1αは肺胞マクロファージの細胞死に伴い分泌されることが示唆され、IL-12 p40とは誘導メカニズムが一部異なる可能性が示された。さらに、IL-12 p40は、TLR2シグナルのみならず、TLR2非依存的な経路による産生の可能性も示唆された。次に、百日咳毒素に類似した外毒素であるCommunity acquired respiratory distress syndrome (CARDS) toxinの、Mp感染時における炎症に及ぼす影響を評価した。抗CARDS toxin抗体投与により好中球数が感染1日後において減少傾向、感染3日後において有意な減少を示したことから、感染時における好中球浸潤の一部にCARDS toxinが寄与することが示された。また組換えCARDS toxin蛋白質を用いた検討より、CARDS toxinによる好中球浸潤がTLR2非依存的な経路に起因することを明らかとし

た。興味深いことに、Mp感染3日後における好中球浸潤の大部分がTLR2欠損マウスにおいて減少するにも関わらず、TLR2非依存的な好中球浸潤を誘導するCARDS toxinが感染3日後における好中球浸潤に寄与することが明らかとなった。その詳細なメカニズムは不明であるものの、感染3日後の好中球浸潤には、TLR2シグナルとCARDS toxinが共に存在することが重要であり、両者が相乗効果を示す可能性も考えられた。以上、本研究では、Mpの排除機構に影響を与えず、好中球浸潤を抑制可能な候補因子として、TLR2シグナルに依存したIL-1αおよびIL-12 p40を明らかとし、CARDS toxinがMp肺炎の病態形成に一部寄与することを示した。これら因子を治療標的とすることで、より安全で有効な抗炎症薬となり得ると考えられる。また、DBA/2マウスがMpに対して高感受性を示すことが明らかとなり、Mp感染後の病態を評価する上で有用なモデルマウスであると共に、遺伝子背景の異なるマウスを用いることで、Mpの病原性を評価可能であることを示した。さらに、不活化Mpワクチン接種によるMp特異的$CD4^+$ T細胞の誘導が肺炎悪化メカニズムの1つであることも明らかとした。

本研究結果が、Mpに対する安全で有効な新規抗炎症薬およびワクチン開発に向けた基盤情報となり得るものと期待される。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（民谷繁幸）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	吉岡靖雄
	副 査	教授	藤尾　慈
	副 査	教授	齊藤達哉

論文審査の結果の要旨

Mycoplasma pneumoniae（以下、マイコプラズマ）は、市中肺炎における原因菌の20～30%を占める病原微生物である。マイコプラズマに起因する肺炎（マイコプラズマ肺炎）の罹患者の約70%は14歳以下であると共に、小児においては約20%が入院を余儀なくされるなど、重篤な症状を呈する。治療にはマクロライド系抗菌薬が用いられるものの、近年、マクロライド系抗菌薬耐性マイコプラズマの出現により、小児に使用できる薬剤は極めて限局されている。さらに1960年代に、不活化マイコプラズマを用いたワクチン開発が進められたものの、ヒトにおいて、マイコプラズマ感染による肺炎症状がワクチン接種により悪化したという報告がなされ、現在においても、ヒトにおけるワクチンは存在しない。本観点から、既存の抗菌薬に代わる新たな治療薬や、有効で安全なワクチンの開発が世界的急務となっており、肺炎病態の形成メカニズムの解明、不活化マイコプラズマワクチンによる病態悪化メカニズムの解析が必要不可欠となっている。

本論文は、マイコプラズマ肺炎の病態形成メカニズムの解明を目指し、肺組織への好中球浸潤メカニズムを含む、炎症惹起メカニズムの解明を図ったものである。また、マイコプラズマ肺炎の病態を長期間評価するために、マイコプラズマに対して感受性の高いマウスの探索を試みると共に、不活化マイコプラズマワクチン接種による肺炎悪化メカニズムの解明も試み、以下の結論・知見を得ている。

1. マイコプラズマ感染時における炎症惹起に IL-1alpha、IL-12 p40 および CARDS トキシンが寄与することを示し、マイコプラズマ肺炎の治療標的として有用である可能性を明らかとした。
2. DBA/2 マウスは、マイコプラズマ感染症に対して高感受性であり、マイコプラズマ感染時の病態を評価する上で有用なモデルマウスとなり得る。
3. マイコプラズマに対するワクチンを開発する上で、マイコプラズマ特異的 Th17 免疫応答を誘導するワクチン抗原およびアジュバントは回避する必要がある。

以上、本論文の成果は、マイコプラズマに対する安全で有効な新規抗炎症薬およびワクチン開発に向けた基盤情報となり得る新規知見であり、博士（薬学）の学位論文に値するものと認める。