

Title	肺炎球菌性肺炎においてSectm1aが肺の感染免疫機構へ及ぼす作用の解明
Sub Title	The role of Sectm1a in the lung during pneumococcal pneumonia
Author	鎌田, 浩史(Kamata, Hirofumi)
Publisher	
Publication year	2020
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2019. )
JaLC DOI	
Abstract	<p>肺炎球菌性肺炎は、近年の抗菌薬やワクチンの開発、普及にも関わらず、依然として致死的となりうる重大な呼吸器感染症であり、さらなる病態の解明、および、新たな治療戦略の構築が望まれています。今回の研究では、気道の上皮細胞が産生するSectm1aという物質が、肺内の免疫に重要な役割を果たすことを目的に、Sectm1aノックアウトマウスを作成し、実際にSectm1aの機能の一端を明らかにすることができました。</p> <p>Pneumococcal pneumonia is one of the most prominent burdens of disease worldwide. Despite the development of antibiotics and vaccines, morbidity caused by pneumococcal pneumonia is still considerable. In this study, we aimed to clarify the role of epithelial cell-derived Sectm1a in the host defense during pneumonia by creating Sectm1a knock out mouse. Sectm1a KO mice allowed us to find undiscovered functions of Sectm1a in the lung during pneumonia.</p>
Notes	研究種目：若手研究 研究期間：2018～2019 課題番号：18K15933 研究分野：呼吸器感染症学
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_18K15933seika">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_18K15933seika</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15933

研究課題名（和文）肺炎球菌性肺炎においてSectm1aが肺の感染免疫機構へ及ぼす作用の解明

研究課題名（英文）The role of Sectm1a in the lung during pneumococcal pneumonia

研究代表者

鎌田 浩史（Kamata, Hirofumi）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：60528545

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）：肺炎球菌性肺炎は、近年の抗菌薬やワクチンの開発、普及にも関わらず、依然として致死的となりうる重大な呼吸器感染症であり、さらなる病態の解明、および、新たな治療戦略の構築が望まれています。今回の研究では、気道の上皮細胞が産生するSectm1aという物質が、肺内の免疫に重要な役割を果たすことを目的に、Sectm1aノックアウトマウスを作成し、実際にSectm1aの機能の一端を明らかにすることができました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究では、新たに作成したSectm1a KOマウス群で肺炎球菌性肺炎における生存率の差異の評価、そして、気管支肺胞洗浄液および全肺中の各免疫細胞の総数、分画等を詳細に評価しました。これらから得られた知見は肺炎球菌による肺炎の病態のさらなる理解、そして、新たな治療戦略の開発につながる可能性が期待されるものと考えています。

研究成果の概要（英文）：Pneumococcal pneumonia is one of the most prominent burdens of disease worldwide. Despite the development of antibiotics and vaccines, morbidity caused by pneumococcal pneumonia is still considerable. In this study, we aimed to clarify the role of epithelial cell-derived Sectm1a in the host defense during pneumonia by creating Sectm1a knock out mouse. Sectm1a KO mice allowed us to find undiscovered functions of Sectm1a in the lung during pneumonia.

研究分野：呼吸器感染症学

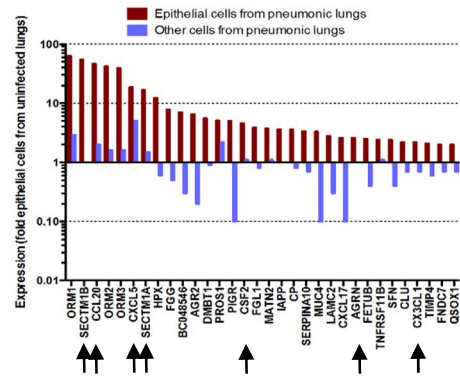
キーワード：Sectm1a 肺炎球菌 好中球 IL17A

### 1. 研究開始当初の背景

肺炎球菌性肺炎は市中肺炎の原因菌として最も頻度が高く、高齢者や糖尿病、慢性閉塞性肺疾患などの基礎疾患を有する患者ではしばしば重症化する。気道を覆う気道上皮細胞は、その線毛や表面を覆う粘液により細菌に対して一次防御としてのバリア機能を担うことが広く知られているが、最近になり、気道上皮には Toll 様受容体や NOD 様受容体が豊富に存在し、自然免疫機構に大きく関与することが明らかになってきた (Mizgerd JP, N Engl J Med 2008;358:716-27)。

研究代表者はこれまでに、単離した肺気道上皮の遺伝子発現の網羅的解析を行い、肺炎球菌感染時に気道上皮が特異的に産生するサイトカインを複数同定した (Am J Respir Cell Mol Biol 2016; 55: 407-418)。さらに、それらのサイトカインのなかでも、Secreted and Transmembrane 1a (Sectm1a) が肺炎球菌感染時に気道上皮においてきわめて強く誘導されることを証明した (図 1)。

そして、肺炎球菌感染マウス肺から好中球を単離し、ex vivo でリコンビナント Sectm1a-Fc キメラ蛋白でこれらの単離された好中球を刺激し、好中球の各種サイトカインの産生を測定する実験系において、Sectm1a が好中球遊走に関わるケモカインの産生を調整することを報告している。



【図 1】肺炎球菌感染によって気道上皮で特異的に強く発現する「Secreted Proteins」に分類される 32 遺伝子。矢印はサイトカイン。非感染マウスの気道上皮を基準とし、左から、感染により気道上皮で発現誘導が高い順に

### 2. 研究の目的

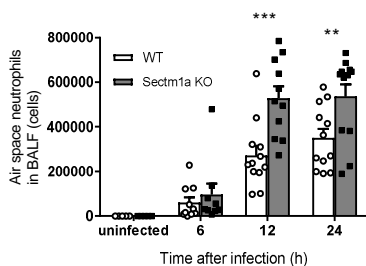
Sectm1a が実際の生体における肺炎球菌に対する生体防御にどの程度、そしてどのような機序によって寄与するかを機能欠失のシステムを構築してより詳細に検証していくことがその先の課題であった。本研究では、Sectm1aKO マウスを用いて、Sectm1a の肺内での機能を解明することを通じて、未だ十分に研究がなされていない、肺炎球菌性肺炎における気道上皮細胞-免疫細胞間のネットワークシステムを明らかにすることを試みる。

### 3. 研究の方法

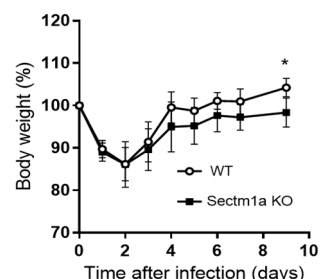
本研究では申請者が独自に作成した Sectm1a ノックアウト (KO) マウスを用いて Sectm1a が肺炎球菌感染時に生体の防御機構に及ぼす影響の程度、そして、その機序についての解明を試みた。具体的には、2016 年にカリフォルニア大学 Davis より Sectm1aKO 凍結精子を購入し、2017 年に日本国内で個体化し、申請者の所属施設内で Sectm1aKO マウスを安定して繁殖させることに成功した。Sectm1aKO の繁殖が安定化した後は、まず野生群と KO 群での生存率の差異の評価、そして、BAL 液および全肺中の免疫細胞の総数、分画を詳細に評価した。また、生存率と関連して、肺炎球菌感染後の肺内の菌量の時間的な推移を計測した。

### 4. 研究成果

野生型 (wild type; WT) および Sectm1a KO マウスに血清型 3 の肺炎球菌  $5 \times 10^6$  CFU を経気道的に投与した後、6、12、24 時間後に気管支肺胞洗浄 (Bronchoalveolar lavage; BAL) を行ったところ、Sectm1aKO マウスにおいて好中球の気道への集積が著明に亢進していることが明らかになった (図 2)。そして、肺炎球菌投与後の急性期を過ぎた後の体重は KO マウス群で回復が遅く (図 4)、肺病理組織所見もあわせ、Sectm1a KO マウスにおいて、肺への好中球集積が促進され、炎症および急性肺損傷が増幅されたと考えられた (図 2, 3)。

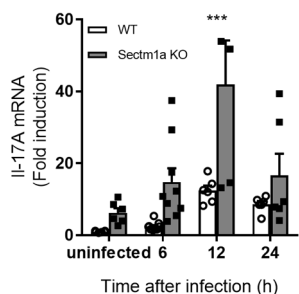


【図 2】未感染マウス、肺炎球菌投与後 6, 12, 24 時間後のマウスの BAL 液中の好中球数の推移

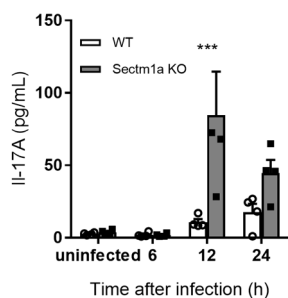


【図 3】肺炎球菌感染後の体重の推移

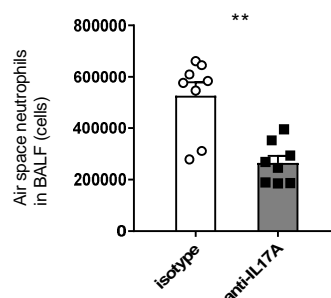
次に、好中球の肺内への集積に関わるサイトカインを多岐にわたり評価し、mRNA、蛋白レベルのいずれにおいても Sectm1aKO マウスにおいて肺内の IL17A の産生が亢進していることを見出した(図 4,5)。血清型 3 の肺炎球菌によるマウス肺炎モデルの先行研究において、IL17A が肺内で過剰な炎症を惹起し、肺障害を増幅させ、生存率も低下させることが報告されており、本実験系においても IL17A が好中球の集積に重大な影響を及ぼしているか否かを検証するため、Sectm1aKO マウスに IL17A 中和抗体を経鼻投与した後に、肺炎球菌を気管内投与し、BAL を行ったところ、気道内の好中球数は有意に低下していた(図 6)。この結果より、IL17A は本実験モデルにおける肺への好中球の集積に中心的な役割を担っていると考えられた。



[図 4] 肺炎球菌未感染マウス、投与後 6, 12, 24 時間後の肺組織の IL17A mRNA の発現



[図 5] 図 4 と同様に、肺組織中(ホモジネート)の IL17A 濃度を ELISA で測定し



[図 6] IL17A 中和抗体を経鼻投与後に、肺炎球菌を気管内投与し、12 時間後に BAL 液中の好中球数を測定した

今後は肺炎球菌感染後、気道上皮の特定の細胞集団が産生 Sectm1a がどのように肺内の免疫細胞に作用し、最終的に IL17A を介して好中球の集積、そして肺内の細菌の排除に影響を及ぼすかを解明することが課題となる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----