慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	新規結核治療法開発のための基礎的研究
Sub Title	Basic research for the development of new therapies for tuberculosis
Author	西村, 知泰(Nishimura, Tomoyasu)
Publisher	
Publication year	2016
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2015.)
JaLC DOI	
Abstract	結核は早急に制圧を要する再興感染症の一つであり, 新たな結核の治療法開発が必要とされている。新たな治療法を開発していく上で, 結核発症のメカニズムを解明することは重要である。結核菌感染マクロファージのネクローシスへの誘導を抑えることで結核菌感染拡大を防ぐことが出来ると考えられるため, 結核菌感染マクロファージのネクローシス誘導機序を研究した。 Tuberculosis (TB) is a re-emerging disease, which we have to control immediately and therefore the development of new therapies for TB is needed. To develop new therapies for TB it is important to understand the pathogenic mechanism of TB. I studied the induction of necrosis of Mycobacterium tuberculosis (Mtb)-infected macrophages because inhibition of necrosis induction of Mtb-infected macrophages can prevent the spread of Mtb infection.
Notes	研究種目 : 若手研究(B) 研究期間 : 2014 ~ 2015 課題番号 : 26860772 研究分野 : 感染症内科
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_26860772seika

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.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成　２８　年　　５　月　２８　日現在

機関番号：　３２６１２
研究種目：　若手研究(B)
研究期間：　2014～2015
課題番号：　２６８６０７７２

研究課題名（和文）新規結核治療法開発のための基礎的研究

研究課題名（英文）Basic research for the development of new therapies for tuberculosis

研究代表者
西村　知泰（NISHIMURA, Tomoyasu）

慶應義塾大学・保健管理センター・講師

研究者番号：９０３４８６４９

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　2,700,000円

研究成果の概要（和文）：結核は早急に制圧を要する再興感染症の一つであり、新たな結核の治療法開発が必要とされている。新たな治療法を開発していく上で、結核発症のメカニズムを解明することは重要である。結核菌感染マクロファージのネクローシスへの誘導を抑えることで結核菌感染拡大を防ぐことが出来ると考えられるため、結核菌感染マクロファージのネクローシス誘導機序を研究した。

研究成果の概要（英文）：Tuberculosis (TB) is a re-emerging disease, which we have to control immediately and therefore the development of new therapies for TB is needed. To develop new therapies for TB it is important to understand the pathogenic mechanism of TB. I studied the induction of necrosis of Mycobacterium tuberculosis (Mtb)-infected macrophages because inhibition of necrosis induction of Mtb-infected macrophages can prevent the spread of Mtb infection.

研究分野：　感染症内科

キーワード：　感染症

１．研究開始当初の背景

2014 年の世界における新規結核患者数は 960 万人、結核による死亡者数は 150 万人と推定されており(WHO 2015 年)、結核は早急に制圧を要する再興感染症の一つと言える。現在、結核の標準的な治療は 4 種類の抗結核薬の 6 ヶ月間内服であるが、服薬コンプライアンスを維持することが難しい点や薬剤の長期内服に伴う副作用(肝障害、神経障害など)の出現といった問題があり、新たな結核の治療法開発が必要とされている。新たな治療法を開発していく上で、結核発症のメカニズムを解明することは重要である。

結核菌強毒株 H37Rv と結核菌弱毒株 H37Ra をそれぞれ、ヒト末梢血単核球由来マクロファージ(以下マクロファージ)に感染させると、H37Rv は感染マクロファージをネクローシスへと誘導し、結核菌感染を拡大させるが、H37Ra は感染マクロファージをアポトーシスへと誘導し、結核菌感染を拡大させない（①)。しかし、結核菌感染マクロファージのネクローシス、アポトーシスへの誘導機序は詳細不明である。結核菌感染マクロファージのネクローシスへの誘導を抑えることで結核菌感染拡大を防ぎ、アポトーシスへ誘導することで結核菌感染の終息をもたらすことが予想される。

様々な細胞で、receptor-interacting serine-threonine protein kinase (RIP) 3 が動員され、ネクローシスが誘導されることが確認されている（②)。また、caspase 8 が RIP3 の活性化に関与しているという報告がある（③)。

２．研究の目的

新規結核治療法開発を目指し、結核菌感染マクロファージのネクローシス誘導機序を解明する。特に RIP3、caspase 8 との関連を検討する。

３．研究の方法

(1)　ヒト末梢血単核球由来マクロファージ(以下マクロファージ)に、siRNA を導入し RIP3 の機能を抑制した状態で、結核菌強毒株 H37Rv を感染させる。RIP3 の機能が抑制されたことにより、H37Rv 感染マクロファージのネクローシス誘導と H37Rv の感染後菌数が変化するかを検討する。

(2) マクロファージに H37Rv を感染させ、細胞分画とミトコンドリア分画を抽出し、抗 caspase 8 抗体を用いた共免疫沈降法で caspase 8 と RIP3 の結合と局在を確認する。

４．研究成果

(1) siRNA を導入し RIP3 の機能が抑制されたマクロファージでは、RIP3 の機能が抑制されていないマクロファージと比べて、H37Rv を感染させた際に、ネクローシス細胞数は減少し、感染後菌数も減少した。

(2) 未感染マクロファージでは、ミトコンドリア分画において不活化型の caspase 8 (pro-caspase 8)と RIP3 は検出されなかった。しかし、H37Rv 感染マクロファージでは、ミトコンドリア分画において、結合した pro-caspase 8 と RIP3 が検出された。

(3) 以上より、RIP3 の活性化が結核菌感染マクロファージのネクローシスを誘導し、感染後菌数を増加させることが確認された。また、結核菌感染マクロファージでは、RIP3 と pro-caspase 8 が細胞質からミトコンドリアに移動し結合した状態で存在することが確認された。結核菌感染マクロファージのネクローシスがミトコンドリア内膜損傷により引き起こされるという報告があり（④)、RIP3 と pro-caspase 8 がミトコンドリアに移動し、ミトコンドリア内膜損傷に関与していることが推測された。

今後、新規結核治療標的探索のために、結核菌感染マクロファージのネクローシス誘導における pro-caspase 8 と RIP3 の相互作

用を更に確認する予定である。

＜引用文献＞

① Behar SM, Divangahi M, Remold HG. Evasion of innate immunity by *Mycobacterium tuberculosis*: is death an exit strategy? Nat Rev Microbiol. 8: 668-674. 2010. doi: 10.1038/nrmicro2387.

② Vandenabeele P, Declercq W, Van Herreweghe F, Vanden Berghe T. The role of the kinases RIP1 and RIP3 in TNF-induced necrosis. Sci Signal. 30; 3: re4. 2010. doi: 10.1126/scisignal.3115re4.

③ Kaczmarek A, Vandenabeele P, Krysko DV. Necroptosis: the release of damage-associated molecular patterns and its physiological relevance. Immunity. 38: 209-223. 2013. doi: 10.1016/j.immuni.2013.02.003.

④ Chen M, Gan H, Remold HG. A mechanism of virulence: virulent *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv, but not attenuated H37Ra, causes significant mitochondrial inner membrane disruption in macrophages leading to necrosis. J Immunol. 176: 3707-3716. 2006. doi: 10.4049/jimmunol.176.6.3707.

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 4 件）

① Nishimura T, Fujita-Suzuki Y, Mori M, Carpenter SM, Fujiwara H, Uwamino Y, Tamizu E, Yano I, Kawabe H, Hasegawa N. Middle-aged to elderly women have a higher asymptomatic infection rate with *Mycobacterium avium* complex, regardless of body habitus. Respirology. 21: 553-555, 2016. doi: 10.1111/resp.12699. **査読有り**

② Asakura T, Funatsu Y, Ishii M, Namkoong H, Yagi K, Suzuki S, Asami T, Kamo T, Fujiwara H, Uwamino Y, Nishimura T, Tasaka S, Betsuyaku T, Hasegawa N. Health-related quality of life is inversely correlated with C-reactive protein and age in *Mycobacterium avium* complex lung disease: a cross-sectional analysis of 235 patients. Respir Res. 16: 145. 2015. doi: 10.1186/s12931-015-0304-5. **査読有り**

③ Nishimura T, Fujita-Suzuki Y, Yonemaru M, Ohkusu K, Sakagami T, Carpenter SM, Otsuka Y, Namkoong H, Yano I, Hasegawa N. Recurrence of disseminated *Mycobacterium avium* complex disease in a patient with anti-gamma interferon autoantibodies by reinfection. J Clin Microbiol. 53: 1436-1438, 2015. doi: 10.1128/JCM.03339-14. **査読有り**

④ Yagi K, Ishii M, Namkoong H, Asami T, Fujiwara H, Nishimura T, Saito F, Kimizuka Y, Asakura T, Suzuki S, Kamo T, Tasaka S, Gonoi T, Kamei K, Betsuyaku T, Hasegawa N. Pulmonary nocardiosis caused by Nocardia cyriacigeorgica in patients with *Mycobacterium avium* complex lung disease: two case reports. BMC Infect Dis. 14: 684, 2014. doi: 10.1186/s12879-014-0684-z. **査読有り**

〔学会発表〕（計　１０件）

① 南宮 湖, 西村 知泰, 八木 一馬, 朝倉 崇徳, 鈴木 翔二, 上蓑 義典, 藤原 宏, 石井誠, 田坂 定智, 長谷川 直樹. 抗 IFNγ 中和自己抗体が検出された播種性 MAC 症の二例.

第 90 回日本結核病学会総会．長崎ブリックホール（長崎県長崎市）. 3 月 28 日, 2015 年.

② 西村知泰．結核症の感染免疫．第 167 回日本結核病学会関東支部学会／第213回日本呼吸器学会関東地方会．慶應義塾大学芝共立キャンパス（東京都港区）．2 月 14 日，2015 年.

③ 西村知泰．慶應義塾大学病院における結核症例のふりかえり．第 63 回日本感染症学会東日本地方会総会学術集会．東京ドームホテル（東京都文京区）．10 月 31 日，2014 年

④ 西村知泰, 森正明, 齋藤圭美, 戸田寛子, 神吉正子，松本可愛，高橋綾，清奈帆美，高山昌子，堂坂愛，田立暁子，澁谷麻由美，田中由紀子，藤原宏，長谷川直樹，河邊博史．医療系学部の臨床実習前結核感染診断におけるインターフェロン γ 遊離試験の有用性．第 52 回全国大学保健管理研究集会．慶應義塾大学三田キャンパス（東京都港区）．9 月 4 日，2014 年.

⑤ 南宮湖, 森本耕三, 西村知泰, 八木一馬, 浅見貴弘，舩津洋平，藤原宏，君塚善文，石井誠，田坂定智，星野仁彦，長谷川直樹，倉島篤行．肺 *Mycobacterium avium* complex 症に対するアミカシン投与例の検討．第 89 回日本結核病学会総会．長良川国際会議場（岐阜県岐阜市）．5 月 10 日，2014 年.

⑥ 西村知泰．医療従事者の結核対策における IGRA の意義．第 89 回日本結核病学会総会．長良川国際会議場（岐阜県岐阜市）．5 月 9 日，2014 年

⑦ 藤原宏, 長谷川直樹, 西村知泰, 森正明, 岩田敏．活動性結核患者接触者検診・ハイリスク医療従事者検診における QuantiFERON-TB Gold と T-SPOT.TB との比較．第 89 回日本結核病学会総会．長良川国際会議場（岐阜県岐阜市）．5 月 9 日，2014 年.

⑧ 南宮湖，森本耕三，西村知泰，八木一馬，浅見貴弘，舩津洋平，藤原宏，君塚善文，石井誠，田坂定智，星野仁彦，長谷川直樹，倉島篤行. 肺 *Mycobacterium abscessus* 症に対するアミカシン投与例の検討．第 89 回日本結核病学会総会．長良川国際会議場（岐阜県岐阜市）．5 月 9 日，2014 年.

⑨ 西村知泰．インターフェロン γ 遊離試験を利用した医療従事者における結核対策．第 29 回日本環境感染学会総会・学術集会．グランドプリンスホテル新高輪（東京都港区）．2 月 14 日，2014 年

⑩ 西村知泰， 長谷川直樹，岩田敏，森正明. 医療従事者の結核管理．第 29 回日本環境感染学会．グランドプリンスホテル新高輪（東京都港区）．2 月 14 日，2014 年.

〔図書〕（計 2 件）

① 西村知泰，長谷川直樹：Interferon Gamma Release Assay の有用性は？．EBM 呼吸器疾患の治療 2016-2017．中外医学社, 東京都新宿区，総ページ数 496 (281-286), 2016.

② 西村知泰，長谷川直樹：肺結核症．新 呼吸器専門医テキスト．南江堂, 東京都文京区, 総ページ数 614 (305-307)，2015.

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

特記事項なし

６．研究組織

⑴研究代表者

西村　知泰（NISHIMURA, Tomoyasu）
慶應義塾大学・保健管理センター・講師
研究者番号：90348649

⑵研究分担者

なし

⑶連携研究者

なし