

# 東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Pneumococcal conjugate vaccine modulates macrophage-mediated innate immunity in pneumonia caused by <i>Streptococcus pneumoniae</i> following influenza
別タイトル	インフルエンザ後の二次性肺炎球菌性肺炎における肺炎球菌結合型ワクチンのマクロファージ関連自然免疫修飾効果
作成者（著者）	三村, 一行
公開者	東邦大学
発行日	2020.03.15
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：中野裕康 / タイトル：Pneumococcal conjugate vaccine modulates macrophage-mediated innate immunity in pneumonia caused by <i>Streptococcus pneumoniae</i> following influenza / 著者：Kazuyuki Mimura, Soichiro Kimura, Chiaki Kajiwara, Sho Nakakubo, Matthew A. Schaller, Yoshikazu Ishii, Theodore J. Standiford, Steven L. Kunkel, Kazuhiro Tateda / 掲載誌：Microbes and Infection / 巻号・発行年等：In Press
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第944号
学位記番号	甲第649号
学位授与年月日	2020.03.15
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	<a href="https://mylibrary.toho.u.ac.jp/webopac/TD28440363">https://mylibrary.toho.u.ac.jp/webopac/TD28440363</a>

# 博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

三村一行より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 649 号

学位申請者 : 三村 一行

学位論文 : Pneumococcal conjugate vaccine modulates macrophage-mediated innate immunity in pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae* following influenza

(インフルエンザ後の二次性肺炎球菌性肺炎における肺炎球菌結合型ワクチンのマクロファージ関連自然免疫修飾効果)

著者 : Kazuyuki Mimura, Soichiro Kimura, Chiaki Kajiwara, Sho Nakakubo, Matthew A. Schaller, Yoshikazu Ishii, Theodore J. Standiford, Steven L. Kunkel, Kazuhiro Tateda

公表誌 : Microbes and Infection

論文内容の要旨 :

【背景】 人類はこれまでにインフルエンザウイルスの大流行を複数回経験しており、その度に多くの死者を出している。そして、インフルエンザウイルスに関連する死亡の大きな原因のひとつがインフルエンザ感染後の二次性細菌性肺炎であり、その起原菌として最も分離頻度の高い菌種は肺炎球菌である。インフルエンザ感染後に二次性肺炎球菌性肺炎を生じやすい原因としては、インフルエンザ感染に伴う鼻腔の肺炎球菌保菌量の増加や細菌の初期クリアランスに重要な自然免疫の障害が考えられている。このインフルエンザウイルス感染に関連する肺炎球菌感染症に対して、臨床現場では肺炎球菌結合型ワクチンが効果をあげており、そのメカニズムとしては、血清型特異抗体の産生という獲得免疫を活性化することや鼻腔に保菌された肺炎球菌量の減少・除去によって、インフルエンザ感染に伴って生じる自然免疫障害を克服することが考えられている。しかし、既報の多くは肺炎球菌結合型ワクチン効果を検討するマウスモデルとしては、インフルエンザウイルスを先行的に感染させた後に肺炎球菌を直接下気道に投与するモデルを用いており、肺炎球菌を先行的に保菌させた後にインフルエンザウイルスを感染させた、より臨床病態を反映した二次性肺炎球菌性肺炎モデルを用いたワクチン効果の検討は少ない。また、インフルエンザ後の二次性肺炎

球菌感染症に対する肺炎球菌結合型ワクチンの自然免疫に対する効果を検討した研究報告も乏しい。

今回申請者らは、肺炎球菌保菌マウスモデルを用いてインフルエンザ後の二次性肺炎球菌性肺炎モデルを構築し、肺炎球菌結合型ワクチンの肺炎球菌保菌量や自然免疫への効果を検討した。

**【方法】** C57BL/6J マウス（6 週齢、雌）に肺炎球菌を保菌させる 5 週間前と 2 週間前に肺炎球菌結合型ワクチン（プレバナー 13<sup>®</sup>）を筋肉内に接種した。2 回目のワクチン接種の 2 週間後にワクチンタイプの肺炎球菌 ATCC 6303（血清型 3）を経鼻的に保菌させ、その 7 日後に非致死量のインフルエンザ A 型ウイルス ATCC VR-95（A/PR/8/34; H1N1）を経鼻投与にて感染させた。そして、肺炎球菌未保菌マウスやインフルエンザ A 型ウイルス単独感染マウスと比較して、生存率、肺炎球菌の保菌量および肺内菌数、肺内インフルエンザウイルス量、血清型 3 に対する特異抗体価を検討した。また、フローサイトメトリーを用いて、肺内の好中球数、単核球/マクロファージ数、肺泡マクロファージ数と樹上細胞数および単核球/マクロファージと肺泡マクロファージの CD86 発現を評価した。そして、肺内サイトカイン・ケモカインの検討と、ワクチン接種および未接種マウスの肺から採取したマクロファージを用いて肺炎球菌 ATCC 6303（血清型 3）に対する貪食・殺菌能を検討した。

**【結果】** 肺炎球菌（血清型 3）を用いた二次性肺炎モデルでは、肺炎球菌単独保菌群と比較して肺炎球菌保菌+インフルエンザ感染群において生存率の低下や鼻腔保菌量の増加および肺内菌数の増加がみられたが、肺炎球菌結合型ワクチン投与によって有意な生存率の改善、肺内菌数増加率の抑制を認めた。一方で、ワクチン投与による鼻腔保菌量や肺内インフルエンザウイルス量に変化はなく、血清型 3 に対する特異抗体価に関しても肺炎球菌保菌やインフルエンザ感染の有無による変化は認めなかった。フローサイトメトリーを用いた検討では、インフルエンザ単独感染群および肺炎球菌保菌+インフルエンザ感染群において、ワクチン投与群は未投与群と比較して肺内好中球数の低下、単核球/マクロファージ数の増加、肺泡マクロファージ減少の抑制および CD86 発現肺泡マクロファージと単核球/マクロファージ数の増加を認めた。また肺内サイトカイン・ケモカインの検討では、インフルエンザ感染によって MCP-1、CXCL-1、IFN- $\gamma$ 、IL-10、IL-17A 産生の増加を認め、ワクチン投与によって更なる MCP-1 産生の亢進と CXCL-1、IFN- $\gamma$ 、IL-10、IL-17A 産生の抑制を認めた。そして、肺炎球菌（血清型 3）に対する肺マクロファージの貪食能はワクチン接種の有無で変化なかったが、殺菌能はワクチン接種群で亢進していた。

**【考察】** インフルエンザ後の二次性肺炎球菌性肺炎モデルにおいて、肺炎球菌結合型ワクチンが荚膜特異抗体産生という獲得免疫の活性化だけでなく、MCP-1 産生亢進に伴う単核球/マクロファージ数の増加、殺菌能の亢進という自然免疫の活性化も促している可能性が示唆された。本研究は、肺炎球菌結合型ワクチンのインフルエンザウイルス感染後の二次性肺炎球菌性肺炎に対する有効性のメカニズムに関して新たな知見を与えた。

# 1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 649 号	氏 名	三 村 一 行
学位審査担当者	主 査	中 野 裕 康
	副 査	松 瀬 厚 人
	副 査	岸 一 馬
	副 査	近 藤 元 就
	副 査	赤 坂 喜 清

## 学位論文の審査結果の要旨 :

インフルエンザウイルス感染後の二次性肺炎球菌性肺炎はインフルエンザ関連死亡の主要因であり、その対策として肺炎球菌結合型ワクチンが効果を上げている。従来、このワクチン効果の機序は肺炎球菌鼻腔保菌量の減少や血清型特異抗体の産生によると考えられているが、インフルエンザ感染時の自然免疫に対する効果については、まだ十分に解明されていなかった。本研究では、まずワクチンタイプの肺炎球菌（血清型3）を用いて肺炎球菌保菌後に非致死量のインフルエンザA型ウイルスを感染させる二次性肺炎モデルを構築し、肺炎球菌単独保菌群とインフルエンザ単独感染群と合わせて肺炎球菌結合型ワクチン（プレバナー13®）の効果を検討した。ワクチン投与群は未投与群と比較して有意な生存率の改善、肺内菌数増加に対する抑制効果を認めた。このワクチン投与による肺内菌数増加に対する抑制効果の機序に関しては、血清型3に対する特異抗体価の上昇に加えて、MCP-1産生が亢進し、その結果肺内での単核球/マクロファージ数の増加と殺菌能の亢進、感染に伴う肺胞マクロファージ数の減少の抑制など自然免疫の活性化も促している可能性が示唆された。

2020年1月28日に松瀬、岸、近藤、赤坂、中野の5名が出席して学位審査会が行われた。研究内容を発表した後で活発な質疑応答が行われた。審査委員からは、血清特異抗体価をOD値で評価することの問題点、フローサイトメトリーによる肺内マクロファージの表面マーカー選択について、莢膜型特異抗体の役割やMCP-1の主な産生細胞、MCP-1誘導のメカニズムについて、本研究で用いた保菌方法や保菌マウスの特徴、莢膜多糖体ワクチンで同様の現象が認められるのかどうか、樹状細胞に対するワクチン効果、鼻腔保菌からの誤嚥が二次性肺炎の原因であるという仮説についての賛否両論について、肺炎球菌結合型ワクチンの接種量や接種方法、インフルエンザ肺炎と肺炎球菌性肺炎の区別が可能かどうか、インフルエンザや肺炎球菌以外の病原微生物に対するワクチン効果について、肺炎球菌保菌期間を延長した場合のワクチン効果やマクロファージの肺炎球菌に対する貪食・殺菌能の違いについての考察、ワクチン群で認めた自然免疫活性化のメカニズムとして考えられること、などについて質問がなされた。申請者は、個々の質問に対して自身の研究データおよび文献的考察を交えながら本研究の限界を踏まえて回答した。以上より、本研究はインフルエンザ感染後の二次性肺炎球菌性肺炎における肺炎球菌結合型ワクチン効果の機序について新しい知見をもたらすものであり、審査委員全員一致のもとで、学位授与に値する論文であると結論を出した。