

〈総 説〉

RSウイルス感染症に対するマクロライドの可能性

横田伸一¹⁾・堤 裕幸²⁾・氷見徹夫³⁾

¹⁾ 札幌医科大学医学部微生物学講座

²⁾ 札幌医科大学医学部小児科学講座

³⁾ 札幌医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座

(2014年4月10日受付)

RSウイルス (human respiratory syncytial virus) は呼吸器感染症の代表的な原因ウイルスのひとつであり、冬季に流行する風邪症候群から、気管支炎、細気管支炎、肺炎に進行することがある。特に低体重出生児、心肺系に基礎疾患のある乳幼児での重症化が問題となる。また、生涯にわたって再感染を繰り返し、高齢者を中心としてCOPDや気管支喘息の憎悪との関連も指摘されている。クラリスロマイシンをはじめとするマクロライド系抗菌薬は抗菌作用の他に多彩な免疫調節作用が報告されており、呼吸器系疾患を中心として臨床的な有用性も示されている。本稿ではRSウイルス感染症に焦点をあててマクロライドの作用に関する知見を概説する。

RSウイルス感染症の重要性

RSウイルス (human respiratory syncytial virus) はパラミクソ科ニューモウイルス亜科ニューモウイルス属のマイナス鎖一本鎖RNAウイルスである。ウイルスのGタンパク質の抗原性によってAとBのサブグループにわけられる。さらにサブグループ内でも遺伝子多型が認められるが、これら遺伝子の違いと臨床症状との関連性はよくわかっていない¹⁾。

RSウイルス感染症は、秋から冬にかけて流行する鼻汁等の上気道炎症を初発とする風邪症候群にはじまり、時に重症化し、乳幼児の気管支炎、細気管支炎や肺炎の大きな原因を占める。特に低出生体重児や、心臓や呼吸器系の基礎疾患、免疫

不全が存在する場合の重症化が問題となる。RSウイルスは親からの移行抗体の存在に関係なく、0~1歳で約70%が、2歳くらいまでにはほぼ100%が初感染する¹⁾。以降、生涯を通じて再感染を繰り返し、風邪症候群の原因ウイルスのひとつとなる。高齢者においてはインフルエンザ様感冒の原因となり、COPD憎悪や呼吸機能低下には注意が必要となる。

また、急性中耳炎におけるRSウイルスの検出率が他の呼吸器感染ウイルスに比べて多いという報告²⁾もあり、上気道感染でよくみられる肺炎球菌やインフルエンザ菌の感染がRSウイルス感染の二次感染として起こることも問題となる^{3,4)}。

本邦では2011年10月に外来の1歳未満児およ

びハイリスクの乳幼児の患児に対してもウイルス抗原を検出する迅速診断キットの保険適応が拡大し、感染病原体の特定できる数少ない呼吸器疾患ウイルスとなっている。感染症法では五類感染症(定点把握)に指定されている。本邦では2012, 2013年の2シーズンに過去最大の流行が認められている⁵⁾。この大流行に関しては、診断キットの普及による見かけの増加分もあるかもしれない。

RSウイルスの治療と予防

ウイルスそのものに対する治療薬は現時点で日本にはない。したがって原因療法ではなく、対症

療法が基本となる。気管支炎, 細気管支炎, 肺炎に対しては輸液, 気道分泌液の除去, 適切な体位, 加湿された酸素の投与などが行われる。無呼吸症状に対してはキサンチン製剤が用いられる¹⁾。米

図1. RSウイルス感染によるヒト肺胞上皮細胞株 A549の RANTES (A), IL-8 (B), IL-6 (C) 産生誘導に対するクラリスロマイシンおよびNF-κB阻害剤 PDTCによる抑制効果

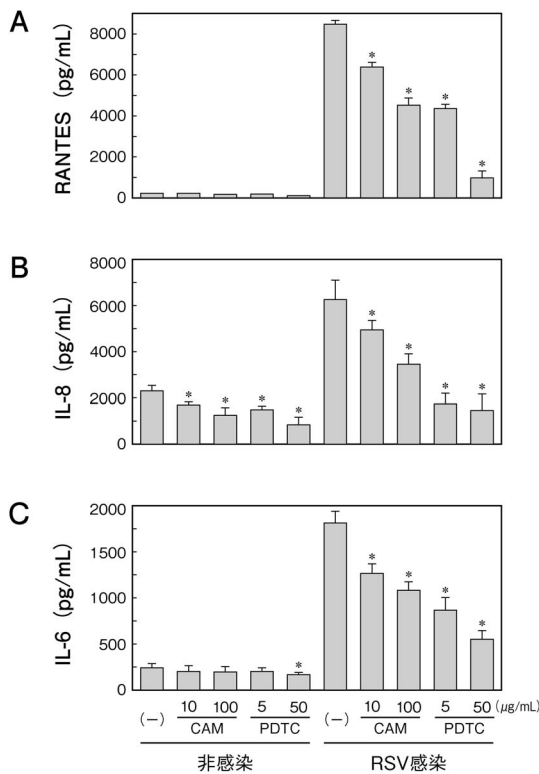
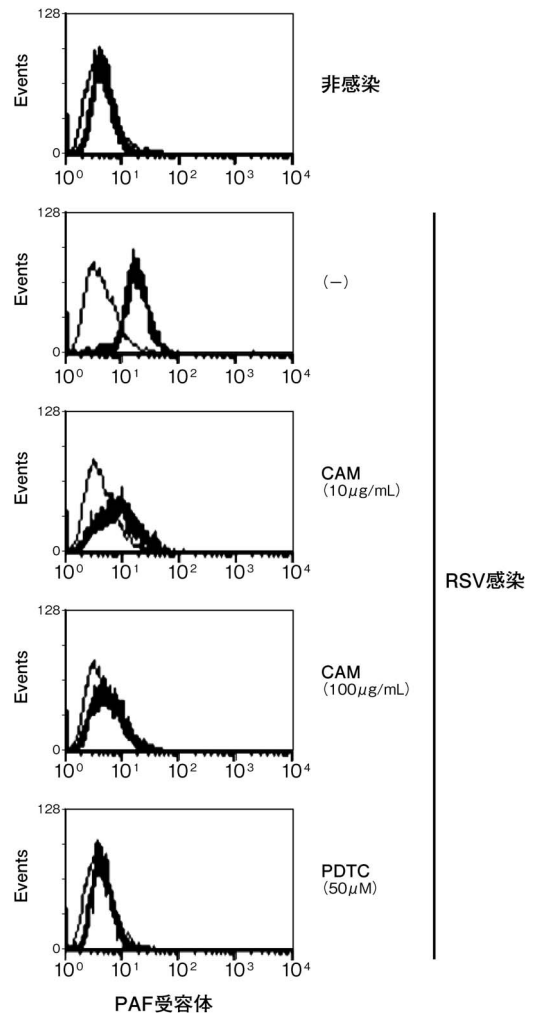


図2. RSウイルス感染によるヒト肺胞上皮細胞株 A549上の PAF 受容体発現誘導のクラリスロマイシンおよびNF-κB阻害剤 PDTCによる抑制効果

肺炎球菌およびインフルエンザ菌定着の受容体となる細胞表面 PAF 受容体の発現をフローサイトメトリーにより測定した。太い線は抗 PAF 受容体抗体を, 細い線はコントロール抗体を細胞に反応させたものである。



*p<0.01: 薬剤非処理に対する有意差。CAM: クラリスロマイシン
YOKOTA, S., et al.: Mediat. Inflamm. 2012: Article ID 528568, 2012
より改変引用

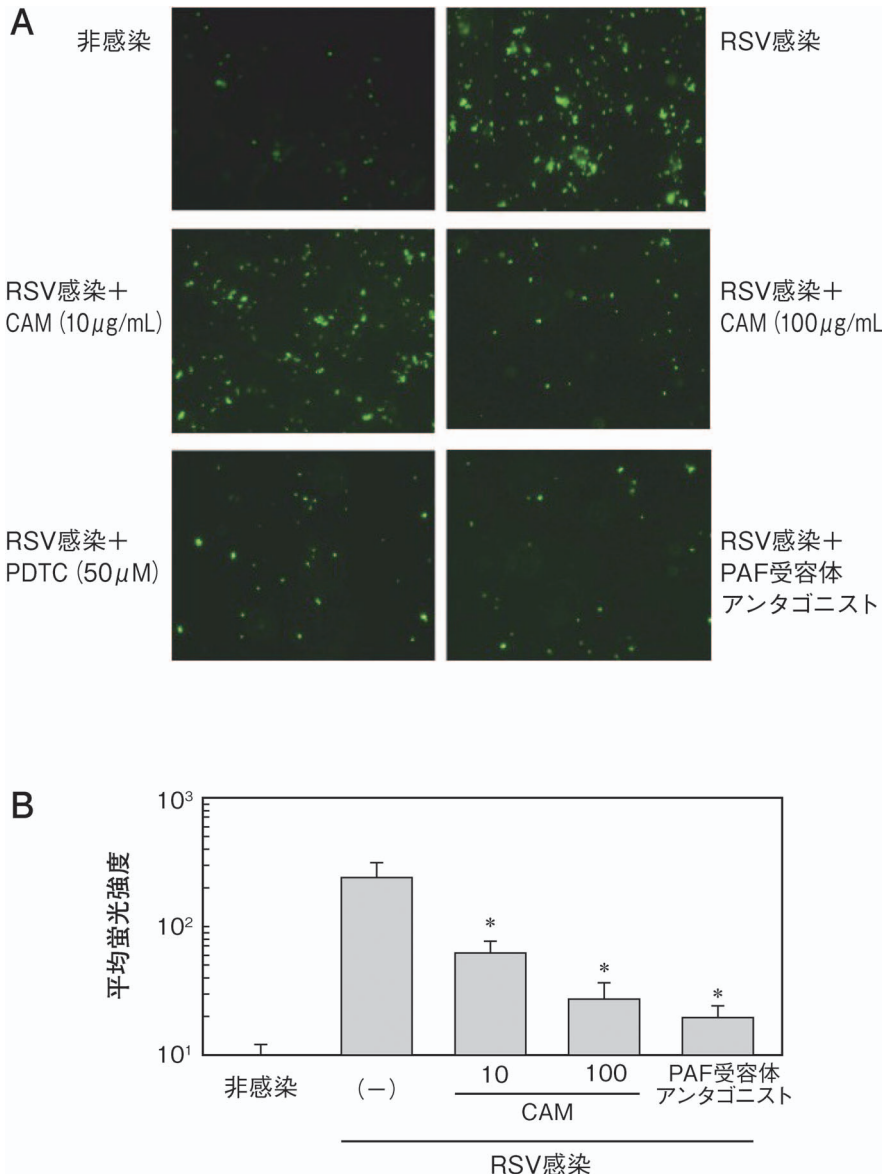
CAM: クラリスロマイシン
YOKOTA, S., et al.: Mediat. Inflamm. 2012: Article ID 528568, 2012
より改変引用

図3. RSウイルス感染によるヒト肺胞上皮細胞株 A549 への肺炎球菌の付着亢進のクラリスロマイシン, NF- κ B 阻害剤 PDTC および PAF 受容体アンタゴニストによる抑制効果

薬剤投与1時間後にRSウイルスを感染させ、感染24時間後に蛍光 (FITC) 標識した肺炎球菌 R6 株を添加して、細胞表面への菌の付着を観察した。

(A) 蛍光顕微鏡による観察

(B) フローサイトメトリーによる付着量の定量的解析

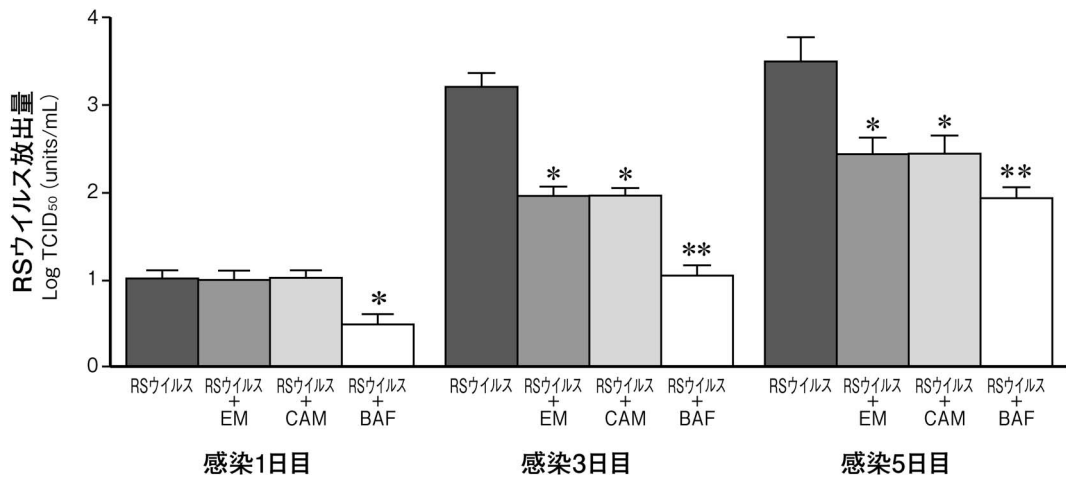


*p<0.01 : RSウイルス感染、薬剤非投与に対する有意差。CAM : クラリスロマイシン

YOKOTA, S., et al.: Mediat. Inflamm. 2012: Article ID 528568, 2012より改変引用

図4. ヒト気管上皮細胞へのRSウイルス感染に対するマクロライドの抑制作用

感染細胞からのRSウイルス放出量を継続的に測定。



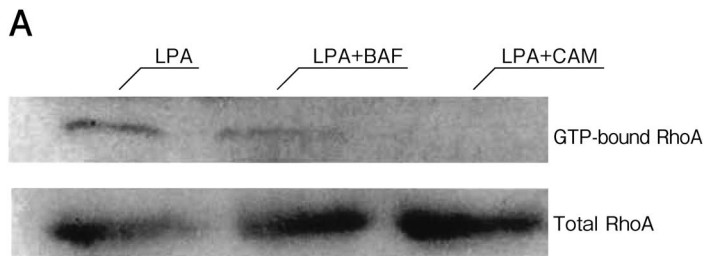
*p<0.05, **p<0.01; 感染後のそれぞれの時点のRSウイルス感染のみに対する有意差。

EM: エリスロマイシン 10μM, CAM: クラリスロマイシン 10μM, BAF: パフィロマイシン 0.1μM (液胞型ATPase阻害剤, 細胞の能動輸送を阻害)。

ASADA, M., et al.: Antiviral Res. 83: 191~200, 2009, 山谷睦雄: 感染と抗菌薬 14: 295~302, 2011より改変引用

図5. ヒト気管上皮細胞におけるRSウイルス受容体である活性化RhoA (GTP-bound RhoA) のクラリスロマイシンによる発現抑制

活性化RhoAは細胞をリゾホスファチジン酸 (LPA) 刺激後, ウェスタンブロッティング法により測定 (A: 検出されたバンド, B: バンドを定量した値)。TotalのRhoAタンパク質量は変化ないが, 活性化RhoA量はクラリスロマイシン (CAM) およびパフィロマイシン (BAF) 投与によって減少している。



B

条件	活性化RhoAの強度 (RhoA全体比) (n=5, 平均±S.D.)	p値
LPA	0.85 ± 0.07	—
LPA + パフィロマイシン	0.43 ± 0.07	p < 0.05
LPA + クラリスロマイシン	0.16 ± 0.09	p < 0.05

ASADA, M., et al.: Antiviral Res. 83: 191~200, 2009より改変引用

国ではリバビリンの吸入剤が承認されているが、米國小児科学会はハイリスク患者に対してのみ投与を考慮されるべきであると積極的な使用は勧めていない。

予防に関してはワクチンが理想的であるが、1960年代の米国における不活化ワクチンの臨床試験で接種群の方が重症化リスクが高いとの成績が出ている。生ワクチンの開発の動きもあるが、実用化はまだ先と思われる⁶⁾。現在可能な予防策は抗RSウイルスFタンパク質擬人化モノクローナル抗体（パリビズマブ）の筋注製剤が早産児および24ヵ月齢未満の血行動態に異常のある先天性心疾患児、気管支肺異形成症の治療を受けた児を対象に適応となっている。一方で抗体製剤の高いコストから、費用対効果に関して議論もある⁷⁾。

RSウイルスは院内感染でも問題となる。感染対策として標準予防策に加え、接触感染予防策と飛沫感染予防策を講じることが必要である。前述の迅速診断キットの利用は感染対策を実施する上

で有用である。

RSウイルス感染に対する マクロライドの作用 (*in vitro*)

クラリスロマイシンをはじめとするマクロライドはびまん性汎細気管支炎（DPB）における少量長期投与での著明な予後改善に端を発し、特異な免疫調節作用が明らかとなってきている。RSウイルス感染に対するマクロライドの作用についてもいくつか知見がある。

筆者ら⁸⁾は、ヒト肺胞上皮細胞株にRSウイルスを感染させた時に誘導される炎症性サイトカイン [IL-6] やケモカイン [IL-8/CXCL8, RANTES/CCL5 (regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted)] がクラリスロマイシンによって抑制されることを見出している (図1)。RANTESはT細胞の他に、喘息等の炎症反応に重要な役割を果たす好酸球や好塩基球の活性化と遊走をもたらす。したがって、RANTESの抑制により喘鳴、喘息等を含む呼吸器症状の改善が期待さ

表1. RSウイルス感染症におけるクラリスロマイシン投与による臨床パラメーターの改善効果 (プラセボ対照二重盲検比較試験)

RSウイルス感染で入院加療した7歳以下の細気管支炎患児（心臓疾患、早産に伴う新生児肺疾患、のう胞性線維症患児を除く）に対して、クラリスロマイシン 15 mg/kg/day、もしくはプラセボを3週間投与。各パラメーターは中央値（四分位範囲）もしくは例数で示した。

	クラリスロマイシン	プラセボ	p値
症例数	12	9	
入院期間 (h)	51 (48-68)	88 (72-100)	<0.05*
酸素投与期間 (h)	31 (28-42)	72 (52-80)	<0.05*
静脈内補液期間 (h)	26 (22-36)	56 (46-66)	<0.05*
β_2 刺激薬の使用日数	5 (4-7)	7 (5-7)	<0.05*
再入院の例数	1	4	<0.05**

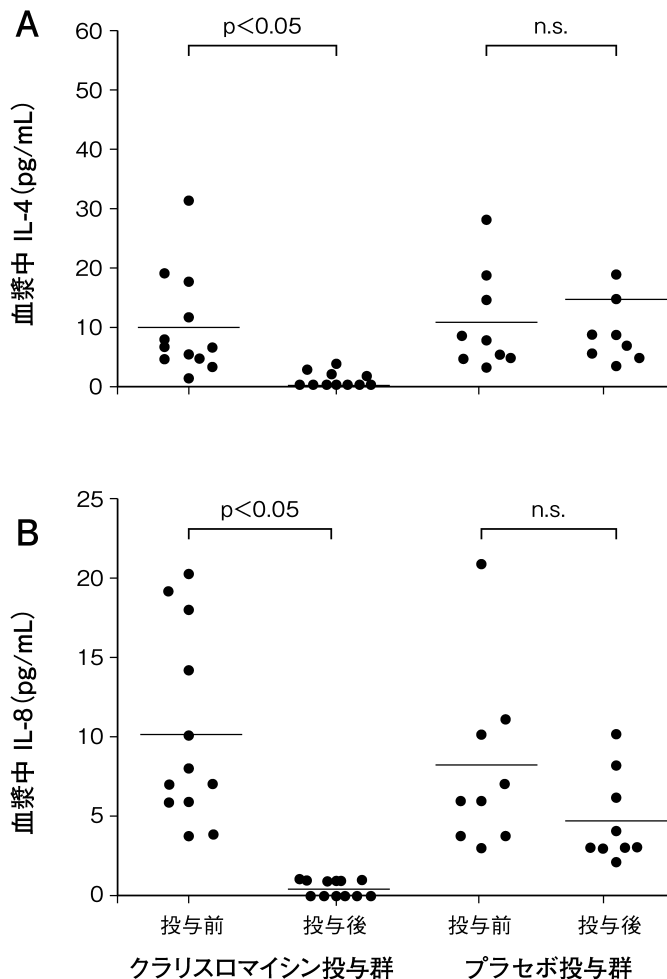
*: Mann-Whitney U-test, **: χ^2 test

れる。これらのサイトカイン遺伝子転写誘導に共通するのは転写因子NF- κ Bであり、マクロライドの免疫調節作用の重要なメカニズムとしてNF- κ Bの活性化抑制という報告がある^{9,10)}。筆者ら⁸⁾の検討においてもNF- κ B阻害剤であるPDTC (pyrrolidine dithiocarbamate) にクラリスロマイシンと同様の効果が認められる。本実験系では、RSウイルスの感染効率や細胞内増殖にクラリスロマイシンは影響を与えない。

さらにその発現がNF- κ Bの支配下にあるPAF (platelet activating factor) 受容体もRSウイルス感染によって発現が誘導される。この発現誘導もクラリスロマイシンによって抑制されることを筆者らは見出している (図2)⁸⁾。PAF受容体は肺炎球菌やインフルエンザ菌が上皮細胞に接着する際のリセプターとなる^{11,12)}。蛍光標識した肺炎球菌菌体が肺胞上皮細胞株に接着するのを観察したところ、クラリスロマイシンはPDTCやPAF受容体ア

図6. RSウイルス感染症におけるクラリスロマイシン投与前後の血漿中IL-4 (A), IL-8 (B) 量の変化 (プラセボ対照二重盲検比較試験)

表1の被験者から血漿を採取。クラリスロマイシン投与群 (15 mg/kg/day, 3週間投与) とプラセボ投与群で投与前後の血漿中サイトカイン量を比較。

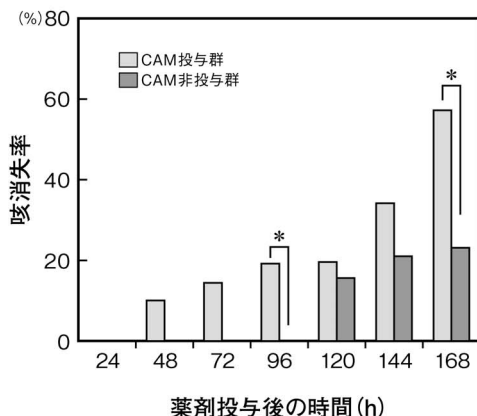


n. s.: not significant

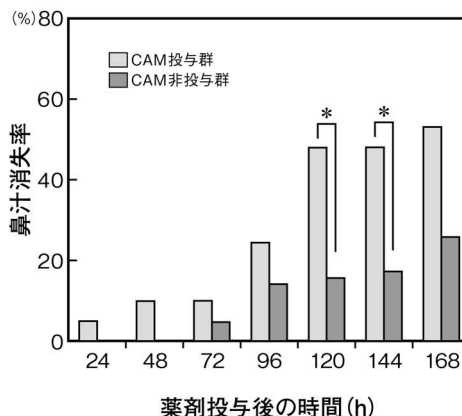
図7. RSウイルス感染症における咳 (A) と鼻汁 (B) の継時的消失に対するクラリスロマイシン内服の効果 (後ろ向き試験)

迅速診断キットでRSウイルス感染症と診断された0ヶ月～71ヶ月の乳幼児を対象とし、クラリスロマイシン投与群と非投与群で比較を行った。症状消失は、朝 (7時)、昼 (12時)、夜 (19時) のチェックで、いずれか3ポイント連続で症状が消失した場合とし、その1ポイント目を症状が消失した時間とした。

A 咳の継時的消失率



B 鼻汁の継時的消失率



*: $p < 0.05$ (χ^2 test)

高橋好生, 他: 臨床と研究 86: 119~122, 2009より改変引用

ンタゴニストと同程度に肺炎球菌の接着を抑制する (図3)。インフルエンザ菌においても同様のクラリスロマイシンによる付着抑制が認められる。

一方、マクロライドによるRSウイルスの感染効率抑制作用も報告されている。ASADAら¹³⁾、山谷¹⁴⁾は、ヒト気管上皮細胞にRSウイルスを感染させる系でクラリスロマイシン、エリスロマイシンが培養液中に放出されるウイルス量と細胞内ウイルスRNA量を抑制することを認めている (図4)。RSウイルスは宿主の活性化RhoA, ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1)、ヘパラン硫酸などを受容体とすることが知られている¹⁵⁾が、クラリスロマイシンは活性化RhoAの発現量を抑制する (図5)。さらに、感染により誘導されるIL-1 β , IL-6, IL-8の産生も有意に抑制される。従ってマクロライドはRSウイルスの受容体の発現量を減少させることで感染効率の低下をもたらす効果もあると考えられる。

RSウイルス感染症に対するマクロライドの作用 (臨床知見)

マクロライドの臨床的な検討についてRSウイルス感染症症例を対象とした知見に絞って紹介する。トルコのTAHANら¹⁶⁾は、RSウイルス感染症で入院加療した細気管支炎患児に対して、プラセボを用いた二重盲検試験を実施している。クラリスロマイシン投与群12名とプラセボ投与群9名の比較で、酸素吸入施行期間、静脈内補液施行期間、 β_2 刺激薬投与期間、入院期間などについてクラリスロマイシン投与による有意な短縮を認めた (表1)。さらに血漿中のIL-4, IL-8, エオタキシンについてクラリスロマイシン投与前後の比較で著明な低下を認めた (図6)。

日本においては、高崎ら¹⁷⁾が外来患者を対象とした後ろ向きの検討でクラリスロマイシン投与群23例と非投与群22例の比較で咳、鼻汁の消失について経時的な変化を調べ、投与群で有意な改善を認めている (図7)。二宮ら¹⁸⁾は、前向きな検

討で外来患者を対象に無作為に分けたエリスロマイシン投与群16例と非投与群9例の比較で、喘鳴持続期間の有意な短縮 [7.8±2.0日 vs. 11.6±2.7日; p<0.001] を認めている。

おわりに

クラリスロマイシンをはじめとするマクロライド系抗菌薬は、小児への適応があり、副作用等の安全性が確立されている。さらに、特異な免疫調節作用は小児の呼吸器感染症に対してもその有効性が示されている。今回紹介したRSウイルス感染症以外にもライノウイルスやインフルエンザウイルス感染症に対する有用性も報告されている¹⁴⁾。その作用は、ウイルス増殖そのものの抑制、炎症反応に関わるメディエーターの誘導の抑制、細菌の二次感染に関わる宿主受容体の発現抑制と多岐にわたっている。

一方で、マクロライドが抗菌薬であることを考えると、その投与は耐性菌増加につながる可能性も否めない。マクロライドの免疫調節作用の直接的な作用点はまだ明らかにされていない。作用点を明らかにすることで、抗菌活性を有さない新しい免疫調節薬の創薬を進めることも重要なアプローチであると思われる。

文献

- 1) 堤 裕幸：呼吸器感染症 up to date。RSウイルス。臨床と微生物39: 337~342, 2012
- 2) HEIKKINEN, T. & T. CHONMAITREE: Importance of respiratory viruses in acute otitis media. Clin. Microbiol. Rev. 16: 230~241, 2003
- 3) ANDRADE, M. A.; A. HOBERMAN, J. GLUSTEIN, *et al.*: Acute otitis media in children with bronchiolitis. Pediatrics 101: 617~619, 1998
- 4) HAMENT, J. M.; J. L. L. KIMPEN & A. FLEER, *et al.*: Respiratory viral infection predisposing for bacterial disease: a concise review. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 26: 189~195, 1999
- 5) 国立感染症研究所感染症疫学センター：
<http://www0.nih.go.jp/niid/idsc/idwr/latest.pdf>
- 6) STOREY, S.: Respiratory syncytial virus market. Nat. Rev. Drug Discov. 9: 15~16, 2010
- 7) Committee on Infectious Diseases: From the American Academy of Pediatrics: Policy statements—Modified recommendations for use of palivizumab for prevention of respiratory syncytial virus infections. Pediatrics 124: 1694~1701, 2009
- 8) YOKOTA, S.; T. OKABAYASHI, S. HIRAKAWA, *et al.*: Clarithromycin suppresses human respiratory syncytial virus infection-induced *Streptococcus pneumoniae* adhesion and cytokine production in a pulmonary epithelial cell line. Mediat. Inflamm. 2012: Article ID 528568, 2012
- 9) ICHIYAMA, T.; M. NISHIKAWA, T. YOSHITOMI, *et al.*: Clarithromycin inhibits NF- κ B activation in human peripheral blood mononuclear cells and pulmonary epithelial cells. Antimicrob. Agents Chemother. 45: 44~47, 2001
- 10) KIKUCHI, T.; K. HAGIWARA, Y. HONDA, *et al.*: Clarithromycin suppresses lipopolysaccharide-induced interleukin-8 production by human monocytes through AP-1 and NF- κ B transcription factors. J. Antimicrob. Chemother. 49: 745~755, 2002
- 11) CUNDELL, D. R.; N. P. GERARD, C. GERARD, *et al.*: *Streptococcus pneumoniae* anchor to activated human cells by the receptor for platelet-activating factor. Nature 377: 435~438, 1995
- 12) SWORDS, W. E.; B. A. BUSCHER, K. VER STEEG LI, *et al.*: Non-typeable *Haemophilus influenzae* adhere to and invade human bronchial epithelial cells via an interaction of lipooligosaccharide with the PAF receptor. Mol. Microbiol. 37: 13~27, 2000
- 13) ASADA, M.; M. YOSHIDA, T. SUZUKI, *et al.*: Macrolide antibiotics inhibit respiratory syncytial virus infection in human airway epithelial cells. Antiviral Res. 83: 191~200, 2009
- 14) 山谷睦雄：呼吸器ウイルス感染症とマクロライド。感染と抗菌薬14: 295~302, 2011
- 15) COLLINS, P. L. & J. E. CROWE JR.: Respiratory syncytial virus and metapneumovirus. In D. M. KNIPE & P. M. HOWLEY eds. Fields Virology 5th

- ed., LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, Philadelphia, 2006: 1601~1646
- 16) TAHAN, F.; A. OZCAN & N. KOC: Clarithromycin in the treatment of RSV bronchiolitis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Eur. Respir. J.* 29: 91~97, 2007
- 17) 高崎好生, 進藤静生, 横山 隆, 他: Respiratory syncytial virus感染症に対するクラリスロマイシンの効果。臨床と研究86: 119~122, 2009
- 18) 二宮恵子, 川畑 健, 初鹿野見春, 他: Respiratory syncytial virus に対するエリスロマイシンの効果。 *Jpn. J. Antibiotics* 58 (Suppl. A): 61~64, 2005

Application possibility of the macrolides for the RS virus infections

SHIN-ICHI YOKOTA¹⁾, HIROYUKI TSUTSUMI²⁾ and TETSUO HIMI³⁾

¹⁾ Department of Microbiology, Sapporo Medical University School of Medicine

²⁾ Department of Pediatrics, Sapporo Medical University School of Medicine

³⁾ Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine

Human respiratory syncytial virus (RSV) is a major causative agent of respiratory infections. Common cold syndrome caused by RS virus, which is prevalent in winter, occasionally develops into bronchitis, bronchiolitis and pneumonia. In particular, severe RS virus infections in infants with underlying cardiopulmonary diseases and with low-birth weight baby have been a problem. Furthermore, repetitive RS virus infections occur for the entire lifetime, and the relationship between RS virus infections and exacerbation of COPD and bronchial asthma is also indicated mainly in elderly individuals. Various immunomodulatory effects other than antimicrobial activity of macrolides, including clarithromycin, have been reported, and their clinical usefulness is shown mainly in respiratory diseases. This review describes the findings of action of macrolides on RS virus infections.