

THE JAPANESE JOURNAL OF
ANTIBIOTICS

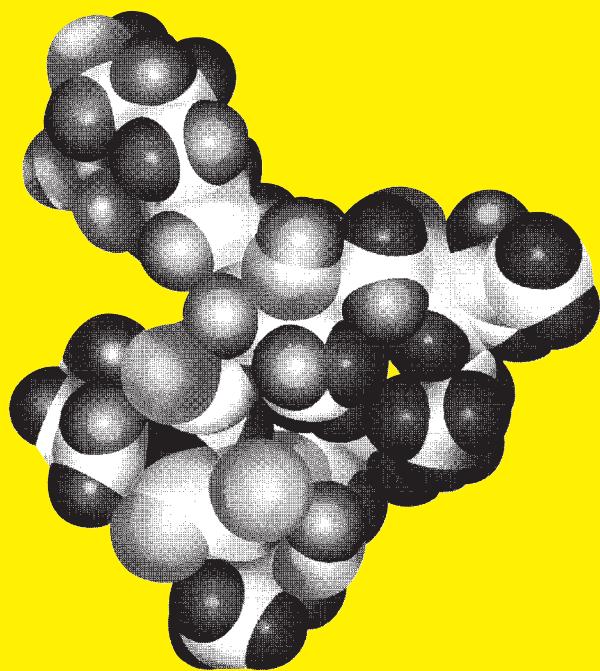
Macrolides Update

マクロライドの新作用研究

2017

「第 24 回マクロライド新作用研究会」記録集

開催日:2017年7月21日, 22日



後援 : 厚生労働省特定疾患びまん性肺疾患調査研究班
公益財団法人日本感染症医薬品協会

Published by JAPAN ANTIBIOTICS RESEARCH ASSOCIATION

Editorial Office : Japan Antibiotics Research Association

2-20-8 Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo, Japan

第24回 マクロライド新作用研究会

2017年7月21, 22日
(飯田橋レインボービル 7階大会議室)

当番世話人

東北大学大学院医学系研究科
先進感染症予防学寄附講座
山谷 瞳雄

目 次

教育講演 1

C型ライノウィルス感染症の基礎と臨床	中込一之	5
--------------------	------	---

教育講演 2

ErythromycinとAcetylcysteineの投与による 間質性肺炎合併肺癌の周術期管理について	田中明彦	8
--	------	---

コーヒーブレイクセミナー 1

マイコプラズマ肺炎の発症メカニズムとその制御	田口晴彦	13
------------------------	------	----

ミニシンポジウム 1

座長	公益財団法人結核予防会結核研究所 北里大学北里生命科学研究所	慶長直人 廣瀬友靖
----	-----------------------------------	--------------

クラリスロマイシンにより誘導される CD11b ⁺ Gr-1 ⁺ 細胞の誘導機序に関する検討	石井誠	16
Poly(I:C)刺激によるIL-8の産生および PAF受容体の発現とマクロライドの効果	原田みずえ	17
討議総括	慶長直人	21

シンポジウム 1 「マクロライドの新展開 I」

座長	社会福祉法人恩賜財団済生会熊本病院呼吸器センター/ 予防医療センター 杏林大学医学部呼吸器内科	菅守隆 滝澤始
----	---	------------

好中球性気道炎症による難治性気管支喘息：(および ACOS「気管支喘息-COPDオーバーラップ症候群」に対する治療も含めて)	渡辺雅人	22
重症肺炎(敗血症性 ARDS)におけるマクロライドの効果	川村宏大	24
討議総括	菅守隆	26

モーニングセミナー

薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン ～求められる抗菌薬適正使用を含めて～	館田一博	28
---	------	----

教育講演 3

マクロライドの気道ムチンおよび水分分泌制御 Regulatory effect of macrolides on airway secretion of mucus and water	近藤光子	29
---	------	----

シンポジウム 2 「マクロライドの新展開 II」

座長	公益財団法人結核予防会 複十字病院 三重大学大学院 医学系研究科 耳鼻咽喉・頭頸部外科	後藤元 竹内万彦
----	--	-------------

耳鼻咽喉科領域 副鼻腔炎と喘息・COPDの合併症例への対応	松根彰志	36
-------------------------------	------	----

小児の慢性呼吸器疾患に対するマクロライド療法.....	川崎一輝	41
討議総括.....	竹内万彦	42

特別講演

Human Airway Cell Models :		
From Pathobiology to Drug Discovery	Walter E. Finkbeiner	43

教育講演 4

カルシニューリン阻害薬FK506を利用したMAPKシグナル制御メカニズムと		
創薬研究：シグナル制御拠点としてのRNA顆粒の役割から		
新規ERK調節剤ACA-28の抗がん作用まで	杉浦麗子	44

コーヒーブレイクセミナー 2

マクロライド系抗菌薬と不整脈—分子レベルから臨床まで—	川野誠子	51
-----------------------------------	------	----

ミニシンポジウム 2

座長	和歌山県立医科大学 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室	保富宗城
	公益財団法人結核予防会 複十字病院	森本耕三

多剤耐性アシネットバクターに対するクラリスロマイシンの効果.....	山内俊輔	60
PCV接種普及が乳幼児に定着する肺炎球菌のマクロライド耐性率に与えたインパクト	成相昭吉	61
クラリスロマイシン(CAM)に対する薬剤感受性試験(DST)は, <i>M. abscessus</i> subsp. <i>abscessus</i> 症の排菌陰性化を予測する上で有用である	小林岳彦	67

ミニシンポジウム 3

座長	徳島大学疾患酵素学研究センター生体防御・ 感染症病態代謝研究部門	木戸博
	九州保健福祉大学薬学部臨床生化学講座教授・ 感染症治療学研究室	佐藤圭創

マクロライド系薬剤による抗インフルエンザウィルス活性と 16員環マクロライドをベースとした新規治療薬の探索.....	菅又龍一	68
The inhibitory effect of macrolide derivatives on proliferative activities of 2009 pandemic influenza A/H1N1 virus	Tran Huu Dat	69
討議総括.....	木戸博	70

教育講演 1

C型ライノウィルス感染症の基礎と臨床

中込一之

1) 喘息増悪におけるC型ライノウィルスの重要性

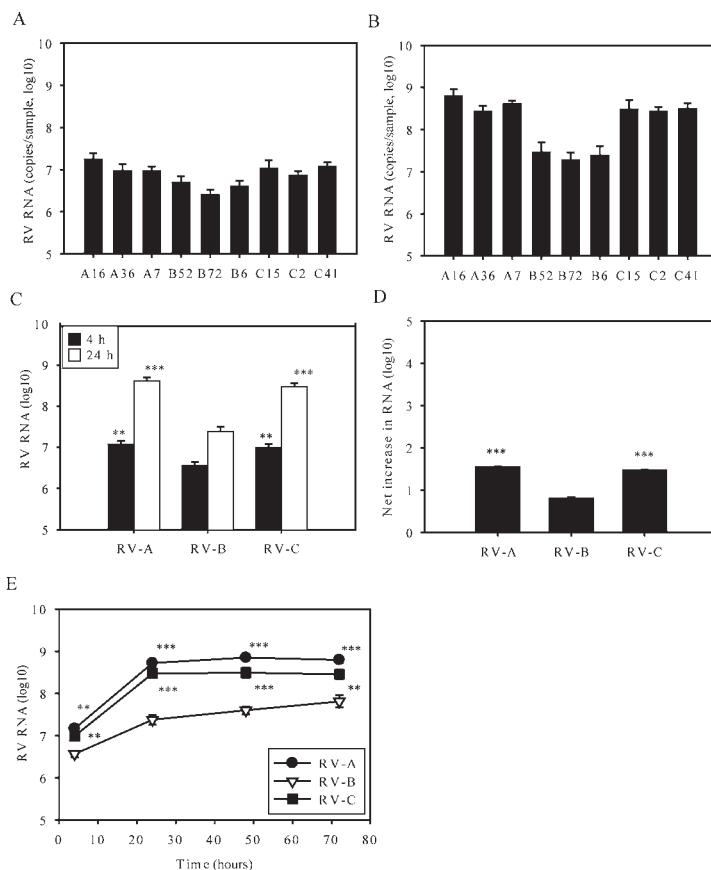
ライノウィルスは、喘息増悪に強く関与することが知られている¹⁾。ライノウィルスは、喘息増悪時に、原因ウィルスが同定された患者の約65%で検出される¹⁾。しかし一方でライノウィルスが検出されても症状を呈しないことも観察されており、ライノウィルス感染症における、重症化を規定する要因の検討は、重要な課題と思われる。現状で、重症化を規定する要因として、①宿主に起因する要因②ウィルスに起因する要因③遺伝子に起因する要因が考えられている。

宿主に起因する要因として、喘息が知られている。喘息患者がウィルスに感染すると、健常人と比べて、上気道症状は変わらないが、咳などの下気道症状を呈する比率が上昇する。実験的にライノウィルスに感染させると、喘息患者と健常人で上気道症状は同様であったが、下気道症状は喘息患者で増悪した。また、喘息患者の気道では、不定期においても高頻度にライノウィルスが検出される。これらの機序として、喘息患者の気道上皮細胞では非喘息患者の気道上皮細胞と比較し、ライノウィルスを感染させた際に、アポトーシスが起こらず、抗ウィルスサイトカインIFN- β 及びIFN- λ の産生が低値で、ライノウィルス複製能が高いことが報告された^{2,3)}。気道上皮細胞からの抗ウィルスサイトカインの産生やウィルス複製能は、喘息患者でも健常人と変わらないとするデータも複数あり、controversialであるが、重症喘息患者で、気道上皮細胞やマクロファージなどを含む、気道の細胞全体における抗ウィルス性サイトカインの産生低下があることは間違いなさそうである。

さらにIgE高値との関連が報告されている。IgEが高値であると、ウィルスに感染しやすい、すなわちIgEが抗ウィルス免疫を低下させる可能性が示唆されている。この機序として、形質細胞様樹状細胞からの抗ウィルス性サイトカインの産生が、IgE高値または喘息患者で低下していることが明らかとなった⁴⁾。例えば、GILLらは、インフルエンザで形質細胞様樹状細胞を刺激した際の、抗ウィルスサイトカインIFN- α 産生は、血清IgE値と逆相関することを報告した⁴⁾。さらに実臨床においても、IgE高値患者では、ライノウィルス感染によって喘息が増悪しやすいことが知られている。例えば、KANTORらは、ライノウィルス感染時に、特異的IgE高値例で、喘息増悪がより起こりやすいことを報告した⁵⁾。抗IgE抗体は、喘息増悪を抑制するが、その機序の一つとして、抗ウィルスサイトカイン産生の回復が示唆されている。

近年、ウィルスに起因する要因が注目されている。ライノウィルスは多様性を持つ。約100の古典的血清型があり、抗カプシド化合物に対する反応の違いから、A型とB型ライノウィルスに分類されていたが、近年PCRなどの分子生物学的技術の発展に伴い、60以上の新しいライノウィルス（ほぼすべてがC型ライノウィルス）が発見された¹⁾。近年の臨床試験から、ライノウィルスの種(species)による病原性の違いが報告され、A型及びC型ライノウィルスは、B型ライノウィルスと比較し、重篤な病態を起こすことが示唆されている^{1,6,7)}。例えばBIZZINTINOらは、救急室での検討で、C型ライノウィルスは、他のライノウィルスと比較して、小児喘息発作患者の鼻汁でより検出されることを報告し、C型ライノウィルスが重

図1. ライノウィルスの種によるウイルス複製能の違い(文献10より
改変引用)



(A) 感染直後(4時間後)の副鼻腔上皮細胞におけるウイルス量(B)
感染24時間後の副鼻腔上皮細胞におけるウイルス量(C)種でまとめた
解析(D)ウイルス増加量(24時間 - 4時間) (E)副鼻腔上皮細胞における
ウイルス量のkinetics

P<0.01, *P<0.001

篤な喘息発作の原因となる可能性が考えられた⁶⁾。また我々は、前向き研究で、0-1才児にルーチンで鼻汁をとり、そのウイルスの種類(血清型)と臨床症状とを比較したところ、A型及びC型ライノウィルスは、B型ライノウィルスと比較し、より重篤な症状を引き起こすことを報告した⁷⁾。検出されたすべてのB型ライノウィルスにおいて、A型及びC型のどのライノウィルスよりも、症状は軽微であった⁷⁾。C型ライノウィルスが今まで発見されなかった理由として、一般的のcell lineや上皮細胞にC型ライノウィルスが感染せず、ウイルスが増殖しなかったことがあげられ

る。我々は近年C型ライノウィルスが、副鼻腔組織で良く増殖することを報告した⁸⁾。さらにC型ライノウィルスは、air-liquid interfaceで培養し、完全に分化した副鼻腔上皮細胞で、良く増殖することを報告した⁹⁾。従ってこの系を使うことで、種によるウイルスの性質の違いを検討する事が可能となった。我々は、この系を利用して、B型ライノウィルスが、A型やC型ライノウィルスと比較して、ウイルス複製能が低く、サイトカイン・ケモカイン産生能が低いことを明らかにした(図1)¹⁰⁾。これらの性質が、臨床で観察される、B型ライノウィルス感染の軽微な病態に関与する可

能性が考えられた。さらに、C型ライノウイルスは37度でも34度と同様に増殖する⁹⁾。従ってC型ライノウイルスは下気道に親和性が高く、より重篤な気道症状を引き起こす可能性が考えられた。

2) C型ライノウイルスの受容体の研究から、見えてきたこと

ライノウイルスは多様性をもち、それぞれの血清型で感染形式が異なる。例えばA型ライノウイルスの受容体は、major groupがICAM-1(または酸性エンドゾーム), minor groupがLDLレセプターであり、B型ライノウイルスの受容体は、ICAM-1(または酸性エンドゾーム)である。C型ライノウイルスはわかつていなかったが、2016年にcadherin-related family member 3(CDHR3)が、C型ライノウイルスの受容体であることが明らかとなつた¹¹⁾。

CDHR3は、膜貫通の糖蛋白であるcadherin superfamilyに属するが、その機能は良くわかつていらない。他のmemberには、classical cadherinsやdesmosomal cadherinsがある。Adherens junction(tight junctionの下)の構成成分であり、細胞同士を接着させることによって、組織形成において重要な役割を果たす。

C型ライノウイルス受容体の発見前に、CDHR3の遺伝子変異は、幼児期喘息における重度な増悪と関連すると報告されていた¹²⁾。CDHR3の遺伝子変異があると、CDHR3の細胞表面の発現が亢進する^{11, 12)}。前述のように、CDHR3は、C型ライノウイルスの受容体であるが、遺伝子変異があると、受容体の発現が亢進し、C型ライノウイルスの接着及び複製能が約10倍増強する¹¹⁾。すなわち

CDHR3の遺伝子変異がある小児では、重篤な病態を引き起こすとされるC型ライノウイルスに感染しやすく、その結果、重度な喘息増悪を引き起こしやすくなることが考えられる。

さらに近年では、CDHR3の遺伝子変異は、若年成人喘息(アトピー型かつ呼吸機能低下型)¹³⁾や、慢性副鼻腔炎¹⁴⁾の発症に関連することが報告されている。CDHR3自体が好酸球性炎症の誘導に関与する可能性もあるが、これらの知見は、好酸球性気道疾患の発症に、C型ライノウイルスが関与する可能性を強く示唆するものである。

文 献

- 1) GERN JE : J Virol 84 : 7418~7426, 2010
- 2) WARK PA, et al. : J Exp Med 201 : 937~947, 2005
- 3) CONTOLI M, et al. : Nat Med 12 : 1023~1026, 2006
- 4) GILL MA, et al. : J Immunol 184 : 5999~6006, 2010
- 5) KANTOR DB, et al. : J Allergy Clin Immunol 138 : 1467~1471, 2016
- 6) BIZZINTINO J, et al. : Eur Respir J 37 : 1037~1042, 2011
- 7) LEE WM, et al. : Am J Respir Crit Care Med 186 : 886~891, 2012
- 8) BOCHKOV YA, et al. : Nat Med 17 : 627~632, 2011
- 9) ASHRAF S, et al. : Virology 436 : 143~149, 2013
- 10) NAKAGOME K, et al. : J Allergy Clin Immunol 134 : 332~341, 2014
- 11) BOCHKOV YA, et al. : Proc Natl Acad Sci USA 112 : 5485~5490, 2015
- 12) BONNELYKKE K, et al. : Nat Genet 46 : 51~55, 2014
- 13) KANAZAWA J, et al. : Allergol Int 2017 (in press).
- 14) CHANG EH, et al. : J Allergy Clin Immunol 2016 (in press).

教育講演 2

ErythromycinとAcetylcysteineの投与による間質性肺炎合併肺癌の周術期管理について

田中明彦

はじめに

特発性間質性肺炎および他の病型の間質性肺炎において最も重要な病態は、急性増悪であり、特発性間質性肺炎では死亡の原因の40%（第1位）を占めている。両肺野に新たな肺浸潤影（スリガラス）が出現し、急速に呼吸不全が進行する。手術、放射線治療、薬剤やBALなど種々の誘因が指摘されているが、一旦、発症するとどんな治療を行っても死亡率は40%を下らない¹⁾。

我々は、1992年に間質性肺炎合併肺癌症例に対する右肺下葉切除術術後に間質性肺炎の急性増悪にて同症例を失った。そのため、周術期の管理に工夫を加え、1998年から2016年までの間質性肺炎合併肺がん症例の手術において連続40例に急性増悪を起さず安全に手術を施行できた。

対 象

1998年から2016年までに当科において間質性肺炎合併肺癌に対して切除手術を施行した40例。男性38名。女性2名。年齢は、平均69.9±11.9歳。（61～85歳）

当科における間質性肺炎症例の肺切除手術周術期マニュアル

（炎症性サイトカインの分泌抑制を目的とした）

1. 術中、術後の動脈血酸素分圧を100mmHg以下に保つ。
2. 術前後、少なくともそれぞれ1週間以上の14員環マクロライドであるClarithromycin 400mg/dayまたはErythromycin 300mg/dayの内服とTocopherol acetateの内服。
3. N-acetylcysteineの吸入を術前後1週間以上継続する。
4. プレドニン非投与例では、新たな投与は行わない。
プレドニン既投与例では、手術日のみ倍量を投与した。

結 果

術前合併症と既往歴を表1.に、術前CRP、WBC、LDH、KL-6、SP-D値を表2.にまとめた。CRPでは、術前に高値を示した症例はなかった。間質性肺炎のマーカーであるKL-6とSP-D値の平均は高かった。術前呼吸機能と重症度を表3.に、手術内容を表4.に示した。肺葉切除が26例

表1. 肺癌症例40例の術前合併症と既往

糖尿病	17例
肺気腫	13例
脳疾患	6例
腎機能低下	4例
膠原病	3例
虚血性心疾患	8例（ACバイパス3例、冠動脈ステント2例）
他部位がん	12例（胃がん4例、腎がん4例、大腸がん2例、前立腺がん2例）

表2. 肺癌症例40例の術前検査値

術前検査値	平均士標準偏差 (最小～最大)	単位	正常値
CRP	0.40 ± 0.65 (0.1~1.09)		<0.1
WBC	7030±2180 (3300~12800)		
LDH	221 ± 37 (146~354)	IU/L	<229
KL-6	872 ± 416 (270~1880)	U/ml	<500
SP-D	169 ± 102 (36~565)	U/ml	<110

表3. 肺癌症例40例の術前呼吸機能と重症度

術前検査値	平均士標準偏差(最小～最大)	単位
%VC	98.5±15.6 (72.0~131.5)	%
FEV1.0%G	75.4±8.2 (58.4~94.6)	%
PaO ₂	84.3±11.5 (68.8~115.0) mmHg (room air)	
重症度		
I 度	22例	
II 度	13例	
III 度	1例 (安静時PaO ₂ <70mmHg)	
IV 度	0例	
術前酸素療法	0例	
術前プレドニン内服	7例 8.0 ± 4.0 mg (5~15mg)	
術前の急性増悪の既往	0例	

表4. 肺癌症例40例の手術所見

腋窩小開胸	35例
後側方開胸	1例
Complete VATS	4例
肺葉切除	26例 (1葉24例, 1葉+区切 1例, 2葉 1例)
区域切除	6例
部分切除	8例
手術時間	195±74 min (77~420min)
出血量	147±99ml (12~424ml)

と最も多かった。術後合併症を表5に表示したが重篤な合併症を認めず、術後30日以内の急性増悪もなかった。全例が自宅や紹介病院に退院できた。

KL-6値を術前(エリスロシン、ムコフィリン投与前)と術後2週間において比較した(図1)。手術侵襲が加わったにもかかわらず、術後はKL-6値は有意に低下した。

病理組織型と病理病期を表6に示した。IA

期が14例と最も多かったが、ⅢA期も8例と少な
くはなかった。予後を表7、図2に示した。全体
の5年生存率は、40%であった。

考 察

肺癌手術後の急性増悪を経験したことにより急
性増悪の一因としてサイトカインストームに類似
した病態がおきていると考え、炎症性サイトカイ
ンの分泌抑制を目的として当科の周術期マニュア

表5. 肺癌症例40例の術後合併症

術後気胸遷延（再手術 2例）	
術後出血	（再手術 1例）
創感染	0例
乳び胸	0例
術翌日までの気管内挿管人工呼吸	0例
術後 3カ月以内の急性増悪	0例

図1. 肺癌症例の術前、術後2週目のKL-6値

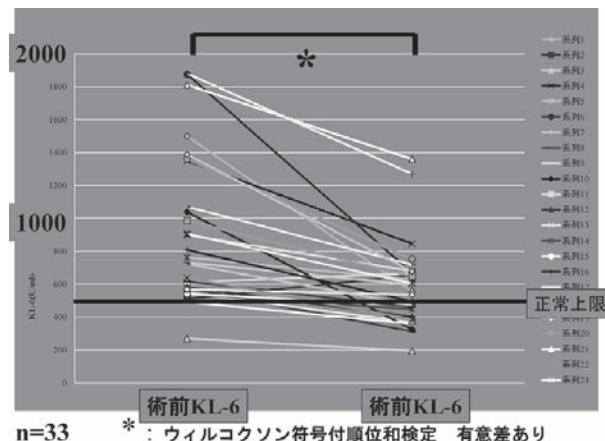


表6. 肺癌症例40例の病理組織と病理病期

病理組織		病理病期(Ver.7)
扁平上皮癌	25例	I A 14例
腺癌	9例	I B 8例
腺扁平上皮癌	1例	II A 9例
小細胞癌	3例	II B 1例
Larg cell neuro. pleomorphic	1例 1例	III A 8例

ルを作成した^{2,3)}。

まず、術中、術後の動脈血酸素分圧を100 mmHg以下に保つこととしたが、これは酸素ラヂカルによる組織障害予防を目的としたものである。吸入酸素濃度自体の抑制が望ましいが、実際の手術においては、SpO₂を維持しなければならず、吸入酸素濃度を制限することは、現実的ではない。肺の毛細血管は、体内の臓器の中で最も多く、酸素ラヂカルの影響を非常に受けやすい。術

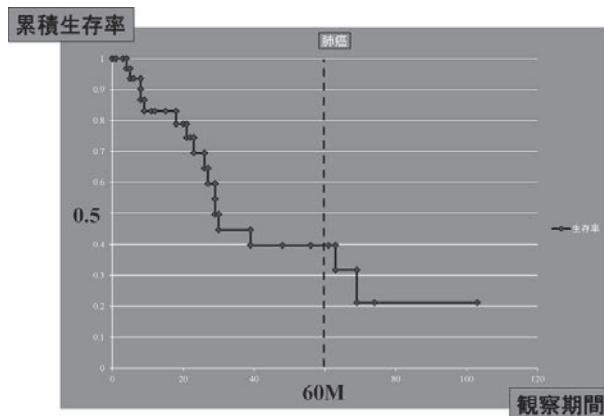
中、術後の血中酸素分圧を低めに保ち、酸素ラヂカルの上昇を抑制することは、肺の血管内皮細胞の保護につながると考えている。

14員環マクロライドには、炎症性サイトカイン抑制作用等があり、 α -Tocopherol acetate(Vitamin E)は、抗酸化作用を有する代表的薬剤であるため、炎症の抑制効果が期待できる。上記2剤は、特発性肺線維症のガイドライン2017において引用された⁴⁾。

表7. 肺癌症例40例の予後

16例が死亡	
死因 : 肺癌死	12例
他癌死	1例
呼吸器疾患	2例 (術後5月, 2年5月)
心疾患	1例
現在、無再発生存	19例
観察打ち切り	5例

図2. 生存率Kaplan-Meier



N-acetylcysteineは、グルタチオンの前駆物質であり、抗酸化作用を有するとともに、直接的に活性酸素のスキャベンジャーとして作用する。さらに炎症性サイトカインの産生を抑制することで、抗線維化作用も期待できる。

14員環マクロライドは、間質性肺炎の線維化予防薬としては認められていないが、炎症性急性増悪の予防効果については、再検討してもよいかと思われた。実際、肺炎の急性増悪発症時にマクロライドを使用している施設も多い^{5,6)}。

間質性肺炎の急性増悪を予防するためにPirfenidoneやNintedanib、好中球エラスター阻害剤(Sivelestat sodium hydrate)を用いた周術期投薬も考えられるが、標準投与量におけるそれぞれの1日薬価(円)は、4174, 13149, 6216と非常に高価であり、副作用による離脱例もしばしば認められる。

我々の間質性肺炎手術における周術期マニュアル

においては、使用薬剤すべてを合算した薬価(円)は、1日162と桁違いに廉価であった。副作用もほとんどなく、投与打ち切りが可能で終了によるリバウンドや増悪も認められないことが特長であり、全症例が離脱することなく、マニュアル通りの治療を完遂できた。

結語

間質性肺炎合併肺癌症例に対して周術期マニュアルを作成し、肺切除手術を行い連続40例において術後の急性増悪の発症を認めなかった。マニュアルにおける14員環マクロライドとN-acetylcysteineの吸入の連携は急性増悪の発症の予防に有効であったと考える。

参考文献

- 佐藤寿彦、他：厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服事業、びまん性肺疾患に関する調査研究平成

24年度研究報告書：79～85, 2013

- 2) 田中明彦, 大澤久慶ほか：間質性肺炎合併肺癌例の術後急性増悪に対する有効な予防法。胸部外科 58 : 41～45, 2005
- 3) 大澤久慶, 田中明彦, 前川功二ほか：間質性肺炎を合併した肺手術症例の周術期管理。胸部外科 56 : 381～384, 2003
- 4) 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患政策研究事業「びまん性肺疾患に関する調査研究」班 特発性肺線維症の治療ガイドライン作成委員会。特発性肺線維

症の治療ガイドライン2017 : 35～37, 2017

- 5) WALKEY AJ, *et al.* : Macrolide antibiotics and survival in patients with acute lung injury. Chest 141 : 1153～9, 2012
- 6) KAWAMURA K, *et al.* : Efficacy of azithromycin for treatment of acute exacerbation of chronic fibrosing interstitial pneumonia:a prospective, open-label study with historical controls. Respiration 87 : 478～84, 2014

コーヒーブレイクセミナー 1

マイコプラズマ肺炎の発症メカニズムとその制御

田口晴彦

はじめに

マイコプラズマ肺炎を惹起する*Mycoplasma pneumoniae*の大きさは、0.1~5 μmで、ペプチドグリカンを持たないことから多形性を示す。また、本菌はPPLO培地を用いて培養可能であり、「人工培地に培養可能な最も小さい微生物」と言われている。ヒトから分離される*Mycoplasma*の内、病原性が確認されているものは*M. pneumoniae*のみである。

マイコプラズマ肺炎は、倦怠感・頭痛・発熱など感冒様の症状をもって発症し、約1ヶ月にも及ぶ咳嗽が続く¹⁾。また、当該疾患の発症に至っても自覚症状に重症感が乏しく、walking pneumoniaと称されることもある。組織・病理学的には、気管支周囲への単球・好中球・形質細胞を主とする細胞浸潤と、気管支上皮細胞の剥離・脱落を伴う気管支炎や胞隔炎であり、いわゆる非定型肺炎と診断される。多くのケースで予後良好であるが、時として急性呼吸促迫症候群・スティープンジョンソン症候群・ギランバレー症候群・自己免疫性溶血性貧血・細胞性免疫抑制等を呈する場合もある²⁾。

本稿では、マイコプラズマ肺炎の発症メカニズムを考察し、マイコプラズマ肺炎の第一選択剤であるマクロライド系抗菌薬の有効性について考える。

1. *M. pneumoniae*の病原因子

マイコプラズマ肺炎を惹起する*M. pneumoniae*の病原因子は、菌の増殖と代謝の過程で產生される過酸化水素³⁾、CARDS Toxin⁴⁾等が報告されている。しかし、それらは前述した病態形成の直接的要因となるものではない。そのため、感染に伴

う宿主免疫応答が病態形成に大きく関与していると考えられている⁵⁾。

宿主免疫反応において気管支周囲への炎症細胞浸潤を誘導するサイトカインには主にIL-8(CXCL8)があり、マイコプラズマ肺炎の病態形成にIL-8が大きく関与していると考えられる。すなわち、気道粘膜および上皮細胞表面における*M. pneumoniae*の増殖は、肺胞マクロファージや上皮細胞からIL-8を放出させ、IL-8はケモカインとして好中球を感染局所へ動員して炎症を拡大させると考えられる。

2. IL-8産生メカニズムと病態形成

*M. pneumoniae*感染におけるIL-8産生メカニズムとして、肺胞マクロファージがTLR1, 2および6を介して菌を認識し、その結果、転写因子が活性化されてIL-8を产生する経路がある⁶⁾。また、マクロファージは同時に炎症性サイトカインを產生し、產生された炎症性サイトカインが上皮細胞に作用してIL-8を誘導する経路も存在する。さらに、上皮細胞を*M. pneumoniae*菌体抗原が刺激することでepidermal growth factor receptor (EGFR)シグナル伝達経路を介してIL-8が产生される⁷⁾。従来、EGFRは上皮細胞の増殖、生存、遊走、分化といった機能に関するシグナル伝達を担う受容体であるが、*M. pneumoniae*抗原の刺激はマトリックスメタロプロテアーゼを誘導し、上皮細胞の細胞膜上にプロリガンドとして存在しているEpiregulinを放出させオートクラインあるいはパラクラインでEGFRを活性化する。その結果、上皮細胞からのIL-8産生が増強される。

このように、*M. pneumoniae*感染は、当該菌が気道粘膜および上皮細胞表面において増殖するこ

とで上皮細胞からのIL-8を強く放出させ、好中球を感染局所へ動員してマイコプラズマ肺炎を惹起する。

3. 肺胞上皮細胞のIL-8産生性に及ぼす各種抗マイコプラズマ薬の影響

マイコプラズマ肺炎の治療には、マクロライド系抗菌薬、テトラサイクリン系抗菌薬、ニューキノロン系抗菌薬が使用される。

我々は、*M. pneumoniae*菌体抗原刺激によりヒトII型肺胞上皮培養細胞(A549培養細胞)から産生されるIL-8量に及ぼすクラリスロマイシン、ミノマイシン、シプロフロキサシンの影響を検討した⁸⁾。その結果、マクロライド系抗菌薬の一つであるクラリスロマイシンは、A549培養細胞から産生されるIL-8量を薬剤濃度依存的に抑制することが明らかになった。この結果は、クラリスロマイシンの抗菌活性に非依存的なimmunomodulation活性が存在することを明確にしたものであり、先に述べたマイコプラズマ肺炎の病態形成メカニズムに対する有効性を示すものである。

4. マクロライド耐性*M. pneumoniae*の現況

マクロライド系抗菌薬は、①安全性、②血中濃度の維持性、③組織親和性の高さからマイコプラズマ肺炎の第一選択剤として、日本呼吸器病学会、日本マクロライド学会、および日本マイコプラズマ学会より推奨されている。しかし、2000年以降、臨床分離*M. pneumoniae*に占めるマクロライド耐性菌の検出頻度が高くなり、2011年～2013年のマイコプラズマ肺炎の流行要因は、当該疾患の第一選択剤であるマクロライド系抗菌薬の耐性菌によるものであるとの指摘もされた⁹⁾。

一方、河野¹⁰⁾らは「成人肺炎マイコプラズマ感染症に対するクラリスロマイシンの有効性の検討」と題した特定使用成績調査を実施し、リクルートされた31名すべてで臨床症状の改善が見られ、また副作用も認められなかつたと報告している。また、2016年、日本マイコプラズマ学会より発行された「Guiding principle for treating *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia」¹¹⁾では、2011年から2013年にかけて分離された*M. pneumoniae*に占め

るマクロライド耐性*M. pneumoniae*は67%～90%と高かったが、2015年度に分離されたそれは41%～71%と低くなっていることを示している。さらに、2013年～2015年の間に大阪府で分離されたマクロライド耐性*M. pneumoniae*のP1遺伝子型に関する報告¹²⁾では、マクロライド耐性*M. pneumoniae*の検出率の低下はP1遺伝子型の変化によるものであり、流行菌の変化が認められることを示している。

まとめ

マイコプラズマ肺炎は、組織病理学的には気管支周囲への単球・好中球・形質細胞を主とする細胞浸潤と、気管支上皮細胞の剥離・脱落を伴う気管支炎や胞隔炎であり、いわゆる非定型肺炎である。気管支周囲への炎症細胞浸潤を誘導するサイトカインにはIL-8(CXCL8)があり、マイコプラズマ肺炎の発症病理にもIL-8が大きく関与していると考えられる。

近年、14員環マクロライドは抗菌活性の他、サイトカイン産生性に影響を及ぼすこと、好中球機能に影響を及ぼすことが注目されている。今回、我々は抗菌活性に非依存的な薬剤効果を期待しA549培養細胞より誘導されるIL-8産生に及ぼす各種抗マイコプラズマ薬の影響を検討した。その結果、クラリスロマイシンはA549培養細胞からのIL-8産生を濃度依存的に抑制した。この結果は、マイコプラズマ肺炎の発症病理に対する有効性を示すものであると考えられた。

これまで感染症に使用される抗菌薬については、主に病原体に対する抗菌活性が語られてきた。しかし近年、抗菌薬の中には抗菌活性とは別に、宿主免疫応答への作用が明らかにされるようになっている。マイコプラズマ肺炎は、その発症病理に宿主免疫応答が関与しており、マクロライド系抗菌薬の当該感染症への有効性が再確認された。

引用文献

- 1) 泉川欣一：マイコプラズマ肺炎、日本臨床 61(S2) : 536～541, 2003
- 2) 成田光生：肺炎マイコプラズマ感染症における合併

- 症の発症機序, 日本マイコプラズマ学会雑誌 23 : 15~24, 1997
- 3) TRYON VV and BASEMAN JB : Pathogenic determinants and mechanisms. In *Mycoplasmas* (ed by Maniloff J *et al.*) : 457~471, American Society for Microbiology, Washington DC, 1992.
- 4) KANNAN TR and BASEMAN JB : ADP-ribosylating and vacuolating cytotoxin of *Mycoplasma pneumoniae* represents unique virulence determinant among bacterial pathogens. Proc Natl Acad Sci USA 103 : 6724~6729, 2006
- 5) 田口晴彦, 神谷 茂 : マイコプラズマの病原因子, 日本臨床 65(S2) : 454~457, 2007
- 6) SHIMIZU T, KIDA Y, and KUWANO K : A dipalmitoylated lipoprotein from *Mycoplasma pneumoniae* activates NF- κ B through TLR1, TLR2, and TLR6. J Immunol 175 : 4641~4646, 2005
- 7) ARAE K, HIRATA M, KURATA S, KAMIYA S, and TAGUCHI H : *Mycoplasma pneumoniae* induces interleukin-8 production via the epidermal growth factor receptor pathway. Microbiol Immunol 55 : 748~750, 2011
- 8) 田口晴彦, 蔵田 訓, 神谷 茂 : マイコプラズマ肺炎における宿主免疫応答の重要性, 診療と新薬 47 : 3~10, 2010
- 9) 生方公子, 諸角美由紀, 岩田 敏 : 小児におけるマクロライド高度耐性・肺炎マイコプラズマの大流行, 国立感染症研究所病原微生物検出情報 32 : 337~339, 2011
- 10) 河野 茂, 門田淳一, 田中裕士, 宮下修行, 松瀬厚人, 泉川公一, 尾内一信 : 成人肺炎マイコプラズマ感染症に対するクラリスロマイシンの有効性の検討, 日本呼吸器学会誌 5 : 64~70, 2016
- 11) KOHNO S, ISHIDA T, IZUMIKAWA K, IWATA S, KADOTA J, TANAKA H, NARITA M, MIYASHITA N, and WATANABE H : Guiding principles for treating *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. The Committee of Japanese Society of Mycoplasmology, 2016.
- 12) 水谷香代子, 石鍋美智子, 勝川千尋, 浅井定三郎, 関府寺美, 梶 勝史, 塩見庄司, 櫛引千恵子, 中篤子, 松下 享, 中野景司, 武田義廣, 荒井和子, 高橋和郎 : 大阪府におけるマクロライド耐性肺炎マイコプラズマの検出率の低下傾向, 国立感染症研究所病原微生物検出情報 37 : 183~184, 2016

ミニシンポジウム 1

クラリスロマイシンにより誘導される CD11b⁺Gr-1⁺細胞の誘導機序に関する検討

石井 誠

マクロライド系抗菌薬は、その抗菌作用に加え、菌への修飾作用と、宿主側への免疫調整作用や抗炎症作用が知られている。演者らはマウスを用いた検討で、マクロライド系抗菌薬クラリスロマイシン(CAM)が宿主免疫系に与える作用を検討した。マクロライド投与により免疫抑制性細胞集団であるCD11b⁺Gr-1⁺細胞が増加することを見いだしている。LPSショックモデル、さらにインフルエンザ感染後2次性肺炎球菌(マクロライド耐性菌)性肺炎において、マクロライドは保護的効果があり、その保護的効果にこのCD11b⁺Gr-1⁺細胞集団が重要な役割を果たしていることを示している。今回このCD11b⁺Gr-1⁺細胞の誘導機序を検討した。

CAMにより誘導されるマウス脾臓のCD11b⁺Gr-1⁺細胞をマイクロアレイにて網羅的遺伝子解析を行った。対照群に比べCAM投与群において上昇している遺伝子の中から、約12倍上昇するBv8/Prok2に着目した。Bv8/Prok2は血管新生促進ペプチドで、骨髄系細胞の組織への動員に関わっており、CAMによるCD11b⁺Gr-1⁺細胞の誘導に寄与している可能性があると仮定して検討した。Bv8抗体の投与によりCAMにより誘導されるCD11b⁺Gr-1⁺細胞は減少した。またSTAT3コンディショナルマウスを用いた検討ではBv8の発現が有意に減少しており、CAMによるCD11b⁺Gr-1⁺細胞の誘導に、STAT3依存性のBv8/Prok2発現が寄与している可能性が示唆された。

ミニシンポジウム 1

Poly(I:C)刺激によるIL-8の産生およびPAF受容体の発現とマクロライドの効果

原田みずえ 地村友宏 川畠雅樹 黒野祐一

【背景】

気道上皮細胞は、細菌・ウイルス・真菌感染、酸化ストレスなど、さまざまな刺激に曝されている。なかでも鼻粘膜上皮細胞に、肺炎球菌やインフルエンザ菌が付着することにより、副鼻腔炎が発症するが、これはウイルス感染に伴って二次的に発症することも多い。

ウイルス由来の二本鎖RNAであるPoly(I:C)で鼻粘膜細胞を刺激すると、炎症性サイトカインであるIL-8の産生が亢進することも報告されている¹⁾。また、当教室からは、Detroit細胞を用いた実験で、Poly(I:C)刺激により、PAF受容体の発現が亢進し、肺炎球菌の接着が亢進することを報告した²⁾。

そこで今回我々は、ウイルス感染のモデルとしてPoly(I:C)を刺激として用い、鼻粘膜上皮細胞から産生・発現されるIL-8およびPAF受容体に対する、クラリスロマイシンの効果について、検討した。

【目的】

- Poly(I:C)を刺激として用い、
 - ① 鼻粘膜上皮細胞からIL-8が産生されるかどうか、
 - ② 鼻粘膜上皮細胞にPAF受容体が発現するかどうか、
 - ③ マクロライドにより、IL-8の産生およびPAF受容体の発現は抑制されるか、
- 検討行った。

【材料と方法 1】

ヒト鼻粘膜上皮細胞を培養し、Poly(I:C)の濃度を0.1, 1, 20μg/mlとふって、24時間加え続け、

12時間後のIL-8およびPAF受容体のmRNAをRT-PCR法で、24時間後の上清液中のIL-8を、ELISA法で測定した。

【結果 1】

1-① IL-8の産生は、Poly(I:C)いずれの濃度でも有意に亢進し、Poly(I:C) 1 μg/ml刺激で最高になった(図1)。

1-② IL-8の発現は、IL-8の産生と同様に、有意に亢進し、Poly(I:C) 1 μg/ml刺激で最高になった(図2)。

1-③ PAF受容体の発現は、IL-8と同様に、有意に亢進し、Poly(I:C) 20μg/mlの刺激で最高になった(図3)。

【材料と方法 2】

ヒト鼻粘膜上皮細胞を培養し、Poly(I:C)刺激を1時間だけ行った後、24時間後の上清液中のIL-8をELISA法で測定した。

【結果 2】

Poly(I:C) 20μg/mlで24時間刺激し続けた時に比べ、1時間だけ刺激した場合の方がIL-8の産生は高くなり、Poly(I:C) 1 μg/mlで24時間刺激した時と同等程度に高くなった(図4)。

【材料と方法 3】

ヒト鼻粘膜上皮細胞を培養し、クラリスロマイシン(CAM)を前処置として24時間加え、Poly(I:C)刺激を1時間だけ行い、さらに、CAMを後処置として24時間加え、12時間後のIL-8およびPAF受容体のmRNAをRT-PCRで、24時間後の上清液中のIL-8をELISA法で測定した。

図1. Poly(I : C)刺激によるIL-8の産生 ELISA (n = 6)

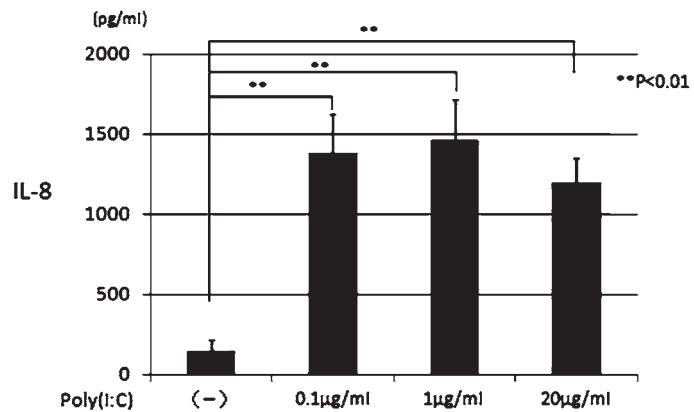


図2. Poly(I : C)刺激によるIL-8の発現 RT-PCR (n = 6)

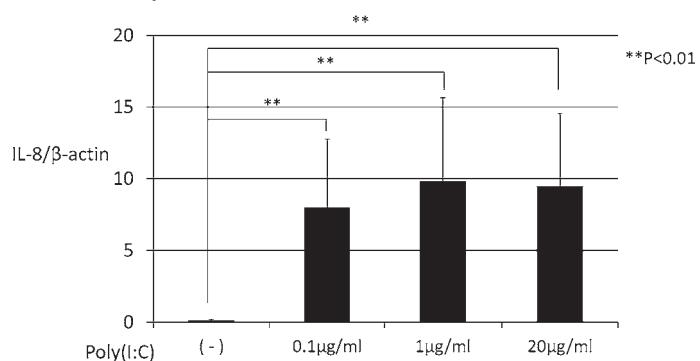


図3. Poly(I : C)刺激によるPAF受容体の発現 RT-PCR (n = 6)

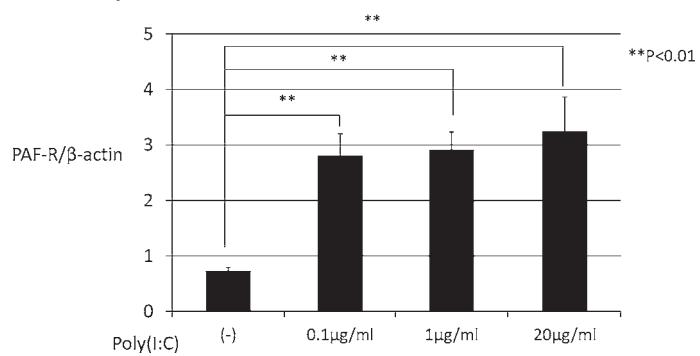


図4. Poly(I:C)刺激濃度と時間別IL-8の产生 ELISA(n=6)

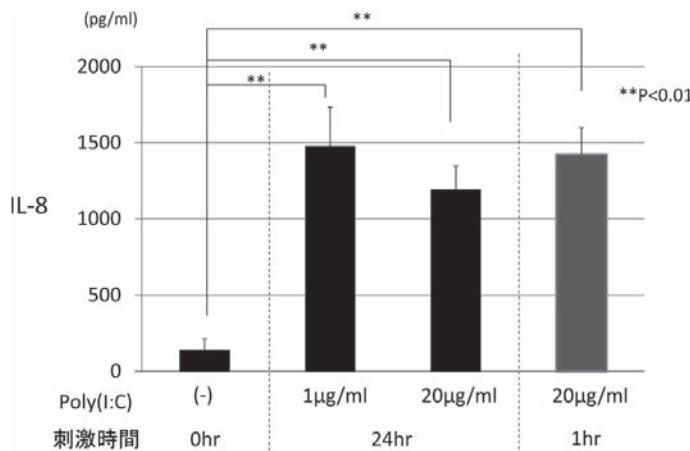
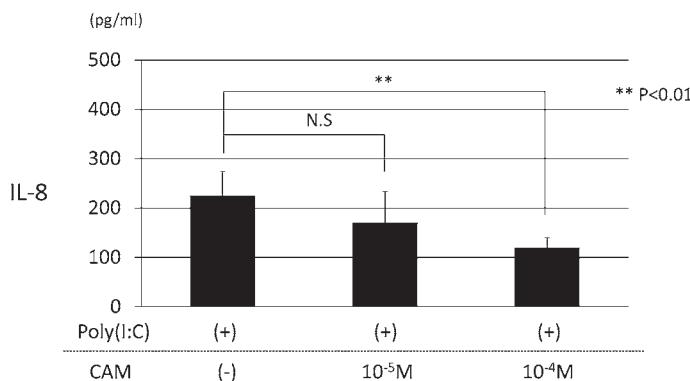


図5. CAMによるIL-8の产生抑制 ELISA(n=4)



【結果3】

3-① IL-8の产生は、CAM 10^{-5} Mでは、有意差はないものの、抑制傾向を認め、CAM 10^{-4} Mで有意に抑制された(図5)。

3-② IL-8の発現は、有意差はないものの、抑制傾向を認めた(図6)。

3-③ PAF受容体の発現は、CAM 10^{-5} Mでは、有意差はないものの、抑制傾向を認め、CAM 10^{-4} Mで有意に抑制された(図7)。

【考 察】

鼻粘膜細胞をPoly(I:C)で刺激すると、エンドソームに発現している受容体TLR3を介し、NF- κ Bが活性化され、IL-8の产生が亢進するこ

とが報告されている¹⁾。PAF受容体の発現についても、PAF受容体の遺伝子の転写は転写因子であるNF- κ Bにより調整されていると報告されている^{3,4)}。

CAMはNF- κ Bの転写を抑制することも知られていることから、今回の検討では、NF- κ Bの抑制効果までは検討できていないが、CAMがNF- κ Bに作用し、IL-8の产生は抑制され、PAFレセプターの発現も抑制されたのではないかと予想された。

【まとめ】

IL-8は、ヒト鼻粘膜上皮細胞から產生され、マクロライドで抑制効果を認めた。

図6. CAMによるIL-8の発現抑制 RT-PCR(n = 4)

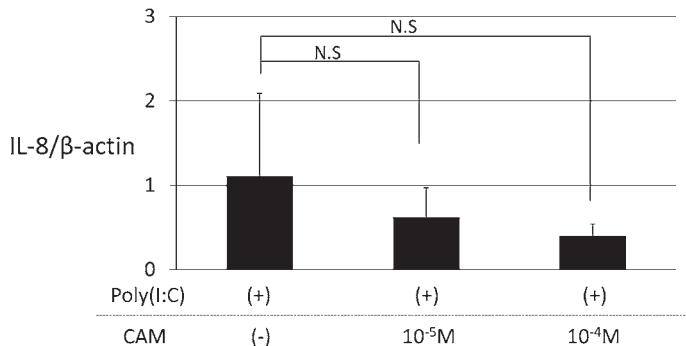
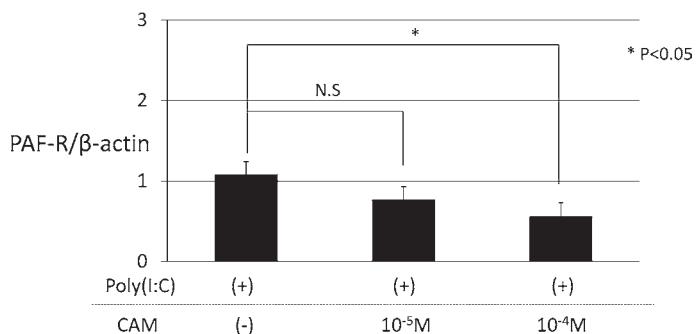


図7. CAMによるPAF受容体の発現抑制 RT-PCR(n = 4)



PAF受容体もヒト鼻粘膜上皮細胞に発現を認め、マクロライドで抑制効果を認めた。

のことから、ウイルス感染に伴って二次的に起きる副鼻腔炎についても、マクロライドは効果を発揮することが期待できるのではないかと思われた。

【参考文献】

- 1) OHKUNI T, KOJIMA T, OGASAWARA N, et al. Poly(I:C) reduces expression of JAM-A and induces secretion of IL-8 and TNF- α via distinct NF- κ B pathways in human nasal epithelial cells. Toxicol Appl Pharmacol 250 : 29~38, 2011
- 2) KAWABATA M, KURONO Y. Polyinosine-polycytidyl acid enhances cellular adherence of *Streptococcus pneumoniae*. The Laryngoscope 121 : 2443~2448, 2011
- 3) MUTOH H, ISHII S, IZUMI T, et al. Platelet activating factor (PAF) positively auto-regulates the expression of human PAF receptor transcript 1(leukocyte-type) through NF- κ B. Biochem Biophys Res Co 205 : 1137~1142, 1994
- 4) SHIMIZU T, MUTOH H. Structure and regulation of platelet activating factor receptor gene. Adv Exp Med Biol 407 : 197~204, 1997

ミニシンポジウム 1

議論総括

慶長直人¹⁾ 廣瀬友靖²⁾

ミニシンポジウム 1 ではマクロライドの作用機序に関する研究報告が行われ、その座長を担当しました。

一題目は、大分大学医学部呼吸器感染症内科学講座の小宮幸作先生からクラリスロマイシンによるヒト肺線維芽細胞においてペリオスチンを含むIL-13誘導性の遺伝子発現の影響を評価した報告である。IL-13はヒト肺線維芽細胞において細胞外マトリックス蛋白の一種であるペリオスチンの産生亢進がアレルギーの増悪化に重要な役割を果たす。クラリスロマイシンはその遺伝子発現を抑制することでペリオスチン産生を低下させる。この抑制作用は14員環マクロライドの中ではエリスロマイシンに比べクラリスロマイシンの方が効果は強く、16員環マクロライドやβ-ラクタム剤ではその効果が見られない。そしてクラリスロマイシンはSTAT6のリン酸化を制御することでその抑制効果を示す機序が考察された。今後、クラリスロマイシンのより詳細な作用機序が明らかになることが期待される。

二題目は、慶應義塾大学医学部呼吸器内科の石井誠先生からクラリスロマイシンにより誘導されるCD11b⁺Gr-1⁺細胞の誘導機序に関する検討結果の報告である。石井誠先生の研究グループでは14員環マクロライドであるクラリスロマイシンの投与により免疫調節作用を有するCD11b⁺Gr-1⁺細胞が誘導されることを見出している。今回、CD11b⁺Gr-1⁺細胞誘導の作用機序を裏付ける新たなデータが示されたことは、マクロライド剤が

持つ宿主免疫系への多様な作用における一効果として大変興味が持たれる。

三題目は、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科学の原田みづえ先生からウイルス感染モデルとしてPoly(I : C)刺激によるIL-8およびPAF受容体発現に対するマクロライドの効果の報告があった。ウイルス感染に伴い、鼻粘膜上皮細胞に細菌感染がおこり、二次的に副鼻腔炎が発症する事が多いが、そのモデルとしてPoly(I : C)刺激により產生されるIL-8と鼻粘膜上皮細胞に発現するPAF受容体発現へのマクロライドの効果が検証された。前年に報告したマクロライドのMUC1発現亢進とは異なる機序での抗炎症効果の検証であり、今後の更なる研究の進展が期待される。

四題目では、和歌山県立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室の保富宗城先生から肺炎球菌のフェーズ変化に及ぼすクラリスロマイシンの効果の報告であった。肺炎球菌は莢膜の形成により莢膜の薄い(低形成)Transparent型と莢膜の厚い(高形成)Opaque型に変化することが知られているが、本報告では肺炎球菌が上皮細胞に定着する機序を可視化するとともに、クラリスロマイシンが肺炎球菌の莢膜産生を抑制しOpaque型への変化を阻害することで、宿主側での免疫学的排除機構を受けやすくなることが明確に示された。本結果はクラリスロマイシンの新たな作用機序であり、大変有用な発表と位置づけられる。

¹⁾公益財団法人結核予防会結核研究所, ²⁾北里大学北里生命科学研究所

シンポジウム1 「マクロライドの新展開I」

好中球性気道炎症による難治性気管支喘息： (およびACOS「気管支喘息-COPDオーバーラップ症候群」 に対する治療も含めて)

渡辺雅人 滝澤 始

好中球性喘息は、喀痰の好中球增多を特徴とし、重症喘息、ステロイド抵抗性、慢性気流制限、急性増悪と関連する。喀痰は喘息患者の約半数からしか採取できない点が、好中球性喘息を診断する上で問題である。一方、血液中の好中球增多も喘息増悪の危険因子として報告されている。我々の解析(N=142)でも、血液中の好中球增多を伴う患者では、喘息増悪のリスクが高かった。そこで、我々は、血液検査を用いた好中球性喘息の診断基準案を提唱した(表1)。

我々は喘息のバイオマーカーとしてsST2に着目している。sST2は、IL-33の可溶性受容体である。IL-33は、気管支上皮細胞が壊死した時に放出されるアラーミンで、Th2サイトカインとして働くことが知られている。近年、IL-33は、好中球性気道炎症にも関与することがわかつてきた。よって、sST2/IL-33バランスは、喘息の好中球・好酸球性炎症のバランス制御に関与すると考えられる。sST2は血液中に高濃度に存在し、容易に

測定できるためバイオマーカーとしての価値が高い。104名の喘息患者で血液中のsST2濃度を測定すると、血清sST2値が高い患者は、3ヶ月以内に増悪するリスクが高かった。また、sST2と血液中の好中球数を組み合わせた臨床スコアを考案し、非常に高い精度で増悪患者を予測することが出来た。

気管支上皮細胞でのsST2産生のメカニズムを解析するために、BEAS-2B細胞を用いたバイオアッセイを行った。BEAS-2B細胞は無刺激でもsST2を産生し、TNF- α 、IL-1 β 、Toll-like受容体刺激でsST2産生が亢進し、IFN- γ はsST2産生を抑制した。また、Si-RNAでNF κ B、MAPK p38をノックダウンすると、sST2の産生は抑制された。よって、気管支上皮細胞は、感染や炎症刺激でNF κ B、MAPK p38を介してsST2産生する(図1)。

我々は、好中球性喘息の新たな治療戦略として、マクロライド治療を計画している。我々が提唱し

表1. 血液検査を用いた好中球性喘息の診断基準案

	Cut off
WBC	8500 / μ l 以上
Neutrophil	6073 / μ l 以上
Eosinophil	93 / μ l 以下
IL-6	1.19 pg/ml 以上
血清H0 2 2	369.5 U.CARR 以上

Title :

図1. 気管支上皮細胞のsST2産生メカニズムと生体内での意義

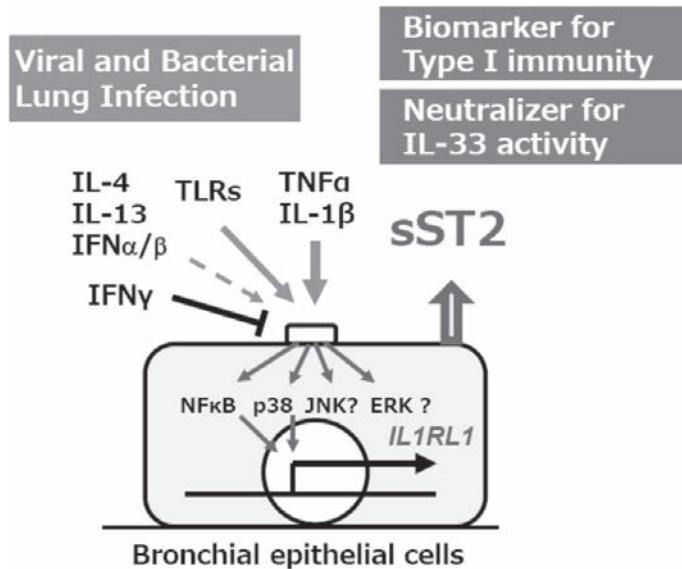


図2. 好中球性喘息におけるマクロライド治療の臨床試験プロトコール

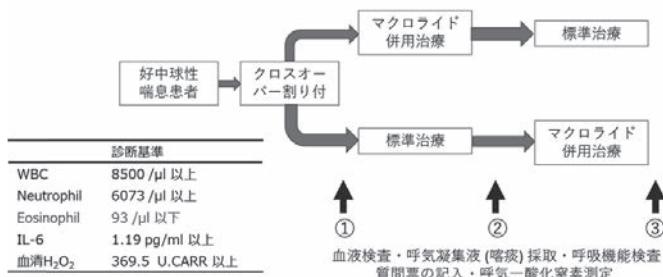
主要評価項目: 喘息の増悪（入院・救急外来受診を要する）

治療計画:

マクロライド併用治療と標準治療を3ヶ月ずつ行う（クロスオーバー割り付け）。

マクロライド併用治療：喘息の標準治療 + クラリス[®] 200mg (1日1回朝食後)。

← 3か月間 ← 3か月間 →



た診断基準案で好中球性喘息を診断し、該当患者をリクルートし臨床試験を行うべく、本学の倫理委員会に申請中である。本試験はクロスオーバー割り付けで、マクロライド併用治療（標準的な喘息治療にマクロライドを上乗せ）と標準治療を3ヶ月ずつ行う（図2）。マクロライド治療には、

クラリスロマイシン 1回200mg、1日1回を使用する。

本研究会では、好中球性喘息の臨床的な問題点、我々の診断基準案、新規喘息バイオマーカー sST2を示し、我々が計画するマクロライド治療の臨床試験プロトコールを紹介した。

シンポジウム 1 「マクロライドの新展開 I」

重症肺炎(敗血症性 ARDS)におけるマクロライドの効果

川村宏大 一門和哉 菅守 隆

はじめに

急性肺損傷の動物モデルではマクロライド系薬の有効性を示した報告は複数存在する。しかし実臨床に際し、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)および間質性肺炎の急性増悪に対してマクロライド系薬が有効かを検討した質の高いランダム化比較試験やメタ解析は現時点ではなく、後方視的な研究がいくつか存在するのみである。2012年WALKEYらは、ARDSの臨床試験ネットワークでおこなわれた臨床試験データを利用し、マクロライド系薬のARDSへの有効性の可能性を報告している。それをうけ、当科ではARDSや間質性肺炎急性増悪にたいし、マクロライドを基本とした抗菌薬選択を行っており、その治療成績を報告する。

急性呼吸窮迫症候群(ARDS)

ARDSは、肺炎、誤嚥などの直接的・もしくは敗血症や外傷・熱傷などの間接的な肺損傷によって引き起こされる肺の急性炎症性疾患であり、臨床的には急激な発症の低酸素血症および胸部X線上の両側性の陰影によって特徴づけられる。

ARDSに対する治療として、有効性が証明されたものは肺保護的な呼吸管理のみで、薬物療法で証明されたものではなく、死亡率は重症では30～40%の高い水準で推移している。

ARDSの初期・浸出期は、肺胞への好中球の浸潤を認め、産生される大量のサイトカイン・ケモカインが炎症を持続させ、肺胞上皮、血管内皮の損傷をきたすと考えられており、マクロライド系薬のもつ多彩な免疫修飾作用・抗炎症作用は、ARDSの病態の改善に寄与する可能性がある。

しかし、実臨床でマクロライド系薬のADRSに対する有効性をしめした前向きの臨床試験は現時

点では存在しない。肺炎は、ARDS発症の大きな割合を占める疾患である。肺炎に対するマクロライドの有効性などに未だ議論があるところであるが、超重症例や敗血症を伴うような肺炎でARDSを発症していると考えられるような集団では、マクロライドの有効性を示す報告が複数存在する。しかしいずれの論文もARDSに焦点を当てたものではない。後方視的な研究では、2012年WALKEYらが報告した研究¹⁾がある。Walkeyらは、ARDSの臨床試験ネットワークでおこなわれた臨床試験のデータを利用し、マクロライド系薬のARDSへの有効性を報告している。その報告の後、我々の施設ではマクロライド(Azithromycin)をARDSの症例にはルーチンで使用するようにしている。その前後での治療成績を検討した。症例はARDSへの高分解能CTのバイオマーカーとしての有用性検討のため前向き集積したコホートを用いて検討した。今回の検討では、感染症に起因するARDS(septic ARDS)125症例を対象とし解析した。125症例のseptic ARDSの患者のうち、29症例(23.2%)がARDS診断24時間以内にマクロライドの治療が開始されていた。非調整の生存曲線では、マクロライド治療群が非投与群の上をいくものの、統計学的な有意差はみとめなかった(ログランク検定 $p=0.167$)。しかし、マクロライド投与群・非投与群の背景因子を調整すると、調整後のハザード比は0.38(95%信頼区間0.18-0.79) $P=0.009$ と有意差を認めた。また人工呼吸装着期間についてもマクロライド投与群で優位な短縮をみとめた(修正ハザード比 2.22 95%信頼区間 1.24-3.99 $p=0.007$)²⁾

今回の結果は、ARDSnetworkのデータを用いて検討されたマクロライドの有効性を、再現した結

果となった。しかし、WALKYらの報告も、我々の検討も症例数が限られていることが限界である。今後さらなる症例集積と多施設での検証が必要である。

間質性肺炎の急性増悪

肺線維症を含む慢性線維性間質性肺炎は、慢性かつ進行性の経過をたどり、高度な線維化と肺胞構造の改変をきたす予後不良の疾患である。時に両肺野に新たな陰影の出現とともに急速に呼吸不全が進行する場合があり、“急性増悪”と呼ばれている。既存の間質性肺炎を基礎に、何らかの誘因により引き起こされる急性の肺損傷が本態と考えられている。多くの場合誘因は不明であるが、ステロイドの減量、気管支鏡検査後、手術、薬物などが誘因として報告されている。本邦の後方視的調査では、発症後の生存期間中央値は1.67ヶ月とされている。現在のガイドラインでは、高容量のステロイドが明確なエビデンスはないものの推奨されているが、その他にエビデンスのある治療は現時点では存在しない。

我々は、前述のWALKEYらのARDSに対するマクロライド系薬の有効性の論文をもとに、肺線維症を含めた慢性線維性間質性肺炎急性増悪患者に対するマクロライドの効果の検討をおこなった。以前の急性増悪の定義として“感染症の除外”が求められていたが、非定型肺炎の病原菌などの可能性は完全に否定できないため、我々は急性増悪症例へはこれまで、注射用フルオロキノロン系抗菌薬を使用してきた。その歴史的コホートを対象群として、我々は線維性間質性肺炎急性増悪症例への注射用マクロライド(AZM500mg 5日投与)を投与し効果を検討した³⁾。20例の連続症例を注射用AZMにて治療したところ、フルオロキノロンを用いた歴史的コホートにくらべて、優位差を持って60日時点の生存率の改善を認めた(60日死亡率：AZM群20 % VS フルオロキノロン群 69.6% 生存期間中央値：AZM群フォロー終了時未到達 VS フルオロキノロン群 29.5日)。その後も我々は間質性肺炎急性増悪に対しマクロライドベースの抗菌薬選択をつづけた。今回は線維性間質性肺炎のなかでも、特発性肺線維症の急性増悪

に対象を絞って再度検討をおこなった。2005年4月からから2016年8月までに、当院で治療を行った特発性肺線維症の急性増悪連続85症例(AZM投与群38名、非投与群47名)を検討した。急性増悪の診断は2016年の国際作業部会の基準に基づき再評価し、特発性の急性増悪症例を抽出した。60日時点での死亡率は(AZM群26% VS フルオロキノロン群70% P<0.001)で、有意差をもってマクロライド群の生存率が高いことが再現された⁴⁾。

終わりに

気管支拡張、びまん性汎細気管支炎、COPDなどの慢性疾患に比べて、ARDS・間質性肺炎の急性増悪のような急性呼吸器疾患に対するマクロライド系薬の実臨床への有用性のエビデンスはまだ少ない。

今後の多施設で質の高い研究がおこなわれることによって、確立した治療法がないARDSや特発性肺線維症の急性増悪といった重篤な急性呼吸不全への薬物治療としてマクロライドが加わることに期待したい。

なお本報告の内容は、Respiration2014 ; 87 : 478-484, SpringerPlus (2016) 5 : 1193, BMC Pulmonary Medicine (2017) 17 : 94に報告した内容を抜粋したものである。

参考文献

- 1) WALKEY AJ, WIENER RS. Macrolide antibiotics and survival in patients with acute lung injury. Chest. 141(5) : 1153~9, 2012
- 2) KAWAMURA K, ICHIKADO K, TAKAKI M, SAKATA Y, YASUDA Y, SHINGU N, et al. Efficacy of azithromycin in sepsis-associated acute respiratory distress syndrome : a retrospective study and propensity score analysis. Springerplus. 5(1) : 1193, 2016
- 3) KAWAMURA K, ICHIKADO K, SUGA M, YOSHIOKA M. Efficacy of Azithromycin for Treatment of Acute Exacerbation of Chronic Fibrosing Interstitial Pneumonia : A Prospective, Open-Label Study with Historical Controls. Respiration. 2014.
- 4) KAWAMURA K, ICHIKADO K, YASUDA Y, ANAN K, SUGA M. Azithromycin for idiopathic acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis : a retrospective single-center study. BMC Pulmonary Medicine. 17(1) : 94, 2017

シンポジウム1 「マクロライドの新展開1」

討議総括

菅 守隆¹⁾ 滝澤 始²⁾

本シンポジウムでは、マクロライド系抗菌薬の呼吸器領域における新たな治療効果の可能性について、興味深い報告がなされた。

まず、渡辺らは、治療抵抗性の難治病態として好中球性喘息に注目し、外来通院中の104例の気管支喘息患者の前向きコホート研究において、重症例では有意にステロイド抵抗性、閉塞性換気障害、好中球増加などの臨床的特徴があることを明らかにした。ついで、喘息において重要性が報告されているIL-33の受容体である血清中のsST2が好中球性気道炎症のバイオマーカーであること、さらに末梢血好中球数と血清sST2値によるフェノタイプ分類は、発作リスクを極めて正確に予想することを示した。現在、治療抵抗性の好中球性喘息を対象にクラリスロマイシンの効果を検証する臨床研究計画を立案中であり、好中球性喘息をマクロライドで治療する際の、候補患者の選択と治療効果判定への展望についても発表した。

続いて、小宮らは、近年我が国において増加が明らかにされた非結核性抗酸菌について、日本呼吸器学会認定および関連884施設を対象に2014年に実施された全国調査をもとに肺NTM症の推定罹患率は14.7(人口10万人あたり)であること、肺 *Mycobacterium avium complex*(MAC)症が88.8%と大多数を占めること、*M.intracellulare*が北海道で少なく九州・沖縄で多く緯度と一致した菌種分布を示すことなどを報告したうえで、標準化学療法と無治療の2つの選択肢以外に、エリスロマイシン単独長期療法が増悪を抑制する可能性について報告した。対象は、エリスロマイシン長期投与を行った31例で、保存的治療例72例と増悪までの期間を、propensity score analysisにより比較した。その結果、エリスロマイシン単独療法は有

意に増悪を予防した。重要な点は本療法のうちでもクラリスロマイシンを含む多剤療法の有効性は低下しなかったことである。今後高齢化に伴いますます問題となる肺MAC症に対する新たな治療選択として注目される。

川村らは、致死的な転機をとることの多い重症肺炎や敗血症性ARDSにおけるマクロライド薬の臨床的効果について報告した。同グループはすでに予後不良な難治病態である線維化性間質性肺炎の急性増悪におけるアジスロマイシンの効果を報告しているが(KAWAMURA K, ICHIKADO K, SUGA M, YOSHIOKA M. Efficacy of azithromycin for treatment of acute exacerbation of chronic fibrosing interstitial pneumonia : a prospective, open-label study with historical controls. *Respiration*. 2014 ; 87(6) : 478-84. doi : 10.1159/000358443. Epub 2014 Apr 30.), 今回、さらに特発性肺線維症の急性増悪例85例を対象に、高用量副腎皮質ステロイド治療に加えて、キノロン群(47例)とアジスロマイシン群(38例 : 500mg/日, 5日間)での生命予後を比較した。その結果、アジスロマイシン群では有意に予後が優れていた(致死率 : アジスロマイシン群 : 26%, キノロン群 : 70% ; p < 0.001) (KAWAMURA K, ICHIKADO K, YASUDA Y, ANAN K, SUGA M. Azithromycin for idiopathic acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis : a retrospective single-center study. *BMC Pulm Med*. 2017 Jun 19 ; 17(1) : 94. doi : 10.1186/s12890-017-0437-z.)。

次に敗血症性ARDS 125例を対象に検討し、うち29例がアジスロマイシン群であった。propensity score analysisによると、60日死亡率はアジスロマイシン群で有意に優れていた(hazard ra-

¹⁾熊本病院呼吸器センター / 予防医療センター, ²⁾杏林大学呼吸器内科

tio, 0.31 : 95% confidence interval, 0.11-082 ; P = 0.02)が、stratified case-cohort analysisによるとHR 0.38, p = 0.09であった。画期的な治療薬のないARDSに新たな光明を及ぼす報告であった。

以上のような難治性呼吸器疾患におけるマクロライド薬の有効性を究明することは、実地臨床への貢献はもちろんのこと、本療法の有効性機序解明に大きな力となると思われる。

モーニングセミナー

薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン ～求められる抗菌薬適正使用を含めて～

館田一博

2016年4月に「薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン」が発表された。この中には、2020年までの耐性菌抑制および抗菌薬使用量に関する数値目標が掲げられていることが特徴である。耐性菌の制御には、抗菌薬の適正使用、院内感染対策、サベイランスが重要である。中でも抗菌薬の適正使

用はその基盤であり、それぞれの抗菌薬の特徴を良く理解した使用が求められている。本発表では、アクションプランで掲げられた数値目標を解説しながら、マクロライド剤の特徴と使い方を含め抗菌薬の適正使用の重要性についてお話しさせていただく。

教育講演 3

マクロライドの気道ムチンおよび水分分泌制御

近藤光子

(1)はじめに

工藤らにより報告されたびまん性汎細気管支炎(DPB)に対するエリスロマイシン(EM)少量長期療法は画期的な予後の改善をもたらした¹⁾。DPBにマクロライド療法を行うと著明に喀痰量が減少し呼吸不全が改善することから、マクロライド療法の主たる効果の一つは過分泌の抑制にある。またマクロライド療法は、マクロライド感受性のない緑膿菌などの感染症であっても有効であること、喀痰中の細菌が消失しなくとも病態の改善が得られることから、抗菌作用とは異なる抗炎症作用、免疫調節作用がその本質であると考えられている。今日、マクロライド療法は慢性副鼻腔炎、副鼻腔気管支症候群、cystic fibrosis、COPDなど、特に好中球性炎症を主とする慢性気道炎症性疾患に応用され、その有効性が明らかにされている。さらに気管支喘息においても、特に難治性病態において効果が検討されている。本稿では、慢性気道疾患におけるマクロライドの作用機序に関して、ムチンと水分分泌制御の点から解説する。

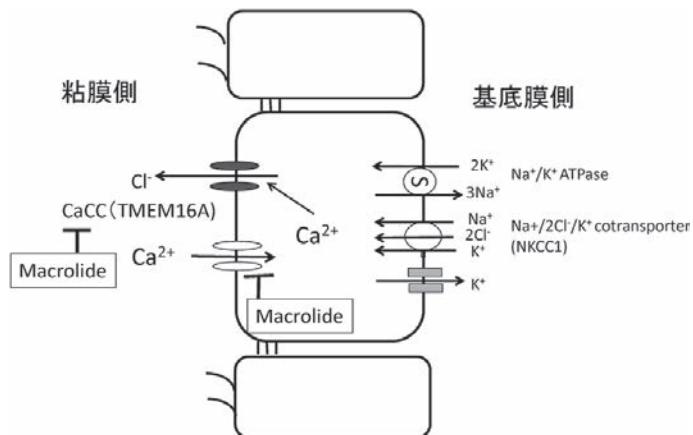
(2)マクロライドによる気道水分分泌の制御

気道液の90%以上は水分であり、その制御は気道上皮細胞からのイオン輸送によって行われている。気道液中のNaは管腔側Naチャネルから気道上皮細胞内に吸収し漿膜側のNa-K-ATPaseを介し体内に再吸収されるとともに、Kは細胞内に流入する。一方、漿膜側に存在するNa/K/2Cl cotransporterを介して細胞内にNa、K、Clが細胞内に流入する。細胞内に蓄積されたNaはNa-K-ATPaseにより細胞外に排出され、KはKチャネルを通して漿膜側に除去されるが、Clは管腔側

に存在するClチャネルを通じて管腔側に分泌される。これらのNaとClの管腔内へのイオン輸送に随伴して浸透圧勾配が生じ、二次的な水分移動が惹起される。TAMAOKIらはUssing chamber法を用いて能動イオン輸送の指標である短絡電流を測定すると、EMは気道上皮細胞のClイオン輸送を抑制することを報告した²⁾。またIKEDAらは鼻腺細胞を用いたパッチクランプ法で、アセチルコリンによるClイオンチャネルの活性化がロキシスロマイシン(RXM)で抑制されることを報告した³⁾。すなわち14員環マクロライドはClイオンチャネルの抑制に伴う水分分泌の低下を引き起す。主たる気道のClイオンチャネルにはcAMP依存性のCFTRとCa²⁺依存性のCa活性化Clイオンチャネル(CaCC)が存在する。CFTRに関しては古くからその遺伝子や構造が知られていたが、CaCCの実体は長い間不明なままであった。最近になって、CaCCの一つがTransmembrane protein 16A(TM16A)であることが報告された⁴⁾。教室のHARAらはTM16Aを選択的に直接活性化するE-actによるClイオン輸送が、クラリスロマイシン(CAM)の前投与で抑制されることを見いだした⁵⁾。このことから、マクロライドはTM16Aの直接阻害作用を有していると推測される。また、KONDOらは細胞内Ca²⁺濃度に対するEMの影響を検討し、ATP刺激により惹起される細胞内Ca²⁺上昇のうち、細胞外からのCa²⁺流入やCa²⁺振動(Ca²⁺ oscillation)をEMが抑制することを報告した⁶⁾。すなわち、マクロライドのClイオン輸送抑制効果には細胞内Ca²⁺の上昇の抑制を介した間接作用も考えられる(図1)。

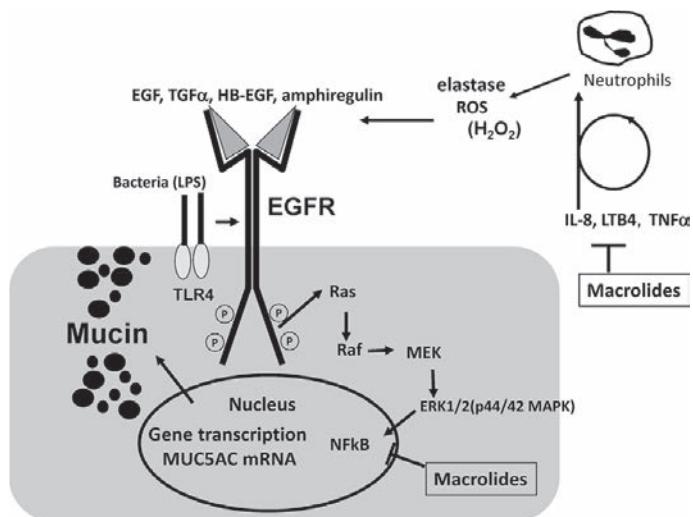
TAGAYAらは慢性気管支炎、気管支拡張症の患

図1. 気道上皮細胞におけるCa依存性Clイオン輸送とマクロライドによる制御



マクロライドはCa依存性Clチャネル(TMEE16A)を直接抑制とともに細胞内カルシウムの上昇を抑制して間接的にCa依存性Clイオン輸送を抑制する。

図2. 気道上皮細胞におけるEGF受容体(EGFR)を介したムチン産生とマクロライドの作用点



好中球から遊離するエラスターーゼやROSによってEGFRがtransactivationにより活性化し、気道上皮細胞内のシグナル伝達によりムチン遺伝子の発現が起こる。マクロライドはNF κ Bを介した気道上皮細胞のムチン遺伝子発現抑制と、好中球や細菌感染などによって生ずるEGFR刺激の抑制を介する間接作用によりムチン産生を抑制する。

者の気道感染の悪化のない安定期を対象にクラリスロマイシン(CAM)の効果を検討し、Clイオン輸送との関連性を検討した⁷⁾。3種類の抗生剤、CAM、アモキシシリソ(AM-PC)、セファクロル

(CCL)を1週間投与し、喀痰量の変化をみたところ、CAM群の約半数の症例に30%以上の喀痰量の減少を認めた(図2)。これらの症例では喀痰中の固形成分の比率が増加し、Clイオン濃度が低下

していた。すなわち喀痰量の減少は、Cl⁻イオン輸送の低下に伴い水分量が低下し相対的に固形成分が増加したためと考えられた。このことは特に水分量の多い喀痰を出す患者において、マクロライドは短期間の投与でも有効性が認められることを示す。またCOPDを含む慢性気道疾患患者にCAMを8週間投与すると、喀痰量は半分に減少し、喀痰のレオロジカルな性状では弾性の増加が観察されるが、粘稠度は不变であった⁸⁾。このことはマクロライドによる粘液線毛クリアランスの改善を示唆するが、実際に西らは副鼻腔気管支症候群において鼻クリアランス時間の短縮がマクロライドにより得られたことを報告している⁹⁾。

(3) マクロライドによるムチン分泌の抑制

気道粘液の固形成分の30%以上を占めるのはムチンである。ムチンは大きな糖タンパク質でセリン、スレオニン残基を多く含み、糖鎖と結合している。気道のヒトムチンには分泌型と膜結合型が存在するが、喀痰の構成成分は分泌型ムチンである。分泌型ムチンは中心にペプチドがあり多数の糖鎖がついて瓶ブラシのような構造をしている。気道における分泌型ムチン産生細胞は杯細胞と粘膜下腺を構成する粘液細胞と漿液細胞である。杯細胞からMUC5ACが、粘膜下腺の粘液細胞からMUC5Bが多く产生される¹⁰⁾。気道の杯細胞に、分泌刺激物質を投与すると、急性反応として分泌顆粒からの脱顆粒が起こるが、その後、粘液は枯渇したままとはならず、再貯留しムチン産生の亢進が生ずる。よって、過剰な粘液は分泌顆粒からの脱顆粒とムチン産生の亢進から由来する。自律神経系の刺激やエラスター、ヒスタミンなどのケミカルメディエーターは脱顆粒を引き起こすことはよく知られている。TAMAOKIらはモルモットを用いて、CAM、EMを1週間前から1日1回投与することで、リポポリサッカライド(LPS)刺激による脱顆粒が抑制されることを報告した。この効果はAM-PC、CCLでは認められなかった¹¹⁾。すなわち、14員環マクロライドはLPS刺激による杯細胞からのムチン分泌を抑制する。

(4) マクロライドによる抗炎症作用

DPBをはじめとする慢性気道炎症では、気道への好中球の集積とその活性化、特にIL-8レベルの増加が認められる。少量長期マクロライド療法をDPBや気管支拡張症に行うと気管支肺胞洗浄液中の好中球数、IL-8、好中球エラスターが減少する^{12, 13)}。好中球はIL-8、LTB4などのケモカイン、好中球エラスター、プロテイナーゼ3などの酵素、活性酸素種(reactive oxygen species; ROS)を遊離する。ラットにLPSを投与すると気道におけるIL-8やTNF α の産生が亢進するが、マクロライドはこの反応を抑制する¹⁴⁾。またヒト培養気道上皮細胞にEMを投与すると、IL-6、IL-8の産生とICAM-1の発現が抑制される¹⁵⁾。すなわち、マクロライドは炎症性サイトカイン、ケモカインおよび接着分子の抑制を介して、好中球浸潤を抑制する。

(5) マクロライドによるムチン産生の抑制

TAKEYAMAらはムチン産生能を有するcell lineであるNCI-H292細胞を用いて、ムチン産生経路におけるEGF受容体(EGFR)の重要性を報告した¹⁶⁾。EGFRのリガンドにはEGF、TGF α 、HB-EGF、amphiregulinなど複数あるが、これらによりEGFRが刺激されるとそのリン酸化がおこりRas、Raf、MEKを介してp44/42 MAP kinaseの経路が活性化し、NF κ Bなどの転写因子が核内に入り遺伝子発現によりムチンが産生される。マクロライドはNCI-H292細胞におけるTGF α やLPS刺激によるムチン産生を抑制するが¹⁷⁾、その細胞内の作用点は少なくともNF κ Bの転写レベルにあることが知られている。NF κ Bの転写活性の抑制は気道上皮細胞以外にもマクロファージ、単球でも証明されている^{18, 19)}。

好中球をTNF α で刺激し活性化した上清やH₂O₂をNCI-H292細胞に添加すると、EGFRのリン酸化が生じてくる。抗酸化薬のN-acetyl cysteine(NAC)はこの反応を抑制することから、好中球由来のH₂O₂などのROSがEGFRを活性化したと考えられる²⁰⁾。さらに好中球エラスターをNCI-H292細胞に添加してもEGFRのリン酸化が生じ、ムチン産生の亢進が認められる²¹⁾。マクロ

ライドは好中球の浸潤や活性化を抑制するので、その結果ROSの産生やエラスターーゼの産生が抑制され、EGFRの活性化が抑制されてムチン産生が低下する。さらにマクロライドはsub MICの濃度で緑膿菌のバイオフィルムの形成を阻害する^{22, 23)}。緑膿菌の培養上清もEGFRを刺激してムチン産生を亢進する²⁴⁾。従って、マクロライドのムチン産生の抑制効果はNF κ Bを介したムチン遺伝子発現抑制の上皮細胞への直接作用と、好中球や細菌感染などによるEGFR刺激を介する間接的な作用の主として2つの経路によりもたらされる(図2)。

(5) COPDにおけるマクロライド療法の効果とムチン分泌

COPDでは増悪を繰り返す症例において予後不良とされ、増悪の予防がその治療戦略の一つとなっている。近年、EMやAZMによるマクロライド長期療法が増悪の予防に有効であることが報告されている^{25, 26)}。その作用機序の一つにライノウイルスなどによるマクロライドのウイルス感染抑制効果が上げられる。SUZUKIらはウイルスの接着や侵入、気道上皮細胞から出される種々の炎症性サイトカインがマクロライドにより抑制されることを報告している²⁷⁾。COPDの増悪のメカニズムは、喫煙などにより気道の防御系が障害されると細菌の付着が生じ、さらに気道粘膜の修復が不十分であると持続感染状態になる。そして好中球の集積および過剰分泌がもたらされ慢性気道炎症が惹起される。ここにウイルス感染が加わると増悪をきたし、さらに悪循環が形成される。一方、マクロライドの投与はウイルス感染抑制²⁷⁾、バイオフィルム形成抑制、炎症細胞浸潤や過剰分泌を抑制することにより慢性気道炎症を抑制し、COPDの増悪予防をもたらすことができると考えられる²⁸⁾。このようなことから、最新のGOLDガイドライン2017では症状が強く、増悪の多いGroup Dにおいてマクロライドの併用が記載された。

(6) 気管支喘息におけるマクロライド療法の効果とムチン分泌

気管支喘息に対するマクロライド療法の効果に関しては今まで一定の見解が得られていない²⁹⁾。ステロイドスペアリング効果や、クラミジア、マイコプラズマといったマクロライドに感受性のある細胞内細菌の慢性持続感染との関連も検討してきた。マクロライド療法の有用性を支持する成績として、AMAYASUらはアレルギー性喘息患者にCAMを投与すると、喘息症状の改善、血中、喀痰中の好酸球数、ECPの低下、気道過敏性の改善が認められたと報告した³⁰⁾。動物実験ではCAMやアジスロマイシン(AZM)がマウスのアレルギー性炎症を改善したことが報告されている^{31, 32)}。難治性喘息ではIL-8や好中球の関与が認められるが、CAMをadd-onすることにより好中球性炎症やQOLの改善が報告されている³³⁾。近年、気管支喘息におけるリモデリングの一つとして杯細胞化生が注目されている。喘息死は粘液による気道閉塞が一因となっており、その対策が望まれている。気管支喘息の喀痰成分にはMUC5ACが多いが、MUC5ACはMUC5Bと異なり、杯細胞から分泌された後も細胞に連結されたままになり、きわめて切れの悪い痰を形成する³⁴⁾。気管支喘息におけるTh2サイトカインの重要性はよく知られているが、Th2サイトカインであるIL-13はin vivo, in vitroにおいて気道上皮細胞に杯細胞化生、すなわちMUC5ACの増加をもたらす。TANABEらはIL-13誘導性の杯細胞化生をCAMが抑制することを報告し、IL-13受容体-JAK-STAT6経路、EGFR-MAP kinase経路、NF κ Bの転写活性の不活化などの関与を報告している³⁵⁾。IL-13による過分泌はステロイド抵抗性と報告されていることから^{36, 37)}、気管支喘息におけるステロイド抵抗性の病態においてマクロライド療法の可能性を示唆するものである。以前よりIL-13により気道上皮細胞から誘導される分子にはperiostinとCLCA1が知られているが、CLCA1は以前から分泌誘導分子として知られていた³⁸⁾。最近、このCLCA1はTMEM16Aの調節因子であり、TMEM16Aの細胞膜における安定化に関わっていると報告された³⁹⁾。ごく最近、NAGASHIMAら

はIL-13で誘導された杯細胞におけるCLCA1発現をCAMが抑制作用を有することを報告した⁴⁰⁾。またHARAらはTMEM16Aの発現が杯細胞化生と強く関連し、CAMがその発現を抑制し、より正常に近い線毛細胞優位の気道上皮に分化誘導することを報告した⁵⁾。気管支喘息の発作時には気道上皮剥離が生ずるが、マクロライドの投与は正常な粘膜への再生を促すことも想定される。また上皮剥離はC-fiberの露出をもたらし咳嗽をも誘発するが、この咳嗽に対してもマクロライドが期待できる可能性がある。実際に気管支喘息を背景とした治療抵抗性咳嗽にマクロライドが有効であったという報告がある⁴¹⁾。C-fiberに存在するTRPV1受容体がTMEM16Aと相互作用をもたらすという報告もなされており⁴²⁾、咳嗽との関連においても今後の検討が待たれる。現在、難治性気管支喘息において、phenotypeやendotypeに注目して治療選択する動向がみられる。気管支喘息におけるマクロライド療法は増悪期を中心に併用し、好中球性喘息のみならず、ステロイド抵抗性喘息、過分泌や咳嗽症状の強い重症喘息、IL-13優位性喘息などがよい適応となるかもしれない。乳幼児の喘息様症状にAZMの併用が早期改善に効果があったという最近の報告がある⁴³⁾。感染症の有無に関わらず、症状の改善をみたということはマクロライド療法による抗炎症、抗分泌作用による作用と推測される。

(7) マクロライドの多彩な作用機序

マクロライドの作用点は多岐にわたり、一つの分子をターゲットに絞ることは難しい。また、時間経過によっても反応性が変化する。最近のAZMの総説では、AZMは疎水性と親水性の両方をもつ界面活性剤のような両親媒性の性質があるため、細胞膜に取り込まれ、細胞膜や細胞内小器官へ種々の作用をもたらす可能性が示されている⁴⁴⁾。すなわち、細胞膜を構成する脂肪酸の部位にマクロライドの疎水基が、リン酸の部位に親水性の環状ラクトンが入り込む。特に環状ラクトンは陽性荷電しているため、細胞膜の内側の陰性荷電部位を中和する。このことが、細胞膜の流動性を抑制し、アラキドン酸の遊離を抑制する。また

電気的に膜に結合していた酵素が遊離する。Lipid remodelingは種々の細胞内シグナル伝達を修飾し、特にERKのようなMAPキナーゼ系が修飾を受けて、その結果、転写因子の活性化が抑制される。また細胞が活性化している状態では特に影響をうけやすい。膜のLipid remodelingは細胞表面分子のリサイクリングやPhagocytosisに影響する。陰性荷電に影響される分子も影響を受け、Lysosomal uptakeやAutophagyに影響する。ApoptosisはAZMが高濃度になるとBclの阻害が起こり誘導される。すなわち、マクロライドは集積し、ライソソームの機能を変化させ、PhagocytosisやEfferocytosisの亢進、Autophagyの低下、Apoptosisを誘導する。また細胞膜の変化は細内シグナル伝達に影響して転写因子を抑制し、その結果、サイトカイン、ムチン、炎症関連の遺伝子を抑制する。このようにマクロライドは両親媒性の性質があることで、細胞膜から始まって時間経過とともに種々の反応を引き起こしてくると考えられる。我々が示したようなClチャネルやCaチャネルの影響も極めて速やかにおこることは、細胞膜への親和性を考慮すると容易に説明される。

(8) おわりに

マクロライド療法はDPBをはじめとして慢性副鼻腔炎、副鼻腔気管支症候群、慢性気道感染症、COPDにおいてガイドラインなどに記載されている。一方、これまで有用性が確立されていなかった領域やTMEM16Aのような新規分子へのマクロライドの作用なども明らかにされ、さらなるマクロライド療法の今後の発展に期待したい。

文 献

- KUDOH S, AZUMA A, YAMAMOTO M, et al. Improvement of survival in patients with diffuse panbronchiolitis treated with low-dose erythromycin. Am J Respir Crit Care Med 157 : 1829~32, 1998
- TAMAOKI J, ISONO K, SAKAI N, et al. Erythromycin inhibits Cl⁻ secretion across canine tracheal epithelial cells. Eur Respir J 5 : 234~8, 1992
- IKEDA K, WU D, TAKASAKA T. Inhibition of acetylcholine-evoked Cl⁻ currents by 14-membered macrolide antibiotics in isolated acinar cells of the guinea pig nasal gland. Am J Respir Cell Mol Biol.

- 13(4) : 449~54, 1995
- 4) CAPUTO A, CACI E, FERRERA L, et al. TMEM16A, a membrane protein associated with calcium-dependent chloride channel activity. *Science* 322 : 590~4, 2008
 - 5) HARA K, KONDO M, TSUJI M, TAMAOKI J. Effect of clarithromycin on IL-13-induced goblet cell metaplasia in guinea pig airway epithelial cells : Role of TMEM16A. [Abstract] P1466, ATS International Meeting 2017, May 23, Washington DC USA.
 - 6) KONDO M, KANOH S, TAMAOKI J, et al. Erythromycin inhibits ATP-induced intracellular calcium responses in bovine tracheal epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 19 : 799~804, 1998
 - 7) TAGAYA E, TAMAOKI J, KONDO M, et al. Effect of a short course of clarithromycin therapy on sputum production in patients with chronic airway hypersecretion. *Chest* 122 : 213~8, 2002
 - 8) TAMAOKI J, TAKEYAMA K, TAGAYA E, et al. Effect of clarithromycin on sputum production and its rheological properties in chronic respiratory tract infections. *Antimicrob Agents Chemother* 39 : 1688~90, 1995
 - 9) 西 耕一, 明 茂治, 大家他喜雄, 藤村政樹, 松田 保 副鼻腔炎支症候群患者の粘液線毛輸送能に対するエリスロマイシン療法の効果 日胸疾会誌 31 : 1367~76, 1993
 - 10) FAHY JV, DICKEY BF. Airway mucus function and dysfunction. *N Engl J Med* : 363 : 2233~47.
 - 11) TAMAOKI J, TAKEYAMA K, YAMAWAKI I, et al. Lipopolysaccharide-induced goblet cell hypersecretion in the guinea pig trachea : inhibition by macrolides. *Am J Physiol* 272 : L15~9, 1997
 - 12) SAKITO O, KADOTA J, KOHNO S, et al. Interleukin 1 beta, tumor necrosis factor alpha, and interleukin 8 in bronchoalveolar lavage fluid of patients with diffuse panbronchiolitis : a potential mechanism of macrolide therapy. *Respiration* 63 : 42~8, 1996
 - 13) OISHI K, SONODA F, KOBAYASHI S, et al. Role of interleukin-8 (IL-8) and an inhibitory effect of erythromycin on IL-8 release in the airways of patients with chronic airway diseases. *Infect Immun* 62 : 4145~52, 1994
 - 14) OU XM, FENG YL, WEN FQ, et al. Macrolides attenuate mucus hypersecretion in rat airways through inactivation of NF-kappaB. *Respirology* 13 : 63~72, 2008
 - 15) DESAKI M, OKAZAKI H, SUNAZUKA T, et al. Molecular mechanisms of anti-inflammatory action of erythromycin in human bronchial epithelial cells : possible role in the signaling pathway that regulates nuclear factor-kappaB activation. *Antimicrob Agents Chemother* 48 : 1581~5, 2004
 - 16) TAKEYAMA K, DABBAGH K, LEE HM, et al. Epidermal growth factor system regulates mucin production in airways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96 : 3081~6, 1999
 - 17) TAKEYAMA K, TAMAOKI A, KONDO M, et al. [Effect of macrolide antibiotics on MUC5AC production in human bronchial epithelial cells]. *Jpn J Antibiot* 54 Suppl C : 52~4, 2001
 - 18) ICHIYAMA T, NISHIKAWA M, YOSHITOMI T, et al. Clarithromycin inhibits NF-kappaB activation in human peripheral blood mononuclear cells and pulmonary epithelial cells. *Antimicrob Agents Chemother* 45 : 44~7, 2001
 - 19) AOKI Y, KAO PN. Erythromycin inhibits transcriptional activation of NF-kappaB, but not NFAT, through calcineurin-independent signaling in T cells. *Antimicrob Agents Chemother* 43 : 2678~84, 1999
 - 20) TAKEYAMA K, DABBAGH K, JEONG SHIM J, et al. Oxidative stress causes mucin synthesis via transactivation of epidermal growth factor receptor : role of neutrophils. *J Immunol* 164 : 1546~52, 2000
 - 21) KOHRI K, UEKI IF, NADEL JA. Neutrophil elastase induces mucin production by ligand-dependent epidermal growth factor receptor activation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 283 : L531~40, 2002
 - 22) YASUDA H, AJIKI Y, KOGA T, et al. Interaction between biofilms formed by *Pseudomonas aeruginosa* and clarithromycin. *Antimicrob Agents Chemother* 37 : 1749~55, 1993
 - 23) ICHIMIYA T, YAMASAKI T, NASU M. In-vitro effects of antimicrobial agents on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *J Antimicrob Chemother* 34 : 331~41, 1994
 - 24) KOHRI K, UEKI IF, SHIM JJ, et al. *Pseudomonas aeruginosa* induces MUC5AC production via epidermal growth factor receptor. *Eur Respir J* 20 : 1263~70, 2002
 - 25) SEEMUNGAL TA, WILKINSON TM, HURST JR, PERERA WR, SAPSFORD RJ, WEDZICHA JA. Long-term erythromycin therapy is associated with decreased chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med.* 178(11) : 1139~47, 2008
 - 26) UZUN S, DJAMIN RS, KLUYTMANS JA, et al. Azithromycin maintenance treatment in patients with frequent exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (COLUMBUS) : a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2(5) : 361~8, 2014
 - 27) SUZUKI T, YAMAYA M, SEKIZAWA K, et al. Erythromycin inhibits rhinovirus infection in cultured human tracheal epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med* 165 : 1113~8, 2002
 - 28) AZUMA A, KUDOH S. The use of macrolides for treatment of diffuse panbronchiolitis. In *Antibiotics*

- as anti-inflammatory and immunomodulatory agents 2005 : 147~65.
- 29) CROSBIE PA, WOODHEAD MA. Long-term macrolide therapy in chronic inflammatory airway diseases. *Eur Respir J* 33 : 171~81, 2009
- 30) AMAYASU H, YOSHIDA S, EBANA S, *et al.* Clarithromycin suppresses bronchial hyperresponsiveness associated with eosinophilic inflammation in patients with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 84 : 594~8, 2000
- 31) HRVACIC B, BOSNIK B, BOSNAR M, *et al.* Clarithromycin suppresses airway hyperresponsiveness and inflammation in mouse models of asthma. *Eur J Pharmacol* 616 : 236~43, 2009
- 32) BEIGELMAN A, GUNSTEN S, MIKOLS CL, *et al.* Azithromycin attenuates airway inflammation in a noninfectious mouse model of allergic asthma. *Chest* 136 : 498~506, 2009
- 33) SIMPSON JL, POWELL H, BOYLE MJ, *et al.* Clarithromycin targets neutrophilic airway inflammation in refractory asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 177 : 148~55, 2008
- 34) BONSER LR, ZLOCK L, FINKBEINER W, ERLE DJ. Epithelial tethering of MUC5AC-rich mucus impairs mucociliary transport in asthma. *J Clin Invest*. 126(6) : 2367~71, 2016
- 35) TANABE T, KANOH S, TSUSHIMA K, *et al.* Clarithromycin Inhibits Interleukin-13-Induced Goblet Cell Hyperplasia in Human Airway Cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 45(5) : 1075~83, 2011
- 36) KIBE A, INOUE H, FUKUYAMA S, *et al.* Differential regulation by glucocorticoid of interleukin-13-induced eosinophilia, hyperresponsiveness, and goblet cell hyperplasia in mouse airways. *Am J Respir Crit Care Med* 167 : 50~6, 2003
- 37) KANOH S, TANABE T, RUBIN BK. IL-13-induced MUC5AC production and goblet cell differentiation is steroid resistant in human airway cells. *Clin Exp Allergy*. 41(12) : 1747~56, 2011
- 38) WOODRUFF PG, BOUSHY HA, DOLGANOV GM, *et al.* Genome-wide profiling identifies epithelial cell genes associated with asthma and with treatment response to corticosteroids. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 104(40) : 15858~63, 2007
- 39) SALA-RABANAL M, YURTSEVER Z, NICHOLS CG, BRETT TJ. Secreted CLCA1 modulates TMEM16A to activate Ca(2+)-dependent chloride currents in human cells. *Elife* 2015 : 4.
- 40) NAGASHIMA A, SHINKAI M, SHINODA M, *et al.* Clarithromycin Suppresses Chloride Channel Accessory 1 and Inhibits Interleukin-13-Induced Goblet Cell Hyperplasia in Human Bronchial Epithelial Cells. *Antimicrob Agents Chemother*. 60(11) : 6585~6590, 2016
- 41) HODGSON D, ANDERSON J, REYNOLDS C, *et al.* The Effects of Azithromycin in Treatment-Resistant Cough : A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Chest* 149(4) : 1052~60, 2016
- 42) TAKAYAMA Y, UTA D, FURUE H, TOMINAGA M. Pain-enhancing mechanism through interaction between TRPV1 and anoctamin 1 in sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Apr 21 : 112(16) : 5213~8.
- 43) STOKHOLM J, CHAWES BL, VISSING NH, *et al.* Azithromycin for episodes with asthma-like symptoms in young children aged 1-3 years : a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Respir Med*. 4(1) : 19~26, 2016
- 44) PARNHAM MJ, ERAKOVIC HABER V, GIAMARELOS-BOURBOULIS EJ, PERLETTI G, VERLEDEN GM, VOS R. Azithromycin : mechanisms of action and their relevance for clinical applications. *Pharmacol Ther*. 143(2) : 225~45, 2014

シンポジウム2 「マクロライドの新展開Ⅱ」

耳鼻咽喉科領域 副鼻腔炎と喘息・COPDの合併症例への対応

松根彰志

はじめに

耳鼻咽喉科領域におけるマクロライド療法とは、エリスロマイシン(EM)に代表される14員環マクロライドの少量長期投与による上・下気道慢性炎症に対する治療のことである。マクロライド療法は、当時難治で治療に苦慮していた下気道疾患であるびまん性汎細気管支炎(Diffuse panbronchiolitis: DPB)に対して、工藤らが1984年にEMが大変有効であることを報告して始まった¹⁾。その後、耳鼻咽喉科領域、上気道慢性炎症である慢性副鼻腔炎²⁾や滲出性中耳炎³⁾の治療におけるマクロライド療法の有効性が確認され、今や少なくとも本邦ではこれらの疾患の治療に対して標準的な治療法の1つとなっている。

慢性副鼻腔炎とマクロライド療法

DPBは高頻度に慢性副鼻腔炎を伴うが、洲崎らは1990年にEMが下気道に対してのみならず、上気道の慢性副鼻腔炎に対しても有効であることを報告した。以後、1990年代を通じて、全国規模で慢性副鼻腔炎に対するマクロライド療法の臨床効果が検討されその有効性が様々に確認され確立されるに至った⁴⁾。マクロライド療法の確立^{5,6)}は、外科的治療である内視鏡下鼻内副鼻腔手術の日本国内における普及、定着とともに、慢性副鼻腔炎の治療にとって双璧をなす1990年代の本邦における歴史的出来事となった。

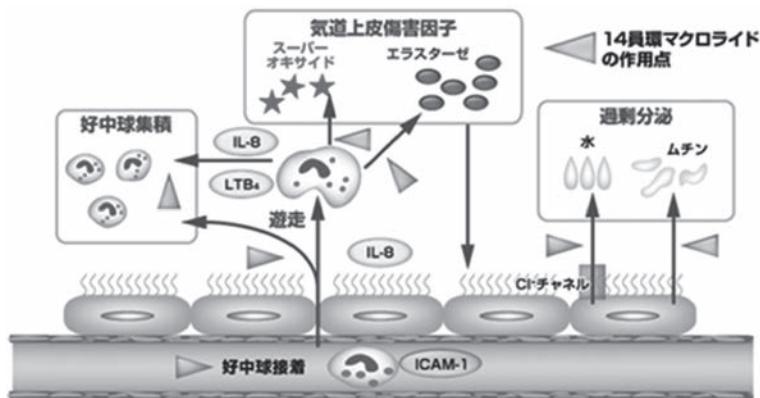
EMは、遺伝体質素因(HLA抗原B54の高い出現頻度)を有する疾患であるDPBをはじめとする副鼻腔気管支症候群(Sinobronchial Syndrome; SBS)に併発した慢性副鼻腔炎のみならず、下気道疾患を合併しない単独の慢性副鼻腔炎にも有効であることが確認された。さらに、成人例のみな

らず4歳以上的小児慢性副鼻腔炎を含む検討においてもEM療法の有効性が報告された。その後全国的に多くの施設でマクロライド療法の有効性に関する検討が行われ、臨床症状(鼻閉、(後)鼻漏、嗅覚障害、頭重・頭痛)や他覚的所見(鼻汁量・性質、後鼻漏、鼻粘膜腫脹)の各項目での有効性が相次いで明らかにされていった^{5,6)}。この間、当初は14員環マクロライドとしてEMが用いられてが、胃酸に対する安定性、吸収の安定性、副作用としての胃腸症状の出現率などの点でより優れた14員環マクロライドであるクラリスロマイシン(CAM)やロキシスロマイシン(RXM)などのニューマクロライドが開発、発売され、マクロライド療法の中心的な地位を占めるようになった。

耳鼻咽喉科とマクロライドの抗炎症作用

マクロライド療法は、臨床効果が認められてから後にその作用機序が種々検討されてきた経緯がある。その作用機序については抗生物質としての抗菌作用ではなく抗炎症作用が重要であると考えられている(図1)⁷⁾。その根拠の1つとして、上下気道炎において必ずしもマクロライドに感受性を示さない細菌が検出される例でもマクロライド療法が有効であることが挙げられる。機序の詳細は現在でも尚研究、検討中であるが、上下気道共通で認められている主なものを列挙すると、①IL-8などのサイトカイン産生抑制による好中球の遊走、蓄積の抑制^{8,9)}、②好中球などで産生され組織リモデリングに必須である細胞外マトリックス分解酵素(MMP)産生抑制¹⁰⁾、③好中球などの炎症細胞で産生される活性酸素や生理活性物質などによる粘膜障害因子の活性抑制¹⁰⁾、④気道粘膜上皮細胞や腺細胞のイオンチャンネルや腺

図1. マクロライドの抗炎症作用、作用機序



文献7を改変、引用

表1. 好酸球性副鼻腔炎診断基準

項目	スコア
病側：両側	3点
鼻茸あり	2点
筛骨洞陰影/上頸洞陰影 ≥ 1	2点
血中好酸球(%)	
$2 < \leq 5\%$	4点
$5 < \leq 10\%$	8点
$10\% <$	10点

文献19)より改変、引用

細胞や杯細胞からのムチン産生の抑制による水分過剰分泌の抑制などがある^{12,13)}。これらについては耳鼻咽喉科領域からも多数の研究報告がある。

マクロライドによるVEGF産生抑制

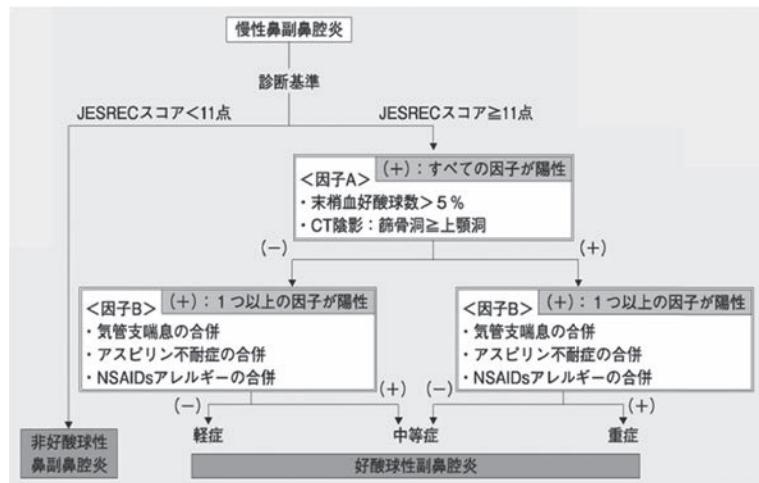
上気道の慢性副鼻腔炎では、鼻—副鼻腔ルートの換気排泄障害から副鼻腔内は低酸素状態にあり¹⁴⁾、低酸素刺激によるVEGFの産生亢進が副鼻腔粘膜の線維芽細胞から見られ、TNF- α や細菌エンドトキシンの刺激でさらにその反応は増強される^{15,16)}。VEGFは血管透過性亢進や血管増殖など炎症反応で重要な役割を果たすが、マクロライドは低酸素環境下での様々なVEGF産生を抑制す

ることを我々は明らかにした^{17,18)}。このVEGF産生抑制効果は、マクロライドの重要な抗炎症作用の1つである。

マクロライド療法と好酸球性副鼻腔炎

近年、難治性、易再発性の慢性副鼻腔炎と気管支喘息の関係が近年問題となっている。2000年代になって「好酸球性副鼻腔炎」としてそれらの臨床的特徴がまとめられて報告された。診断基準の確立には時間を要したが、2015年「好酸球性副鼻腔炎診断ガイドライン」として重症度分類とともに日本耳鼻咽喉科学会誌に掲載された¹⁹⁾。(表1、図2)また、これと前後して、「好酸球性副鼻腔炎」

図2. 好酸球性副鼻腔炎の重症度分類



文献19)より改変、引用

は、厚生労働省により難病指定された。当科での慢性副鼻腔炎手術症例についてみた場合その約50%が好酸球性副鼻腔炎、その約70%に喘息の合併を認めた。副鼻腔炎は篩骨洞を中心に両側性で広範囲におよび鼻茸は易再発性である。また、好酸球性副鼻腔炎における喘息はアトピー型ではなくアスピリン喘息も含めた成人発症の非アトピー型のものである²⁰⁾。頻度は低いが、好酸球性中耳炎を合併することもある。当科の喘息を合併する慢性副鼻腔炎手術症例のうち、好酸球性中耳炎またはその疑い例の合併は約20%である。本疾患は、鼻副鼻腔粘膜、気管粘膜、時には中耳粘膜も含めた気道系粘膜全体を標的とした全身的な好酸球性炎症と考えられる。この好酸球性炎症の病態はI型アレルギー反応とは異なるものである²¹⁾。黄色ブドウ球菌エンテロトキシンのスーパー抗原としての作用による非特異的IgE産生増加や真菌関与の可能性などが病態論として提案されているが未だ不明の点も多い。

こうした難治性好酸球性炎症は、I型アレルギー性疾患²²⁾とともにマクロライド療法は、効果が期待できないと考えられている。近年、マクロライド療法が有効な好中球性炎症が主体の従来型の副鼻腔炎と比べて、本邦では好酸球性副鼻腔炎が増加傾向にあるとの指摘も少なくない。

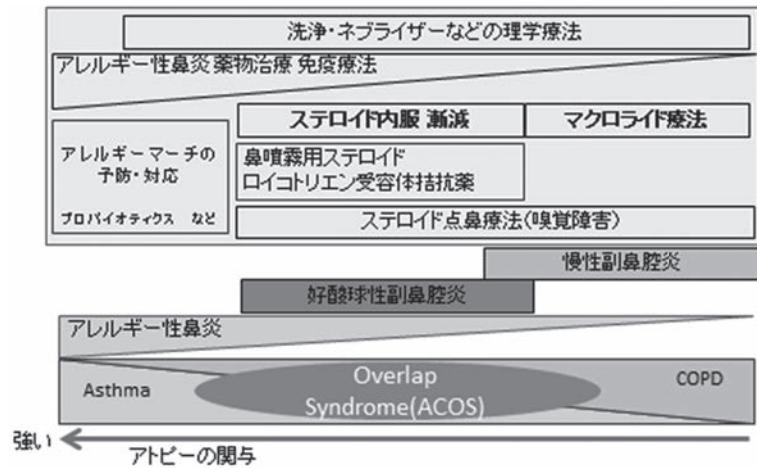
結語

一般的に難治性好酸球炎症(好酸球性副鼻腔炎)やI型アレルギー疾患(アレルギー性鼻炎、花粉症)では、マクロライド療法は無効と従来から考えられる。しかし、最近下気道炎症で喘息とCOPDが重複した病態(ACOS; Asthma COPD Overlap Syndrome)が注目されている²³⁾。こうした病態は極めて多彩かつ複雑であるといえる。これらの下気道炎症に対応して合併する鼻副鼻腔炎も多彩な病態を呈している可能性がある(図3)。マクロライド療法の適応や有効性の議論は決着がついた話ではなく、多彩な病態を考慮した臨床的な試みの蓄積が今後とも必要である。その際バイオマーカやエンドタイプに基づく症例の整理を併せて行う必要がある。

参考文献

- 1) 工藤翔二、木村 仁、植竹健司。びまん性汎細気管支炎に対するマクロライド系抗生剤の少量長期投与の臨床効果。日胸疾会誌 22(増) : 254, 1984
- 2) 洲崎春海、杉田公一、工藤翔二 他。エリスロマイシンはどのような疾患・病態に有効か、びまん性汎細気管支炎に併発する慢性副鼻腔炎に対する効果。Therapeutic Research 11 : 961~963, 1990
- 3) 飯野ゆき子、杉田公一、石戸谷淳一 他。小児滲出性中耳炎のエリスロマイシン療法。耳鼻臨床 85 : 713~720, 1992

図3. 喘息、COPDと保存的鼻副鼻腔炎治療



- * 1. 手術治療は割愛した。
- * 2. 抗IgE抗体療法など耳鼻咽喉科疾患に適応のないものは割愛した。
- * 3. 抗IL-4受容体抗体療法など現時点で臨床試験中のものは割愛した。

文献23を改変、引用

- 4) 大山 勝, 上野員義, 松根彰志 他。副鼻腔炎に対するマクロライド療法の現状。耳鼻臨床 92 : 571~582, 1999
- 5) 羽柴基之, 洲崎春海, 古田 茂 他。慢性副鼻腔炎に対するマクロライド療法のガイドライン(試案)。Jpn. J. Antibiotics. 51(Suppl. A)86~89, 1998
- 6) 副鼻腔炎診療の手引き 日本鼻科学会/編 金原出版(東京)第1版 2007年。
- 7) 工藤翔二。呼吸器疾患シリーズ 呼吸器疾患の診断と治療 びまん性汎細気管支炎 臨床医薬 18(12) 1357~1364, 2002
- 8) 間宮紳一郎, 羽柴基之, 高木一平 他。ロキシクロマイシンの好中球機能に対する影響;短期投与の検討。Jpn. J. Antibiotics. 50(Suppl A)78~70, 1997
- 9) SUZUKI H, SHIMOMURA A, IKEDA K et al. Inhibitory effect of macrolides on interleukin-8 secretion from cultured human nasal epithelial cells. Laryngoscope 107 : 1661~1666, 1997
- 10) 金井憲一, 浅野和仁, 洲崎春海。好中球のMMP産生能に及ぼすロキシクロマイシンの効果。Jpn. J. Antibiotics. 58(Suppl A)24~28, 2004
- 11) ASANO K, KAMAKAZU K, HISAMITSU T et al. Suppressive activity of macrolide antibiotics on nitric oxide production from nasal polyp fibroblasts in vitro. Acta Otolaryngol 12 : 1065~1069, 2003
- 12) TAKAHASI Y, SHIMIZU T, SAKAKURA Y. Effect of indomethacin, dexamethasone, and erythromycin on endotoxin-induced intraepithelial mucus production of rat nasal epithelium. Ann Otol Rhinol Laryngol 106 : 683~687, 1997
- 13) 竹内万彦, DONG-YOUNG KIM, 石永 一 他。ロキシクロマイシンは培養上皮細胞においてムチン遺伝子MUC2を抑制する。Jpn. J. Antibiotics. 57(Suppl A)5~8, 2003 療法の治療指針(試案)Jpn J Antibiotics 56(Suppl A)167~170, 2003
- 14) MATSUNE S, KONO M, SUN D et al. Hypoxia in paranasal sinuses of patients with chronic sinusitis with or without the complication of nasal allergy. Acta Otolaryngol. 123 : 519~523, 2003
- 15) 松根彰志, 孫 東, 大堀純一郎 他。低酸素とTNF- α の共刺激による血管内皮細胞増殖因子(VEGF)産生亢進に対するマクロライドの抑制効果に関する検討。Jpn. J. Antibiotics. 57(Suppl A)25~28, 2003
- 16) SUN D, MATSUNE S, OHORI J et al. TNF-alpha and endotoxin increase hypoxia- induced VEGF production by cultured human nasal fibroblasts in synergistic fashion. Auris Nasus Larynx. 32 : 243~249, 2005
- 17) MATSUNE S, SUN D, OHORI J et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor by macrolides in cultured fibroblasts from nasal polyps. Laryngoscope. 115 : 1953~6, 2005
- 18) 松根彰志, 孫 東, 大堀純一郎 他。慢性副鼻腔炎症例におけるマクロライド療法による血管内皮細胞増殖因子の抑制効果に関する検討。Jpn. J. Antibiotics. 59(Suppl A)17~19, 2005
- 19) 藤枝重治 他。好酸球性副鼻腔炎診断ガイドライン (JESREC Study)日耳鼻 118 : 728~735, 2015
- 20) 松根彰志, 耳鼻咽喉科からみた喘鳴・喘息・アスピリ

- ン喘息の病態と随伴する耳鼻咽喉科疾患(解説/特集) ENTOMI 118 : 44~48, 2010
- 21) 春名眞一, 鴻 信義, 柳 清 他。好酸球性副鼻腔炎(Eosinophilic sinusitis).耳展, 44 : 195~201, 2001
- 22) 鈴木元彦, 大橋 卓, 中村善久 他。副鼻腔陰影を伴うアレルギー性鼻炎におけるマクロライド併用の有用性。Jpn. J. Antibiotics. 65(Suppl A) : 32~35, 2012
- 23) 松根彰志。上気道疾患とOverlap syndrome 一特に治療的側面から—。<特集>上気道疾患とCOPD(慢性閉塞性肺疾患) ENTOMI 184 : 58~62, 2015

シンポジウム2 「マクロライドの新展開Ⅱ」

小児の慢性呼吸器疾患に対するマクロライド療法

川崎一輝

小児の呼吸器疾患に対するマクロライド系抗菌薬の長期投与に関するエビデンスは少ない。当科では経験的に治療・感染予防目的で行っている。治療的には、遷延性・慢性咳嗽を主訴とする気管支炎・副鼻腔炎にして、通常量から開始し、効果

をみて減量・中止する。期間は2週以上で、4週以上あるいは反復投与が多い。予防的には、先天性気管狭窄、閉塞性細気管支炎、上気道狭窄などに対して、通常量の2/3~1/3で1年以上継続することが多い。

シンポジウム2 「マクロライドの新展開Ⅱ」

討議総括

竹内万彦¹⁾ 後藤 元²⁾

このシンポジウムではマクロライドの臨床的側面について、耳鼻咽喉科、小児科、内科の3名の演者により発表、討論がなされた。

日本医科大学武藏小杉病院教授耳鼻咽喉科の松根彰志先生は、「耳鼻科領域：副鼻腔炎と喘息・COPDの合併症例への対応」について述べられた。まず慢性副鼻腔炎に対するマクロライド少量長期療法についての説明があり、次に一般にはマクロライドが無効とされている好酸球性副鼻腔炎についてのマクロライドの可能性について言及があった。自験例で好酸球性副鼻腔炎と非好酸球性副鼻腔炎を比較するとカンジダの皮内反応(48時間後)が前者の方が有意に強いとの興味深い報告があった。

次に国立成育医療研究センター呼吸器科 川崎一輝先生から、「小児の慢性呼吸器疾患に対するマクロライド療法」の講演があった。慢性咳嗽の定義は8週間以上続く咳嗽であるが、実臨床では8週待つことは困難であり、3週持続したものを見延性咳嗽として扱っていることが示された。母親からの問診も大事であるが、実際に児の咳を聞

くことが肝要であるとのことであった。また、マクロライドが無効な場合は、ST合剤を使用し、これは長期間使うことができると報告があった。先天性気管狭窄、閉塞性細気管支炎、上気道狭窄については、マクロライドを通常量の1/3~2/3の量で、予防的に1年以上継続することが多いことが示された。

次に、大分大学医学部呼吸器・感染症内科学講座の小宮幸作先生は、「誤嚥性肺炎の診療におけるマクロライド」について述べられた。誤嚥性肺炎は、夜間に少しづつ気道に流れ込み、数日かかって肺炎になるという説明がなされた。日本呼吸器学会による成人肺炎診療ガイドラインは今年5月に改訂され、その中で、繰り返す誤嚥性肺炎や終末期の肺炎などに対して、個人の意思QOLを尊重した治療・ケアを行う治療アルゴリズムが示され、中には緩和ケアだけを行う選択肢も示されたことが紹介された。また、少数例での検討ではあるが、マクロライドが誤嚥性肺炎を予防させるデータも示された。

¹⁾三重大学大学院医学系研究科耳鼻咽喉・頭頸部外科, ²⁾公益財団法人結核予防会復十字病院

特別講演

Human Airway Cell Models : From Pathobiology to Drug Discovery

WALTER E. FINKBEINER

As the conduit through which air reaches the gas exchange region of the lung, the airways must defend the lung from infectious microorganisms, irritating gases and injurious particulates. Among the various cells forming the airway, the epithelial cells play critical roles as a cellular barrier, initiator of signals that generate protective responses, cellular sources of host defense molecules, and through its mucociliary system, and the mechanism for clearing the lungs of unwanted materials. Cell culture models of the human respiratory tract epithelium are important tools for studying the intricate biological processes that maintain lung homeosta-

sis. They also provide tools for studying the relevant pathological processes of airway disease. Highly differentiated airway cell models allow *in vitro* testing of hypotheses, evaluation of potential therapeutics and with the knowledge and techniques gained from advances in our understanding of stem cell biology, now may provide the cellular platforms for high throughput screening of potential therapeutic molecules. The proffered talk will describe our laboratory's involvement in the development of human airway surface epithelial and submucosal gland cell models and highlight a number of studies in which these models provided a key resource.

教育講演 4

カルシニューリン阻害薬FK506を利用したMAPKシグナル制御メカニズムと創薬研究：シグナル制御拠点としてのRNA顆粒の役割から新規ERK調節剤ACA-28の抗がん作用まで

杉浦麗子

私は、酵母を用いた分子遺伝学とカルシニューリン(CN)阻害薬FK506を用いた薬理学を融合することにより、MAPKとCNのクロストークに立脚した、独自の「MAPKシグナル制御因子・調節薬探索法」を確立した。その過程で、複数のRNA結合蛋白質を同定し、P-bodyやストレス顆粒に代表される“RNA顆粒”がシグナル制御拠点として機能する可能性を提唱した。一方、MAPKを標的とした創薬研究により発見したSugiura Kagogobutsu(SK)の一種、ACA-28はERK MAPKを活性化させ、がん細胞特異的な細胞死を誘導する魅力的な化合物であり、新たながん治療法開発につながる。

Introduction

FK506(タクロリムス)は藤沢薬品工業(現アステラス製薬)の研究により土壌細菌(ストレプトマイセス・ツクバエンシス)より分離された化合物であり、1993年に「肝移植における拒絶反応の抑制」を効能・効果とする注射剤、カプセル剤として承認を受け、同年6月に世界に先駆けて「プログラフ」として発売された。さらに現在では、腎臓、肺、骨髄移植に用いられているのみならず、重症筋無力症、関節リウマチに対しても適応が拡大されている。一方、FK506を主成分とする「プロトピック軟膏」は、1999年11月にアトピー性皮膚炎に対する「世界初の免疫調整外用薬」として日本で販売が開始され、その後世界に広がっている。

タクロリムスは細胞内でFKBP(FK506 binding protein)と複合体を形成し、この複合体がさらにタンパク質脱リン酸化酵素であるカルシニューリン(CN)に結合する。そしてCNによる転写因子

NFATの脱リン酸化反応を阻害することにより、IL-2に代表される種々のサイトカインの発現を抑制する。これにより、細胞傷害性T細胞の分化増殖を抑制、細胞性免疫・体液性免疫の両方を抑制する。免疫抑制剤FK506(タクロリムス)の化学合成を達成したのはスチュアート・シュライバー STUART L. SCHREIBER博士であり、彼はFK506をツール(プローブ)として様々な生命現象の解明を行い、ケミカルバイオロジーという研究分野のパイオニアとなった。

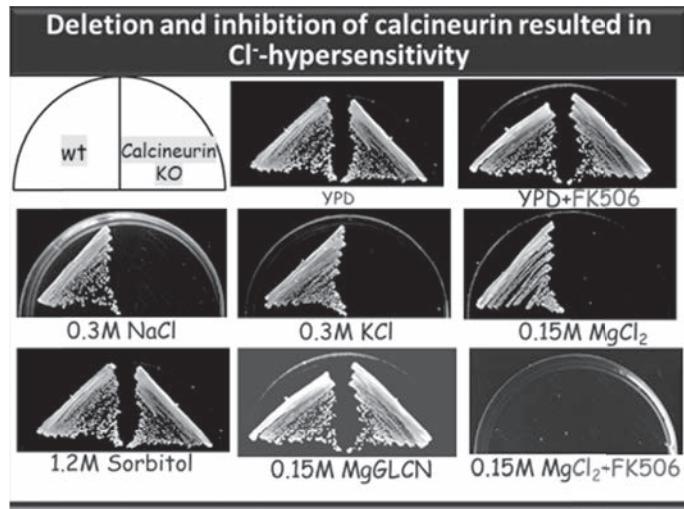
私は、分裂酵母においてもFK506の標的分子であるカルシニューリン(CN)が保存されていること、さらにFK506がCNを阻害することに着目したケミカルバイオロジーを開拓してきた(SUGIURA et al., Genes to Cells 2002)。本研究会では、FK506を駆使することにより明らかになった以下の三つの研究項目について概説する。

- 1) FK506を用いた、カルシニューリンと合成致死を示す変異体ならびにその原因遺伝子の同定
- 2) カルシニューリンシグナル制御の場としてのRNA顆粒
- 3) FK506とMAPKシグナルの拮抗作用を利用することにより同定した化合物ACA-28の抗がん作用

- 1) FK506を用いた、カルシニューリンと合成致死を示す変異体ならびにその原因遺伝子の同定

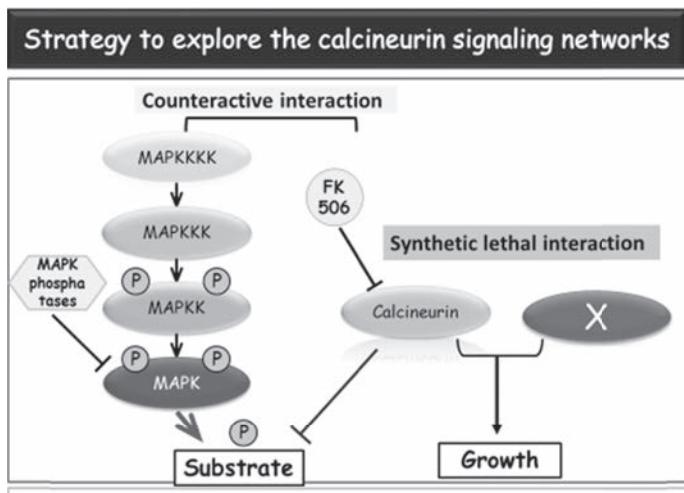
私は、分裂酵母のカルシニューリン遺伝子(*ppbl*)ノックアウト細胞(CN KO)が致死ではないこと、さらにCN KOがCl⁻に感受性を示すこ

図1. 分裂酵母のカルシニューリン遺伝子ノックアウト細胞はCl⁻に感受性を示す



正常細胞(wt), カルシニューリンノックアウト細胞(Calcineurin KO)を通常培地(YPD), および通常培地にFK506, あるいは各種塩を添加することにより, 感受性を検証した。

図2. カルシニューリンシグナル伝達ネットワークを解析する戦略



右: 合成致死: Calcineurin遺伝子単独破壊, あるいはX遺伝子単独変異は致死ではないが, CalcineurinとXが同時に欠損すると致死性を示す。
左: 拮抗的な関係: CalcineurinとMAPKシグナル伝達経路は拮抗的な関係を営む。

とを見出した(SUGIURA *et al.*, 1998 EMBO J.) (図1)。

この発見をもとに, 私は二つの遺伝学的スクリーニングを考案した。すなわち, Synthetic Le-

thal(合成致死)スクリーニングと, Exogenous Suppressor(抑圧変異)スクリーニングである。

合成致死とは, 単独の遺伝子変異や遺伝子欠損では致死性を示さない, 複数の変異(あるいは欠

図3. ケミカルバイオロジーの手法を用いて同定したFK506感受性遺伝子群とその生理機能

FK506感受性遺伝子群 これらの遺伝子の変異はFK506感受性を増強させる！ FK506-sensitive genes			
cis1	mu1-adaptin of the AP-1 complex	Membrane trafficking	Kita, Sugiura et al., <i>Mol. Biol. Cell.</i> 2004
ts3	PI (4) P5 kinase	Cytokinesis	Sugiura et al., <i>MBC J. Biol. Chem.</i> 2010
its4/sip1	AP-1 adaptor protein	Membrane trafficking	Yu, Sugiura et al., 2012 <i>PLoS ONE</i>
its5/ypt3	Rab11	Membrane trafficking	Cheng, Sugiura et al., <i>Mol. Biol. Cell.</i> 2002
its6/ryh1	Rab6	Membrane trafficking	Yi, Sugiura et al., <i>Genes to Cells</i> 2006
Its7/cdc4	Myosin light chain	Cytokinesis	Sugiura et al., <i>Genetics, Mol. Biol. Cell.</i> 2010
its8	GPI-anchor synthesis	Cytokinesis	Yada, Sugiura et al., <i>J. Biol. Chem.</i> 2001
its9	Clathrin heavy chain	Membrane trafficking	Yue, Sugiura et al., <i>PLoS ONE</i> 2012
its10/cdc7	Protein kinase	Cytokinesis	Lu, Sugiura et al., <i>Genes Cells</i> , 2002
its11/gdi1	Rab GDI	Membrane trafficking	Ma, Sugiura et al., <i>Genetics</i> , 2006

損)が同時に生じることによって発生する致死性のことである。Calcineurin遺伝子を単独破壊しても致死とはならないが、Calcineurinと同時に図中X遺伝子に変異が存在すると増殖不可能となる。合成致死スクリーニングとは、このようなX遺伝子を遺伝学的に同定することにより、Calcineurinと生命現象において必須の役割をする遺伝子を明らかにし、ひいてはCalcineurinの生理機能の解明を試みるものである。

我々は、正常細胞にFK506を添加しても増殖に影響がないこと、さらに分裂酵母においてもFK506がカルシニューリン活性を阻害することに着目し(図1)、FK506に対して感受性を示す変異体と原因遺伝子の同定を行うことによって、CNと合成致死を示す遺伝子群を同定することが可能であると考えた。このようにして同定した変異体にとその原因遺伝子を図3に示す。(SUGIURA et al., 2002, *Genes to Cells*; YADA et al., *JBC* 2001; CHENG et al., *Mol. Biol. Cell* 2002; KITA et al., *Mol. Biol. Cell* 2004; ZHANG et al., *JBC* 2000; FUJITA et al., *Genetics* 2002; MA et al., *Genetics* 2006; YU, et al., 2012 *PLOS ONE*)

驚くべきことに、極めて多くのFK506感受性遺伝子の原因遺伝子は、細胞内輸送に関わることが明らかになった。しかも、これらの遺伝子はGol-

gi/エンドゾーム間の輸送、およびGolgiから細胞膜への分泌に関わることが明らかになった。しかもこれらの遺伝子のホモログはRab11、クラスリニアダプター複合体など、高等生物においても高度に保存されている遺伝子産物であることも明らかになった。すなわち、ヒトにおいてこれらの遺伝子の変異や機能低下がある場合、FK506の副作用が顕著に出現する可能性を示唆している。

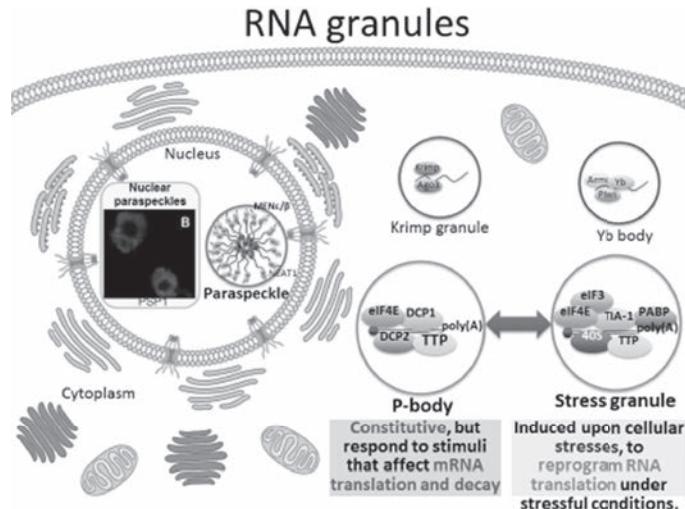
2) カルシニューリンシグナル制御の場としてのRNA顆粒

次に、カルシニューリンの細胞内局在の詳細な解析から明らかになった、RNA顆粒とカルシニューリンシグナルの関わりについて紹介する。

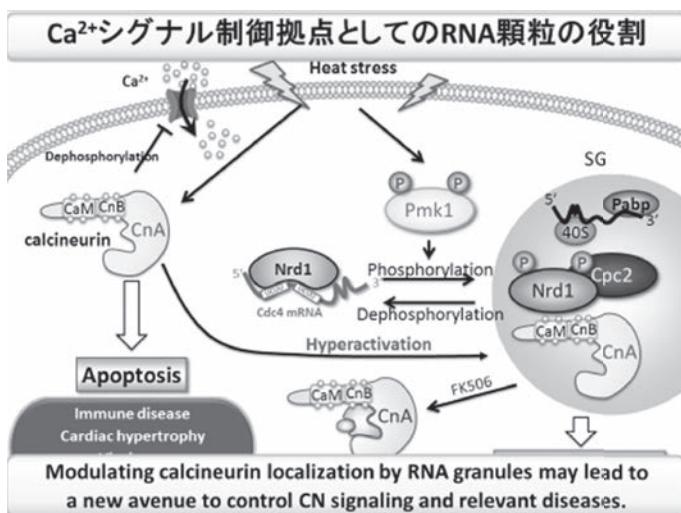
RNA顆粒は膜構造を取らない極めてダイナミックな構造体であり、リボゾームRNAや翻訳因子、RNA分解酵素、RNAヘリケースや様々なRNA結合タンパク質がその構成因子として同定されている。RNA顆粒の役割にはいまだ不明な点が多いが、近年RNA顆粒がRNAの代謝を司ることに加えて、シグナル経路との関わりや神経変性疾患、癌などの疾患とのかかわりが注目を集めている。

我々は、分子遺伝学的な手法を用いてRNA顆粒形成の鍵を握るNrd1というRNA結合タンパク

図4. 様々な細胞内RNA顆粒



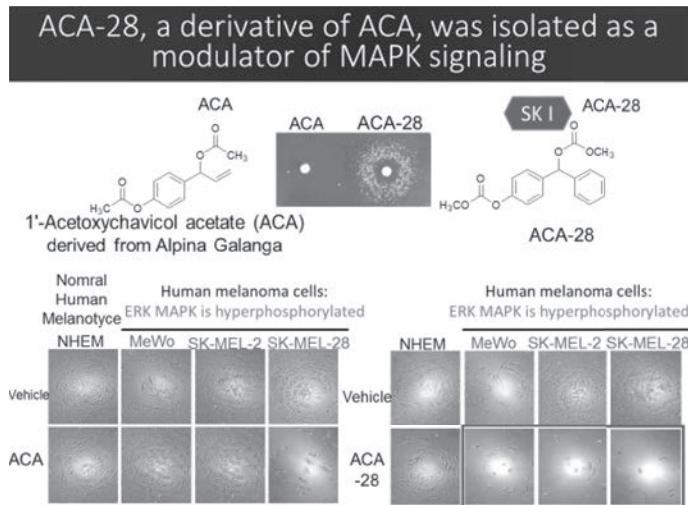
細胞内には様々なRNA顆粒が存在するが、特にP-bodyとStress顆粒は互いにその構成因子がダイナミックに変動かつ相互作用し、オーバーラップすることも少なくない。

図5. Ca^{2+} /Calcineurinシグナル制御拠点としてのRNA顆粒の役割

質を同定した(SATOH *et al.*, PLoS ONE)。さらに興味深いことに、RNA顆粒は外界からの刺激(熱ストレス、砒素、浸透圧、酸化ストレス)によっても誘導されることが知られているが、これらの刺激により、分裂酵母のERKホモログであるPmk1 MAPKが活性化し、Nrd1を直接リン酸化

することを明らかにした(SATOH *et al.*, Mol Biol Cell. 2009)。しかもMAPKによってリン酸化されたNrd1はRACKホモログであるCpc2と複合体を形成することにより、RNA顆粒形成の足場を提供する(SATOH *et al.*, PLoS ONE 2012)。興味深いことに、我々は、タンパク質脱リン酸化酵素であ

図6. ACA-28は悪性黒色腫に対して選択的に増殖阻害効果を有する



正常色素細胞であるNHEMに対する効果は限定的であった。オリジナル化合物であるACAではこのような選択性は認められなかった。

るCalcineurinも熱刺激に応答し、自らの酵素活性依存的にRNA顆粒に局在することを明らかにした(HIGA *et al.*, Genes to Cells 2015)。すなわち、Calcineurinは外界からの刺激に応答して活性化することにより、免疫や筋形成、記憶などの生命現象を司るが、過剰にCalcineurinシグナルを活性化するような刺激が持続する場合には、自らRNA顆粒へと移行し、その活性を空間的に隔離する仕組みが存在すると考えられる。このような観点から、我々は、「Calcineurinシグナル制御の場」としてRNA顆粒が機能すると同時に、Calcineurinの関わる生命現象のON/OFFをCalcineurinの局在制御を介して調節しうる可能性を示唆している。

3) FK506とMAPKシグナルの拮抗作用を利用することにより同定した化合物ACA-28の抗がん作用

我々は、Calcineurinノックアウト細胞の表現型を利用することにより、二つの遺伝学的スクリーニング法を考案したが、その一つである合成致死について既に述べた。

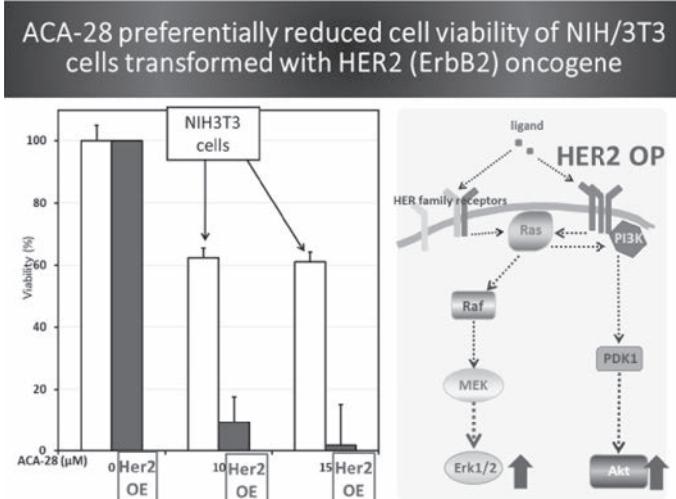
本項目では、もう一つの戦略である「Extragenic

suppressor mutant」を用いることにより確立した創薬探索の成果について紹介する。図2左に示すように、CalcineurinとMAPKシグナル伝達経路はCl⁻ホメオスタシスを拮抗的に調節する。すなわち、Calcineurinノックアウト細胞の示すCl⁻感受性はMAPKシグナルの抑制あるいは阻害により回復する。この現象(Calcineurinノックアウト細胞の示すCl⁻感受性のMAPKシグナルによる回復)を活用することにより、今までにMAPKホスファターゼやMAPKキナーゼなど、数多くのMAPKシグナルの制御因子や標的因子を同定してきた。(SUGIURA *et al.*, EMBO J. 1998; SUGIURA *et al.*, 1999 Nature; SUGIURA *et al.*, Nature 2003; TAKADA *et al.*, Mol. Biol. Cell 2007; MA *et al.*, Mol. Biol. Cell 2006; TODA *et al.*, Mol. Cell. Biol. 1996; DOI *et al.*, Genes to Cells 2015)。

さらに、このCalcineurinとMAPKの拮抗的な関係を創薬探索手法へと応用することにより、Sugiura Kagobutsu(SKシーズ)を同定した。

同定したSKの一つであるACA-28は悪性黒色腫の増殖を選択的に阻害し、正常色素細胞に対する影響は限定的であった(SATOH *et al.*, Genes to Cells 2017)。

図7. HER2過剰発現細胞に対するACA-28の選択的阻害効果



ACA-28はHER2を過剰発現することによりERKを人工的に活性化させたがん化細胞に対して選択的な増殖阻害効果を誘導した。NIH3T3に対する効果は限定的であった。

それでは一体、ACA-28の選択的増殖抑制効果を規定する要因は何なのだろうか？我々は、この問いに答えるために、悪性黒色腫ではERK MAPK経路が恒常的に活性化していることに着目し、<人工的に>ERK MAPKを活性化させることによりがん化した細胞を用いてACA-28の効果を検証した。その結果、予想通り、悪性黒色腫と同様に、ERKの上流因子であり、癌遺伝子であるHER2/ErbB2を過剰発現させることによりERKが活性化した細胞に対して、ACA-28は顕著な増殖阻害効果をもたらした。

それでは、一体ACA-28はERKシグナルにどのような影響をもたらすのであろうか？驚いたことに、ACA-28は悪性黒色腫、さらにはHER2過剰発現細胞のERK活性化状態をさらに過剰に活性化させることができた。正常色素細胞、ならびにHER2を発現していないNIH3T3細胞ではこのような効果は誘導されなかった。しかも重要なことに、このようなERKの過剰な活性化に伴い、ACA-28は細胞死を誘導することが明らかになった。すなわち、ACA-28は悪性黒色腫やHER2過剰発現細胞における「過剰なERKの活性化状態」を利用することにより、さらにERKを活

性化させることにより、細胞死を誘導するという、極めて興味深い活性を有することが明らかになった。

今までに開発されているERK経路を標的とした分子標的薬は、全てERKの過剰な活性化を阻害するような開発に全力が注がれていた。しかしながら、今回の杉浦らによるACA-28の発見は、がん細胞において認められる、過剰なERKの活性化を利用することにより、がん細胞選択的にERK依存的な細胞死を誘導することができるという、新たながん治療戦略を提唱するものである。

References

- Calcineurin phosphatase in signal transduction : lessons from fission yeast. SUGIURA-R ; Sio-SO ; SHUNTOH-H ; KUNO-T Genes-Cells, 7(7) : 619~27, 2002 Jul
- pmp1⁺*, a suppressor of calcineurin deficiency, encodes a novel MAP kinase phosphatase in fission yeast. SUGIURA-R ; TODA-T ; SHUNTOH-H ; YANAGIDA-M ; KUNO-T EMBO-J. 17(1) : 140~8, 1998 Jan
- Its8, a fission yeast homologue of Mcd4 and Pig-n, is involved in GPI anchor synthesis and shares an essential function with calcineurin in cytokinesis. YADA-T ; SUGIURA-R ; KITA-A ; ITOH-Y ; LU-Y ;

- HONG-Y ; KINOSHITA-T ; SHUNTOH-H ; KUNO-T J-Biol-Chem. 276(17) : 13579~86, 2001 Apr Genetic interaction between calcineurin and type 2 myosin and their involvement in the regulation of cytokinesis and chloride ion homeostasis in fission yeast. FUJITA-M ; SUGIURA-R ; LU-Y ; XU-L ; XIA-Y ; SHUNTOH-H ; KUNO-T Genetics, 161 : 971~81, 2002 Jul Role of the Rab GTP-binding protein Ypt3 in the fission yeast exocytic pathway, and its connection to calcineurin function. CHENG-H ; SUGIURA-R ; WU-W ; FUJITA-M ; LU-Y ; SIO-SO, KAWAI-R ; TAKEGAWA-K ; SHUNTOH-H ; KUNO-T Mol-Biol-Cell, 13 : 2963~76, 2002 Aug Loss of Apm1, the AP-1 Clathrin-Adaptor mul Subunit, Causes Distinct Phenotypes and Synthetic Lethality with Calcineurin Deletion in Fission Yeast. AYAKO KITA, REIKO SUGIURA, HIROMI SHOJI, YI HE, LU DENG, YABIN LU, SUSIE O. SIO, KAORU TAKEGAWA, MOTOYOSHI SAKAUE, HISATO SHUNTOH, and TAKAYOSHI KUNO Mol Biol Cell. 15(6) : 2920~31, 2004 Jun Phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase Its3 and calcineurin Ppb1 coordinately regulate cytokinesis in fission yeast. ZHANG-Y ; SUGIURA-R ; LU-Y ; ASAMI-M ; MAEDA-T ; ITOH-T ; TAKENAWA-T ; SHUNTOH-H ; KUNO-T J-Biol-Chem. 275 (45) : 35600~6, 2000 Nov Genetic interaction between calcineurin and type 2 myosin and their involvement in the regulation of cytokinesis and chloride ion homeostasis in fission yeast. FUJITA-M ; SUGIURA-R ; LU-Y ; XU-L ; XIA-Y ; SHUNTOH-H ; KUNO-T Genetics, 161 : 971~81, 2002 Jul Genetic Evidence for Phospholipid-Mediated Regulation of the Rab GDP-Dissociation Inhibitor in Fission Yeast. YAN MA, TAKAYOSHI KUNO, AYAKO KITA, TOSHIYA NABATA, SATOSHI UNO and REIKO SUGIURA Genetics, 174(3) : 1259~1271, 2006 Sip1, a Conserved AP-1 Accessory Protein, is Important for Golgi/Endosome Trafficking in Fission Yeast Yu, Y., KITA, A., UDO, M., KATAYAMA, Y., SHINTANI, M., PARK, K., HAGIHARA, K., UMEDA, N., SUGIURA, R. PLoS ONE 7(9) : e45324. Role of the RNA-binding Protein Nrd1 in Stress Granule Formation and Its Implication in the Stress Response in Fission Yeast SATOH, R., TANA- KA, A., KITA, A., MORITA, T., MATSUMURA, Y., UMEDA, N., TAKADA, M., HAYASHI, S., TANI, T., SHINMYOZU, K., SUGIURA, R. PLoS ONE 7(1) : e29683. January 19, 2012 The Role of the RNA-Binding Protein Nrd1 and Pmk1 MAPK in the Regulation of Myosin mRNA Stability in Fission Yeast RYOSUKE SATOH, TAKAHIRO MORITA, HIROFUMI TAKADA, AYAKO KITA, SHUNJI ISHIWATA, AKIRA DOI, KANAKO HAGIHARA, ATSUSHI TAGA, YASUHIRO MATSUMURA, HIDEKI TOHDA, and REIKO SUGIURA. Mol Biol Cell. 20(9) : 2473~2485, 2009 Spatial control of calcineurin in response to heat shock in fission yeast. MARI HIGA, AYAKO KITA, KANAKO HAGIHARA, YUKI KITAI, AKIRA DOI, RIE NAGASOKO, RYOSUKE SATO, REIKO SUGIURA Genes Cells, 20(2) : 95~107, 2015 Feb Atf1 Is a Target of the MAP Kinase Pmk1 and Regulates Cell Integrity in Fission Yeast. HIROFUMI TAKADA, MASAYUKI NISHIMURA, YUTA ASAYAMA, YOSHIAKI MANSE, SHUNJI ISHIWATA, AYAKO KITA, AKIRA DOI, AIKO NISHIDA, NAOYUKI KAI, SAYAKO MORIUCHI, HIDEKI TOHDA, YUKO GIGA-HAMA, TAKAYOSHI KUNO, and REIKO SUGIURA. Mol. Biol. Cell, 18(12) : 4794~4802, 2007 Rho2 is a Target of the Farnesyltransferase Cpp1 and Acts Upstream of Pmk1 MAP Kinase Signaling in Fission Yeast. YAN MA, TAKAYOSHI KUNO, AYAKO KITA, YUTA ASAYAMA and REIKO SUGIURA Mol. Biol. Cell, 17(12) : 5028~5037, 2006 The fission yeast *pmk1*⁺ gene encodes a novel mitogen-activated protein kinase homolog which regulates cell integrity and functions coordinately with the protein kinase C pathway. TODA-T ; DHUT-S ; SUPERTI-FURGA-G ; GOTOH-Y ; NISHIDA-E ; SUGIURA-R ; KUNO-T Mol-Cell-Biol. 16(12) : 6752~64, 1996 Dec Identification of ACA-28, a 1'-Acetoxychavicol Acetate analog compound, as a novel modulator of ERK MAPK signaling, which preferentially kills human melanoma cells. RYOSUKE SATOH, KANAKO HAGIHARA, KAZUKI MATSUURA, YOSHIAKI MANSE, AYAKO KITA, TATSUKI KUNOH, TAKASHI MASUKO, MARIKO MORIYAMA, HIROYUKI MORIYAMA, GENZOH TANABE, OSAMU MURAOKA, REIKO SUGIURA. Genes Cells, 2017 May : DOI : 10.1111/gtc.12499

コーヒーブレイクセミナー 2

マクロライド系抗菌薬と不整脈 —分子レベルから臨床まで—

川野誠子

はじめに

マクロライド系抗菌薬は、稀ではあるが、重大な副作用として、致死性不整脈を誘発する事が知られている。これまでに数多くの臨床研究が発表されると共に、基礎的研究も進み、現在では分子・遺伝子レベルでそれらの詳細が解明されつつある。しかし、医療現場では基礎的研究の成果が臨床医に共有され、病態が正確に理解されているとは言えないようと思われる。

本稿では、この点に注目して臨床上の問題を取り上げると共に、現在までに解明されているマクロライド系抗菌薬による不整脈発症のメカニズムを解説したい。これらの理解により、致死性不整脈発症の危険を予知する事も可能となり、臨床投与上の注意点を心がけることにより、薬剤を安全に有効に投与できると考える。

1. マクロライド系抗菌薬による不整脈発症の臨床

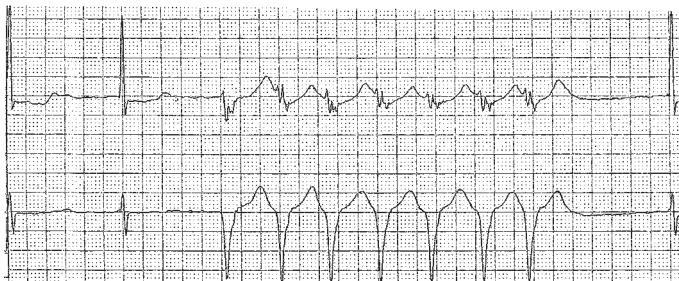
先ず、臨床の問題として、どのくらい危険なのか？ ということだが、今までに数多くの論文が発表されている。「マクロライド系抗菌薬の危険度は大である。過小評価されているのではないか」というものから、「あまり危険ではない、逆に過大評価されている」というものまで、その評価に大きなばらつきがある。最近発表された主な論文によると、2012年にRAYら¹⁾はazithromycinにより心臓死が増加すると発表した。この論文によりアメリカではFDA(U.S. Food and Drug Administration)がazithromycinの使用に警鐘を鳴らし、特にTorsades de pointesや致死性不整脈のリスクの高い患者への投与は危険であると警告を発した²⁾。しかし、2014年にはALBERTら³⁾はFDA

の発表に反論し「リスクファクターのない症例では経口投与のマクロライド系抗菌薬による不整脈発症の頻度は非常に低く、10万人に1人であり、危険度は低い」と発表した。循環器の分野では2015年にCHENGら⁴⁾が「マクロライド系薬剤は心臓死を増加させる」と結論した論文を発表している。その後、azithromycinの不整脈リスクに関してはあまり心配ないという論文の発表も散見される^{5,6)}。

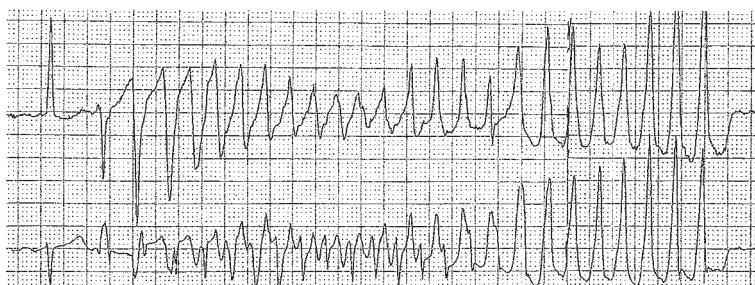
CHENGらの論文⁴⁾を詳しく解説する。この研究は経口マクロライド系抗菌薬が心血管イベントのリスクを増大させるか否かについて膨大な検討を行なったものである。MEDLINEとEMBASEを用いて1966年から2015年までに発表された論文を調べてメタアナリシスを行った。総参加者数は約2,000万名以上(20,770,963名)の膨大な研究である。その結果、マクロライド系抗菌薬を服用していない場合を1とし、服用した場合のリスクを求めるとき、心臓突然死又は心室性頻拍性不整脈のリスクが2.4(1.61 - 3.63)に増大していた。しかし、其の他の心疾患や心筋梗塞、Stroke、心疾患以外の死亡ではマクロライド系抗菌薬の服用の有無でリスクに差は認められなかった。以上のことでより、マクロライド系抗菌薬の投与により心臓突然死、心室頻拍性不整脈や心臓死のリスクが増大すると結論した。また、マクロライド系抗菌薬の種類によって危険度に差があるか否かも検討している。心臓突然死または心室性頻拍性不整脈のrelative riskはそれぞれ azithromycin で3.40(1.68 - 6.90), clarithromycin は2.16(1.70 - 2.74), roxithromycin は1.70(0.80 - 3.60), erythromycin は3.61(1.09 - 11.99)であった。このように程度の差はあるが、マクロライド系抗菌薬はいずれも心臓突然死や心室性不整脈による死を増加させるとい

図1. Torsades de Pointesの心電図モニター記録

症例1



症例2



症例1、70代男性。QTc間隔483msecに延長。その後、心室頻拍が出現している。

症例2、60代男性。心室性期外収縮より心室性頻拍性不整脈に発展。波形のねじれはTorsades de Pointesに典型的である。(自験例)

う結果を示した。発症率はわずかであるが、発症した場合には死に直結する可能性があるので油断はできない。従って、現時点では全てのマクロライド系抗菌薬はその使用にあたって充分に注意すべきであると考える。

2. マクロライド系抗菌薬による不整脈発症のメカニズム

マクロライド系抗菌薬は心電図のQT間隔を延長し、心室頻拍(Torsades de pointesを含む)や心室細動などの致死性不整脈を誘発することが知られている(図1)。その発症機序は心電図波形を心筋細胞の活動電位に重ねて説明することが多い。心電図のQ波の始まりからT波が基線に戻るまでのQT時間は心筋細胞の脱分極から再分極の終わりまでに相当し、T波は心室筋が再分極する過程を反映している。心筋の再分極が心室全体で同期されてほぼ同時に終了すれば不整脈は発生しないが(図2左)、何らかの原因によって再分極が

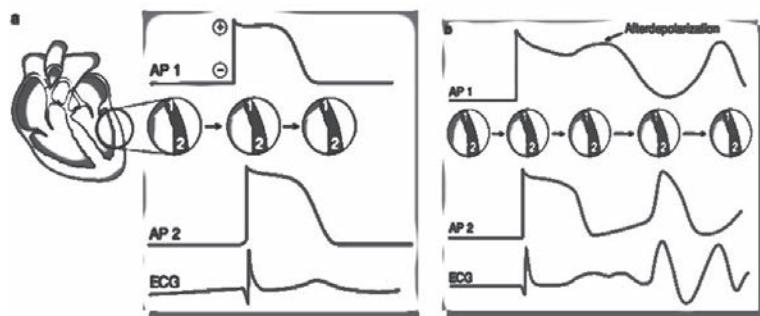
不均一になった場合、不整脈が誘発されやすくなる(図2右)。

ANTEZELEVICHらは犬の心室筋の再分極相が不均一であり、心外膜の深い部位(M部位)が最も再分極相が長く、心外膜部が最も短いことを示した⁷⁾。さらにエリスロマイシンは活動電位の再分極を抑制しQT延長をもたらすが、その抑制効果は心室の部位によって異なり、特にM部位での抑制効果が最大であることを証明した。すなわち、エリスロマイシンは心室筋の再分極の不均一性を増強するために、不整脈を発症すると考えられている。(図3)

分子レベルでの考察

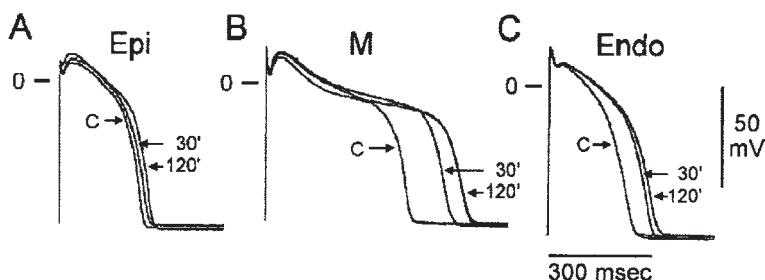
心臓の電気的興奮は洞結節に発したインパルスが刺激伝導系を伝搬して、最終的に心筋細胞に達し、それぞれの心筋細胞が活動電位を発生する。これらの電気現象を体表面で記録するのが心電図でPQRSTU波と表される。活動電位波形は心臓

図2. 不整脈発症メカニズム



a. 正常では、心室筋の脱分極はほぼ同時に終了する。心室部位(AP1)に何らかの異常がある場合、活動電位のプラトー相が延長もしくはafterdepolarizationが発生し、心電図のQT時間が著明に延長する。この時、心室の他の部位(AP2)は既に再分極が終了しているために、両者間には電位差が生じ、新たな活動電位が出現し、これがAP1に伝播し連続して心室性頻拍不整脈や心室細動に発展する。(Nature 415: 213-218, 2002より引用)¹⁹⁾

図3. エリスロマイシン誘発性QT延長症候群の発生機序



心室の各部位A:心外膜、B:心外膜の深い部位(M)、C:心内膜の活動電位を示す。エリスロマイシン(50mg/ml)投与前(C)、投与後30分後(30')、120分後(120')の活動電位を重ねてある。コントロールでは活動電位の幅はM部位が最も広い。エリスロマイシン投与により、M部位活動電位の再分極相が最も延長することを示している。J Am Coll Cardiol 1996; 28 Antzelevich *et al*より引用⁷⁾

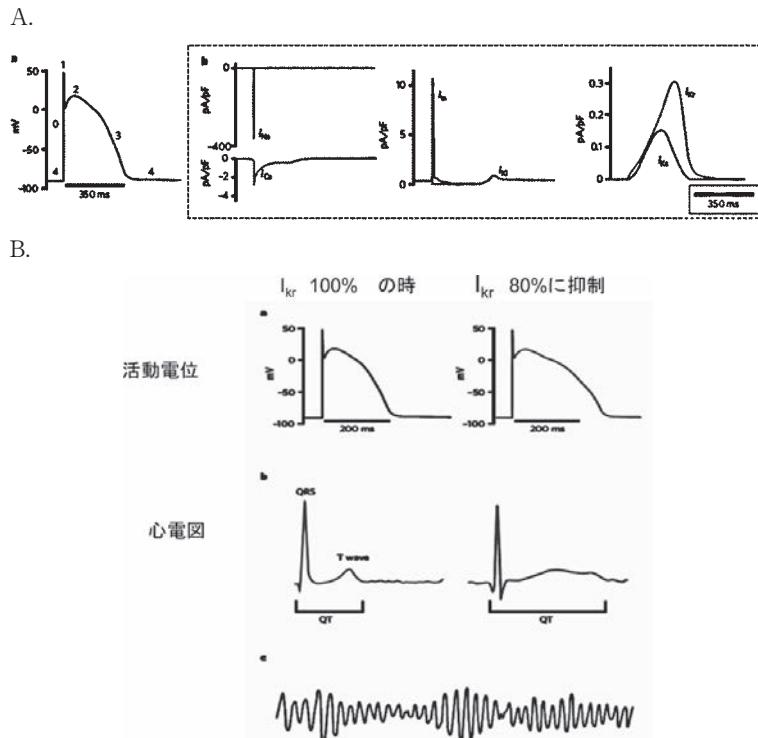
の部位によって異なるが、それは発現しているイオンチャネルの種類や数が部位によって異なるためである。例えば心室筋細胞では静止膜電位は深く、立ち上がり速度は非常に早く、再分極はゆっくりと起こり活動電位の幅が広い。活動電位は細胞膜に発現しているイオンチャネルの開閉により、イオンの出入りが起こり、イオン電気が流れ、膜電位が変化して発生する。これらイオンチャネルは蛋白で構成されているが、その生理機能や分子生物学的研究は著しく進んでおり、チャネルをコードする遺伝子の解明、1分子の機能をdynamicにreal timeで計測する電気生理学研究の進

歩など、現在迄にその機能と構造の解析が蓄積されている⁸⁾。

3. QT延長の原因となるイオンチャネル電流

ヒトの心室筋細胞に流れている主なイオン電流には、脱分極相に流れる内向きのNa電流、Ca電流と再分極相に流れる外向き電流のIto(一過性外向き電流)と緩徐外向き電流(slow delayed rectifier K⁺ current : I_{Ks}とrapid delayed rectifier K⁺ current : I_{Kr})等がある。QT延長は内向き電流の増加、もしくは外向き電流の減少によって再分極相が延長することによりもたらされる。現在まで

図4



A. ヒトの活動電位のシミュレーションと心室筋細胞に流れるイオン電流。a. 活動電位、0相、1、2、3、4相。b. I_{Na} : Na電流、 I_{Ca} : Ca電流、 I_{Ks} : 緩徐外向き電流、 I_{Kr} : 緩徐外向き電流の遅い成分、 I_{Kr} : 緩徐外向き電流の早い成分、マクロライド系抗菌薬は I_{Kr} を抑制する。

B. コンピューターシミュレーションによる I_{Kr} 抑制時の活動電位波形と心電図。
Nature 440 : 463~469, 2006より引用⁹⁾

の研究ではマクロライド系抗菌薬は、この緩徐外向き電流の早い成分である I_{Kr} を抑制してQT延長を来たし、致死性不整脈であるTorsades de pointesや心室細動を起こす事が明らかになっていている。コンピュータシミュレーションによる検証において、 I_{Kr} を80%に抑制した場合、活動電位の再分極相は著明に延長し、心電図のT波が変形してQTが延長する。そして、Torsade de pointes(TdP)が誘発されることも示された⁹⁾(図4)。

4. I_{Kr} の分子生理学；チャネルの構造と機能

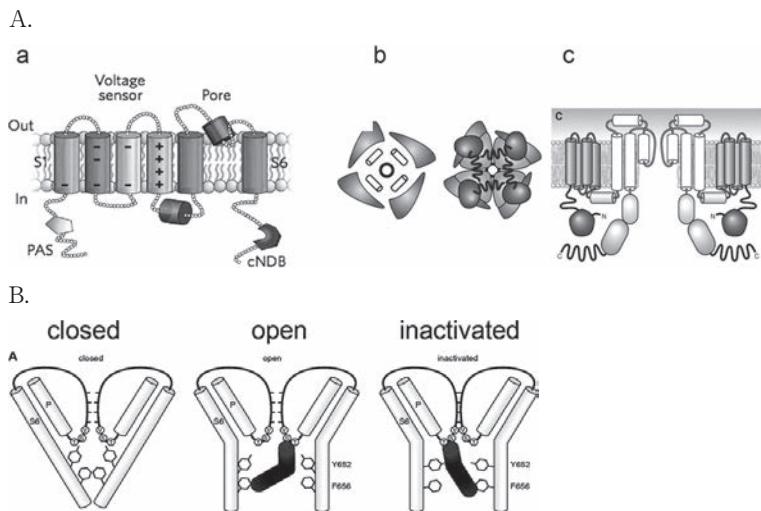
I_{Kr} をもたらすイオンチャネルをコードする遺伝子は KCNH2、別名 hERG : human ether-a-go-

go related geneとも呼ばれ、hERGチャネル、もしくは $K_{V11.1}$ チャネルと呼ばれる。その構造は、細胞膜を6回貫通した α -helical transmembrane domains、S1-S6 の4量体で構成されている。hERGチャネルは心房筋や心室筋心外膜側に多く分布しており、 K^+ に対する高い選択性がある($pK : pNa > 100 : 1$)。その電気生理学的特性は脱分極によりゆっくり活性化され、不活性化が速いという特徴がある¹⁰⁾ (図5 A)。

hERG ($K_{V11.1}$) チャネルの機能抑制

hERGチャネルの機能が抑制されると I_{Kr} は減少し、心電図上QTは延長する。そのチャネル抑制機序としては、遺伝子に問題がある場合と薬剤に

図5



A. a, hERGチャネルのサブユニットは6つの α -helical transmembrane domainsのS1-S6で構成されている(Nature 440: 463-469, 2006より引用⁹)。b, hERGチャネル(Kv11.1)は4量体で構成されている。左図は細胞外から見た図、右図は細胞質側から見た図。c, 2つのサブユニットが細胞膜の構成している。

B. hERGチャネル(Kv11.1)の薬剤によるブロック。薬剤はチャネルの開口時に孔に侵入し、チャネルに結合する。チャネルが不活性化(inactivate)した後も結合続ける(Physiol Rev 92: 1393-1478, 2012より引用¹⁰)。

よるブロックの2通りがある。遺伝子レベルでは、チャネル自身にmutationがある場合はその機能が抑制されるが、現在までに既に459以上のmutationが報告されている⁹⁾。その他にmRNA processingやRNA stability、チャネル蛋白のholdingや細胞膜へのtrafficking障害などで、チャネルの発現数が減少する。正常のhERGチャネルの細胞膜への発現過程は数多くの研究によりその詳細が明らかとなっている。通常の膜蛋白と同様に小胞体のリボソームで合成されてゴルジ体へ運ばれ、成熟後に細胞膜に組み込まれ、時間が経つとbreak downする。そのhalf lifeは約10時間である。この合成や移送(trafficking)の過程には数多くの蛋白や分子(PKA, PKC, シャペロン、その他)が関与する。チャネル自身にmutationがある場合はtraffickingも障害され、またdegradationも促進される。その他の因子としては遅延外向き電流の遅い成分であるI_{Ks}を形成するチャネル(KCNQ1)と共に発現した場合は、hERG電流が抑制されることが分かっている。また、膜蛋白で

hERGチャネルのregulatorであるKCR1は、薬剤誘発性QT延長を防ぐ役目があるが、このKCR1の機能が落ちると薬剤によるQT延長が増長される。その他に細胞外液のK濃度が低下するとdegradationが促進され、hERGチャネルの発現が減少する¹⁰⁾。

5. 薬によるhERGチャネルの抑制

薬によるhERGチャネルの機能抑制のメカニズムとしては、薬が直接チャネルをブロックする場合と、チャネル分子の発現を障害する場合の2通りがある。マクロライド系抗菌薬を含め多くの薬剤は細胞内に浸透した後、チャネルがopenした時にチャネルの穴に侵入して直接ブロックする。チャネルは直ぐに不活性化するが薬剤はチャネルに結合したままで、ブロックし続ける(図5B)。一方、トキシンなどの分子量の大きい薬剤は細胞膜の外側から、チャネルを直接ブロックすると考えられている¹⁰⁾。

その他に、薬剤がhERGチャネルの保持や細胞

膜へのtraffickingを障害して発現を抑制する場合がある。マクロライド系抗菌薬ではこのメカニズムによるブロックの報告は未だ見当たらないが, arsenic trioxide(三酸化ヒ素,), pentamidine(カリニ肺炎の治療薬), probucol(脂質異常症の治療薬:ロレルコ, シンレスター)などでは報告がある^{10,11)}。

6. 心筋 I_{Kr} の調節

hERG電流(I_{Kr})は細胞膜に正常に発現した後も, 様々な環境因子によって抑制又は調節される。まず, 交感神経の緊張でカテコールアミンの分泌が急に増加した時, 例えば運動中など。目覚まし時計刺激で急に驚く, つまり交感神経刺激などがある。これらの予防に β -ブロッカー投与が有効とされている。虚血性心疾患では酸化ストレス, アチドーシス, 高カリウム血症など, また心不全の病態では情報伝達系が慢性的に刺激されているためにhERG電流は様々な修飾を受ける。そして興味あるのは体温や性ホルモンによる影響である¹⁰⁾。

性ホルモンの $K_{v11.1}$ channelsに対する効果

これまでの研究から, 女性ホルモンの β -estradiolは $K_{v11.1}$ channelsを抑制し, 男性ホルモンの Testosteroneは $K_{v11.1}$ channelsをブロックする薬剤の感受性を抑えることが判明している¹⁰⁾。これ等のことが薬剤誘発性不整脈の発生は, 女性の方が男性より危険度が大である理由と思われる。

我々は, hERG電流に対する女性ホルモンとマクロライド系抗菌薬の相乗効果を実験で証明した。その一部を紹介する。HEK-293 cell(human embryonic kidney cell)にhERGを発現させたCell lineを用いて, patch clamp法でhERG電流を記録し β -estradiolの作用を検討した¹²⁾。 β -estradiolは濃度依存性にhERG電流を抑制したが, エリスロマイシン 10 μ M投与により, 濃度曲線は左にシフトし抑制効果が増強された。エリスロマイシンは女性ホルモン存在下では, 有意にその作用が増強される相乗効果を示すことを明らかにした(図6)。

体温によるhERG電流への影響

hERG電流は温度に強い影響を受ける。温度が高いと電流が大きくなり, 低いと小さくなることが実験で証明されている^{10,13,14)}。またhERG電流のエリスロマイシンに対する感受性が温度で異なり, 35度と22度で比較した実験では, 22度では約50%の抑制だが, 35度では95%が抑制される。即ち, 体温が高いほどエリスロマイシンによるhERG電流の抑制が強く, QT延長効果が増強されると推測される。このことは, 呼吸器疾患で高熱がある場合は, I_{Kr} は増大しているので心電図ではQT延長は認められない症例でも, マクロライド系抗菌薬を投与すると, I_{Kr} が著しく抑制されるために著明なQT延長を来すことが想定される。

7. マクロライド系抗菌薬によるQT延長の危険因子

臨床の立場から見た, マクロライド系抗菌薬によるQT延長の危険因子についてまとめた¹⁰⁾。1, 遺伝的な問題, 2, 心疾患の存在, 3, 電解質, 代謝異常, 4, 薬の作用を増悪させる因子, 5, QT延長作用のある他の薬剤との併用等が挙げられる。

1, 遺伝的な問題としては, もともと遺伝性QT延長症候群の症例, その他のチャネル病を持っている人, 女性である事。

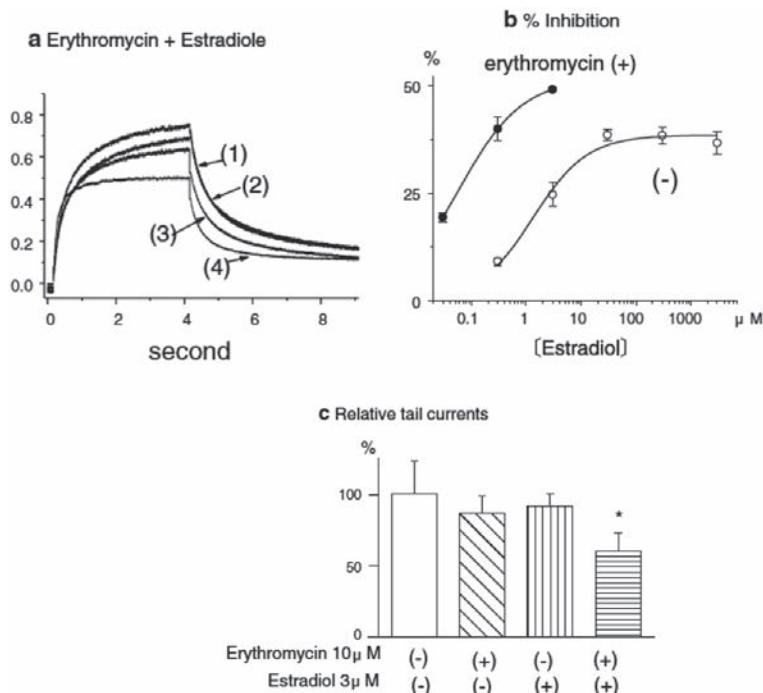
2, 心疾患の存在では, 徐脈(房室ブロック, 洞不全症候群), QT延長の症例, うつ血性心不全, 心筋梗塞や虚血性心疾患, 心筋症, 心房細動が挙げられる。

3, 電解質, 代謝異常としては, 低K, 低Ca, 低Mg血症, 高二酸化炭素血症, 低酸素症。

4, 薬の作用を増悪させる因子としては, 腎不全, 肝不全, 遺伝的多型性, チトクロムP450抑制剤。

5, QT延長作用のある他の薬剤としては, 抗不整脈薬, 向精神薬, 抗ウイルス薬, 抗潰瘍薬, 抗アレルギー薬, 脂質異常症治療薬などとの併用が挙げられる。

図6. 女性ホルモンとエリスロマイシンの相乗効果によるhERG電流の抑制



a, HEK-293 cell(human embryonic kidney cell)にhERGを発現させたCell lineを用いて、patch clamp法でhERG電流を記録。(1)Control, (2) 10 μ M erythromycin, (3) 3 μ M β -estradiol, (4) 3 μ M β -estradiol and 10 μ M erythromycin投与後の電流記録。b, estradiolによるhERG電流抑制の濃度曲線。○はerythromycinなし, ●はerythromycin10 μ M投与。c, hERG電流の抑制率のまとめ。J Membrane Biol 241 : 31-38, 2011¹²⁾より引用)

チトクロームp450抑制剤との併用

チトクロームp450を抑制する薬剤はマクロライド系抗菌薬の肝臓での代謝を抑制し、血中濃度を増加させる。例えば、CYP1A2を抑制するニューキノロン系抗菌薬、メキシレチン等その他、CYP2C8を抑制するゲムフィブロジル、トリメトブリム、モンテルカスト等その他、CYP 2C9を抑制するスルファフェナゾール、アミオダロン、フルコナゾール等その他、CYP2C19を抑制するオメプラゾール、フルボキサミン等その他、CYP3A4/5を抑制するマクロライド系抗生物質、アザール系抗真菌薬、HIVプロテアーゼ阻害薬、ベラパミル、シメチジン、エチニルエストラジオール、シクロスボリン等、多くの薬剤が関与する。マクロライド系抗菌薬自体がCYP3Aを阻害する

ので、これらの薬剤との併用は相乗効果が予測され危険因子とされている¹⁰⁾。臨床の検証で、RayらはCYP3A抑制剤とエリスロマイシン併用により心臓突然死が増加すると報告している¹⁵⁾。

8. 遺伝子が関与する薬剤誘発QT延長

最近の研究で、薬剤誘発性QT延長には様々な遺伝子が関与することが判ってきた。薬物動態に関与するCytochromeP450の基質(CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4), 薬物力学としては先天性QT延長症候群をもたらすイオンチャネル(表1), そしてゲノムワイド関連解析(GWAS)で数多く遺伝子の関与が判ってきた¹⁶⁾。

日本循環器学会が発表している「QT延長症候群の概論」¹⁷⁾によると、後天性(二次性)QT延長症

表1

タイプ	遺伝子座	原因遺伝子	イオンチャネル
先天性 QT 延長症候群			
Romano-Ward 症候群			
LQT1	11(11p15.5)	<i>KCNQ1</i>	I _{Ks} (α)
LQT2	7(7q35-q36)	<i>KCNH2</i>	I _{Kr} (α)
LQT3	3(3p21)	<i>SCN5A</i>	I _{Na} (α)
LQT4	4(4q25-q27)	<i>ANK2</i>	Na-K ATPase, I _{Na-Ca}
LQT5 21	(21q22.12)	<i>KCNE1</i>	I _{Ks} (β)
LQT6	21(21q22.12)	<i>KCNE2</i>	I _{Kr} (β)
LQT7	17(17q23.1-q24.2)	<i>KCNJ2</i>	I _{K1}
LQT8	12(12p13.3)	<i>CACNA1C</i>	I _{Ca-L}
LQT9	3(3p25)	<i>CAV3</i>	I _{Na}
LQT10	11(11q23.3)	<i>SCN4B</i>	I _{Na}
LQT11	7(7q21-q22)	<i>AKAP-9</i>	I _{Ks}
LQT12	20(20q11.2)	<i>SNTA1</i>	I _{Na}
LQT13	11(11q23.3-24.3)	<i>KCNJ5</i>	I _{KACh}
Jervell and Lange-Nielsen 症候群			
JLN1	11(11p15.5)	<i>KCNQ1</i> (homozygous)	I _{Ks} (α)
JLN2	21(21q22.12)	<i>KCNE1</i> (homozygous)	I _{Ks} (β)
後天性 QT 延長症候群			
	11 (11p15.5)	<i>KCNQ1</i>	I _{Ks}
	7 (7q35-36)	<i>KCNH2</i>	I _{Kr}
	3 (3p21-23)	<i>SCN5A</i>	I _{Na}

QT延長症候群の原因遺伝子とイオンチャネル機能(循環器病の診断と治療に関するガイドライン2012より引用)¹⁷⁾

候群、その殆どが薬剤によるものだが、それらの症例も調べてみると約25%に遺伝子異常がみつかるとしている。現在までに報告されている先天性QT延長症候群はLOT1～LQT13, JLN1, 2で、これらの遺伝子異常は表1に示す如くで、Kチャネル、Naチャネル、Caチャネルの変異の他に、チャネルに付随するたんぱくの異常もある^{10, 17, 18)}。ここで、興味あるのは、変異があってもチャネルの機能の抑制は50%くらい、又はdominant negative phenotypeがあるということだ。つまり、遺伝子に異常があっても、ECG上にはQT延長所見が認められないが、マクロライド系抗菌薬を投与して初めてQT延長が著明に現れ、心室性不整脈が誘発される症例もあることが想定される。

9. 薬剤誘発性Torsades de pointesの危険予知と臨床投与上の注意

薬剤誘発性Torsades de pointesなどの危険を予知する事は臨床上最も重要であると思われるPhysiological Review¹⁰⁾に発表されたものを参考にすると、以下の場合は危険であると認知すべきである。1. 心電図でT-wave alternansを認める、2. 薬物-薬物相互作用(薬剤の血中濃度を上げる)として、チトクロームP-450 3A4(CYP3A4)によって代謝される薬剤、CYP3A4を抑制する薬剤やグレープフルーツジュースなど、3. 再分極を抑制するストレッサーとの合併、4. 遺伝子的要因として、女性、LQTSの原因の遺伝子など、5. 病態生理学的状態；心疾患、腎不全、肝不全などが挙げられる。

薬剤による心臓突然死や心室性頻拍性不整脈の発症を予防するための注意点について考えたい。

まず、その発症のメカニズムを充分理解した上で、個々の症例を丁寧に診ることが最も重要である。マクロライド系抗菌薬の投与前には必ず心電図検査を行い、QTc測定、波形の変化、徐脈などに注意する必要がある。そして、薬剤投与後も定期的に心電図検査を行う。投与前に行う問診では失神発作の既往歴の有無、家族歴に突然死、先天性QT延長症候群はないか？先天性QT延長症候群は多くが常染色体優勢遺伝である。現病歴の聴取では、特に心疾患、腎不全、肝不全などの有無、服用中の薬をチェックし、他のQT延長をもたらす薬剤、CYP3A抑制剤との併用は避けるべきである。そして、患者への説明では、「めまい」、「動悸」、「胸が痛む」、「胸部の不快感」などの症状が出た場合は、危険な不整脈の初期症状の可能性があることを教え、すぐに医師・薬剤師に連絡するように指導する事が重要である。また、「意識消失」、「失神」、「けいれん」のような副作用が起こる可能性の説明も必要と考える。

結論

以上、マクロライド系抗菌薬による致死性不整脈発症に関して、臨床上の問題と現在までに解明されているその発症メカニズムを解説した。これ等の理解と認識を深めることは、薬剤を安全且つ有効に投与する上で役に立つと思われる。臨床の現場でマクロライド系抗菌薬の投与の際には、症例個別に対して適切な対応が必要であり、危険の予知及び予防対策を立てて、致死性不整脈の発症を未然に防ぐ事が重要であると考える。

参考文献

- 1) WA. RAY, KT. MURRAY, K. HALL, *et al.*, Azithromycin and the risk of cardiovascular death. *N Engl J Med* 366 : 1881~90, 2012
- 2) FDA Drug Safety Communication : Azithromycin (Zithromax or Zmax) and the risk of potentially fatal heart rhythms. 3~12, 2013
- 3) RK. ALBERT and JL. SCHULLER. Macrolide Antibiotics and the Risk of Cardiac Arrhythmias. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 189, Iss 10, pp 1173~1180, 2014
- 4) YJI. CHENG, XY. NIE *et al.*, The Role of Macrolide Antibiotics in Increasing Cardiovascular Risk. *J Am Coll Cardiol* 66 : 2173~84, 2015
- 5) X. LI, MIN WG. LIU, *et al.*, Association of macrolides with overall mortality and cardiac death among patients with various infections : A meta-analysis. *European Journal of Internal Medicine* 28 : 32~37, 2016
- 6) PJ. SCHWARTZ and RL. WOOSLEY, Predicting the Unpredictable Drug-Induced QT Prolongation and Torsades de Pointes. *J Am Coll Cardiol* 67 : 1639~1650, 2016
- 7) C. ANTZELEVITCH, ZQ. SUN, ZQ. ZHANG *et al.*, Cellular and Ionic Mechanisms Underlying Erythromycin-Induced Long QT Intervals and Torsade de Pointes. *J Am Coll Cardiol* ; 28 : 1836~48, 1996
- 8) DC. BARTOS*, E. GRANDI*, and CM. RIPPLINGER, Ion Channels in the Heart. *Compr Physiol* 5(3) : 1423 ~1464, 2015
- 9) M C. SANGUINETTI, M. TRISTANI-FIROUZI, hERG potassium channels and cardiac arrhythmia. *Nature* 440 : 463~469, 2006
- 10) JI. VANDENBERG, MD. PERRY, MJ. PERRIN, *et al.*, hERG K channels : structure, function, and clinical significance. *Physiol Rev* 92 : 1393~1478, 2012
- 11) H. NOGAWA and T. KAWAI, hERG trafficking inhibition in drug-induced lethal cardiac arrhythmia. *European Journal of Pharmacology* 741 : 336~339, 2014
- 12) F ANDO, A KURUMA, S KAWANO, Synergic Effects of β -Estradiol and Erythromycin on hERG Currents. *J Membrane Biol* 241 : 31~38, 2011
- 13) J. GUO, S. ZHAN, JP. LEES-MILLER, G. TENG, HJ. DUFF, Exaggerated block of hERG (KCNH2) and prolongation of action potential duration by erythromycin at temperatures between 37°C and 42°C . *Heart Rhythm* 2 : 860~866, 1998
- 14) Z. ZHOU, Q. GONG, B. YE, Z. FAN, *et al.*, Properties of HERG Channels Stably Expressed in HEK 293 Cells Studied at Physiological Temperature. *Bioophysical Journal* 74 : 230~241, 1998
- 15) WA. RAY, K. T. MURRAY, S. MEREDITH *et al.*, Oral Erythromycin and the Risk of Sudden Death from Cardiac Causes, *N Engl J Med* 351 : 1089~96, 2004
- 16) MN. NIEMEIJER, ME. VAN DEN BERG, M. EIJGELSHEIM *et al.*, Pharmacogenetics of Drug-Induced QT Interval Prolongation : An Update. *Drug Saf* 38 : 855 ~867, 2015
- 17) 循環器病の診断と治療に関するガイドライン, QT 延長症候群(先天性・二次性)とBrugada症候群の診療に関するガイドライン(2012年改訂版)2012
- 18) AJ. MOSS and RS. KASS, Long QT syndrome : from channels to cardiac arrhythmias (review). *J. Clin. Invest.* 115 : 2018~2024, 2005)
- 19) E. MARBÁN, Cardiac channelopathies. *Nature* 415 : 213~218, 2002

ミニシンポジウム 2

多剤耐性アシнетバクターに対するクラリスロマイシンの効果

山内俊輔¹⁾ 賀来敬仁²⁾ 柳原克紀^{1,2)}

多剤耐性アシнетバクターに対するマクロライド系抗菌薬の作用は十分に解析されていない。そこで、薬剤感受性試験の結果を参考に、sub-MIC濃度でのピペラシリン(PIPC)とクラリスロマイシン(CAM)が菌の増殖速度に与える影響を評価

した。培養24時間時点において、CAMはsub-MIC(1/4MIC, 1/16MIC)で菌の増殖を抑制したが、PIPCはsub-MICレベルでは抑制効果を認めなかった。

ミニシンポジウム 2

PCV接種普及が乳幼児に定着する 肺炎球菌のマクロライド耐性率に与えたインパクト

成相昭吉

【はじめに】

前任地の横浜南共済病院小児科では、6歳以下の下気道感染症乳幼児例を対象に、原因菌想定と検出された細菌の薬剤感受性監視を目的として、経鼻腔上咽頭培養を行ってきた。肺炎球菌の薬剤感受性については、ペニシリン(ベンジルペニシリン、以下PCG)耐性率と、マクロライド(エリスロマイシン、以下EM)耐性率を調べ報告してきた^{1~3)}。

その際、PCG耐性は、中間耐性(penicillin intermediately resistant *Streptococcus pneumoniae* : PISP)株と耐性(penicillin resistant *S. pneumoniae* : PRSP)株をあわせてPCG耐性株とし、検出された全ての肺炎球菌株に対するPCG耐性株の頻度をPCG耐性率とした^{2,3)}。

EM耐性については、細菌のタンパク合成を阻害して抗菌作用を発揮するEM、リンコサマイド(クリンダマイシン、以下CLDM)、ストレプトグラミンBの3剤いずれにも耐性を示す株のEMの最小発育阻止濃度(minimum inhibitory concentration、以下MIC)と、EMだけに耐性を示す株のEMのMICは、前者より高いことが明らかにされていた⁴⁾。背景には耐性遺伝子の相違があり、前者はEMの結合を阻害する*ermB*を、後者は抗菌薬を菌体内から排出する*mefE*を持つ⁴⁾。

2002年以降に検出された肺炎球菌株のほとんどは、EM耐性であった²⁾。PCG耐性におけるPISP、PRSPと同じようにEM耐性の程度を分けて頻度を示すことができれば、より良いEM耐性の監視になるが、市中病院で耐性遺伝子の検討は困難であった。そこで、指標薬にCLDMを用い、EM耐性かつCLDMにも耐性を示す株を高度マクロライド耐性株とし、その頻度を調べてきた^{1,3)}。

7価肺炎球菌結合型ワクチン(PCV7)が導入された2010年には、血清型の調査も開始した。2010年度、PCV7血清型の検出率は61%、非PCV7血清型の検出率は39%であった³⁾。また、PCV7血清型/非PCV7血清型のPCG耐性率、EM耐性率および高度マクロライド耐性率は、それぞれ82%/53%，98%/96%，61%/74%で、PCG耐性率はPCV7血清型で有意に高く、高度マクロライド耐性率は非PCV7血清型で高かった³⁾。

2011年にPCV7接種に公費助成が得られ、2013年11月にはPCV7は13価肺炎球菌結合型ワクチン(PCV13)に移行された。その結果、2014年度に下気道感染症乳幼児例の上咽頭から検出された肺炎球菌株におけるPCV7血清型の検出率は1.0%となり、PCV7血清型はほぼ排除され、一方、PCV13に加えられた6つの血清型(以下、PCV13-PCV7血清型)が19%、80%は非PCV13血清型であった^{5,6)}。

このような血清型の置換と並行し乳幼児から検出された肺炎球菌のPCG耐性率が改善してきたことが報告されていた⁷⁾。しかし、EM耐性率および高度マクロライド耐性率の変化についての報告はない。

そこで今回、2011年度以降2015年度までに下気道感染症乳幼児の上咽頭から検出された肺炎球菌株のEM耐性率および高度マクロライド耐性率をPCG耐性率とともに調べ、2010年度と比較した。PCV7導入・接種の普及とPCV13への移行が、乳幼児の上咽頭に定着する肺炎球菌におけるEM耐性に与えた影響について検討した。

【方 法】

本研究は、横浜南共済病院倫理委員会の承認を

表1. 各年度に肺炎球菌が検出された乳幼児下気道感染症例の特性

年度	2010	2011	2012	2013	2014	2015
上咽頭培養提出 乳幼児下気道感染症例数	598	598	664	361	413	328
肺炎球菌検出症例数	131	130	147	78	94	64
検出率(%)	22	22	22	22	23	20
検出株数	132	135	147	78	97	64*
検出例平均年齢(歳)	1.7±1.6	1.8±1.6	2.1±1.6	1.8±1.3	1.8±1.5	1.5±1.2
検出例PCV未接種率(%)	100	65	29	9.0	3.2	3.1

*: 2015年度は64株検出されたが、保存できなかった株があり、血清型は58株で検討した。

受けて行った(倫理委員会承認番号: 21_9_1)。

急性上気道炎を発症したあと発熱が遷延し咳嗽も日中と夜間に持続して認められ、喉頭気管支炎・細気管支炎・気管支炎・肺炎いずれかの下気道感染症と診断した0~6歳の学童未満乳幼児を対象に、養育者の口頭同意を得たうえで経鼻腔上咽頭培養を行った。

なお、下気道感染症乳幼児に喀痰採取は行なっておらず、上咽頭から肺炎球菌が検出された場合でも原因菌と決定せず、まずは定着または保菌と捉えている。

上咽頭から検出された肺炎球菌の血清型の特定は、既報^{3,5,6)}と同様の方法で行った。すなわち、国立感染症研究所細菌第一部においてPneumococcal antisera(Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark)を用い、莢膜膨化法により特定した。

血清型11のサブタイプEはAから区分されたサブタイプであるが、AとEを判別する抗血清がないためA/Eと表記した。また、すべての抗血清に膨化反応が見られないものの、自己融解酵素 lyt A遺伝子陽性で肺炎球菌であることが確認され、顕微鏡を用いて墨汁存在下で莢膜が陰性と確認された菌株はuntypeable(以下、UT)とした。

PCG感受性は、既報³⁾と比較するため2008年の米国臨床検査標準化委員会(以下、CLSI)によるPCG経口薬基準⁷⁾に従って判定した。すなわち、MICを微量液体希釈法により調べ、PCGのMICが $\leq 0.06\mu\text{g}/\text{ml}$ を感性(penicillin susceptible S. pneumoniae: PSSP)、 $0.1\sim 1\mu\text{g}/\text{ml}$ をPISP、 \geq

$2\mu\text{g}/\text{ml}$ をPRSPとした。既報³⁾と同様に、PISP株とPRSP株をあわせてPCG耐性株とし、各年度の全肺炎球菌検出株におけるPCG耐性株の頻度をPCG耐性率とした。

EMおよびCLDMの感受性もMICを微量液体希釈法により調べた。既報³⁾と比較するため2008年のCLSIの感受性基準に従い、いずれもMICが $\leq 0.25\mu\text{g}/\text{ml}$ を感性(S)、 $0.5\mu\text{g}/\text{ml}$ を中間耐性(I)、 $\geq 1\mu\text{g}/\text{ml}$ を耐性(R)とした⁸⁾。EMとCLDMの両薬剤耐性株を高度マクロライド耐性株とした⁴⁾。やはり既報³⁾と同様に、各年度の全肺炎球菌検出株におけるEM耐性株と高度マクロライド耐性株の頻度を、それぞれEM耐性率、高度マクロライド耐性率とした。

血清型の推移を検討した既報^{3,5,6)}の年度設定と整合性を持たせるため、2010年度から2012年度、2015年度の各年度はそれぞれ1月から12月までとし、2013年度は1月からPCV13移行前の10月まで、2014年度はPCV13移行後の2013年11月から2014年10月までとした。

2010年度の耐性率と2011年度以降の年度における耐性率との2群間の差の検討は、Mann-Whitney U検定または χ^2 検定により行い、 $P<0.05$ を統計学的に有意とした。

【結果】

表1に肺炎球菌検出例の特性を示す。

肺炎球菌検出例数は年度によって異なり64~147例であったが、肺炎球菌検出率は20~23%で推移した。検出例の平均年齢は1.5~2.1歳であつ

図1. ワクチン血清型の検出率の推移

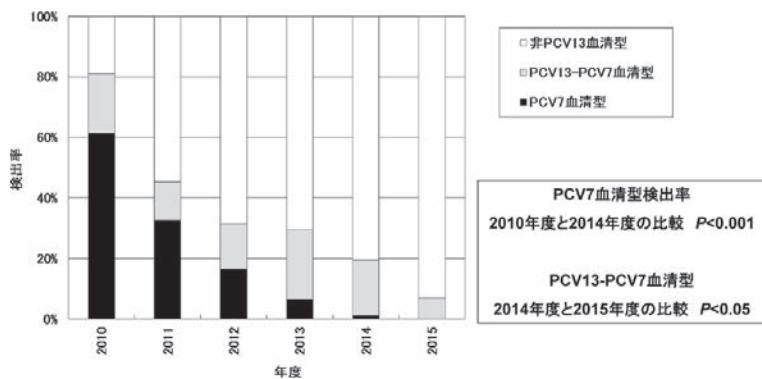
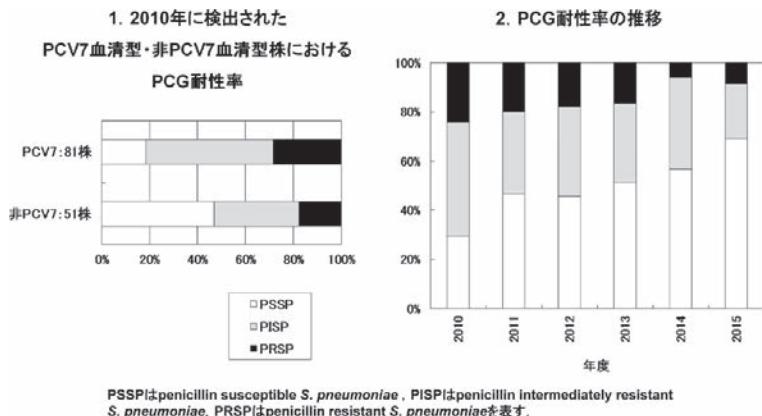


図2. 2010年度のPCG耐性率とPCG耐性率の推移



た。

原則として1人の上咽頭には1つの血清型株が定着しているが^{5,6,9)}、1人の上咽頭から2～3種類の血清型株が検出されることがあり^{3,5,6,10)}、2010年度、2011年度、2014年度は検出例数と血清型を確認し得た株数が異なった。また、2015年度では6株は保存できず、血清型の確認はできなかった。

肺炎球菌検出例において一度もPCV7またはPCV13を接種したことがない症例の頻度は、2010年度は100%であったが、2014年度、2015年度にはそれぞれ3.2%、3.1%となり、PCV未接種例は有意に減少した($P<0.001$)。

血清型の推移を、PCV7血清型、PCV13-PCV7血清型、非PCV13血清型に分け、図1に示す。

PCV7血清型は2015年には検出されなかった。PCV13-PCV7血清型も2015年度には7%に減少し、検出されたのは血清型19Aのみであった。93%が非PCV13血清型であった。

PCG耐性率の推移を図2に示す。PCG耐性率は2010年度の71%³⁾から2011年度以降減少し、2015年度には31%と有意に減少した($P<0.001$)。

EM耐性率および高度マクロライド耐性率の推移を図3に示す。2010年度に97%であったEM耐性率³⁾は、2011年度以降も各年度において94%から97%を推移し変化はなかった。2010年度に64%であった高度マクロライド耐性率は³⁾、2011年度以降も50%から75%を推移していた。

非PCV13血清型のうち2011年以降検出株総数が20株を超えた血清型6C・10A・11A/E・15A・

図3. マクロライド耐性率の推移

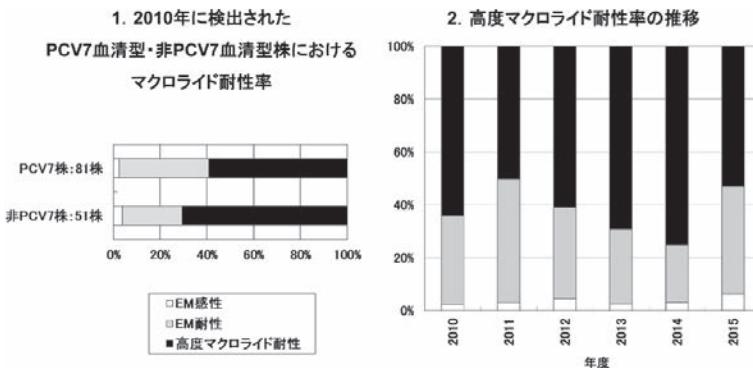


表2. 2011年以降の検出数が20株を超えた非PCV13血清型株のPCG耐性率と高度マクロライド耐性率の比較

非PCV13血清型	検出株数	PCG耐性率 (%)	高度マクロライド耐性率 (%)
6C	56	41	55
10A	23	4	96
11A/E	22	9	18
15A	35	88	80
15B	25	18	93
15C	23	22	96
23A	26	93	81
35B	43	81	30
UT	37	46	27

15B・15C・23A・35B、UTの9血清型について、それぞれの株数とともにPCG耐性率と高度マクロライド耐性率を表2に示す。PCG耐性率は血清型15A・23A・35Bで80%を超え、それぞれ89%、92%、81%であった。高度マクロライド耐性率は、血清型10A・15B・15Cで90%を超え、それぞれ96%、93%、96%であった。PCG耐性率と高度マクロライド耐性率がともに高かったのは血清型15A・23Aであった。一方、血清型11A/Eはともに低かった。血清型35Bは、PCG耐性率は高いが高度マクロライド耐性率は低く、血清型10A・15B・15Cは高度マクロライド耐性率は高かったがPCG耐性率は低く、血清型によって相違が認められた。

【考 察】

下気道感染症乳幼児の上咽頭から検出された肺炎球菌株におけるPCV7血清型の検出率は、2010年度に61%であったのが2015年度には0%となった。PCV7血清型は、ほぼ排除されたと考えられる。

そして、PCV13-PCV7血清型では血清型3・6A・19Aの3つの血清型が検出され、2010年度は20%、2014年度は19%であったが2015年度には7%となった。今、乳幼児の上咽頭に定着する肺炎球菌の血清型は、ほとんどが非PCV13血清型であると認識する必要がある。

同期して、2010年度に71%であったPCG耐性率は、2015年度には31%となった。2010年度のPCV7血清型株のPCG耐性率は82%、非PCV7血

清型株のPCG耐性率は53%であったことから(図2), PCG耐性率の改善は、PCG耐性率の高かったPCV7血清型が排除されたことが大きく影響したと考えられた。

これに対し、EM耐性率は2011年度以降96%から97%で推移し、2015年度は94%であった。すなわち、2010年度の97%と変化はなく、国内では乳幼児の上咽頭に定着する肺炎球菌株のほとんどが、EM耐性であることがあらためて確認された。そして、高度マクロライド耐性率は50%以上で推移していた。PCG耐性率の改善とは異なり、PCV7導入・接種の普及とPCV13への移行は、乳幼児の上咽頭に定着する肺炎球菌のEM耐性率および高度マクロライド耐性率には影響を与えたかった。

健常成人に通常量のアジスロマイシン3日間とクラリスロマイシン7日間のいずれかを服用させ、服用前後の口腔内 α レンサ球菌のEM耐性率を比較検討した結果、30%から80%に増加したことが報告されている¹¹⁾。すなわち、通常量・短期間のマクロライド薬の使用でも、生体に定着する細菌のマクロライド耐性は選択・誘導される。国内でのEM耐性率の高率定常化や高度マクロライド耐性率の増加に、肺炎マイコプラズマの流行¹²⁾などによるマクロライド薬の処方の増加も影響した可能性はあるが、今一度、国内でのマクロライド薬の使用状況について検証する必要があると思われる。

しかし、非PCV13血清型のうち2011年度以降検出株数の多かった血清型6C・10A・11A/E・15A・15B・15C・23A・35B、UTの9血清型について、それぞれの高度マクロライド耐性率を調べたところ、血清型10A・15B・15Cは90%以上であったが、血清型11A/E・35B、UTは50%未満であった。PCG耐性率も血清型によって異なっていたが、血清型によってEM耐性の程度が異なる背景として、血清型によりマクロライド薬の抗菌薬圧が均一には及ばない可能性、血清型によりマクロライド耐性の程度が規定されている可能性などが推察される。

今回、PCV7導入・接種の普及、PCV13への移行は、PCV7血清型の排除により、乳幼児の上咽

頭に定着する肺炎球菌のPCG耐性率を改善させたことが確認された。しかし一方で、PCV接種の普及は、EM耐性率に影響を与えなかった。非PCV13血清型が乳幼児の上咽頭に定着し続けていくと考えられ、乳幼児の上咽頭に定着する肺炎球菌の血清型疫学と薬剤感受性を継続して監視していく必要がある。あわせて、血清型によりPCG耐性やEM耐性の程度が異なる背景について、検討されることを期待したい。

【謝 辞】

血清型を特定していただいた、国立感染症研究所細菌第一部、常彬先生に深謝申しあげます。

【文 献】

- 成相昭吉. 耐性機構の多様性を示すマクロライド耐性肺炎球菌分離小児市中肺炎例に対するazithromycinの臨床効果. 感染症誌 78: 490~495, 2004
- 成相昭吉. 市中気道感染症と薬剤耐性的現状~外来における抗菌薬の選択~. 化学療法の領域 23: 389~395, 2007
- 成相昭吉、内村暢、平田理智、他. 7価肺炎球菌結合型ワクチンが導入された2010年における乳幼児下気道感染症例の上咽頭から検出された肺炎球菌株の疫学. 日児誌. 117: 1759~1766, 2013
- JOHNSTON N, DE AZAVEDO J, KELLNER J, et al. Prevalence and characterization of the mechanisms of macrolide, lincosamide and streptogramin resistance in isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 42: 2424~2426, 1998
- 成相昭吉、内村暢、金高太一、他. 7価肺炎球菌結合型ワクチン普及による乳幼児下気道感染症例の上咽頭から検出された肺炎球菌株における血清型の変化. 小児感染免疫. 26: 213~219, 2014
- 成相昭吉、矢内貴憲、金高太一. PCV13移行前後ににおける乳幼児上咽頭から検出された肺炎球菌の血清型疫学. 日児誌 120: 744~751, 2016
- 川口将宏、西村直子、武内俊、他. 当院小児科における最近5年間の肺炎球菌の分離状況と抗菌薬感受性. 小児感染免疫 26: 439~445, 2014
- Clinical and Laboratory Standards Institute : Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ; Eighteenth Informational Supplement, Vol.28, Wayne, Pennsylvania, M100-S18, 2008
- VAN DER POLL T, OPAL SM. Pathogenesis, treatment, and prevention of pneumococcal pneumonia. Lancet 374: 1543~1556, 2009
- LOUGHLIN AM, HSU K, SILVERIO AL, et al. Direct and indirect effects of PCV13 on nasopharyngeal car-

- riage of PCV13 unique pneumococcal serotypes in Massachusetts' children. *Pediatr Infect Dis J* 33 : 504~510, 2014
- 11) MARHOTRA-KUMAR S, LAMMENS C, COENEN S, *et al.* Effect of azithromycin and clarithromycin therapy on pharyngeal carriage of macrolide-resistant streptococci in healthy volunteers : a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet* 369 : 482~490, 2007
- 12) 国立感染症研究所感染症発症動向調査 IDWR感染症週報(<http://www0.nih.go.jp/niid/idsc/idwr/IDWR2016>) (参照2016-37.pdf)

ミニシンポジウム 2

クラリスロマイシン(CAM)に対する薬剤感受性試験(DST)は、*M. abscessus* subsp. *abscessus*症の排菌陰性化を予測する上で有用である

小林岳彦¹⁾ 吉田志緒美²⁾ 田原正浩¹⁾ 池上直弥¹⁾ 内藤真依子¹⁾

木村洋平¹⁾ 園延尚子¹⁾ 前倉俊也¹⁾ 倉原 優¹⁾ 辻 泰佑¹⁾

蓑毛祥次郎¹⁾ 井上義一²⁾ 露口一成²⁾ 鈴木克洋¹⁾

<抄録>

背景

M. abscessus subsp. *abscessus*(MAA)を起因菌とした肺MAA症の治療についてin vitroのDSTの有用性に関する報告は少ない。我々は、肺MAA症におけるDSTの排菌陰性化に対する影響について後方視的検討を行った。

対象・方法

対象は、当院で2010~2014年に肺MAA症と診断され、治療介入した症例。A) 排菌陰性化群(介入して1年後); B) 持続排菌/再燃群に分けた。DDH法で検出した*M. abscessus*を erm(41) geno-

typingでMAAの同定を行い、MAAのDSTを行った。

結果

症例は23例(男9/女14)、年齢中央値75歳(52-87)であった。排菌陰性化率は34.8%だった(A群8例/B群15例)。day 14におけるCAMに対するMICは、B群よりA群で有意に低い傾向があった(p = 0.03)。

結論

肺MAA症においてDSTの結果は排菌陰性化に影響を与える。

ミニシンポジウム 3

マクロライド系薬剤による抗インフルエンザウィルス活性と 16員環マクロライドをベースとした新規治療薬の探索

菅又龍一¹⁾ 菅原章公^{2)*} 廣瀬友靖²⁾ TRAN H DAT¹⁾ 山本友子¹⁾
河内正治¹⁾ 赤川清子²⁾ 大村 智²⁾ 砂塚敏明²⁾ 鈴木和男¹⁾

我々は以前、致死濃度のインフルエンザA/H1N1ウイルス(A/PR/8/34株)を感染させたマウスに、16員環マクロライドであるLeucomycin A3を投与すると、Clarithromycin投与に比べ、感染マウスに生存効果がより有効に認められることを明らかにした(SUGAMATA *et al.* J. Antibiot. 2014.)。前回の研究会において、生存効果をもたらしたメカニズムの一端と、さらに、*in vitro*系でマクロライドがヒト肺胞上皮由来の細胞に感染した当該ウイルスの増殖を抑制している事實を報告した。今回、環構造が異なる他のマクロライドと比較しながら、Leucomycin A3による抗ウイルス増殖活性能をIC50およびウイルス遺伝子発現解析にて評価した。

Title : Anti-influenza virus activity by macrolide antibiotics and development of novel anti-influenza agents based on 16-membered macrolide derivatives

¹⁾帝京大学アジア国際感染症制御研究室(ADC), ²⁾北里大学北里生命科学研究所・大学院感染制御科学府生物有機化学研究室, *現・東北大学大学院薬学研究科分子解析学講座医薬資源科学分野

ミニシンポジウム 3

The inhibitory effect of macrolide derivatives on proliferative activities of 2009 pandemic influenza A/H1N1 virus

TRAN HUU DAT¹⁾ RYUICHI SUGAMATA¹⁾ AKIHIRO SUGAWARA^{2)*} TOMOYASU HIROSE²⁾
TOMOKO YAMAMOTO¹⁾ SHOJI KAWACHI¹⁾ KIYOKO S. AKAGAWA²⁾ TOSHIAKI SUNAZUKA²⁾
SATOSHI OMURA²⁾ KAZUO SUZUKI¹⁾

The 2009 pandemic influenza A/H1N1 (H1N1pdm09) virus was firstly emerged in the Mexico in 2009 with 18,449 deaths. The most common causes of death by the virus were pneumonia and acute respiratory distress syndrome. The constant usage of anti-influenza drugs results in a drug-resistance to viruses, therefore the development and/or re-positioning of new drugs for treatment is required. In this study,

we aimed to find new anti-influenza H1N1pdm09 drugs, based on macrolide derivatives. As we previously found that Leucomycin A3 was effective for influenza viral activities (SUGAMATA *et al.* J. Antibiot. 2014), we report in this communication that a macrolide plays inhibitory role in H1N1pdm09 viral activities on human lung epithelial cells.

¹⁾ Asia International Institute of Infectious Disease Control (ADC), Teikyo Univ., Tokyo, ²⁾Kitasato Inst. for Life Sciences, Kitasato Univ., Tokyo, *Present address : Graduate School of pharmaceutical Science and Faculty of Pharmaceutical Science, Tohoku Univ. Sendai, Miyagi

ミニシンポジウム 3

討議総括

木戸 博¹⁾ 佐藤圭創²⁾

ミニシンポジウム 3 では、マクロライド系薬剤の抗インフルエンザ活性についての発表が行われた。

一題目の発表は、16員環マクロライドのLeucomycin A3の抗インフルエンザ活性について、インフルエンザA/H1N1ウイルス(A/PR/8/34株)に対する増殖抑制効果を、14員環マクロライドのEM900、クラリスロマイシンと比較して、マウス生存率評価とヒト肺胞上皮由来の細胞でのウイルス増殖抑制効果が報告された。討議はLeucomycin A3の抗ウイルス活性の作用機序について行われ、これまでクラリスロマイシンの抗ウイルス作用で報告のあったendosomeのpH上昇効果がLeucomycin A3の投与において認められるか否か、検討の要望が示された。

二題目の発表は、一題目と同じグループによる16員環マクロライドのLeucomycin A3の抗インフルエンザ活性について、ヒト肺胞上皮由来細胞培養系で、一題目とは異なるインフルエンザA/H1N1ウイルス(N1N1pdm09株)への増殖抑制効

果の報告であった。演者らは、従来のノイラミニダーゼ阻害の抗インフルエンザ薬の場合、N1N1pdm09株に対する薬剤耐性ウイルスが出現することを例にLeucomycin A3の医療応用へ期待が述べられた。一題目と同様にウイルス増殖抑制効果の作用機序について討議された。

三題目の発表は、インフルエンザ感染患者を対象とした抗インフルエンザ薬とクラリスロマイシンの併用効果についての臨床データの報告であった。インフルエンザA型感染患者では、従来からの報告のように抗インフルエンザ薬の単独効果に比して、クラリスロマイシン併用例では発熱時間の短縮と鼻汁症状の改善効果を認めたが、インフルエンザB型感染患者に場合は、予想に反してA型感染患者で認められた臨床症状の改善効果が認められなかったことが報告された。討議では、インフルエンザA型とB型感染の感染免疫動態の違いの関与が討議されたが、これまでにインフルエンザB型についての報告例が少なく、今後症例数の蓄積が待たれる。

¹⁾徳島大学先端酵素学研究所生体防御・感染症病態代謝, ²⁾九州保健福祉大学薬学部臨床生化学講座

第24回 マクロライド新作用研究会 編集後記

24年目を迎えた マクロライド新作用研究会は新たな分野での知見が随所で見られた。

CAMの抗炎症作用機序は、これまでにも好中球抑制を中心とする機序が報告してきた。ミニシンポジウム1ではより具体的な分子機構に言及する報告が見られている。ペリオスチン抑制を介する宿主の反応はアレルギーや線維化の制御に貢献することが期待される。また、肺炎球菌の莢膜産生抑制機序は菌の脆弱化を促す。

実際にシンポジウム1では新規臨床効果の検討が報告され。治療抵抗性の好中球性喘息の治療を標的とした計画。また好中球病態として知られるARDSの生命予後改善効果としてのAZM治療が報告された。

一方、懸念される耐性菌誘導の弊害について、肺MACに対するEM長期療法が、その後のCAM治療の耐性を誘導していないことが報告された。

またシンポジウム2ではこれまでの臨床総括として、耳鼻咽喉科領域の好中球炎症は効果が認められたが、近年増加傾向にある「好酸球性副鼻腔炎」ではマクロライド(ML)療法が無効であるとの見解が示されている。一方、小児科領域での「遷延性咳嗽(3週以上)」の軽減、高齢者の「誤嚥性肺炎」予防にML療法が奏効する可能性が提示されていた。

MLの長期投与に当たっては安全性の評価が欠かせない。QT延長はRomano-Ward症候群の遺伝子解析が進み、イオンチャネル機能評価が予め評価できる時代に入っている。また、代謝遅延に関わるCYP3A4と併用薬剤との関連も予見可能となっている。MLに限らず、iPS細胞を用いた個別代謝評価が可能となる時代もそう遠くはないと思われる。

菌の耐性化を扱ったミニシンポジウム2では疫学的データからPCV7ワクチン接種によってPCG耐性化率の変化がある一方でEM耐性化率の変化に影響が無いことが示された。しかし、MDRA(多剤耐性アシネットバクター)やNTM abscessus症の排菌陰性化予測とCAM感受性試験との関連が示された。AZMによる小児囊胞性線維症(CF)の前向き調査では、決して耐性菌を増やさないとする研究成果も報告されている(Cogen JD, Ann Am Thorac Soc. 2018)。マクロライドの抗菌作用と新作用とは必ずしも背反の関係にはないものの、畜産使用を含めた適正使用指針が遵守されることに変わりはない。

ミニシンポジウム3ではインフルエンザウイルス感染に対する効果が検討された。

Leucomycin A3, EM900など新薬によるウイルス増殖抑制効果が示され、ならびに既存薬CAMによるインフルエンザA感染の重症化抑制効果が提示された。これまでの有用性を総括するとウイルス増殖速度が低下することで、マウスでも人でも重症化の軽減が可能となっている。しかし、B型インフルエンザに対する効果は未解明であり、今後の検討課題である。

マクロライドの作用機序は未だ不明な点が多い。招聘講演のWalter先生(カリフォルニア大学 病理学)は、今後の研究・解明の視点として「肺上皮細胞の恒常性維持」のメカニズムと連動した創薬の方向性を示した。この点は現代創薬の多くが「短期的な抑制効果検証」に終始する中で、新たな創薬価値として創出される可能性を秘めているが、経済機構の下部に位置づけられた医療制度の構図が変化しない限り、脚光を浴びる期待は小さい。

DPBの予後改善に始まった本研究会は創薬とその科学的評価のあり方に、疑問を投げかけている。症例から学ぶ、いわば「ベッドサイドからベンチへ」の研究姿勢を継承する努力を惜しんではならない。

マクロライド新作用研究会 事務局
吾妻安良太

マクロライド新作用研究会会則

1. 総 則

本会は「マクロライド新作用研究会」と称する。

2. 目 的

本会はマクロライド骨格を有する薬剤の、直接抗菌作用以外の薬理作用機序の解明を主眼とする研究会で、構成員相互の忌憚のない討論を通して、臨床へ反映させることにより、治療技術の向上を図り、国民医療に寄与することを目的とする。

3. 事 業

本会は2. の目的を達成するため下記事業を行う

- (1) 原則として年1回の講演会または研究会を開催する。
- (2) 研究成果を年1回専門誌に掲載する。
- (3) 本研究会ホームページを設営し広く活動内容を開示する。
- (4) 本研究に対する研究資金及び研究資材を援助する。

4. 会員(構成員)

本会は、2. の主旨に賛同する医師および研究者によって構成する。

5. 役 員

- (1) 本会には次の役員をおく。

世話人	若干名
当番世話人	世話人の中から1名
運営委員	若干名
会計監事	世話人の中から2名

- (2) 世話人会を本会の議決機関とし、年1回開催する。
- (3) 世話人の中から当番世話人を1名選出する。その任期は1年とするが、再任を妨げない。当番世話人は本会の運営の責任を負う。
- (4-1) 当番世話人は会員の中から運営委員を若干名選出する。
- (4-2) 運営委員は当番世話人を補佐するとともに、世話人会の運営に当る。また、本会主催の講演会ならびに研究会の企画を行う。
- (5) 世話人の中から2名の会計監事を選出する。その任期は1年とするが、再任を妨げない。
- (6) 世話人は会員の中から選出される。

6. 顧 問

- (1) 本会は顧問をおくことができる。
- (2) 顧問は本会の運営・活動に助言を加え、本会の発展向上に寄与する。

7. 奨 励 賞

優秀な研究を行った個人に対して、表彰ならびに副賞を贈り研究を奨励する。年次研究会に発表された演題について、奨励賞選考委員が選考し、翌年の年次研究会において授与する。選考委員は当該年次研究会当番世話人および歴代当番世話人で構成する。

8. 事 務 局

本会の事務局を次におく。事務局は本会の事務ならびに会計処理を行う。

〈事務局〉 東京都文京区本郷3-353 本郷ucビル4F 株式会社コンベンションアカデミア内
日本医科大学大学院医学研究科 呼吸器内科学分野

9. 集 会

本会が主催する講演会は、研究会の期日、開催場所及びその内容は運営委員が企画し、世話人会の承認を経て決定する。

10. 会 計

- (1) 本会の会計年度は、毎年4月1日から翌年3月31日までとし、世話人会は会計監事の監査報告を受けれる。
- (2) 本会の会計は、本会主催の講演会、研究会への参加費および寄付金ならびにその他の収入をもって充当する。

11. 補 則

- (1) 本会の会則は、世話人会の過半数の決議を経て改正することができる。
- (2) 初年度の講演会、研究会は、5および8項の規定にかかわらず、本会の発起人(3名)が当番世話人を代行する。
- (3) 研究会会費を年5千円定め、学術集会参加の際に支払うものとする。

12. 付 則

本会則は平成6年4月1日より施行する。
第1回改訂：平成8年7月5日(世話人会)
第2回改訂：平成9年7月18日(世話人会)
第3回改訂：平成11年7月9日(世話人会)
第4回改訂：平成14年7月19日(世話人会)
第5回改訂：平成18年7月14日(世話人会)
第6回改訂：平成19年7月13日(世話人会)
第7回改訂：平成23年7月16日(世話人会)
第8回改訂：平成27年7月18日(世話人会)

2017年度 役員一覧

顧 問	安藤 正幸 大村 智 清水喜八郎 高坂 知節 中島 重徳 永井 博式 馬場 駿吉 松本 慶蔵 山木戸道郎	済生会熊本病院医療技術顧問 北里大学北里生命科学研究所所長 北里研究所顧問 東北大學名誉教授 近畿大学医学部奈良病院名誉教授 岐阜薬科大学薬理学講座教授 名古屋市立大学名誉教授 長崎大学名誉教授 吳共濟病院院長
監 事	松島 綱治 後藤 元	東京大学大学院医学系研究科分子予防医学教授 公益財団法人結核予防会複十字病院院長
代表世話人	工藤 翔二	公益財団法人結核予防会理事長
世 話 人	赤川 清子 浅野 和仁 吾妻安良太 足立 満 飯野ゆき子 石井 誠 大石 和徳 門田 淳一 金ヶ崎史朗 川内 秀之 川並 汪一 喜多 英二 木戸 博 黒野 祐一 慶長 直人 後藤 元 佐藤 圭創 佐藤 吉壯 清水 猛史 新海 正晴 菅 守隆 杉山幸比古 洲崎 春海 砂塚 敏明 滝澤 始 竹内 万彦 館田 一博 玉置 淳 千田 金吾 東田 有智 長井 苑子 貫和 敏博 野村 暢彦 羽柴 基之 保富 宗城	北里大学北里生命科学研究所客員教授 昭和大学保健医療学部生理学研究室教授 日本医科大学武藏小杉病院呼吸器内科教授 国際医療福祉大学臨床医学研究センター教授/山王病院アレルギー 内科 東京北医療センター耳鼻咽喉科 慶應義塾大学医学部呼吸器内科 国立感染症研究所感染症疫学センターセンター長 国立大学法人大分大学副学長／医学部附属病院院長 株式会社ECI 島根大学耳鼻咽喉科教授 日本医科大学名誉教授 市立奈良病院臨床検査科 徳島大学疾患酵素学研究センター生体防御・感染症病態代謝研究 部門特任教授(名誉教授) 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教 授 公益財団法人結核予防会結核研究所副所長 公益財団法人結核予防会複十字病院院長 九州保健福祉大学薬学部臨床生化学講座教授・感染症治療学研究 室教授 SUBARU健康保険組合太田記念病院病院長 滋賀医科大学耳鼻咽喉科学教室教授 東京品川病院副院長／治験開発・研究センター長 社会福祉法人恩賜財団済生会熊本病院呼吸器センター顧問/予防 医療センター長 練馬光が丘病院呼吸器内科 昭和大学名誉教授 北里大学北里生命科学研究所教授/北里大学大学院感染制御科学 府教授 杏林大学医学部呼吸器内科教授 三重大学大学院医学系研究科病態修復医学講座耳鼻咽喉・頭頸部 外科学教授 東邦大学医学部医学科微生物・感染症学教授/感染病態・治療学講 座教授 東京女子医科大学内科学第一講座主任教授 医療法人豊岡会理事長 近畿大学医学部呼吸器・アレルギー内科教授 財団法人京都健康管理中央診療所臨床研究センター所長 公益財団法人結核予防会結核研究所 国立大学法人筑波大学生命環境系教授 はしば耳鼻咽喉科・内科クリニック院長 和歌山県立医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座教授

堀 誠治	東京慈恵会医科大学感染制御部
本間 栄	東邦大学医学部医学科内科学講座呼吸器内科・教授
間島 雄一	三重大学名誉教授
松島 綱治	東京大学大学院医学系研究科分子予防医学教授
松根 彰志	日本医科大学武藏小杉病院教授耳鼻咽喉科部長・教授
三笠 桂一	奈良県立医科大学附属病院感染症センター教授
迎 寛	長崎大学第二内科教授
八木澤守正	慶應義塾大学薬学部共同研究員(非常勤、元教授)
柳原 克紀	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科病態解析・診断学分野(臨床検査医学)教授
山口 恵三	東邦大学名誉教授
山谷 陸雄	東北大学大学院医学系研究科先進感染症予防学寄附講座教授
運営委員	
赤川 清子	北里大学北里生命科学研究所客員教授
浅野 和仁	昭和大学保健医療学部生理学研究室教授
吾妻安良太	日本医科大学武藏小杉病院呼吸器内科教授
石井 誠	慶應義塾大学医学部呼吸器内科
白杵 二郎	日本私立学校振興・共済事業団東京臨海病院副院長・内科部長
門田 淳一	国立大学法人大分大学副学長／医学部附属病院院長
工藤 翔二	公益財団法人結核予防会理事長
慶長 直人	公益財団法人結核予防会結核研究所副所長
後藤 元	公益財団法人結核予防会複十字病院院長
佐藤 圭創	九州保健福祉大学薬学部臨床生化学講座教授・感染症治療学研究室教授
清水 猛史	滋賀医科大学耳鼻咽喉科学教室教授
新海 正晴	東京品川病院副院長／治験開発・研究センター長
菅 守隆	社会福祉法人恩賜財団済生会熊本病院呼吸器センター顧問／予防医療センター長
洲崎 春海	昭和大学名誉教授
砂塚 敏明	北里大学北里生命科学研究所教授/北里大学大学院感染制御科学府教授
滝澤 始	杏林大学医学部呼吸器内科教授
竹内 万彦	三重大学大学院医学系研究科病態修復医学講座耳鼻咽喉・頭頸部外科学教授
館田 一博	東邦大学医学部医学科微生物・感染症学教授/感染病態・治療学講座教授
玉置 淳	東京女子医科大学内科学第一講座主任教授
野村 暢彦	国立大学法人筑波大学生命環境系教授
廣瀬 友靖	北里大学北里生命科学研究所准教授
保富 宗城	和歌山県立医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座教授
本間 栄	東邦大学医学部医学科内科学講座呼吸器内科・教授
松島 綱治	東京大学大学院医学系研究科分子予防医学教授
松根 彰志	日本医科大学武藏小杉病院教授耳鼻咽喉科部長
三笠 桂一	奈良県立医科大学附属病院感染症センター教授
山谷 陸雄	東北大学大学院医学系研究科先進感染症予防学寄附講座教授
事務局長	吾妻安良太
副事務局長	白杵 二郎

モーニング・コーヒーブレイクセミナー 共催会社

大正富山医薬品株式会社
 ファイザー株式会社
 マイランEPD合同会社

〈事務局〉 〒113-0033 東京都文京区本郷3-53-3 本郷UCビル4階

株式会社コンベンションアカデミア

TEL : 03-5805-5261 FAX : 03-3815-2028

次回会告

第25回

マクロライド新作用研究会

当番会話人：徳島大学先端酵素学研究所

生体防御病態代謝研究分野

特任教授（名誉教授）木戸 博

日 時

2018年7月6, 7日(金, 土)

会 場

家の光会館 7Fコンベンションホール（東京都新宿区市谷）

**THE JAPANESE
JOURNAL OF
ANTIBIOTICS**

第71巻 増刊号A 2018年3月25日印刷

2018年3月30日発行

編 集 日本医科大学大学院医学研究科 呼吸器内科学分野
マクロライド新作用研究会 事務局長 吾妻安良太

発行所 公益財団法人日本感染症医薬品協会
東京都品川区上大崎2-20-8 郵便番号 141-0021

URL <http://www.antibiotics.or.jp>

印刷所 共立印刷株式会社
東京都杉並区和田1-14-13 郵便番号 166-0012