

令和 2 年 5 月 16 日現在

機関番号：14101
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2017～2019
 課題番号：17K16336
 研究課題名(和文) リケッチア感染症のTh2免疫系の抑制機序に関する研究

研究課題名(英文) rickettsia and immunology

研究代表者

近藤 誠 (Kondo, Makoto)

三重大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：40464169

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：初診時の採血時の血清と再診時の14日後の血清で各種サイトカインを測定した。日本紅斑熱患者で7人の対象患者の初診時と2週間後の回復期の血清を用いて各種サイトカイン(IFN- γ , IL-1, TNF- α , IL-2, TNF- β , IL-8, IL-6, GM-CSF, TSLP, IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-33, IL-12p70, IL-17A, IL-22, IL-17F)をAimPlexを用いて測定した。症例1～3は各サイトカインの推移を4点で比較した。また急性期と回復期のWBC, CRP, 好酸球の推移とも比較した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

リケッチアは血管内皮細胞に移動し寄生感染するためIFN- γ を誘導する。ゆえに急激なIL-6の刺激でほとんどのナイーブT細胞がまずTh1系に分化し、IL-12を介し細胞内寄生菌に対し攻撃するIFN- γ に分化しようとするため、Th-17系への分化の優先度は低く好中球は微増となると推測される。またよりTh2系へのサイトカイン放出の優先度は低くなるため、好酸球分化はなくなり消失すると推測する。Th2系自然免疫に関与するIL-4、IL-5、IL-33などは急性期と回復期に優位差はないことが判明した。R.japonica感染においてはIL-6、IFN- γ が感染防御にきわめて重要なサイトカインとなっている。

研究成果の概要(英文)：This study was enrolled 7 patients diagnosed at Japanese spotted fever (JSF) under the obtained enough informed consent. The 7 patients was proved at JSF by performed the PCR test from blood and/or skin or acute stage IgM>80 against anti-R.japonica antibody or IgM and/or IgG more than 4 times between acute and recovery stage. We measured any cytokines: IFN- γ , TNF- α , TNF- β , IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-33, GM-CSF, TSLP at the first visit (acute stage) and 14days after treatment (recovery stage). Case 1,2,3 were measured at 4 points: 1, 3, 7, 14 day. The cytokines were tested by flow cytometric analyses using AimPlex. And We also compeared the asossiation of WBC, Eosin and CRP.

研究分野：皮膚科学

キーワード：R.japonica IL-6 IFN-

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本紅斑熱は致死的病態をとることもある、日本で同定された重症のリケッチア感染症で、患者の発生報告は全国的に年々増加している。とりわけ三重県の伊勢志摩地方では日本紅斑熱が毎年数十例発症し、国内でも屈指の endemic area である。我々は日本紅斑熱の罹患患者の大半において好酸球が著しく減少、消失するを経験している。*Rickettsia japonica* (*R. japonica*)はマダニ刺傷を介して媒介される。マダニ刺傷は好酸球増多を起こす可能性はあっても減少をきたす可能性は少なく、*R. japonica* に起因する反応と考えられる。

2. 研究の目的

一般に細菌感染症は Th1 型免疫反応を誘導し、従来の見解において *R. japonica* 感染症が TNF- α 、IFN- γ の誘導を起こすことが知られている。しかし、本症における好酸球の減少率は著しく *R. japonica* による Th1 反応を増強する結果としての相対的現象では説明不能で、*R. japonica* が宿主免疫系からの逃避のため、宿主好酸球応答を抑制する何らかの免疫学的作用を引き起こし、結果として好酸球が消失すると仮説を立てた。リケッチアは細胞内寄生病原体であり、抗体あるいは補体といった液性免疫は細胞内に寄生している状態ではその抑制効果を十分発揮できない。細胞内寄生菌としては、結核、抗酸菌があるが、これらでは、Th1 型反応の増強が見られるが、好酸球の増加も見られることが知られており、リケッチア感染症では全く異なる病原体宿主反応系が存在する可能性が大きい。感染性病原体の排除に働く免疫系としては、その病原体毎に異なる反応が生じ自己防衛機能を果たしている。宿主免疫系は病原体に対して、自然免疫系および獲得免疫系を誘導してその排除にあたる。獲得免疫系では細胞内寄生菌の抗酸菌は Th1 型免疫反応を、寄生虫は Th2 型反応を引き起こすが、リケッチア感染症の宿主免疫系への影響は未知の分野である。また、自然免疫系では ILC2 が IL-5 を介して好酸球増加を誘導するが、ILC1、ILC3 の ILC2 との相互作用は明確ではない。我々が見出した日本紅斑熱における宿主の好酸球数抑制の機序もその生物学的意義も不明で、その解明が病態の解明と治療に直結する可能性がある。リケッチアの及ぼす好酸球の消失機序を宿主自然型および獲得型免疫反応への影響に焦点を当て、IL-33 を頂点とする IL-5、IL-13 産生カスケードへの影響を明らかにする。

3. 研究の方法

先ず研究の同意を得た日本紅斑熱罹患感染患者の急性期と回復期の血清中の IL-33、IL-5、IL-13 の濃度を ELISA 法等にて測定し、好酸球が消失する機序を解明する。本研究では日本紅斑熱罹患疑いの患者から採取された検体より *R. japonica* 遺伝子が検出された、あるいは血清学的評価から抗 *R. japonica* 抗体の上昇を認めたことより日本紅斑熱に罹患していたことが証明された患者が対象である。日本紅斑熱罹患患者の急性期の血清と回復期の血清中の IL-33、IL-5、IL-13 等を ELISA 等にて測定し、また *R. japonica* を細胞膜、細胞小器官膜、核の 3 つの成分に分離し、それぞれの成分を血管内皮細胞と共培養し、各成分の刺激により、産生されたサイトカインを ELISA 法で測定し評価する。好酸球が消失する機序を解明する。また罹患患者の臨床経過や臨床所見を加味し、基礎疾患や定期内服薬も検討に加え、各種サイトカインの動きを比較解析し包括的考察を試みる。

4. 研究成果

日本紅斑熱疑い 7 人の対象患者の初診時と 2 週間後の回復期の血清を用いて各種サイトカイン (IFN- γ 、IL-1 β 、TNF- α 、IL-2、TNF- β 、IL-8、IL-6、GM-CSF、TSLP、IL-4、IL-5、IL-9、IL-10、IL-33、IL-12p70、IL-17A、IL-22、IL-17F) を AimPlex 用いて測定した。症例 1~3 は各サイトカインの推移を 4 点で比較した。また急性期と回復期の WBC、CRP、好酸球の推移とも比較した。

A) 白血球と好酸球の関係

全例白血球数は急性期が回復期の方が高かった。しかし急性期に正常範囲を超えた症例は 1 例のみであった。(正常範囲 < 8000)

急性期は 6/7 例が好酸球をカウントできず、カウントできた症例 1 においても 0.2% と極めて少数であった。回復期では正常範囲内に回復していた。

B) 白血球と CRP の関係

CRP は全例急性期では高値をしめし、回復期ではすみやかに正常値に回復した。

急性期に CRP が高くても WBC がかならずしも高いわけではなく相関関係は認めなかった。

C) 炎症性サイトカインの関係

症例 1~3 において IFN- γ 、IL-6 は急性期から回復期に向かい急激に減少を認めた。全例、急性期と回復期を比較し明らかな低下を認めた。IL-12p70 は症例 1~3 の経過を見ると 7 病日に上昇し、14 病日の回復期には優位に低下した。

TNF- α 、IL-2 は症例 3 を除いて急性期に上昇していたが、回復期には低下していた。IL-1 β 、IL-8、IL-10、TNF- β は有意差を認めなかった。

D) IL - 4 系サイトカインの関係

GM-CSF、TSLP、IL-4、IL-5、IL-9、IL-33 値の経過より症例 1~3 の経過を見ると 7 病日に上昇し、14 病日の回復期にはほぼ急性期と同程度の値となった。ゆえに症例 4~7 もこれらのサイトカインの急性期と回復期の値も有意差はなかった。

E) IL - 17 系の関係

IL-4 系サイトカインと似たような推移をしめした。測定し IL-22, IL-17A, IL-17F 値の経過を症例 1~3 の経過から見ると 7 病日に上昇し、14 病日の回復期には急性期とほぼ同等の値となった。

リケッチア感染症では炎症性サイトカインが上昇することが報告されている。過去の報告を見るとリケッチアの種により高度となるサイトカインは違う。*R. japonica* のみを対象とすると IL-8 以外の IL-6、IFN- γ 、TNF- α は同じように上昇していた。我々の day 1、3、7、14 の 4 点で比較した値の推移をみると、IL-6 についてはマクロファージが体内に入ったリケッチアを取り囲み、またリケッチアはマクロファージに感染しようとするため、まずマクロファージから放出される最初に反応するトリガーとなるサイトカインであろう。

CRP は高値となる症例が多いにも関わらず、好中球の上昇はごく軽度である。中でも今回のように好酸球はカウントされないことが報告されている。当初我々は Th2 系の自然免疫を抑制し好酸球へ分化、増殖を抑制していることも考えた。しかし、IL-4、IL-5、IL-33 など急性期と回復期に優位差はなく、7 病日に最高値となることが判明した。また同じく Th17 系のサイトカインである IL-22, IL-17A, IL-17F も同じ動きを示している。またリケッチアは血管内皮細胞に移動し寄生感染するため IFN- γ を誘導することが最優先となるのであろう。

ゆえに急激な IL-6 の刺激でほとんどのナイーブ T 細胞がまず Th1 系に分化し、IL-12 を介し細胞内寄生菌に対し攻撃する IFN- γ に分化しようとするため、Th-17 系への分化の優先度は低く好中球は微増となると推測される。またより Th2 系へのサイトカイン放出の優先度は低くなるため、好酸球分化はなくなり消失すると推測する。ゆえに *R. japonica* がほぼ消失したであろう 7 病日に Th17、Th2 系サイトカインは反動で上昇し、14 病日にはもとのレベルに戻ると考える。今回我々は炎症性サイトカインだけではなく、IL-17 系、IL-4 系サイトカインも比較し *R. japonica* 感染時に生じている体内動態を推定した。*R. japonica* 感染においては IL-6、IFN- γ が感染防御にきわめて重要なサイトカインとなっている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kondo M, Goto H, Yamanaka K	4. 巻 20
2. 論文標題 Case of <i>Scedosporium aurantiacum</i> infection detected in a subcutaneous abscess	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Medical Mycology Case Reports	6. 最初と最後の頁 26-27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mmcr.2018.01.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kato S, Matsushima Y, Mizutani K, Kawakita F, Fujimoto M, Okada K, Kondo M, Habe K, Suzuki H, Mizutani H, Yamanaka K	4. 巻 10
2. 論文標題 The Stenosis of Cerebral Arteries and Impaired Brain Glucose Uptake by Long-Lasting Inflammatory Cytokine Release from Dermatitis Is Rescued by Anti-IL-1 Therapy.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Invest Dermatol.	6. 最初と最後の頁 2280-2283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2018.04.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kondo M, Goto H, Miyazaki M, Mori T, Yamanaka K.	4. 巻 11
2. 論文標題 Comparison of positive ratio for red meat-specific immunoglobulin E between endemic and non-endemic area for Japanese spotted fever in Mie Prefecture, Japan.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e311-e313
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14354	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ichikawa A, Kondo M, Yamanaka K	4. 巻 46
2. 論文標題 Pyoderma gangrenosum reproduced by an electric current flow.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e64-e66
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14547	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kondo M, Kobayashi A, Yamanaka K	4. 巻 1
2. 論文標題 Varicella Zoster Virus Detection from the Crust using by Derma Quick VZV	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal od dermatology Study and Treatment	6. 最初と最後の頁 10-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamanaka K, Okada K, Nakanishi T, Mizutani K, Matsushima Y, Kondo M, Habe K, Mizutani H, Seo N	4. 巻 88
2. 論文標題 Skin inflammation leads immunoglobulin G aggregation and deposition in multiple organs	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Dermatol Sci.	6. 最初と最後の頁 146-148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) :10.1016/j.jdermsci.2017.05.013.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kondo M, Nakagawa T, Yamanaka K, Mizutani H	4. 巻 44
2. 論文標題 Case with acute urticaria by red meat after Haemaphysalis longicornis bite.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 e168-e169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) : 10.1111/1346-8138.13865.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamanaka K, Yamagiwa A, Akeda T, Kondo M, Kakeda M, Habe K, Imafuku S, Sano S, Mizutani H	4. 巻 44
2. 論文標題 Neutrophils are not the dominant interleukin-17 producer in psoriasis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J dermatol.	6. 最初と最後の頁 e170-e171
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) : 10.1111/1346-8138.13807.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kondo M, Akachi S, Yamazoe N, Yamanaka K, Mizutani H.	4. 巻 44
2. 論文標題 Case with cellulitis, lymphangitis and subcutaneous nodule suspected due to Rickettsia japonica carrying tick bite.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 1182-1183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) : 10.1111/1346-8138.13666.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kondo M, Akachi S, Goto H, Umaoka A, Yamanaka K, Mizutani H.	4. 巻 44
2. 論文標題 Case of dengue fever missed at the initial screening of an endemic area but developed later in Japan	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 847-848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) : 10.1111/1346-8138.13562.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamanaka K, Nakanishi T, Isono K, Hasegawa C, Inada H, Mizutani K, Matsushima Y, Okada K, Mabuchi T, Kondo M, Yamagiwa A, Kakeda M, Habe K, Nosaka T, Gabazza.	4. 巻 139
2. 論文標題 Restrictive IL-10 induction by an innocuous parainfluenza virus vector ameliorates nasal allergy.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Allergy Clin Immunol.	6. 最初と最後の頁 682-686. e7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) : 10.1016/j.jaci.2016.05.044	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Habe K, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Tsuda K, Kondo M, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Mizutani H.	4. 巻 23
2. 論文標題 Plasma ADAMTS13, von Willebrand Factor (VWF), and VWF Propeptide Profiles in Patients With Connective Tissue Diseases and Antiphospholipid Syndrome	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clin Appl Thromb Hemost.	6. 最初と最後の頁 622-630
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) i: 10.1177/1076029615625832.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Matsushima Y, Kato S, Mizutani K, Kawakita F, Okada K, Kondo M, Habe K, Suzuki H, Mizutani H, Yamanaka K
2. 発表標題 The stenosis of cerebral arteries and impaired brain glucose uptake by long-lasting inflammatory cytokine release from dermatitis, but rescued by anti-IL-1 therapy
3. 学会等名 International Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mizutani K, Okada K, Matsushima Y, Kondo M, Kakeda M, Habe K, Yamanaka K
2. 発表標題 Hypoalbuminemia and inflammatory skin condition: long-lasting inflammatory cytokine release from dermatitis may be related.
3. 学会等名 International Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamanaka K, Yamagiwa A, Akeda T, Kondo M, Kakeda M, Habe K, Mizutani H
2. 発表標題 Neutrophils are not the dominant interleukin-17 producer in psoriasis
3. 学会等名 76th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kondo M, Nakagawa T, Yamanaka K, Mizutani H
2. 発表標題 Rapid changes in the red meat and α -Gal specific IgE-RAST level in the clinical course of a case with red meat allergy and Haemaphysalis longicornis bite
3. 学会等名 76th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Matsushima Y, Okada K, Mizutani K, Kondo M, Habe K, Yamanaka K
2. 発表標題 Skin inflammation leads immunoglobulin G aggregation and deposition in multiple organs
3. 学会等名 47th Annual ESDR Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Mizutani K, Matsushima Y, Okada K, Yamagiwa A, Akeda T, Kondo M, Kakeda M, Habe K, Yamanaka K
2. 発表標題 Is neutrophil the dominant IL-17 producer in psoriasis?
3. 学会等名 47th Annual ESDR Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考