



2014年12月31日放送

「難治性感染症に対する抗体療法の可能性」

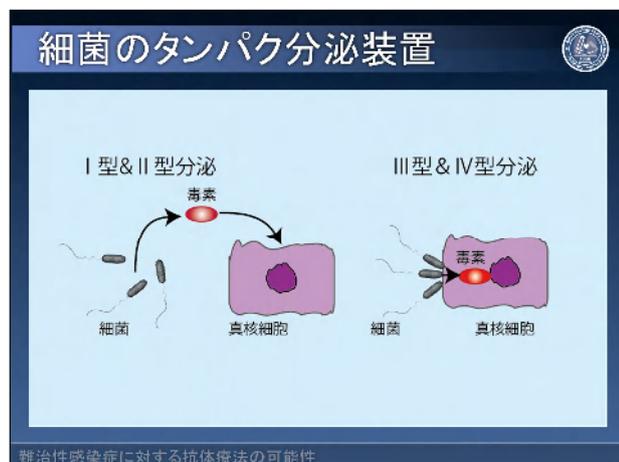
京都府立医科大学 麻醉科教授
佐和 貞治

はじめに

今日は、「難治性感染症に対する抗体療法の可能性」というタイトルで、緑膿菌のⅢ型分泌システムと、我々の取り組む抗体療法について解説いたします。

近年、高齢化社会の進展や、高度な医療の普及という背景のなかで、免疫力の低下した患者が増加しています。これらの患者において、「多剤耐性菌」と呼ばれる複数の抗菌剤に対して耐性をもつ細菌による感染症の発生が、社会問題化しています。1928年のアレクサンダー・フレミングによるペニシリンの発見から、今日まで80年余りしか経っていません。これまでに、多くの新しい抗菌剤が開発されてきました。そして、そのたびに新しい耐性菌が出現してまいりました。現在では、すべての主要な抗菌剤に対して、強い耐性を持つ、いわゆる「超多剤耐性菌」の出現が、21世紀の人類の健康を脅かすのではないかとたいへん懸念されています。そこで、免疫力の低下した患者に対して、免疫力を高める新しい抗菌免疫療法の開発が強く求められています。

一方で、近年、ゲノム科学や分子細菌学は大きく進歩いたしました。そして、多くの細菌の病原性メカニズムが分子レベルで明らかにされてきました。特に、1990年代半ばより、広く病原性細菌において、新しいタンパク分泌システムが発見されてきました。そして、この新型の分泌システムが、細菌の病原性と深く関わるということが分かってまいりました。これらは従来までに同定されていた古典的な分泌システムであるⅠ型もしくはⅡ型とは異なります。新



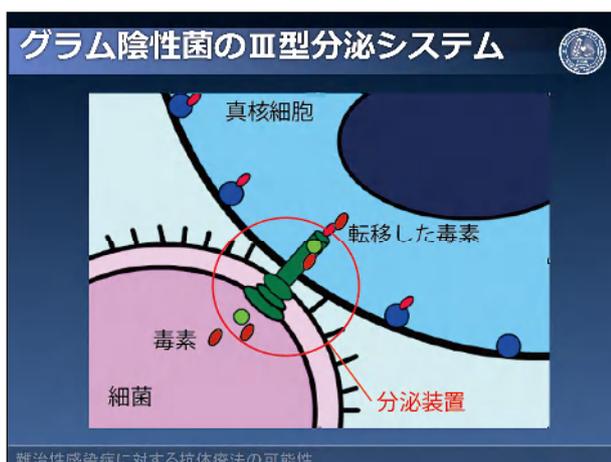
難治性感染症に対する抗体療法の可能性

しく、III型もしくはIV型と呼ばれます。この新しく同定された分泌システムでは、細菌はなんらかの酵素作用を持ったタンパク毒素を、特殊な分泌装置を用いて、直接、標的となる真核細胞へ注入いたします。今日までに、サルモネラ菌、赤痢菌、病原性大腸菌、緑膿菌、ビブリオ菌、百日咳菌などでこのIII型分泌システムが発見されてきました。つまり、ヒトに感染症を引き起こす多くの病原性細菌が、このIII型分泌システムを用いて病気を引き起こしていることがわかってきました。

そこで、今日は、このIII型分泌システムと、我々が取り組む、この分泌システムを標的とした抗体療法の開発について、その概略を解説いたします。

グラム陰性菌のIII型分泌システム

III型分泌システムでは、まず、細菌は標的となる真核細胞の細胞表面に接します。そして、特殊なニードル状の分泌装置を用いて、真核細胞の細胞膜上に穴を開けます。その穴を通じてタンパク毒素を標的細胞の細胞質内に送り込みます。つまり、細菌は、このIII型分泌装置を通じて、細菌の細胞膜、そして標的細胞の細胞膜にトンネルを形成し、このトンネルを通じて、タンパク毒素を細胞内に送り込みます。送り込まれた毒素は、真核細胞の中で、細胞のシグナル伝達機構を乗っ取ります。そして、細菌に有利となる状況を誘導します。言うなれば、III型分泌装置は弾丸発射装置であり、III型分泌毒素は送り込まれる弾丸に相当します。



緑膿菌

緑膿菌は、免疫力の低下したヒトに感染症を引き起こす日和見感染菌であります。その急性感染症の典型例として、熱傷患者の敗血症や、人工呼吸器下の管理にある患者に肺炎を引き起こします。また、欧米においては、遺伝子病である肺嚢胞線維症の患者に、慢性感染症を引き起こします。また、近年、多剤耐性緑膿菌、Multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*、

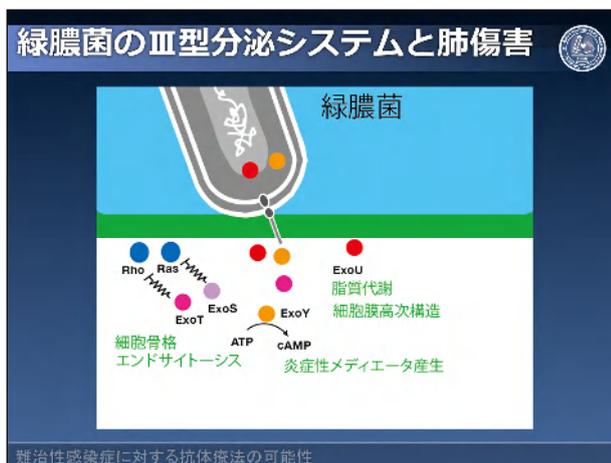
緑膿菌感染

- 免疫不全患者における日和見感染症
- 急性感染症
 - 熱症患者での敗血症
 - 人工呼吸関連性肺炎(VAP: Ventilator-associated pneumonia)
- 慢性感染症: 肺嚢胞線維症
- 多剤耐性緑膿菌 (MDRP: Multi-drug resistant *P. aeruginosa*)

略してMDRPと呼ばれますが、このMDRPによる院内感染のアウトブレイクが社会問題化しています。

緑膿菌の III 型分泌システム

緑膿菌は、その III 型分泌システムを通じて、4 種類の III 型分泌毒素、ExoS、ExoT、ExoU、ExoY を、標的細胞に送り込み、細胞シグナル伝達機構をハイジャックします。III 型分泌毒素の ExoS や ExoT は、細胞骨格を破壊し、エンドサイトーシスを阻害します。ExoU は細胞膜の高次構造を破壊し、細胞壊死を起こします。ExoY は、細胞内のセカンドメッセンジャーと呼ばれるサイクリック AMP を上昇させることで、炎症反応を抑制し、創傷治癒を遅らせます。

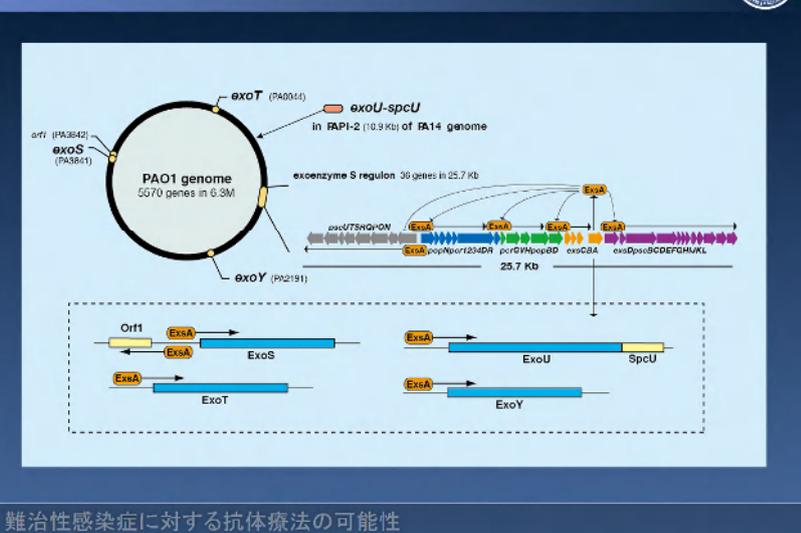


緑膿菌の III 型分泌システムの遺伝子構造

2000 年に、緑膿菌 PA01 株のゲノムの全塩基配列が解読されました。その結果、630 万の塩基対で構成される染色体 DNA 内には、5570 個の遺伝子が含まれることが解明されました。ゲノム上には、exoenzyme S regulon と名付けられた III 型分泌システムの制御・分泌に関わる領域が存在します。この領域には、合計 36 個のタンパク質がコードされて、これらのタンパク質が分泌装置を形成します。また 4 つの III 型分泌毒素の遺伝子は染色体 DNA 上に散在して存在しています。

弱毒の緑膿菌では、4 つの III 型分泌毒素のうち、ゲノム上には ExoS、ExoT、ExoY の 3 つのみが存在します。一方、細胞毒性の強い約 20% の緑膿菌株では、ExoS を欠損する代わりに、病原性アイランドと呼ばれる領域が挿入遺伝子群として存在

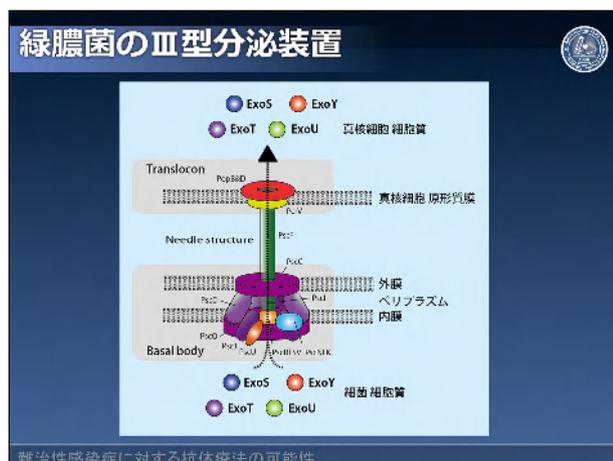
緑膿菌 III 型分泌システムの遺伝子構造



します。その領域には、ExoU の遺伝子が含まれています。特に ExoU は、標的細胞の細胞膜を破壊し、細胞壊死を起こすことから、急性肺傷害や敗血症、そして感染死亡との関連性が報告されています。

緑膿菌 III 型分泌装置の概略

緑膿菌の III 型分泌装置は、タンパク毒素が細菌の二重膜構造を越える分泌装置と、標的細胞の原形質膜を越える転移機構で構成されます。分泌装置は、多くのタンパク質で構成される基底構造と PscF と呼ばれるタンパクからなるニードル状の突起で構成されます。また転移機構には、分泌装置のニードルの先端において、キャップ状の構造をとる PcrV と、細胞膜で転移孔を形成する PopB、PopD と呼ばれる 2 つのタンパク、合計すると 3 つのタンパクが関わっています。



特にニードル先端のキャップタンパクである PcrV は、ペスト菌の V-抗原と呼ばれてきたタンパク LcrV と高い相同性を持ちます。これらタンパクは、鞭毛のキャップタンパクが進化したものと考えられています。我々は、1999 年に、この緑膿菌の PcrV に、III 型分泌を抑制できるワクチン効果があることを発見いたしました。また、この PcrV に対する特異抗体が緑膿菌の III 型分泌の毒性を抑制できることを発見いたしました。

PcrV とブロック抗体

- III 型分泌装置の先端構造
- ペスト菌 V-抗原 LcrV と相同
- 起源は鞭毛 cap タンパク
- III 型分泌毒素の転移に必須
- 特異抗体: 毒素の転移抑制

Mueller, et al. Science 310:674, 2005

<https://doi.org/10.1126/science.1119700>

世界初の III 型分泌システムに対する抗体療法
米国にて前臨床、第一相臨床試験を終了
第二相臨床試験(サノフィー・パスツール社)

緑膿菌に対する抗体療法

我々は、III 型分泌毒性に対するブロッキング作用を持つ抗 PcrV モノクローナル抗体を開発しました。このモノクローナル抗体は、米国、カリフォルニア州のベンチャー企業である KaloBios 社により、ヒトへの治療薬を目指して、遺伝子組み換えヒト化、抗 PcrV 抗体 KB001 として改良されました。現在は、Sanofi-Pasteur 社により、米国とフランスにおいて、第 2 相の臨床試験が実施されています。その結果の一部は、近年、

複数の医学誌に報告されました。まず、フランスの臨床試験では、緑膿菌が検出された人工呼吸中の患者に対して、KB001 が投与されました。その結果、肺炎への進展が有意に抑制されたことが報告されました。また米国での臨床試験では、緑膿菌の慢性感染を持つ肺嚢胞線維症患者に KB001 が投与されました。その結果、治療群において気道の炎症が有意に低下したことが報告されました。現在は、今後の第Ⅲ相の臨床試験の実施が待たれる状況にあります。

まとめ

今日は、多剤耐性緑膿菌による致死的な院内感染がしばしば発症している状況において、主要な病原因子である III 型分泌毒性の関わりについて解説いたしました。そして、それらの病原性に対する我々の特異的な抗体療法の開発について、説明いたしました。PcrV に対する特異抗体 KB001 は、現在、欧米において臨床試験の段階にあり、緑膿菌感染に対する新しい予防法、治療法として期待されています。今後、このような抗体療法が、免疫力の低下した患者に発症する多剤耐性菌感染に対する新しい予防法、治療法として開発されていくことに益々、期待が高まるところであります。

● まとめ

- III型分泌システムは、多くの病原性グラム陰性菌の感染症の主要な病態形成に関わる。
- 緑膿菌において、III型分泌システムは、急性肺傷害や敗血症の発症に関わる。
- 緑膿菌V抗原PcrVは、III型分泌装置先端のキャップ状タンパクで、ワクテン効果を持つことが発見された。
- 緑膿菌PcrVに対する抗体にはIII型分泌を阻害する効果がある。
- 遺伝子組み換えヒト化抗PcrV抗体療法は現在、臨床応用を目指した試験段階にある。

難治性感染症に対する抗体療法の可能性