

## 消化管穿孔術後患者における緑膿菌抗PcrV療法の可能性

森 山 潔

杏林大学医学部麻醉科学

### 【目 的】

緑膿菌は病原性グラム陰性桿菌の一種で、院内環境に常在する弱毒菌で、健常人には害を及ぼさず、主に院内感染の起因菌として問題となる。弱毒菌である緑膿菌は院内の常在菌であるため入院した患者の常在菌となり、患者の免疫能が低下した時日和見感染を引き起こす。対象臓器は尿路、角膜、肺、創部など多岐にわたり、長期入院患者に尿路感染、重症肺炎、手術部位感染、敗血症を引き起こす。入院後に院内環境に存在する緑膿菌が常在菌となった患者が重症化し、集中治療室に長期に滞在し、免疫能が低下した患者に致死的な肺炎、敗血症を引き起こす。

緑膿菌は抗菌薬に対し耐性を獲得するための様々な機構を保持する。長期入院患者は入院中に多種の広域スペクトラム抗菌薬が使用される結果、保持する緑膿菌は多剤耐性化する。多剤耐性緑膿菌を保持する患者が免疫能低下に伴い緑膿菌敗血症に陥ると、抗菌薬療法は難渋するため、緑膿菌肺炎、敗血症の死亡率は高い。免疫能低下患者の感染症治療には、新たな抗菌薬を開発し新たな多剤耐性菌を作り出すという負のサイクルから離脱し、患者が本来保持している免疫能を賦活するようなあらたな治療法を開発すべき時代である。

このような観点から抗菌薬に代わりうる感染症治療として期待できるのは、抗体療法とワクチン療法からなる免疫療法である。ワクチン療法は歴史の長い予防医療であるが、免疫不全患者の緑膿菌感染は、上述したように長期入院後に発症することが多い為、ワクチン療法の効果が期待できる。特に本研究で対象としている集中治療室入室患者は、入院時より緑膿菌感染に対するハイリスク患者であることが明らかであるため、入院時にワクチン療法を行うことで、滞在が長期化した場合の緑膿菌毒性の発現を抑える効果が期待できる。

旧来のワクチン療法は、生ワクチンや不活化ワクチン

など病原体を注入することで体内に抗体を作る方法が主流だったため、重篤な副作用を伴い、集中治療を要する患者には適切な治療法とは考えられなかった。しかし近年開発されているコンポーネントワクチンは、病原体からワクチン効果を発揮する抗原蛋白質のみを抽出・精製するか、遺伝子工学的手法を応用して人工的に作り出した抗原蛋白質を主成分とするワクチンで、不要な蛋白質の混入がなく生ワクチンや不活化ワクチンと比べ遥かに安全性に優れ、集中治療患者にも安全に投与可能である。

我々は緑膿菌常在化の過程で発現する緑膿菌のⅢ型分泌システム（ペスト菌と相同性が高い毒素分泌メカニズム）により分泌される病態増悪因子であるV抗原蛋白質に着目し、Ⅲ型分泌システムを抑制することで敗血症などへの増悪を予防するため、V抗原（PcrV）を標的とした免疫療法（抗体及びワクチン療法）の臨床応用に向け開発を進めてきた。免疫療法の安全性は高まったが、治療をより効果的なものとするためには、重症患者におけるⅢ型分泌システム発現のタイミングを明らかとすることが不可欠である。（図1）

今回、緑膿菌感染に対する抗PcrVワクチン療法の可

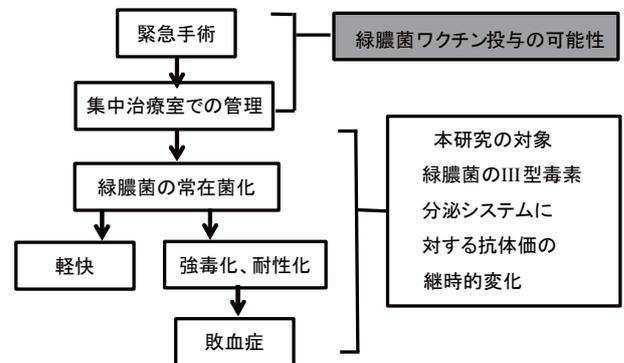


図1 緑膿菌Ⅲ型毒素分泌システムの発現とワクチン療法の可能性

能性を明らかにするため、当院中央集中治療室に入室した患者を対象に、治療経過中のPcrV抗体及びExoU抗体発現を調査し、比較検討した。

### 【方 法】

対象は2012年7月～2015年3月までの期間に当院集中治療室に入室した患者のうち、本研究に対する同意を得られた患者。同意を得られた患者から、通常の採血に加え約1ml採血し、得られた血清を用いて緑膿菌V抗原に対する抗体価を測定した。抗V抗原抗体価測定に際しては、遺伝子組換えV抗原蛋白を使用し、Ⅲ型分泌システムのトンネルタンパク（PcrV）及び毒素（ExoU）に対する抗体価を測定した。バルオキシダーゼ結合抗ヒト

IgG二次抗体にはウサギ抗体へのクロス結合を認めるものを用い、抗体価は標準的なELISA法で測定した。

### 【結 果】

期間中同意を得られた37名から検体が得られた。患者の平均年齢は $64.1 \pm 17.7$ 歳（平均 $\pm$ 標準偏差）、男性27例女性10例。

ELISA測定の結果、抗PcrV抗体価は $113.0 \pm 216.5$ ng/ml（中央値 $\pm$ 四分位偏差）、抗ExoU抗体価は $93.0 \pm 165.5$ ng/mlであった。（図2、3）

抗PcrV抗体価が1000ng/ml以上の高値を示した7例の細菌歴を調べたところ、5例（71%）で採血以前に緑膿菌が喀痰より検出されていた。7例中3000ng/ml以上の

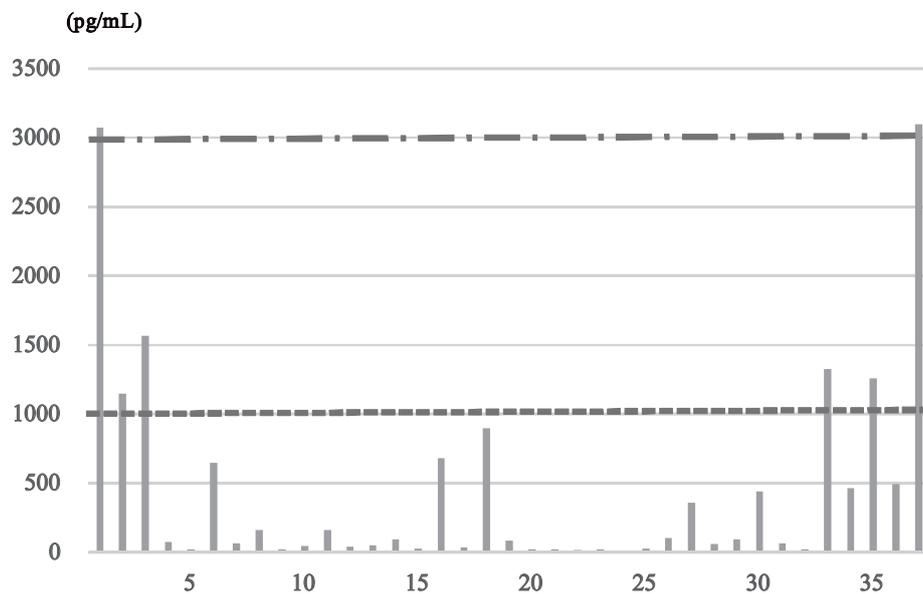


図2 37検体の抗PcrV抗体価

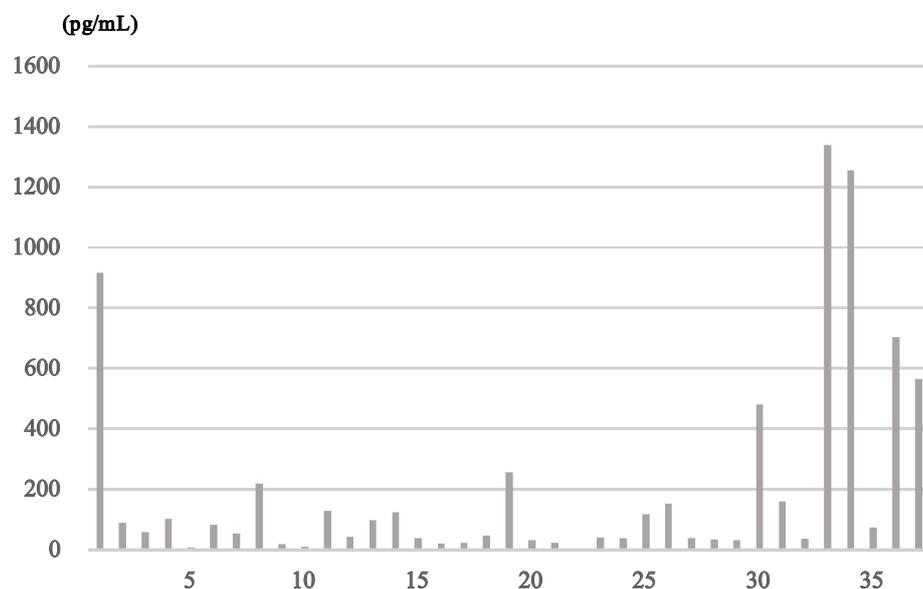


図3 37検体の抗ExoU抗体価

高値を示した2例は、1例は広範囲ペニシリン耐性菌、1例は広範囲ペニシリン、キノロン、及びカルバペネムに耐性を示す二剤耐性緑膿菌であった。

抗PcrV抗体価が1000ng/ml未満であった30例の細菌歴を調べたところ、緑膿菌が検出されていたのは6例（20%）で、うち3例（10%）は創部から、3例（10%）は喀痰からの検出であった。

#### 【考察&結語】

集中治療室に滞在する重症患者の抗PcrV抗体価及び抗ExoU抗体価は、患者により非常にばらつきが大きかったが、抗PcrV抗体価が高値の患者では緑膿菌が喀痰から検出される割合が高い傾向がみられ、また抗菌薬への耐性化と相関する可能性が考えられた。今後入院患者を対象とした抗PcrV免疫療法の可能性及び緑膿菌の多剤耐性化との関連につき、更なる検証が必要である。