第 73 回日本感染症学会総会学術講演会座長推薦論文

ツツガムシ病治癒機転に及ぼす minocycline の
cytokine modulation福井医科大学・輸血部¹⁾, 福井医科大学・第 1 内科²⁾, 福井医科大学・免疫寄生虫³⁾, 馬原医院⁴⁾岩崎 博道¹⁾ 井上 仁²⁾ 高田 伸弘³⁾
馬原 文彦⁴⁾ 上田 孝典²⁾

(平成 12 年 1 月 6 日受付)

(平成 12 年 5 月 22 日受理)

Key words : minocycline, *Orientia tsutsugamushi*, macrophage, TNF- α , IL-10

[感染症誌 74 : 598~600, 2000]

はじめに

血球貪食症候群を合併した重症ツツガムシ病の 1 例を経験した¹⁾ことを契機に, 本症重症化に宿主マクロファージの異常な活性化が関与している可能性を指摘してきた。本症の重症化および治癒機転の機序を解明することを目的とし, 培養系マクロファージの *in vitro* でのサイトカイン産生能に与える minocycline (MINO) の影響について検討した。

材料と方法

継代を続けている *Orientia tsutsugamushi* (JP-2 型株²⁾) を L929 細胞に接種し, 培養後 10^6 /ml の L929 細胞を集めホモジナイズし作成したリケッチア浮遊液を, 以下に示す *O. tsutsugamushi* 添加条件において 0.2ml ずつ加えた。

10ng/ml 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) により刺激された HL-60 細胞由来のマクロファージ (各条件 10^5 /ml, 2ml) を用い, 1) 対照群, 2) *O. tsutsugamushi* 添加群, 3) MINO

(10 μ g/ml) 添加群, 4) *O. tsutsugamushi* 存在下, 37 $^{\circ}$ C, 1 時間のプレインキュベーション後, MINO を添加した群の各条件にて, 37 $^{\circ}$ C 炭酸ガス培養器内で, 20 時間培養した。上清中の tumor necrosis factor (TNF) - α および interleukin (IL)-10 の濃度を ELISA 法 (Cytoscreen, Biosource, USA) を用いて測定した。

統計処理は Student's *t* test を用い検定し, $p < 0.05$ を有意な差があると判定した。

結果と考察

今回 *in vitro* の実験系にて, マクロファージより産生される pro-inflammatory cytokine の代表としての TNF- α と, anti-inflammatory cytokine の代表としての IL-10 の培養上清中濃度を測定した。*O. tsutsugamushi* 添加群では TNF- α , IL-10 はいずれも産生量が増加した。*O. tsutsugamushi* による刺激後, MINO を添加した場合, TNF- α は *O. tsutsugamushi* のみ添加した群に比較し増加した ($p < 0.05$) のに対して, IL-10 は低下した ($p < 0.01$)。MINO 単独による TNF- α および IL-10 の産生への明らかな影響は認めなかった (Fig. 1)。

別刷請求先 : (〒910-1193) 福井県吉田郡松岡町下合
月 23-3

福井医科大学・輸血部 岩崎 博道

Fig. 1 Differentiated HL-60 macrophages were incubated for 20 hr in 5% CO₂ incubator. Concentrations of TNF- α (A) and IL-10 (B) in supernatants were measured using ELISA kit (n = 3). * p < 0.05 (A) and * p < 0.01 (B) were used as the criterion of significance. 1 : control, 2 : added 0.2ml *O. tsutsugamushi* suspension, 3 : added minocycline at concentration of 10 μ g/ml, 4 : added 0.2ml *O. tsutsugamushi* suspension followed by minocycline at concentration of 10 μ g/ml.

臨床的にはツツガムシ病は、血中からのリケッチア DNA の消失には 4~8 日を要することが知られている³⁾が、MINO が著効を示し、投与 2 日以内には充分な解熱効果を認めることが多い¹⁴⁾。重症ツツガムシ病症例において治療経過中の

macrophage colony-stimulating factor (M-CSF), interferon- γ , granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), TNF- α の血中濃度の変動を検討した結果、TNF- α のみが回復期において、急性期と比較した場合上昇を示し、他のサイトカインはすべて回復早期に低下した⁵⁾。このことより、MINO の効果は抗リケッチア作用に加え、生体におけるサイトカインの発現を制御することが推測されていた。

ある種の細菌感染症において宿主の TNF- α と IL-10 の産生能のバランスが感染症重症化に影響を与えるとの報告もみられる⁶⁾。今回の検討により、ツツガムシ病でも MINO がマクロファージからの TNF- α 産生を増強し、IL-10 産生を抑制する cytokine modulation によって、感染症により生じた異常なサイトカイン環境を是正し、早期に症状の回復に向かわせることに重要な役割を担っている可能性が推測された。

本研究は、平成 9 年度厚生省厚生科学研究費補助金 (新興・再興感染症事業) および、平成 10 年度臨床薬理研究振興財団研究助成金の援助を受けた。なお、本論文要旨は第 73 回日本感染症学会総会 (1999 年 3 月、東京) にて発表した。

文 献

- 1) Iwasaki H, Hashimoto K, Takada N, Nakayama T, Ueda T, Nakamura T : Fulminant *Rickettsia tsutsugamushi* infection associated with haemophagocytic syndrome. Lancet 1994 ; 343 : 1236.
- 2) 多村 憲 : 恙虫病病原体 *Orientia tsutsugamushi* の微生物学. 日本細菌学雑誌 1999, 54 : 815-832.
- 3) Murai K, Okayama A, Horinouchi H, Oshikawa T, Tachibana N, Tsubouchi H : Eradication of *Rickettsia tsutsugamushi* from patients' blood by chemotherapy, as assessed by the polymerase chain reaction. Am J Trop Med Hyg 1995 ; 52 : 325-327.
- 4) Iwasaki H, Ueda T, Uchida M, Nakamura T, Takada N, Mahara F : Atypical lymphocytes with a multilobated nucleus from a patient with tsutsugamushi disease (scrub typhus) in Japan. Am J Hematol 1991 ; 36 : 150-151.
- 5) Iwasaki H, Takada N, Nakamura T, Ueda T : Increased levels of macrophage colony-stimulating factor, gamma interferon, and tumor necrosis factor alpha in sera of patients with *Orientia tsutsugamushi* infection. J Clin Microbiol 1997 ; 35 : 3320-3322.
- 6) Westendorp RG J, Langermans J AM, Huizinga T WJ *et al.* : Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. Lancet 1997 ; 349 : 170-173.

Cytokine Modulation Induced by Minocycline in Tsutsugamushi Disease

Hiromichi IWASAKI¹⁾, Hitoshi INOUE²⁾, Nobuhiro TAKADA³⁾,
Fumihiko MAHARA⁴⁾ & Takanori UEDA²⁾

¹⁾Division of Transfusion Medicine, ²⁾1st Department of Internal Medicine,

³⁾Department of Immunology and Parasitology, Fukui Medical University, ⁴⁾Mahara Hospital