

京都大学	博士（医学）	氏名	申 艶 娜
論文題目	Toll-Like Receptor 2- and MyD88-Dependent Phosphatidylinositol 3-Kinase and Rac1 Activation Facilitates the Phagocytosis of <i>Listeria monocytogenes</i> by Murine Macrophages (Toll 様レセプター2 および MyD88 依存的なフォスファチジルイノシトール 3 キナーゼと Rac1 の活性化は、マウスマクロファージによるリステリアの貪食を促進する)		
(論文内容の要旨) マクロファージは細胞表面やエンドソーム内にある Toll-like receptors (TLRs) を用いて宿主体内に侵入してくる細菌を識別する。その結果、マクロファージの炎症性サイトカイン産生や、インフラマソーム形成およびオートファジー経路が活性化される。また、TLR を介したシグナルはファゴソームの成熟化を促し、マクロファージの殺菌能が亢進することが知られている。一方、リステリアはマクロファージに貪食されると一旦はファゴソームに取り込まれるが、その後細胞質に脱出して増殖することができる。この細胞内殺菌機構に対する抵抗性機序については解析が進んでいるが、マクロファージによるリステリアの貪食に細胞と菌のどのような interaction が関与するのかについては不明な点が多い。また、TLR によるリステリアの認識が菌の細胞内侵入にどのような影響を及ぼすかは未だ明らかにされていない。これまでの解析から、マクロファージは主に TLR2 を介してリステリアを識別することが示されている。そこで本研究では、TLR2 シグナル経路の活性化がマクロファージによるリステリアの貪食に及ぼす影響について解析を行った。正常マウスおよび TLR2 欠損マウスの腹腔滲出マクロファージにリステリアを感染させ、1 時間後に菌数を測定した。その結果、正常マクロファージと TLR2 欠損マクロファージでは、細胞に付着あるいは取り込まれた菌の総数に違いはなかったが、細胞内に取り込まれた菌数は正常マクロファージに比較して TLR2 欠損マクロファージで明らかに少ないことが示された。また、TLR2 経路のシグナル伝達に重要な MyD88 を欠損したマクロファージでも、感染 1 時間後に細胞内に取り込んだ菌数が正常マクロファージより有意に少ないことが明らかとなった。一方、TLR2 欠損マクロファージにみられるリステリア貪食効率の低下は、感染マクロファージを LPS で刺激することにより回復することが示された。しかし、MyD88 欠損マクロファージを LPS 刺激しても貪食効率に変化は認められなかった。これらの結果から、マクロファージによるリステリアの貪食は、TLR2-MyD88 シグナル経路の活性化により亢進することが明らかとなった。さらにこの機序について解析を進めたところ、マクロファージによるリステリアの貪食は PI3K 阻害剤および低分子 Rho GTPase ファミリーの阻害剤で抑制されたが、シクロヘキシミド処理では抑制されなかった。また、TLR2 欠損マクロファージおよび MyD88 欠損マクロファージにおけるリステリア感染後の PI3K および Rac1 の活性化は、正常マクロファージに比べて弱いことがわかった。さらに、正常マウス、TLR2 欠損マウス及び MyD88 欠損マウスにチオグリコレート培地を注射し、4 日後にリステリアを腹腔内感染させて in vivo におけるマクロファージの貪食能を比較した。その結果、TLR2 及び MyD88 欠損マウスマクロファージの貪食能は正常マウスマクロファージに比べて有意に低いことが示された。また、正常マウスおよび TLR2 欠損マウスの静脈内にリステリアを感染させ、1 日後に脾内生菌数を調べたところ、TLR2 欠損マウスの脾内菌数は正常マウスの菌数より低いことが示された。以上の結果から、リステリア感染では TLR2-MyD88 経路依存的なシグナルによる PI3K および Rac1 の活性化がマクロファージのリステリア貪食能の発現に関与することが明らかとなった。			

(論文審査の結果の要旨)

マクロファージは TLR2 分子を介してグラム陽性菌であるリステリアを識別し、各種サイトカイン応答を示すことが明らかにされている。本研究では TLR2 からのシグナルがマクロファージのリステリア貪食能に及ぼす影響について解析を行った。正常マクロファージと TLR2 欠損マクロファージでは、リステリア感染後の細胞に付着あるいは取り込まれた菌の総数に違いは認められなかったが、菌の貪食効率は TLR2 および MyD88 欠損マクロファージで有意に低下することが示された。TLR2 欠損マクロファージにみられるリステリア貪食効率の低下は、感染マクロファージを LPS で刺激することにより回復した。しかし、MyD88 欠損マクロファージを LPS 刺激しても貪食効率に変化は認められなかった。これらの結果から、マクロファージによるリステリアの貪食は、TLR2-MyD88 シグナル経路の活性化により亢進することが明らかになった。さらに各種阻害剤を用いた解析から、TLR2-MyD88 を介したシグナルは PI3K および Rac1 の活性化を誘導することでマクロファージの貪食能の亢進に関与することが示された。また、正常マウスおよび TLR2 欠損マウスを用いてリステリアの in vivo 感染実験を行ったところ、TLR2 からのシグナルは感染早期のマクロファージによる菌の取り込みに重要であることが示された。

以上の研究は自然免疫応答における TLR シグナル経路の役割の解明に貢献し、細胞内寄生菌に対する宿主感染防御の全体像を把握するための研究の進歩に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 22 年 5 月 31 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降