

氏 名	原 英 樹
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 3151 号
学位授与の日付	平 成 19 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 病 理 系 専 攻
学位論文題目	Cytolysin-dependent escape of the bacterium from the phagosome is required but not sufficient for induction of the Th1 immune response against <i>Listeria monocytogenes</i> infection: Distinct role of listeriolysin O determined by cytolysin gene replacement (膜傷害毒素依存的な菌の食胞からの脱出はリステリア感染に対する Th1 免疫応答の誘導に必要なが充分ではない：膜傷害毒素タンパクの遺伝子置換により明らかとなったリステリオリシン O の特有な役割) (主 査)
論文調査委員	教 授 生 田 宏 一 教 授 湊 長 博 教 授 坂 口 志 文

論 文 内 容 の 要 旨

Listeria monocytogenes (LM) は、ヒトに敗血症や髄膜炎などの重症感染を惹き起こす細胞内寄生性細菌である。感染宿主のマクロファージに貪食された LM は、listeriolysin O (LLO) と呼ばれる細胞膜傷害毒素を用いて食胞膜を傷害し、細胞質へエスケープすることにより宿主細胞の殺菌機構を回避する。食胞からエスケープした LM は、細胞質で増殖し、隣接する細胞への侵入を繰り返すことで感染を拡大する。一方、リステリア感染宿主には、感染に应答して抗原特異的に IFN- γ を産生する Th1 細胞を中心とする細胞性免疫が誘導され、菌の排除が可能となり感染は収束する。この Th1 型防御免疫の誘導に重要な内因性 IFN- γ は、LM 生菌免疫では感染早期に強く誘導されるが、死菌免疫や食胞からエスケープできない LLO 欠損 LM 株免疫では誘導されないことから、IFN- γ 産生誘導には生菌が細胞質へエスケープすることが必要であると考えられた。しかし、LM の近縁種である *L. ivanovii* は、LLO 類似毒素である ivanolysin O (ILO) を産生し細胞質へエスケープするにも関わらず、IFN- γ 産生誘導能は著明に低い。これらの知見から、リステリア感染早期の内因性 IFN- γ 産生誘導に細胞質内で産生された LLO が関与することが示唆された。そこで本研究では、ILO 産生性 LM 組換え株を作製し、LLO 産生性 LM 株と IFN- γ 産生誘導能を比較することにより、LM 感染後に細胞質で産生される LLO が IFN- γ 産生誘導に関与しているのかどうか検討を行った。

作製した LLO および ILO 産生性 LM 組換え株の細胞傷害毒素産生量、菌の食胞からのエスケープ能およびマクロファージ内での増殖能は、LM 野生株とほぼ同等であった。そこで IFN- γ 産生誘導能を調べたところ、細胞内動態はほぼ同様であるにも関わらず ILO 産生性 LM 株の IFN- γ 産生誘導能は、LLO 産生性 LM 株と比較して顕著に低いことが明らかとなった。これらの LM 組換え株をマウスに感染させた場合、LLO 産生性 LM 株、ILO 産生性 LM 株ともに LM 野生株と同様の臓器内増殖能を示すにも関わらず、ILO 産生性 LM 株を感染させたマウスの血清中および脾臓内の IFN- γ 産生量は、LLO 産生性 LM 株を感染させたマウスと比較して有意に低く、また、弱い LM 特異的防御免疫しか成立していなかった。

これらの結果から、LLO はリステリア菌の細胞内寄生性に必須の主要病原因子であるが、一方、感染宿主マクロファージはその LLO を特異的に認識する自然免疫応答によって内因性 IFN- γ 産生を誘導し、結果的に細胞内寄生菌の完全排除に必要な免疫応答を惹起させるという新たな知見が得られた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Listeria monocytogenes (LM) 感染で誘導される IFN- γ 産生における LM の主要病原因子 listeriolysin O (LLO) の役割を明らかにするため、LLO 遺伝子 (*hly*) の欠損株、およびこの欠損株に *hly* または *L. ivanovii* 由来の ivanolysin O (ILO) 遺伝子 (*ilo*) を相補した株を作製し、それらの IFN- γ 産生誘導能を解析した。*hly* 相補株と *ilo* 相補株の間で cytolysin 産

生能や食胞からのエスケープ能およびマクロファージ内増殖能に違いは認められなかったが、*ilo* 相補株のマウス腹腔滲出細胞からの IFN- γ 産生誘導能は、*hly* 相補株と比較して明らかに低いことが示された。また、これらの菌株をマウスに感染させた場合、*hly* 相補株と比較して *ilo* 相補株感染後の血清および脾臓中の IFN- γ 産生量は有意に低いことが示された。さらに、*hly* 相補株でマウスを免疫した場合には強い防御免疫が成立するが、*ilo* 相補株では弱い防御免疫しか誘導されないことが明らかとなった。以上の結果から、*ilo* 相補株は野生型 LM と同じ細胞内動態を示すにも関わらず、IFN- γ 産生誘導能が弱いことが明らかとなり、LM 感染後の IFN- γ 産生誘導には LLO 分子以外の菌体成分の刺激では不十分であり、LLO 分子による細胞の活性化が必須であることが示された。

以上の研究は、細菌病原因子が宿主防御免疫誘導に直接関与することを示すものであり、細胞内寄生菌に対する **host-parasite relationship** に関わる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 19 年 7 月 3 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。