

京都大学	博士 (医科学)	氏名	酒井 俊 祐
論文題目	PD-1-PD-L1 pathway impairs Th1 immune response in the late stage of infection with <i>Mycobacterium bovis</i> bacillus Calmette-Guérin (PD-1-PD-L1 免疫抑制経路は、BCG 感染後期における Th1 型免疫応答を減弱させる)		
(論文内容の要旨) 結核菌 ( <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ) や <i>M. bovis</i> BCG などの抗酸菌は、マクロファージに貪食されても殺菌されずに生存することができる細胞内寄生菌であり、これらの菌に対する感染防御には Th1 型の免疫応答が必須である。しかし、これらの菌は獲得免疫が誘導されても長期間にわたり宿主内で生存し続けることが可能である。その免疫回避メカニズムについては十分に明らかにされていないが、近年、慢性感染を引き起こす病原体の免疫回避メカニズムの 1 つとして、programmed cell death 1(PD-1)-PD-1 リガンド(PD-L)経路の関与が報告されている。PD-1 は活性化 T 細胞に発現し、T 細胞のエフェクター機能を抑制する免疫抑制受容体と知られ、そのリガンド(PD-L1、PD-L2)は主に抗原提示細胞に発現し、感染などの刺激によって発現が増加する。そこで本研究では、BCG の持続感染における PD-1-PD-L 経路の関与について検討を行った。 BCG を経静脈的に感染させた野生型マウスの脾臓から CD4 <sup>+</sup> T 細胞を単離し、そのエフェクター機能を解析した。その結果、感染 3 週後の T 細胞において抗原特異的な IFN- $\gamma$ や TNF- $\alpha$ の産生および細胞増殖がみられたが、感染 6 週以降の T 細胞では、それらのエフェクター機能が顕著に低下していることが分かった。そこで、BCG 感染後の抗原提示細胞上の表面抗原の発現を解析したところ、感染後 3 週から PD-L1 の発現が増加し、感染 12 週後も持続的に発現していることが分かった。一方、PD-L2 は BCG 感染後も発現が認められなかった。さらに、CD4 <sup>+</sup> T 細胞上の PD-1 の発現を解析したところ、感染後 3 週から 12 週後までメモリー CD4 <sup>+</sup> T 細胞上に発現していることが分かった。これらの結果より、感染 6 週以降の CD4 <sup>+</sup> T 細胞の機能低下における PD-1-PD-L1 経路の関与が示唆されたことから、PD-1 欠損マウスに BCG を感染させ、野生型マウスとの CD4 <sup>+</sup> T 細胞のエフェクター機能の比較を行なった。その結果、野生型マウス由来の T 細胞では、前出の結果と同様に感染 6 週以降において抗原特異的サイトカイン産生などの機能が有意に低下していたのに対し、PD-1 欠損マウス由来の T 細胞は、感染 6 週以降もエフェクター機能が維持されていることが分かった。さらに、BCG 感染マウスの脾内生菌数を測定したところ、PD-1 欠損マウスの臓器内菌数は野生型マウスと比べ、感染 6 週以降に著明に減少していることが分かった。 以上の結果から、BCG 感染宿主では、抗原提示細胞上の PD-L1 と CD4 <sup>+</sup> T 細胞上の PD-1 を介して抗原特異的 T 細胞のエフェクター機能が抑制されていることが明らかとなった。従って、この PD-1-PD-L1 免疫抑制経路による感染防御免疫の低下が、BCG の持続感染の成立に寄与していることが示された。			

(論文審査の結果の要旨)

結核菌やBCGは、感染後獲得免疫が発現しても長期間にわたり宿主体内で生存し続けることが可能である。しかし、これらの菌がどのようにして宿主防御免疫を回避するのかについては十分明らかにされていない。そこで本研究では、BCGを用いた感染実験系でそのメカニズムの解析を行った。BCGを感染させたマウスの脾臓および肺からは感染後 12 週に渡って持続的に菌が検出された。一方、感染マウス脾細胞には、感染 3 週間には感染抵抗性CD4<sup>+</sup>T細胞の誘導成立が認められたが、その活性は感染 6 週目には顕著に低下することが示された。BCG感染後の抗原提示細胞およびCD4<sup>+</sup>T細胞上の表面抗原の発現を解析したところ、感染 3 週間より抑制性補助因子であるPD-L1 とその受容体であるPD-1 の発現が増加することが示された。そこで、PD-1 欠損マウスにBCGを感染させ、CD4<sup>+</sup>T細胞のエフェクター機能を調べた。その結果、PD-1 欠損マウスでは野生型マウスと比較して菌の排除が亢進しており、感染後 6 週以降の抗原特異的CD4<sup>+</sup>T細胞のエフェクター機能も維持されていることが示された。以上の結果から、BCG感染宿主では感染 6 週目以降に抗原提示細胞上のPD-L1 とCD4<sup>+</sup>T細胞上のPD-1 の発現が誘導され、それらを介した抑制性シグナルが抗原特異的T細胞のエフェクター機能を制御することでBCGの持続感染の成立に寄与していることが示された。

以上の研究は抗酸菌による持続感染の機序の解明に貢献し感染防御機構の新たな理解に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医科学）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 12 月 28 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