

京都大学	博士（医学）	氏 名	山 本 武 司
論文題目	<i>Listeria monocytogenes</i> strain-specific impairment of the TetR regulator underlies the drastic increase in cyclic di-AMP secretion and beta interferon-inducing ability (リステリア菌株特異的な TetR 制御機構はサイクリック di-AMP 分泌とインターフェロンβ誘導活性を規定する)		
(論文内容の要旨)			
<i>Listeria monocytogenes</i> (リステリア)は、食細胞であるマクロファージを含む様々な細胞の細胞質に侵入して増殖することができる細胞内寄生菌であり、感染マクロファージに極めて強い各種サイトカイン応答を誘導する。自然免疫応答でみられるサイトカインのうち、I型インターフェロン(IFN-β)の誘導能は菌株により大きな違いがあり、その能力の高い特定の菌株(LO28)が広く用いられているが、IFN-β誘導能の発現機構は充分解明されていない。 そこで本研究では、LO28株の強いIFN-β産生誘導機序の解明とその病原性への関与を調べることを目的として、標準的な菌株であるがIFN-β産生誘導能が弱いEGD株を対照株として、多面的な比較解析実験を行った。 IFN-β産生応答に直接関わる分子を同定するため、両菌株の菌体ならびに分泌成分の比較解析を行った。その結果、LO28株はIFN-β産生誘導活性を有するサイクリック di-AMPを大量に分泌していることが明らかとなった。サイクリック di-AMPの分泌には薬剤排出ポンプの関与が報告されていることから、エフラックスポンプ阻害薬であるレセルピンでLO28株を処理したところ、サイクリック di-AMP分泌ならびにIFN-β産生誘導能が著明に低下した。そこで、両菌株の各種薬剤排出ポンプについて検討したところ、LO28株ではサイクリック di-AMPの分泌はエフラックスポンプのひとつであるMdrTに依存しており、その発現レベルがEGD株と比べて著明に高いことが示された。<i>mdrT</i>遺伝子の発現は転写調節因子であるTetRによって負に制御されている。そこで、LO28株のTetRについて解析を行ったところ、LO28株の<i>tetR</i>遺伝子には188-bpの部分的な欠損があることが明らかとなった。また、EGD株の<i>tetR</i>遺伝子をLO28株に発現させた場合には、<i>mdrT</i>遺伝子の発現はEGD株と同程度の低いレベルに留まった。以上のことから、<i>tetR</i>遺伝子における自然発生的な欠損がLO28株の強いIFN-β産生誘導能の要因となっていることが判明した。 次に、リステリアの病原性におけるMdrTの役割を、感染後の臓器内菌数を指標にして解析した。その結果、MdrTの発現レベルが高いLO28株は、その発現レベルが低いEGD株に比べて病原性が弱いことが示された。また、両菌株の<i>mdrT</i>遺伝子欠損変異株を作製し、その病原性を比較したところ、明らかな違いは認められなかった。さらに、IFNAR1欠損マウスに感染した場合でもLO28株の病原性はEGD株より弱いことが示され、MdrT高発現依存的な病原性の低下にはIFN-βは関与していないことが示された。 以上の結果から、LO28株はTetRによる抑制機序を欠いており、そのため過剰に発現したMdrTを介してサイクリック di-AMPを大量に分泌し、強いIFN-β産生誘導能を発揮することが示された。また、MdrTの発現上昇はIFN-β非依存的な病原性の低下に関与していることが明らかとなった。			

（論文審査の結果の要旨） 細胞内寄生性細菌であるリステリアが示す宿主マクロファージに対するIFN-βの誘導能には菌株により大きな違いがみられる。 本研究では、その能力の高いLO28株と低いEGD株の比較により、IFN-β産生誘導機序とその病原性への関与を解析した。LO28株培養上清中にみられる誘導活性因子を分析し、cyclic-di-AMPであることが判明した。その分泌に関わる因子として示唆される薬剤排出トランスポータとその調節に関わる候補遺伝子配列を調べた結果、LO28株では<i>mdrT</i>の発現を負に制御する<i>tetR</i>に188bpの自然欠損があることが判明した。<i>tetR</i>の組換え株および<i>mdrT</i>欠損変異株を作製し、LO28株ではTetRの機能不全によるMdrTの著明な発現亢進があり菌体から大量のcyclic-di-AMPが分泌されることが判明した。 TetR/MdrTを介したcyclic-di-AMPの異常分泌がリステリア感染において果たす役割をI型IFN受容体KOマウスを用いてしらべたところ、IFN-βは感染マウスに不利な影響を与えることが示されたが、IFN-β産生能の高いLO28株ではむしろ病原性が低下しており、MdrTを介したIFN-β分泌誘導以外の機序が病原性に関与することが示唆された。 以上の研究はリステリアが示す宿主I型IFN産生誘導機構の解明に貢献し、細菌感染免疫の更なる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24年6月11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			