


255

(別紙様式第3号)

## 論 文 要 旨

論 文 題 目 Differential Roles of Toll-Like Receptors 2 and 4 in In Vitro  
Responses of Macrophages to *Legionella pneumophila*  
(レジオネラニューモフィラに対するマクロファージ  
の応答における Toll 様受容体 2 と 4 の異なる役割)

氏名 赤嶺盛和 

## 論文要旨

研究の目的： レジオネラ症の重要な起炎菌である *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) はグラム陰性桿菌であり、ヒトのマクロファージや肺胞上皮細胞内で増殖する細胞内増殖菌である。レジオネラ症に対する宿主側の感染防御因子として、細胞性免疫やそれらを誘導する IL-12 や IFN- $\gamma$  などの Th1 サイトカインが重要であることが報告されているが、特に感染初期の病態については依然不明な点も多い。近年外来微生物の特有構造 Pathogen Associated Molecular Pattern (PAMP) を認識する Toll-like Receptor (TLR) の存在が明らかとなり、感染早期の免疫応答ならびに獲得免疫の誘導に重要な役割を担っていることがわかってきた。最も解析がなされている TLR4 はグラム陰性桿菌のリポ多糖を認識し TLR2 はグラム陽性球菌の peptidoglycan などを認識することが報告されている。本研究では感染初期の防御機構において重要な役割を担うマクロファージのレジオネラに対する免疫応

答における TLR の役割について検討した。

方法：コントロールマウス (C57BL/6X129/Sv

;WT) , その TLR4 遺伝子欠損 (TLR4KO)

および TLR2 遺伝子欠損 (TLR2KO) マウスか

ら大腿骨骨髓細胞を得て L929 培養上清と共

に培養を行い、マクロファージに分化させ、

*L. pneumophila* SG1 を感染させ経時的な細胞

内生菌数を比較検討した。また生菌、死菌、

非病原株 (dotO mutant) を感染させ、感染

早期のマクロファージにおける培養上清中の

IL-12p40, IL-10, TNF- $\alpha$  の産生量を ELISA 法

にて測定した。さらに菌体を超音波破砕し、

その抽出物を用い同様に検討を行った。

結果：*L. pneumophila* SG1 感染 72 時間後の

細胞内生菌数は TLR2KO マウスマクロファ-

ージにおいて著明に増加していた。樹状細胞で

は感染後の細胞内生菌数において三群間で差

は認められなかった。感染早期の培養上清中

の IL-12p40, TNF- $\alpha$ , IL-10 は WT, TLR4KO マ

ウスと比較して、TLR2KO マウス由来のマク

ロファージでは低値を示した。超音波破砕物による刺激では WT, TLR4KO マウスと比較して TLR2KO マウス由来マクロファージにおいて IL-12 産生の低下が認められ、その傾向は 5kDa 以上の画分で Proteinase K 抵抗性、加熱処理後の破砕物による刺激で顕著であった。考察：以上よりマウスマクロファージ感染モデルにおいて、レジオネラの細胞内増殖抑制及び感染初期の IL-12 産生誘導には TLR2 が重要な役割を担っていることが示された。一方でレジオネラはグラム陰性桿菌でありリポ多糖を有しているが、TLR4 はレジオネラに対する初期反応に殆ど関与していないことが示唆された。TLR2 に対するレジオネラ由来の刺激物質は Proteinase K や加熱処理に対し安定な物質であると予想される結果であったが、ligand の同定についてはさらに解析が必要である。レジオネラに対する初期応答における TLR2 の重要性を示した本研究により本症の分子病態の一端が明らかにされた。

平成17年2月7日

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨 (1)

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	赤嶺盛和
論文審査委員	審査日	平成 17年 2月 2日	
	主査教授	佐藤 良也	
	副査教授	岩 永 正 明	
	副査教授	山根 誠 久	
(論文題目)			
Differential Roles of Toll-Like Receptors 2 and 4 in In Vitro Responses of Macrophages to <i>Legionella pneumophila</i>			
(論文審査結果の要旨)			
上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術的水準につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。			
1. 研究の背景と目的			
レジオネラ症の重要な起炎菌である <i>Legionella pneumophila</i> はグラム陰性桿菌であり、ヒトのマクロファージや肺胞上皮細胞内で増殖する細胞内寄生菌である。レジオネラ症に対する宿主側の防御因子として、細胞性免疫やそれらを誘導する IL-12 などの Th 1 サイトカインが重要であることが報告されているが、感染初期の病態については不明な点も多い。近年、外来微生物の特有構造を認識する Toll-like receptor (以下 TLR) の存在が明らかとなり、感染早期の免疫応答、ならびに獲得免疫の誘導に重要な役割を担っていることがわかってきた。本研究は <i>L. pneumophila</i> に対するマクロファージの免疫応答における TLR2 と TLR4 の役割について検討す			

- 備考
- 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書とすること。
  - 2 要旨は800字~1200字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。

ることを目的とした。

## 2. 研究内容

コントロールマウス (C57BL/6 X Sv129 以下 WT)、その TLR4 遺伝子欠損(以下 TLR4KO)および TLR2 遺伝子欠損 (以下 TLR2KO) マウスより骨髄由来マクロファージを作成し、*L. pneumophila* を感染させ、経時的な細胞内生菌数、サイトカイン産生を比較検討した。その結果 WT, TLR4KO 群と比較して TLR2KO 群では感染 48、72 時間後の生菌数の著明な増加と感染早期の IL-12 産生の低下が認められた。この結果より、マウスマクロファージ感染モデルにおいて、TLR2 が *L. pneumophila* の細胞内増殖抵抗性発現、及び感染早期の IL-12 産生において重要な役割を担っていることが示された。また、TLR2 刺激物質として、ProteinaseK 抵抗性、熱安定性、5 kDa 以上の画分の物質が想定されたが、同定に関してはさらなる解析を要すると考えられた。

## 3. 研究の成果と学術的水準

レジオネラ症は肺炎球菌性肺炎とならび、重症肺炎の原因として高頻度に認められ、その重症化にいたる機序など解明すべき点も多い。本研究は、*L. pneumophila* の細胞内増殖制御に TLR2 が関与していることを世界で初めて示唆した研究であり、新たな治療法の開発に役立つと考えられる。本研究はレジオネラ症の分子病態の一端を明らかにし、国際的にも評価されるものであると判断される。

以上より、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。