

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Chlamydia pneumoniae Infection of Alveolar Macrophages: A Model

(クラミジア・ニューモニエの肺胞マクロファージへの感染:モデル)

氏名 原永修作



論文要旨

研究の目的：

クラミジア・ニューモニエはヒトの上気道から下気道まで幅広く呼吸器感染症を引き起こす病原体である。他のクラミジア種と同様、偏性細胞内寄生菌であるが、気道の上皮細胞のみならず血管内皮細胞、平滑筋細胞、マクロファージなどの様々な細胞に感染することが知られている。

肺胞マクロファージは肺内での免疫担当細胞であり、病原体の気道への感染に対して重要な役割を担っている。クラミジア・ニューモニエに対する感染防御機構に関しては未だ不明な点が多く、特に肺胞マクロファージの関与についてはほとんど理解されていない。

本研究は、マウス由来の肺胞マクロファージ株化細胞 MH-S を用いて、クラミジア・ニューモニエ感染の肺胞マクロファージにおける免疫反応を検討し、その感染防御機構の一端を明らかにしようとしたものである。

方法：

初代培養のBALB/Cマウス肺胞マクロファージとその株化細胞であるMH-Sにクラミジア・ニューモニエ（AR-39株）を感染させ、以下の方法を用いてその細胞内増殖を確認した：①蛍光抗体法による封入体の染色，②HEp-2またはMH-S細胞への再感染，③ELISA法を用いたクラミジア特異的抗原（LPS）検出，④RT-PCR法を用いたクラミジア特異的 mRNA (*hsp60*, *omcB*) の検出。

次に感染肺胞マクロファージからのTNF- α の産生をELISAにて測定した。更に感染細胞においてTNF- α または抗TNF- α 抗体処理がクラミジア感染へ及ぼす影響について検討した。

結果：

クラミジア・ニューモニエは初代培養マウス肺胞マクロファージ、MH-S細胞の両方で封入体形成を認めた。しかし、細胞内での封入体形成はHEp-2などの上皮細胞への感染時に比べ小さく、多発する傾向を示した。また、クラミジア特異抗原（LPS）も時間経過に従い増加を

認められた。感染細胞でのクラミジア・ニューモニエの mRNA の検討では、基本小体 (elementary body; EB) の形成の際に発現される OmcB の mRNA (*omcB*) の発現増加は認められないものの、網様体 (reticular body; RB) の増殖期に認められる Hsp60 の mRNA (*hsp60*) 発現は増加していた。サイトカインの検出においては初代培養肺胞マクロファージおよび MH-S 細胞の両者でクラミジア・ニューモニエ感染により TNF- α が産生されていた。感染細胞を TNF- α で処理すると封入体の形成が減少し、クラミジア抗原の増加も抑制された。一方、抗 TNF- α 抗体の処理では、クラミジア・ニューモニエの封入体形成と抗原の増加、*hsp60* の発現増加が認められたが、*omcB* の発現の増加は認めなかった。




考察：

MH-S 細胞内におけるクラミジア・ニューモニエの増殖は初代培養の肺胞マクロファージでの感染と同様に HEp-2 などの上皮系の細胞に比べ抑制されており、この傾向はこれまで報

告されているヒトの単球 / マクロファージ系の細胞でも確認されている。また、これまでの報告では TNF- α がクラミジアの増殖を抑制するとされており、本研究でも肺胞マクロファージからの TNF- α 産生が認められた。感染細胞の TNF- α 処理により封入体形成や抗原の増加は抑制され、逆に抗 TNF- α 抗体処理では封入体形成や抗原増加の促進が認められることより TNF- α が肺胞マクロファージ内でのクラミジア増殖抑制に関与していることが示唆された。しかしながら抗 TNF- α 抗体の処理によっても *omcB* の発現は増加しておらず肺胞マクロファージ内での増殖において TNF- α は増殖抑制の一端を担うものの、EB 形成の抑制はその他の因子が関わっていることが示唆された。

今回の研究により MH-S 細胞が肺胞マクロファージ感染モデルとして適切であることが確認され、今後の更なるクラミジア・ニューモニエ研究においてこの細胞感染モデルは有用と考えられる。

論文審査結果の要旨

報告番号	*論文博 第 号	氏名	原永修作
論文審査委員	審査日	平成 17 年 1 月 12 日	
	主査教授	村山 貞之	
	副査教授	山根 誠久	
	副査教授	若永 正明	

(論文題目) *Chlamydia pneumoniae* Infection of Alveolar Macrophages: A Model

(論文審査結果の要旨)

上記論文に関して、研究にいたる背景と目的、研究内容、研究成果の意義と学術的水準について慎重に検討し、以下のような審査結果を得た。

1. 研究の背景と目的

クラミジア・ニューモニエは気道感染の主要起炎病原体として知られるが、近年、動脈硬化症や喘息といった慢性疾患に関与していることが報告されている。

クラミジア・ニューモニエの進入門戸は気道であり、肺胞マクロファージは気道内で免疫担当細胞として主要な役割を果たすと考えられるが、これまでクラミジア・ニューモニエ感染においては、不明な点が残されていた。

本研究はクラミジア・ニューモニエ感染における肺胞マクロファージの役割を解明するためにマウス由来の肺胞マクロファージの株化細胞である MH-S 細胞を用いて細胞感染モデルの作成を試みたものである。

2. 研究内容

クラミジア・ニューモニエを初代培養のマウス肺胞マクロファージおよび MH-S 細胞株に感染させ細胞内での増殖を直接蛍光抗体法、ELISA 法、RT-PCR 法を用いて検討した。その結果、細胞内で封入体が形成され、クラミジア特異抗原 (LPS) の増加およびクラミジア特異的 Hsp60 の mRNA (*hsp60*) の発現が増加した。しかしながら基本小体 (elementary body: EB) の形成に伴って発現される OmcB の mRNA (*omcB*) は発現の増加を認めなかった。

備考 1 用紙の規格は、A4 とし縦にして左横書きとすること。

2 *印は記入しないこと

次に、クラミジア感染マクロファージからのサイトカイン産生を調べたところ、TNF- α の産生が認められた。感染細胞を TNF- α または抗 TNF- α 抗体で処理したところ、無処理群に比べ TNF- α 処理群で封入体形成の減少、クラミジア抗原の増加の抑制が認められ、抗 TNF- α 抗体処理群では封入体の形成の増加、クラミジア抗原の増加が認められた。また抗 TNF- α 抗体処理した感染細胞内での *hsp60*, *omcB*の発現を測定したところ、無処理群に比べ抗 TNF- α 抗体処理群での *hsp60*発現は優位に増加したが *omcB*発現の増加は認めなかった。

これらの結果より、クラミジア・ニューモニエは肺胞マクロファージ内で増殖を認めるが感染力をもつ基本小体(EB)の形成は抑制されていることが明らかとなった。またクラミジア・ニューモニエの感染により肺胞マクロファージから産生される TNF- α はマクロファージ内での増殖の抑制に関与しているものの基本小体の形成抑制には他の因子が関わっている可能性が示唆された。

3. 研究成果の意義と学術的水準

本研究は肺胞マクロファージ cell line を用いてクラミジアの細胞感染モデルを作成し、肺胞マクロファージ内でクラミジア・ニューモニエの増殖、およびそれに対する免疫応答を検討したものである。肺胞マクロファージでのクラミジア感染初期における免疫応答の検討は、クラミジア・ニューモニエの慢性持続感染と動脈硬化などの慢性疾患との関係を解明する上で有意義であり、その研究成果は国際的にも認められる高水準のものであると判断される。

以上により、本論文は学位授与に十分値するものであると判断した。

備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。

2 *印は記入しないこと