

研 究 258

(別紙様式第3号)

## 論 文 要 旨

### 論 文 題 目

CpG oligodeoxynucleotides promote the host protective response against infection with *Cryptococcus neoformans* through induction of IFN-gamma production by CD4+ T cells

(CpG オリゴ DNA は CD4+ T 細胞からの IFN-gamma 産生を誘導することによってクリプトコッカス・ネオフォルマンズに対する感染防御効果を増強する)

氏 名 宮城 一也 

*Cryptococcus neoformans* (Cn) は 莢膜を有する酵母型の真菌である。健常人に発症することもあるが、多くはエイズや血液悪性疾患など免疫能の低下した患者に発症し、高頻度に中枢神経系に播種性感染を起こして致死的な経過をたどる。Cn に対する感染防御には、結核菌などと同様に細胞性免疫、特に Th1 サイトカインが重要であることが明らかになっている。

非メチル化 CpG-DNA は細菌など原核生物固有のモチーフをもつ核酸である。合成オリゴ CpG-DNA (CpG-ODN) は NK 細胞、樹状細胞、マクロファージ等の自然免疫細胞を活性化して、TNF- $\alpha$ 、IL-12、IFN- $\gamma$  といった Th1 関連サイトカインを誘導することが知られている。本論文では、致死性マウス Cn 肺感染モデルを用いて Cn に対する感染防御に及ぼす CpG-ODN の影響について検討を行った。

Cn を感染させたマウスに CpG-ODN

を投与すると、肺および脳内における真菌の排除が亢進し、有意に生存期間の延長を認めた。その際感染局所の肺内では、IL-12やIFN- $\gamma$ の産生が増強し、逆にIL-4の産生が低下していた。さらにCpG-ODNを投与してCnを感染させたマウスの傍気管リンパ節を真菌抗原にて再刺激すると、濃度依存的にIFN- $\gamma$ の産生が認められた。以上のことからCpG-ODNはTh1細胞を誘導することでCn感染に対する防御能を増強させていることが明らかとなった。次にどのような細胞がCpG-ODNの感染防御効果に関与しているかを調べるために、CD4<sup>+</sup>細胞、CD8<sup>+</sup>細胞、NK細胞、 $\gamma\delta$ T細胞をそれぞれの抗体を投与することによって除去したマウスに、CpG-ODNを投与して生存率を比較した。NK細胞、 $\gamma\delta$ T細胞を除去しても影響はみられなかったが、CD4<sup>+</sup>細胞を除去すると完全にCpG-ODNの効果が消滅した。さらに、CD8<sup>+</sup>細胞を

除去すると、CD4+細胞ほどではないが部分的に CpG-ODN の効果が減弱した。また感染 3、7、14 日後の気管支肺胞洗浄液中の IFN- $\gamma$  を測定したところ、CD8+細胞を除去して CpG-ODN を投与した群では感染 7 日後、CD4+細胞を除去した群では感染 14 後の IFN- $\gamma$  の産生が有意に減少していた。この結果と一致して、感染 7、14 日後における CD4+細胞、CD8+細胞の細胞内 IFN- $\gamma$  を検討したところ、感染 7 日後は CD8+細胞が、感染 14 日後は CD4+細胞が主な IFN- $\gamma$  の産生細胞であった。最後に、TNF- $\alpha$  も CpG-ODN 投与によってその産生が増加し、TNF- $\alpha$  を抗体で除去すると CpG-ODN の効果が著明に減弱した。

これらの結果より、CpG-ODN は Th1-Th2 サイトカインバランスを Th1 側へ傾けることで Cn に対する感染防御効果を増強していることが明らかとなった。

(別紙様式第7号)

## 論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	宮城一也
論文審査委員	審査日	平成17年 2月 23日	
	主査教授	松崎 孝之	
	副査教授	村山 貞之	 印
	副査教授	荻谷 研一	印
(論文題目)			
CpG oligodeoxynucleotides promote the host protective response against infection with <i>Cryptococcus neoformans</i> through induction of IFN-gamma production by CD4+ Tcells.			
(論文審査結果の要旨)			
1. 研究の背景と目的			
非メチル化 CpG モチーフを持ったオリゴヌクレオチド(ODN)が樹状細胞を活性化し、Th1 型の細胞性免疫応答を増強することが知られている。本研究では、 <i>Cryptococcus neoformans</i> による致死的な真菌感染に対する CpG-ODN の感染防御増強効果について検討した。			
2. 研究内容			
致死的な肺 <i>C.neoformans</i> 感染マウスに対して、20 $\mu$ g の CpG-ODN を感染前後に投与すると、致死率の低下・感染臓器内生菌数低下が認められ、同様な効果が CpG-ODN 感染後投与の治療モデルでも確認された。これに伴って、Th1 型サイトカイン IL-12・IFN- $\gamma$ の増加と Th2 型サイトカイン IL-4 の減少が認められた。肺胞洗浄液への IFN- $\gamma$ 産生ならびに CpG-ODN による感染防御増強は、CD4+T 細胞または CD8+T 細胞の除去ならびに TNF- $\alpha$ の中和により低下した。以上の結果より、CpG-ODN は TNF- $\alpha$ を介して Th1 型免疫応答を増強することにより <i>C.neoformans</i> に対する感染防御を増強すると考えられた。			
3. 研究の成果の意義と学術水準			
本研究から、CpG-ODN が Th1 型免疫反応を増強することにより <i>C.neoformans</i> に対する感染防御能を増強することが明らかとなった。この知見は、細胞性免疫を必要とする感染症の新しい治療法を開発する上で重要な知見であると考えられる。また本研究は、自然免疫の中心的分子として世界的に注目されている Toll-like receptor (TLR) 9 の認識分子である CpG-ODN を用いており、学術的な水準も非常に高いものである。			
以上の結果から、本論文は学位授与に十分値するものと判断した。			

- 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。