

(別紙様式第3号)

# 論 文 要 旨

論 文 題 目

Essential role for the p40 subunit of interleukin-12 in neutrophil-mediated early host defense against pulmonary infection with *Streptococcus pneumoniae*:

Involvement of interferon- $\gamma$

(インターロイキン-12p40 サブユニットの好中球を介した肺炎球菌肺感染初期防御における役割：インターフェロンガンマの関与)

氏 名 山本夏男 

# 論文要旨

目的	肺炎球菌肺炎は成人市中肺炎中最も高
頻度	であり、しばしば重症化が認められる。抗
菌薬耐性株	の市中蔓延や、荚膜多糖体のみを抗
原とした肺炎球菌ワクチンの	効能に限界があ
る点	などが世界的に危惧されている。一方、イ
ンターロイキン(IL)-12	は、結核菌をはじめと
する細胞内増殖菌感染	においてTh-1免疫反応
を誘導	することで生態防御に働く。細胞外増殖
菌である肺炎球菌肺炎	に対する既知の生態防
御	としては、好中球による貪食殺菌や抗体産生
などが重要	である。肺炎球菌感染防御には
IL-12	は寄与しないと結論した研究が報告さ
れた	一方で、IL-12欠損患者における再燃型の
肺炎球菌感染症例	も報告されている。このため
我々は	IL-12欠損マウスを用いて肺炎球菌肺
感染初期	の防御機構に関して、特に好中球遊走
活性機構	との関連を中心に検討した。
方法	IL-12p40サブユニットを遺伝的に欠損
したマウス(12KO)	と野生型(WT)のC57BL/6
マウス	を用いた。臨床分離株の肺炎球菌生菌を

気管内投与して肺炎モデルを作成した。in vitroでは、コラゲナーゼ及びDNase処理した肺ホモジネートから比重遠心にて白血球を分離精製し、生菌と培養後サイトカイン産生をELISAで解析した。

結果 12KOマウスは野生型マウスに比べ感染3日目以後の肺炎による死亡率が高く、生存期間はWTに比べ有意に短縮した。肺内生菌数は感染後24時間よりWT肺で減少後排除されたが、12KO肺では増加した。肺内好中球浸潤を白血球数の定量で解析すると、感染後6時間で好中球数がWTに比べ12KOで有意に低下した。このことは肺病理像でも確認された。好中球の炎症局所への集積に深く寄与するTNF- $\alpha$ 及びMIP-2が、感染後3時間の肺でWTに比し12KOで有意に低下した。また12KOでみられた感染後の好中球集積の低下が抗IFN- $\gamma$ 抗体投与による実験からも確認された。

WT肺内白血球はin vitroで肺炎球菌生菌と接触すると、培養液中6時間でTNF- $\alpha$ 及び



### 論文審査結果の要旨

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏名	山本 夏男
論文審査委員		審査日	平成 16 年 11 月 5 日	
		主査教授	高須 信行 	
		副査教授	岩永 正明 	
		副査教授	山根 誠久 	
(論文題目)				
Essential role for the p40 subunit of interleukin-12 in neutrophil-mediated early host defense against pulmonary infection with <i>Streptococcus pneumoniae</i> : Involvement of interferon- $\gamma$				
(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、学術的水準等につき慎重かつ公平に検討し、以下のような審査結果を得た。				
1. 研究の背景と目的				
肺炎球菌肺炎は成人市中肺炎中最も高頻度であり、しばしば重症化が認められる。一方 IL-12 は結核菌をはじめとする細胞内増殖菌感染において Th-1 免疫反応を誘導することで生態防御に働くことは既に研究されてきている。実際の IL-12 欠損患者における肺炎球菌再燃性感染症例報告がある一方で、細胞外増殖菌である肺炎球菌肺炎に関する IL-12 の生体内での機能は充分には解明されていなかった。こうした背景の中で本研究は IL-12 欠損マウスを用いて肺炎球菌肺感染初期の防御機構に関して、特に好中球遊走活性機構との関連を中心に検討した。またこの機構の中で IFN- $\gamma$ が積極的に寄与していることも論理的に解析した。				

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 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。

## 論文審査結果の要旨

(2)

### 2, 研究内容

IL-12p40 サブユニットを遺伝的に欠損したマウス (12KO) と野生型 (WT) の C57BL/6 マウスを用いた。臨床分離株の肺炎球菌生菌を気管内投与して肺炎モデルを作成した。in vitro では、コラゲナーゼ及び DNase 処理した肺ホモジネートから比重遠心にて白血球を分離精製し、生菌と培養後サイトカイン産生を ELISA で解析した。

12KO マウスは野生型マウスに比べ感染3日目以後の肺炎による死亡率が高く、生存期間は WT に比べ有意に短縮した。肺内生菌数は感染後24時間より WT 肺で減少後排除されたが、12KO 肺では増加した。肺内好中球浸潤を白血球数の定量で解析すると、感染後6時間で好中球数が WT に比べ12KO で有意に低下した。このことは肺病理像でも確認された。好中球の炎症局所への集積に深く寄与する TNF- $\alpha$  及び MIP-2 が、感染後3時間の肺で WT に比し12KO で有意に低下した。また12KO でみられた感染後の好中球集積の低下が抗 IFN- $\gamma$  抗体投与による実験からも確認された。

WT 肺内白血球は in vitro で肺炎球菌生菌と接触すると、培養液中6時間で TNF- $\alpha$  及び MIP-2 を産生した。12KO 由来肺内白血球では両者の産生が有意に低下した。またこの低下はリコンビナント(r)IL-12 や rIFN- $\gamma$  の補充により回復した。

### 3, 研究成果の意義と学術的水準

これまでに肺炎球菌感染防御及び肺炎初期 Th1 反応の調節における IL-12 の役割を詳細に検討した報告は充分でなく、本研究ではその主要活性部位である p40 サブユニット遺伝子欠損マウスを用いて感染防御への調節的役割を初めて検討し、その寄与を明らかにした。特に肺内での早期 IL-12 産生から IFN- $\gamma$  を介した肺炎初期の好中球肺集積誘導機構は自然免疫機構の中でも新たな知見であり、国際的な評価に足る内容と判断された。本感染防御機構の解明は今後治療への応用につながる有用なものであると考えられた。

以上の結果に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。