（別紙様式第３号）

論　文　要　旨

論 文 題 目

Accumulation of gamma-delta T cells in the lungs and their regulatory roles in Th1 response and host defense against pulmonary infection with *Cryptococcus neoformans*
（クリプトコッカス・ネオフォルマンス感染肺へのγδT 細胞の集積とその Th1 免疫応答及び感染防御における調節的役割）

氏 名 工江洲香織

論文要旨

研究の目的：クリプトコッカス症は免疫能の低下した宿主，特に血液悪性疾患や後天性免疫不全症候群（AIDS）で問題となる日和見真菌感染症である。本真菌に対する感染防御は主に細胞性免疫によって担われており、特異的1型ヘルパーT（Th1）細胞の誘導及びinterferon(IFN)・γの産生が重要である。近年、natural killer（NK）、NKT及びγδT細胞といった自然免疫細胞が、Th1型の獲得免疫応答の成立にも重要な役割を担うことが明らかにされてきた。これまでに我々は、NKT細胞がTh1反応の誘導を介して本真菌に対する感染防御に深く関わることを報告してきた。本研究では、クリプトコッカス肺感染時の防御免疫応答におけるγδT細胞の役割についてマウスモデルを用いて検討した。

方法：臨床分離株である *Cryptococcus neoformans*（Cn）YC・13をマウスの気管内に直接接種して肺感染モデルを作製した。Cn感染後に肺内白血球分画を精製し、抗TCRα

論文要旨

β、NK1.1抗体、または抗TCRγδ、CD3抗体で二重染色後フローサイトメトリにて解析した。この際、monocyte chemoattractant protein (MCP)-1遺伝子欠損(MCP-1KO)マウス及び野生型コントロール(WT)マウスを用いて比較検討した。また、特異抗体投与によってγδT細胞を除去したマウスや、遺伝的にγδT細胞を欠損したCδ遺伝子変異(CδKO)マウスを用いてCn感染免疫応答における本細胞の役割を解析した。

結果：γδT細胞はCn感染後1日目から増加し、3-6日目にピークに達し、10日目には減少した。NK細胞及びNKT細胞はMCP-1KOマウスで有意に減少していたのに対し、γδ細胞では影響は認められなかった。特異抗体投与によってγδT細胞を排除したマウスでは、コントロールIgG投与群に比し、肺内生菌数は感染後14及び21日目で有意に減少していた。同様に、CδKOマウスにおいてもコントロールマウスと比較して菌の排除が促進

し、感染7、14日目の肺及び7日目の血清中のIFN-γは有意に増加していた。一方、感染7日目のtransforming growth factor (TGF)-βは逆に低下を示し、Th2サイトカインであるインターロイキン(IL)-4及びIL-10は両群間で有意差を認めなかった。また、感染7日目に採取したリンパ節細胞をin vitroで抗原再刺激した際のIFN-γ産生はコントロール群に比してCδKOマウスで有意に高値を示した。

考察：以上の結果から、γδT細胞はCn感染によってNKT細胞とは異なる機序で肺内に集積し、NKT細胞とは対照的にTh1免疫応答を抑制することで感染防御機構を調節している可能性が示唆された。

（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	氏　名	上江洲 香織

論文審査委員		
	平成　16　年　6月　1日	
	主査教授	田中勇悦　印
	副査教授	高坂輝男　印
	副査教授	野中重雄　印

（論　文　題　目）

Accumulation of gamma-delta T cells in the lungs and their regulatory roles in Th1 response and host defense against pulmonary infection with *Cryptococcus neoformans*

（論文審査結果の要旨）

上記の論文に対し、その研究に至る背景、論文の内容とその学術的水準、研究の成果とその意義などを慎重に審査し、次のような審査結果を得た。

1.　研究の背景：

クリプトコッカス症は免疫能の低下した宿主，特に血液悪性疾患や後天性免疫不全症候群（AIDS）で問題となる日和見真菌感染症であり、免疫療法を含めた新しい治療法の開発が望まれている。本真菌に対する感染防御は主に細胞性免疫によって担われており、特異的１型ヘルパーT（Th1）細胞の誘導及び Th1 サイトカインである interferon(IFN)-γの産生が重要である。近年、natural killer（NK)、NKT 及びγδT 細胞といった自然免疫細胞が、Th1 型の獲得免疫応答の成立にも重要な役割を担うことが明らかにされてきたが、γδT 細胞の本真菌に対する感染防御における役割は十分にはわかっていない。そこで本研究では、クリプトコッカス肺感染時の防御免疫応答におけるγδT 細胞の役割についてマウスモデルを用いて検討した。

2.　論文の内容とその水準：

1) γδT細胞はクリプトコッカス感染早期から感染局所の肺において増加した。

2) MCP-1KOマウスにおいて感染後肺に集積するNK細胞及びNKT細胞は有意に減少したのに対し、γδT細胞の集積には影響は認められなかった。

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　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。

(別紙様式第７号)

論文審査結果の要旨

3) γδT細胞特異的抗体投与によってγδT細胞を枯渇させたマウスでは、コントロール抗体投与群に比べて、肺内生菌数は有意に減少した。
4) TCR-$\delta^{-/-}$マウスにおいてもコントロールマウスと比較して菌の排除が促進し、感染後の肺及び血清中のIFN-γは有意に増加した。
5)感染後７日目に採取したリンパ節細胞をin vitroで抗原再刺激した際のIFN-γ産生はコントロール群に比較してTCR-$\delta^{-/-}$マウスで有意に高値を示した。
6)一方、肺及び血清中のtransforming growth factor (TGF)-βはTCR-$\delta^{-/-}$マウスではコントロール群と比べて逆に低下を示し、 Th2サイトカインであるインターロイキン (IL)-4及びIL-10は両群間で有意差を認めなかった。

以上の結果から、γδT細胞はクリプトコッカス感染によってNKT細胞とは異なる機序で肺内に集積し、NKT細胞とは対照的にIFN-γ産生反応、つまりTh1免疫応答を抑制することで過度の感染防御機構を和らげる役割を担うことを強く示唆するものと考えられた。

以上の内容は研究方法ならびに成果ともに高い学術的水準を有するものと判断した。

3. 研究成果の意義：

これまでにクリプトコッカス感染防御及び Th1 反応の調節におけるγδT 細胞の役割を詳細に検討した報告はなく、本研究では特異的抗体によるγδT 細胞の枯渇マウス及びその遺伝子欠損マウスを用いてこれらの細胞の感染防御への調節的役割を初めて明らかにした。本症の感染防御応答の調節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る。

以上の結果から、本研究は学位授与に十分値する内容であると判断した。