


論 文 要 旨

論 文 題 目

***Penicillium marneffe* causes osteopontin-mediated production of interleukin-12 by peripheral blood mononuclear cells**

(*Penicillium marneffe* はヒト末梢血単核球からオステオポンチンを介したインターロイキン12産生を誘導する)

氏名 高口善信 

研究の目的 : *Penicillium marneffei* (Pm)

感染症はヒト後天性免疫不全症候群 (AIDS)

に合併する日和見真菌症であり、抗真菌薬に

抵抗性で再発し易いため治療に難渋する。そ

のため、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いる。最

近、細胞性免疫の成立に必須である

interleukin (IL) -12 の産生を誘導するサ

イトカインとして osteopontin (OPN) がマ

ウスの研究から注目されている。そこで、Pm

感染によるヒト末梢血単核球 (PBMC) からの

IL-12 産生における OPN の役割について解析

を行った。

方法 : 健康人の静脈血から、比重遠心法にて

PBMC を分離した。PBMC に Pm を感染させ、

reverse transcription polymerase chain

reaction (RT-PCR) 法により mRNA の発現を、

enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

法により培養上清中のサイトカイン濃度を解

析した。CD3、CD14、CD56陽性細胞のPBMCからの除去および単離は磁気ビーズ法を用いて行った。各種サイトカインを中和するためにそれぞれに対するモノクローナル抗体を用いた。マンノース受容体阻害剤として α -mannanとovalbumin、 β -グルカン受容体阻害剤として laminarin と laminariheptaoseを用いた。

結果：① PBMCにPmを感染させるとmRNAとタンパクの両方ともOPNがIL-12に比べ先行して発現した。Pm感染によるPBMCからのIL-12産生は抗OPN抗体投与により抑制された。OPNは非感染PBMCからIL-12産生を誘導した。② Pm感染によるOPN産生はCD14陽性細胞除去PBMCでほとんど消失し、CD14陽性細胞はPm感染によりOPNを産生した。③ 抗GM-CSF抗体投与によりPm感染によるPBMCからのOPN産生が抑制された。GM-CSF投与により、Pm非感染、感染PBMCの両方から大量のOPNが産生された。④ マンノース受容体阻害剤はPm感染によるPBMCからのOPN産生をほ

ほ完全に抑制したが、 β -グルカン受容体阻害剤は抑制しなかった。

考察：OPNはマンノース受容体を介したPm感染による刺激によりCD14陽性細胞から産生され、autocrineあるいはparacrineの機序でCD14陽性細胞からのIL-12産生を増強している可能性が示唆された。また、PBMCからのOPN産生にはGM-CSFが関与していることが明らかになった。本研究により、初めてヒトにおいてもOPNがIL-12産生誘導に関与していることが明らかになった。今後は、OPNの感染防御における役割を明らかにするために遺伝子欠損マウス等を用い研究を重ねていく必要があると考えられた。

論文審査結果の要旨

(1)

報告番号	* 課程博 第	号	氏名	高口善信
論文審査委員	平成 13 年 12 月 26 日			
	主査教授	岩永正明		印
	副査教授	藤田黄雄		印
	副査教授	小杉忠誠		印

(論文題目)

Penicillium marneffei causes osteopontin-mediated production of interleukin-12 by peripheral blood mononuclear cells

(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正に検討し、以下のような審査結果を得た。

1. **研究の背景:** *Penicillium marneffei* (Pm)は東南アジアにおいて、後天性免疫不全症候群 (AIDS) に合併する日和見感染症の重要な原因真菌である。本感染症に対しては抗真菌薬による治療がなされるが、治療後も再発しやすいために終生にわたる抗真菌薬による維持療法が必要とされる。そのため、新たな治療法の開発が望まれており、そのひとつとして Pm の感染防御に必須な細胞性免疫を増強する免疫療法の有用性が期待される。Osteopontin (OPN)は細胞遊走や接着などに関与するリン酸化糖タンパクであり、結核などの肉芽腫性病変部位に発現している。最近、OPN が interleukin-12 (IL-12) の産生を誘導し、リステリアなどに対する細胞性免疫の成立に必須であることが遺伝子欠損マウスを用い示された。本研究では、これまで明らかにされていないヒトでの IL-12 産生における OPN の役割を明らかにし、更に OPN 産生の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした研究である。

- 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. **論文の内容とその水準:** ヒト末梢血単核球 (PBMC) を用い、Pm の感染による IL-12 産生における OPN の役割を調べた。また、Pm 感染による PBMC からの OPN 産生の分子機構について検討を行った。結果は以下の通りであった。①PBMC に Pm を感染させると mRNA とタンパクの両方とも OPN が IL-12 に比べ先行して発現した。②Pm 感染による PBMC からの IL-12 産生は抗 OPN 抗体投与により抑制された。③精製 OPN は非感染 PBMC から IL-12 産生を誘導した。④CD14 陽性細胞が Pm 感染による OPN の産生細胞であった。⑤GM-CSF が Pm 感染 PBMC からの OPN 産生増強に関与していた。⑥Pm 感染による PBMC からの OPN 産生をマンノース受容体阻害剤が完全に抑制した。しかし、 β -グルカン受容体阻害剤は抑制しなかった。以上の結果から OPN は、マンノース受容体を介した Pm 感染による刺激により CD14 陽性細胞から産生され、autocrine あるいは paracrine の機序で CD14 陽性細胞からの IL-12 産生を増強していることが示唆された。また、PBMC からの OPN 産生には GM-CSF が関与していることが明らかになった。

実験は極めて緻密に構成されており、その論理展開、結果の解釈と考察はいずれも十分な水準を有していると判断した。

3. **研究成果の意義と学術的水準:** 本研究は、ヒトにおいても OPN が IL-12 産生を誘導していることを初めて明らかにしており、感染症学及び免疫学の両面にわたり学術的に大きな貢献をなすものであり、国際的にも高く評価される内容であると判断した。

以上の結果から、本研究は学位授与に十分に値する内容であると判断した。