

氏名(本籍)	原 口 典 博 (茨城県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 5486 号		
学位授与年月日	平成 22 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Host defense mechanism against disseminated Candidiasis (播種性カンジダ症に対する宿主防御機構)		
主 査	筑波大学教授	薬学博士	永 田 恭 介
副 査	筑波大学教授	医学博士	大 塚 藤 男
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	甲 斐 平 康
副 査	筑波大学助教	博士 (医学)	柳 川 徹

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

カンジダ属はヒトの体表や消化管、女性の膣粘膜に常在する真菌である。表在性真菌症の主要起因菌である一方、免疫力低下あるいは免疫不全状態の患者では播種性カンジダ症といった死亡率の高い、いわゆる深在性真菌症を引き起こすことが知られている。播種性カンジダ症は主に、血液疾患に伴う好中球減少症、遺伝的に食細胞機能を有する患者、および後天性免疫不全症候群などに見られることから、この感染症の防御には好中球、マクロファージ、T細胞といった細胞性免疫が重要であると考えられている。本論文では、マウス播種性カンジダ症モデルを作成し、特にリンパ球系の細胞に焦点をあてて解析を行い、カンジダ感染、特に播種性カンジダ症の発症感受性を規定する宿主因子を明らかにすることを目的としている。

(材料と方法)

本論文では、第一に転写因子 GATA-3 の役割、第二に NKT 細胞の役割について検討している。前者の実験には野生型 C57BL/6 マウス、および同系の GATA-3 過剰発現マウスを使用し、後者では、野生型 C57BL/6 マウス、および同系の NKT 細胞欠損 ($J\alpha 281^{-/-}$) マウスを使用している。それぞれのマウスに *Candida albicans* を腹腔内投与し、播種性カンジダ感染症モデルを作成している。

各々のモデルにおいて、生存率、感染各臓器でのカンジダ生菌数および病理所見、腹腔洗浄液および回収細胞の評価、血清および脾細胞における各種サイトカイン産生量について、ELISA 法、Flow cytometry 法、および Real-Time PCR 法を用いて評価している。

(結果)

本論文では、GATA-3 過剰発現マウスでは、カンジダ感染後の生存率が野生型マウスに比べ有意に低値であることを明らかにしている。感染後のカンジダ生菌数は GATA-3 過剰発現マウスの肺、腎臓で有意に増加しており、特に腎臓では腎盂の菌塊形成とともに著明な水腎症を呈していることを見いだしている。カンジダ感染後の脾細胞におけるサイトカイン発現を調べると、GATA-3 過剰発現マウスでは野生型マウスに比べ Th1 サイトカイン (IFN- γ) の有意な低下と、Th2 サイトカイン (インターロイキン (IL) -4, IL-5, IL-13) の有意な増加を認めている。GATA-3 過剰発現マウスでは、特に CD4 陽性細胞における IFN- γ 産生が低下し

ていることを見いだしている。GATA-3 過剰発現マウスに IFN- γ を補充すると、非補充マウスに比べ、カンジダ感染後の死亡率は有意に低下し、腎臓における生菌数も減少していることを明らかにしている。

NKT 細胞欠損マウスでは野生型マウスに比べ、カンジダ感染後の死亡率、および血液、主要臓器のカンジダ生菌数が有意に低値であることを示している。一方、野生型マウスに NKT 細胞の特異的リガンドである α -galactylceramide を投与すると、カンジダ感染後の死亡率、および各臓器カンジダ生菌数が顕著に増加していることを見いだしている。また、感染後の血中 IL-10 濃度が野生型マウスで有意に増加していることを示している。カンジダ投与後の NKT 細胞欠損マウス腹腔洗浄液では、マクロファージおよび好中球数が野生型マウスに比べ有意に増加しており、同マクロファージにおける Caspase-1 活性、IL-1 β および IL-18 の発現も有意に亢進していることを見いだしている。NKT 細胞欠損マウスに NKT 細胞を移植すると、非移植対照群に比べカンジダ感染後の死亡率および各臓器のカンジダ生菌数が有意に増加していることを明らかにしている。

(考察)

ヘルパー T 細胞は病原微生物の侵入に反応し、type1 (Th1) および type2 (Th2) の effector T 細胞に分化し、獲得免疫系の中核をなし、Th1、および Th2 細胞への分化はそれぞれ転写因子 T-bet および GATA-3 により誘導されることが知られている。過去の報告から、GATA-3 は Th2 細胞への誘導に加え、Th1 細胞の分化抑制、および抗カンジダ作用を有するインターフェロン (IFN- γ) の産生抑制作用を有することがしめされていることより、GATA-3 活性化はカンジダ感染の感受性を高める宿主因子である可能性があると推定されており、本論文において、GATA-3 過剰発現は Th2 偏移による IFN- γ 産生低下をもたらし、カンジダの全身播種を助長することが示されている。今後は、他の T 細胞転写因子 (T-bet、Foxp3、ROR γ T) と播種性カンジダ症の関わりについても検討する必要があると述べている。

一方、Natural killer T (NKT) 細胞は T 細胞と NK 細胞の両者の性質を併せ持つリンパ球であり、これまでに種々の感染症において NKT 細胞の役割が指摘されている。本論文では、これまでに報告のない NKT 細胞の播種性カンジダ症の発症感受性に与える意義について検討して、NKT 細胞欠損マウスはカンジダ全身播種に抵抗性であることが明らかにしている。その機序の詳細は不明であるが、NKT 細胞の活性化は感染初期に IL-10 などの抗炎症性サイトカインの増加をもたらす、マクロファージや好中球といったカンジダ感染防御に働く細胞を不活化させることが一因であると考察している。今後は、さらに NKT 細胞とマクロファージや好中球との相互作用とそれがもたらす効果について、分子レベルで明らかにする必要があると述べている。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、播種性カンジダ感染症モデルを作成し、生存率、カンジダ生菌数、各種サイトカイン産生量などについて定量的に評価を行い、GATA-3、および NKT 細胞が播種性カンジダ症の発症・進展感受性を規定する重要な宿主因子であることを明らかにしているとともに、今後の播種性カンジダ症の制御を目指した研究に基盤を与える点で、価値ある研究と考えられる。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。