

審査の結果の要旨

氏名 新澤 直明

感染という生命現象は、宿主と寄生体という異なる生物間で成立する生物学的相互作用である。宿主の感染防御応答は大きく 2 種類の異なる性質に分類される。一つは、病原体を宿主個体内から積極的に排除するための「レジスタンス (resistance)」, もう一方は、宿主に与えられる病原体によるダメージを制御するための「トレランス (tolerance)」である。従来の免疫学・感染症学では、レジスタンス機構の解明に重点が置かれていたが、近年、種々の動物における感染応答において、トレランス機構が存在することが示唆されている。病原体感染時の宿主における健康状態は、レジスタンスとトレランスの協調作用により決定されると考えられ、トレランスが不顕性感染など臨床的に症状を示さない状況に強く貢献していると予想されていた。しかしながら、トレランスを制御する生命現象及びその分子メカニズムはほとんど明らかになっていなかった。

自然免疫を司る Toll 様受容体がショウジョウバエから発見されたことは記憶に新しく、節足動物は我々哺乳類とよく似た分子機構により、感染防御に対する応答をしていることが明らかになった。ショウジョウバエは獲得性免疫のようなメモリー式の免疫システムを持ち合わせておらず、AMP 発現制御を行う自然免疫経路や血球系細胞による貪食機能などを擁した自然免疫の一次的防御的役割によって、感染時に常に「未知の病原体」と対峙していると考えてよい。これはいわば、新興感染症に感染した場合とよく似ている。つまり、ショウジョウバエに対しヒト病原体を人為的に感染させるという行為は、獲得性免疫が機能しにくい新興感染症や再興感染症を模していると考えることが可能である。近年、ショウジョウバエをヒト感染症モデルとして用いている研究が数多く成されており、哺乳類を用いた研究では困難であった宿主側因子の網羅的解析等が可能となった。本研究では、特に感染防御応答におけるトレランスを制御する生命現象および宿主側因子の解明を目的として研究に着手した。

本研究では、感染におけるトレランスに対する新たな知見を得る目的で、キロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) を感染モデルとして遺伝学的スクリーニングを試みた。ショウジョウバエ病原性細菌感染モデルでは、感染が成立した宿主個体は致死性を示す。そこで、感染個体の生存率と感染個体内に存

在する病原体数の相互関係に注目した。生存率は、病原体感染時における宿主の健康状態を表していると考えられ、病原体数は、宿主のレジスタンスを反映していると考えられることができる。トレランスを制御する宿主因子を同定するために、GS システムという機能獲得型の系統ライブラリーを用いて、食中毒の原因菌の一つであるサルモネラ (*Salmonella typhimurium*) 感染に対する宿主因子の機能を評価した。その結果、Dmp38b が宿主に対する致死性を抑制する機能を持つことを明らかにした。また、Dmp38b は菌体増殖を抑制しないことを見出した。つまり、Dmp38b はレジスタンスではなく、トレランスを制御することが強く示唆された。

さらに、抗リン酸化 p38 抗体及び抗 p38 抗体を用いたウェスタンブロッティングの結果、ショウジョウバエ個体及び貪食細胞を起源とする培養細胞 (S2 細胞) において、サルモネラ感染が p38 のリン酸化を誘導することが明らかになった。

本研究において、貪食細胞内で特異的に GFP を発現する pMIG1 レポータープラスミドを持つサルモネラを用いた結果、ショウジョウバエに対する感染においても同様に貪食細胞に感染することを明らかにした。また、感染宿主内におけるサルモネラの大部分は細胞内に存在していることがわかった。そこで、微細ビーズを用いた貪食阻害後のサルモネラ感染実験を行った結果、感染抵抗性が減弱した。つまり、サルモネラ感染による致死性における貪食細胞の重要性が見出された。次に、Dmp38b をショウジョウバエ貪食細胞特異的に強制発現し、サルモネラ感染を行った結果、貪食細胞特異的強制発現により感染抵抗性は増強することを示した。さらに、貪食細胞特異的 p38 強制発現システムでは、体液中に存在している菌体数が少ないことが明らかとなった。以上の結果から、p38 が誘導するトレランスにおいて貪食細胞が重要な役割を担うことが示された。

さらに、本研究において、Dmp38b 強制発現個体、Dmp38b 機能欠損型変異体および野生型個体間で、サルモネラに感染している貪食細胞の大きさと個数を定量した結果、Dmp38b 依存的に貪食細胞が肥大化することが明らかになった。次に、p38 が活性化している貪食細胞は、その大きさを 3-4 倍にも肥大させ、細胞内に多くの増殖した菌体を含むことが明らかになった。この膨張した貪食細胞が大量の菌体を細胞内に封じ込める現象を「貪食性囲い込み (phagocytic encapsulation)」と名付けた。貪食性囲い込みによる宿主の生存への影響を解析する目的で、非致死性変異体株である SPI-2 変異体サルモネラを用いた結果、より顕著な貪食細胞の肥大化が誘導された。微細ビーズを用いた貪食阻害後のサルモネラ感染実験では、肥大化した貪食細胞は観察されず、p38 誘導性トレランス

は解消された。以上の結果は、貪食性囲い込み作用は体液中への菌体の脱出を阻害することにより、宿主個体へのトレランスを付与していることを強く示唆するものである。

本研究で、ショウジョウバエ p38 マップキナーゼである Dmp38b を細菌感染に対するトレランス制御因子として同定することに成功した。さらに、Dmp38b によるトレランスは貪食細胞による菌体の「囲い込み」によることが示された。これまでトレランスを制御する具体的な宿主応答は不明であったことから、貪食性囲い込みというトレランスを制御する新たな生命現象を明らかにした本研究は新規性が高いと考えられる。一方で、貪食性囲い込みを制御する Dmp38b による細胞生物学的分子メカニズムは不明であり、今後明らかにすべき重要な課題であろう。

今後、宿主感染応答におけるトレランス機構の意義について議論が行われ、分子レベルでの制御機構のさらなる知見が得られることにより、例えば、不顕性感染を伴う感染症に対する新規の治療法・治療薬が開発されることが期待される。感染症の治療法に対する新たなアプローチ方法が望まれる現代において、宿主動物におけるトレランス機構を制御する生命現象の発見を果たした本研究は、医療薬学の分野へ多大なる貢献をしたと見なされる。以上により、本研究は博士（薬学）の学位に値すると判定した。