

## カンジダ感染モデルでのTLR9およびdectin-2シグナルの相互作用の検討

<sup>1</sup> 埼玉医科大学国際医療センター、<sup>2</sup> 東北大学大学院医学系研究科感染分子病態解析学分野

○宮里 明子<sup>1</sup>、川上 和義<sup>2</sup>、光武 耕太郎<sup>1</sup>

【目的】カンジダ感染症の発症メカニズムの一端を解明するため、感染の初期段階である樹状細胞による微生物の認識機構について、DNAを認識するTLR9と多糖成分を認識するdectin-2に着目して検討した。

【方法】TLR9遺伝子欠損マウス(TLR9<sup>-/-</sup>)、dectin-2<sup>-/-</sup>および両遺伝子欠損マウス(TLR9/dectin-2<sup>-/-</sup>)を用いてin vitroおよびin vivoでの解析を行った。1) in vitroの解析：野生型および各遺伝子欠損マウスより骨髄由来樹状細胞(BM-DC)を抽出し、各TLRリガンドおよびカンジダ菌体で刺激し、上清中のサイトカイン濃度を測定した。2) in vivoの解析：マウスにカンジダ1x10<sup>5</sup>を尾静脈より感染させて、10日後の組織の菌数を調べると共に組織像の観察を行った。また、マウス血清中のカンジダ抗体価の測定を行った。【結果】

1) in vitroの解析：BM-DCを各種リガンドおよびカンジダ菌体と共培養したところ、TLR9/dectin-2<sup>-/-</sup>マウスのBM-DCではIL-12p40などのサイトカイン産生低下がみられ、その程度は単一の遺伝子欠損を加えたものより大きかった。2) in vivoの解析：感染後の腎臓でのカンジダ菌数は、遺伝子欠損の3群で野生型と比較して著明に増加していたが、その程度は各群間で差がなかった。しかし、炎症細胞浸潤、微小膿瘍からなる腎盂炎の程度は単独遺伝子と比較して、TLR9/dectin-2<sup>-/-</sup>マウスでより強かった。血清中のカンジダ抗体価の測定で、TLR9<sup>-/-</sup>およびdectin-2<sup>-/-</sup>マウスは野生型と差がみられなかったが、両遺伝子欠損マウスでは低下がみられた。【考察】カンジダ感染においてTLR9とdectin-2のシグナルが相互に関与し合い、宿主免疫応答を調節していることが示唆された。【会員外共同研究者】岩倉洋一郎(東京大学医科学研究所システム疾患モデル研究センター)

## ヒト由来マスト細胞株の菌体成分に対する応答

<sup>1</sup> 帝京大学 医学部 微生物学講座

○上田 たかね<sup>1</sup>、祖母井 庸之<sup>1</sup>、丹生 茂<sup>1</sup>、越尾 修<sup>1</sup>、菊地 弘敏<sup>1</sup>、中野 竜一<sup>1</sup>、斧 康雄<sup>1</sup>

【目的】マスト細胞はIgEを介し即時型アレルギー反応を起こすエフェクター細胞であり、アレルギー疾患の病態形成に関与している。細菌・真菌や寄生虫感染においてマスト細胞は炎症性メディエーターを放出し好中球やマクロファージを動員する等、自然免疫と獲得免疫の両方で感染防御に重要な細胞である。我々はマウス骨髄由来マスト細胞(BMMC)が、リポ多糖体(LPS)やトキソプラズマ原虫のlive tachyzoitesの刺激によりTNF- $\alpha$ を産生することを報告してきた(第85回感染症学会)。細菌や原虫成分刺激に対するヒト由来マスト細胞の応答を調べるため、今回LAD2細胞(Kirshenbaum *et al.*, 2003, Leukemia Research)を用い、LPSやトキソプラズマに対する応答について、TNF- $\alpha$ と炎症に関与する遺伝子発現を指標に解析する。【方法】LAD2細胞を、Recombinant Human Stem Cell Factor (rhSCF)含有Stem Pro-34培地にて培養、継代・維持した。2x10<sup>6</sup> cells/mlにLAD2を調整し、大腸菌由来LPSやトキソプラズマのlive tachyzoitesで刺激後、1時間、2.5時間、4時間、8時間、24時間の培養上清を回収した。また各反応時間の細胞は遠心して回収後、total RNAを抽出し遺伝子発現解析を行った。【成績】マウスの実験では、10ng/mlのLPS刺激1時間後から活性化BMMC培養上清中に20pg/mlのTNF- $\alpha$ が検出され、刺激後8時間までこの高濃度のTNF- $\alpha$ が検出された。原虫刺激でも培養4時間後にはTNF- $\alpha$ 産生が確認された。TNF- $\alpha$ 遺伝子発現はLPS刺激1時間後の細胞で、原虫刺激では4時間後に高発現が見られた。現在ヒト由来のLAD2の応答について解析中である。