

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590479

研究課題名（和文）結核菌の感染戦略における宿主防御免疫制御の分子機構

研究課題名（英文）Regulatory mechanism of the generation of immune response to *Mycobacterium tuberculosis* infection

研究代表者

河村 伊久雄 (KAWAMURA IKUO)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：20214695

研究成果の概要（和文）：本研究での解析から、結核菌の病原性に重要な RD1 が感染マクロファージのカルパインおよびカスパーゼ 1 の活性化を誘導し、IL-1 $\alpha$ 、IL- $\beta$ や IL-18 の成熟化に関与することが明らかとなった。また、結核菌因子 PPE37 はマクロファージの MAPK や p38 の活性化を抑え、炎症性サイトカインである IL-6 および TNF- $\alpha$  産生を抑制することが示された。さらに BCG 感染では、PD-1 を介した抑制性シグナルを阻害することで防御免疫が亢進するが、結核菌感染の場合は PD-1 シグナル経路を阻害すると CD4<sup>+</sup> T 細胞が過剰反応して重度の組織傷害が生じ、菌の排除が困難になることが示された。

研究成果の概要（英文）：This study was carried out to find out the molecular mechanism as to how *Mycobacterium tuberculosis* and *M. bovis* BCG regulate the immune response in infected host. The research revealed that the RD1 locus in the *M. tuberculosis* genome, which is highly implicated in bacterial virulence, is involved in the production of IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-18 by promoting the activation of calpain and caspase-1, respectively. In addition, it is probable that mycobacterial PPE37 protein contributes to the inhibition of IL-6 and TNF- $\alpha$  production from infected macrophages. Moreover, it has been shown that the PD-1 signal pathway is required for the suppression of hyper-immune response to *M. tuberculosis* infection. On the other hand, it is certain that the efficacy of BCG vaccination is enhanced by the impediment of signal pathway.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・細菌学（含真菌学）

キーワード：結核菌、PD-1、PPE37、マクロファージ、T 細胞、IL-1 $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 

## 1. 研究開始当初の背景

結核菌は、健常者に感染しても多くの場合結核を発症せずそのまま長期間にわたり体内で生存し続ける。その後高齢化や HIV 感染

などにより宿主免疫能が低下すると体内で増殖し、2次感染を引き起こすことで感染のサイクルを維持している。その結果、現在世界人口の約 3 割が結核に感染していると推定

されており、結核は現在でも人類の脅威となる感染症の一つとみなされている。さらに近年、治療困難な多剤耐性結核菌の出現が報告されていることから、結核のさらなる感染拡大が懸念されている。結核を撲滅するためには、この菌が有する極めて強力な宿主防御免疫に抵抗するメカニズムを明らかにする必要がある。我々はこれまでの解析から、結核菌あるいはその細菌因子とマクロファージとの interaction が、感染の成立あるいは防御免疫の誘導に極めて重要な意味を持つことを示してきた。この機序を解明することにより、新たな治療や結核の予防に関して有益な情報を提供できるものと考えている。

## 2. 研究の目的

本研究では、宿主感染防御に対する結核菌の抵抗性メカニズムを解明することを目的として、菌がマクロファージ機能にどのような影響を及ぼすのか、さらにそれが防御免疫にどのような効果をもたらすのかを、分子レベルで明らかにすることを目的とする。マクロファージは結核菌を貪食すると種々の炎症性サイトカインやケモカインを放出して自然免疫の発現および獲得抵抗性の誘導に関与することがわかっている。そこで、結核菌の病原性に重要な RD1 遺伝子領域、および最近の報告でその病原性への関与が示唆されている PPE37 がマクロファージのサイトカイン産生に及ぼす影響を解析する。さらに最近、ウイルスによる慢性感染の増悪に免疫抑制性補助分子である PD-1 の関与が示されている。また、BCG 感染後には PD-1 のリガンドである PD-L1 分子のマクロファージにおける発現が増加することが示され、PD-1 を介した抑制経路が結核菌や BCG 感染後に誘導される宿主防御免疫に影響をおよぼすことが考えられる。そこで本研究では、結核菌や BCG に対する感染防御の制御に PD-1 シグナル経路が関与するか否かを明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 結核菌感染マクロファージからのサイトカイン産生応答における RD1 遺伝子領域の役割を明らかにするため、結核菌 H37Rv 株およびその RD1 領域欠損株をマウスマクロファージに感染させ、その後の各種サイトカイン産生応答を ELISA で解析した。その結果、H37Rv に比較して RD1 欠損株はマクロファージからの IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  および IL-18 産生誘導能が著しく低いことが示され、その機序について詳細な解析を行った。

(2) 結核菌因子 PPE37 のマクロファージ機能への影響を調べる目的で、PPE37 を発現する *M. smegmatis* を作製した。親株と組換え体を *in vitro* でマウスマクロファージに感

染させ、その後の細胞内菌数、殺菌因子に対する抵抗性およびサイトカイン産生応答を解析した。

(3) 結核菌および BCG 感染後の感染防御の誘導における PD-1 経路の役割を明らかにするため、正常および PD-1 欠損マウスに結核菌あるいは BCG を感染させ、その後経時的に臓器内菌数、サイトカイン産生、抗原特異的 T 細胞の誘導、または組織傷害の程度を調べた。また、BCG 感染後経時的に脾 T 細胞を回収後、正常マウスに養子移入し、結核菌 H37Rv で攻撃感染後の臓器内菌数を測定することにより感染抵抗性 T 細胞の誘導を調べた。

## 4. 研究成果

(1) 結核菌 H37Rv および RD1 欠損株をマウスマクロファージに感染させ、その後のサイトカイン産生応答を調べた。その結果、TNF- $\alpha$  および IL-6 産生では明らかな違いは認められなかったが、IL-18 および IL-1 $\beta$  産生では野生株感染に比べて RD1 欠損株感染で誘導されるサイトカイン産生量が有意に低いことが明らかとなった。一方、これらサイトカイン mRNA の発現レベルに違いは認められなかったことから、RD1 はこれらサイトカインの転写後のステップに作用することが示された。これまでの報告から、IL-18 および IL-1 $\beta$  は前駆体として産生され、その後カスパーゼ 1 によるプロセッシングを受けて成熟型として分泌されることがわかっている。そこで、野生株および RD1 欠損株感染後のカスパーゼ 1 の活性化を調べた。その結果、野生株感染後に見られたカスパーゼ 1 の活性化は、RD1 欠損株感染では認められなかった。また、野生株感染後のカスパーゼ 1 活性化には細胞内からのカリウムイオンの流出が必須であることが明らかとなった。以上の結果より、RD1 は結核菌感染マクロファージからのカリウムイオンの流出に関与し、その結果としてカスパーゼ 1 が活性化され、IL-18 および IL-1 $\beta$  産生が誘導されることが示された。

RD1 領域は結核菌感染マクロファージからの IL-1 $\alpha$  産生にも重要であることが示された。H37Rv と RD1 欠損株感染後の IL-1 $\alpha$  mRNA の発現量および proIL-1 $\alpha$  産生量に違いはなかったが、培養上清中に分泌される成熟型 IL-1 $\alpha$  量は H37Rv 感染に比較して RD1 欠損株感染で明らかに低いことが示された。また、H37Rv 感染では calpain の活性化が誘導され、IL-1 $\alpha$  産生は calpain inhibitor により抑制されること。さらに、H37Rv 感染で誘導される IL-1 $\alpha$  の分泌は EGTA や BAPTA で抑制され、calcium ionophore 存在下でマクロファージに RD1 欠損株を感染させると、IL-1 $\alpha$  の分泌が亢進することが示された。以上の結果から、RD1 は calcium influx を誘導し、calpain の活性化を引き起こすことで IL-1 $\alpha$  の分泌に関与す

ることが示された。

(2) 抗酸菌に特有な PPE ファミリー蛋白質のうち、PPE37 は感染マクロファージ内や宿主体内でその発現が著しく亢進することが示されている。そこで、PPE37 の機能を調べるため、PPE37 を発現する *M. smegmatis* を作製した。マクロファージに感染後、経時的に細胞内菌数を比較したところ、PPE37 の発現は *M. smegmatis* の細胞内生存には影響しないことが示された。また、感染マクロファージの細胞死の誘導にも影響を及ぼさなかった。一方、感染後の炎症性サイトカイン産生を調べたところ、野生株感染では強い IL-6 および TNF- $\alpha$  産生が認められたが、PPE37 発現株の感染ではそれらサイトカイン産生が有意に抑制されることが示された。これは PPE37 により NF- $\kappa$ B, ERK および p38 の活性化が阻害されたためであると考えられた。

(3) PD-1 欠損マウスに BCG を感染させると、正常マウスに比較して菌の排除および感染抵抗性 T 細胞の誘導が亢進することが示された。この結果から、PD-1 経路を阻害することで BCG ワクチン効果を増強できることが明らかになった。一方、PD-1 欠損マウスは正常マウスに比べて結核菌感染に対して感受性を示し、肺における著しい菌数の増加と強い炎症反応が観察された。この結果は、PD-1 を介した抑制性シグナルが働かないと、結核菌感染後の肺では過剰な炎症反応が惹起され、感染した菌の増殖が制御できなくなることを示すものである。この原因について解析したところ、PD-1 欠損マウスの肺では IFN- $\gamma$  産生能を有する抗原特異的 CD4<sup>+</sup> T 細胞数の明らかな増加が認められた。また、RAG2 欠損マウスに正常および PD-1 欠損マウス由来の CD4<sup>+</sup> T 細胞を移入し、結核菌を感染させた後、生存率を比較したところ、PD-1 欠損マウスの CD4<sup>+</sup> T 細胞を移入したマウスは感染後早期に死亡することが示された。また、IFN- $\gamma$  に対する抗体を投与することにより、結核菌感染後の PD-1 欠損マウスの肺で見られた菌数の著明な増加が抑制され、致死率や炎症反応の著しい改善が認められた。以上の結果から、PD-1 経路は結核菌感染初期に誘導される CD4<sup>+</sup> T 細胞の機能を適度に制御し、過剰な炎症反応を引き起こさないようにするために重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

1. T. Yamamoto, H. Hara, K. Tsuchiya, S. Sakai, R. Fang, M. Matsuura, T. Nomura, F. Sato, M. Mitsuyama, and I. Kawamura.

*Listeria monocytogenes* strain-specific impairment of the TetR regulator underlies the drastic increase in cyclic di-AMP secretion and beta interferon-inducing ability. *Infect. Immun.* 査読有、In press, 2012.

<http://iai.asm.org/>

2. R. Fang, K. Tsuchiya, I. Kawamura, Y. Shen, H. Hara, S. Sakai, T. Yamamoto, T. Fernandes-Alnemri, R. Yang, E. Hernandez-Cuellar, S. R. Dewamitta, Y. Xu, H. Qu, E. S. Alnemri, and M. Mitsuyama. Critical roles of ASC inflammasomes in caspase-1 activation and host innate resistance to *Streptococcus pneumoniae* infection. *J. Immunol.* 査読有、187: 4890-4899, 2011.  
doi:10.4049/jimmunol.1100381
3. S. Daim, T. Nomura, I. Kawamura, H. Hara, K. Tsuchiya, T. Kurenuma, Y. Shen, T. Yamamoto, H. Qu, S. Sakai, Y. Xu, and M. Mitsuyama. Expression of the *Mycobacterium tuberculosis* PPE37 protein in *Mycobacterium smegmatis* induces low tumour necrosis factor alpha and interleukin 6 production in murine macrophages. *J. Med. Microbiol.* 査読有、60: 582-591, 2011.  
doi:10.1099/jmm.0.026047-0
4. S. Sakai, I. Kawamura, T. Okazaki, K. Tsuchiya, R. Uchiyama, and M. Mitsuyama. PD-1-PD-L1 pathway impairs Th1 immune response in the late stage of infection with *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin. *Int. Immunol.* 査読有、22: 915-925, 2010.  
doi:10.1093/intimm/dxq446
5. K. Tsuchiya, H. Hara, I. Kawamura, T. Nomura, T. Yamamoto, S. Daim, S. R. Dewamitta, Y. Shen, R. Fang, and M. Mitsuyama. Involvement of absent in Melanoma 2 in inflammasome activation in macrophages infected with *Listeria monocytogenes*. *J. Immunol.* 査読有、185: 1186-1195, 2010.  
doi:10.4049/jimmunol.1001058
6. Y. Xhen, I. Kawamura, T. Nomura, K. Tsuchiya, H. Hara, S. R. Dewamitta, S. Sakai, H. Qu, S. Daim, T. Yamamoto, and M. Mitsuyama. Toll-like receptor 2- and MyD88-dependent phosphatidylinositol 3-kinase and Rac1 activation facilitates the phagocytosis of *Listeria monocytogenes* by murine macrophages. *Infect. Immun.* 査読有、78: 2857-2867, 2010.  
doi:10.1128/IAI.01138-09

7. S.R. Dewamitta T. Nomura, I. Kawamura, H. Hara, K. Tsuchiya, T. Kurenuma, Y. Shen, S. Daim, T. Yamamoto, H. Qu, S. Sakai, Y. Xu, and M. Mitsuyama. Listeriolysin O-dependent bacterial entry into the cytoplasm is required for calpain activation and interleukin-1 alpha secretion in macrophages infected with *Listeria monocytogenes*. Infect. Immun. 査読有、78: 1884-1894, 2010. doi:10.1128/IAI.01143-09
  8. M. Emoto, T. Yoshida, T. Fukuda, I. Kawamura, M. Mitsuyama, E. Kita, R. Hurwitz, S. H. E. Kaufmann, and Y. Emoto.  $\alpha$ -galactosylceramide promotes killing of *Listeria monocytogenes* within the macrophage phagosome through invariant NKT-cell activation. Infect. Immun. 査読有、78: 2667-2676, 2010. doi:10.1128/IAI.01441-09
  9. T. Kurenuma, I. Kawamura, H. Hara, R. Uchiyama, S. Daim, S. R. Dewamitta, S. Sakai, K. Tsuchiya, T. Nomura, and M. Mitsuyama. The RD1 locus in the *Mycobacterium tuberculosis* genome contributes to activation of caspase-1 via induction of potassium ion efflux in infected macrophages. Infect. Immun. 査読有、77: 3992-4001, 2009. doi:10.1128/IAI.00015-09
- [学会発表] (計 39 件)
1. 土屋晃介、原英樹、方仁東、酒井俊佑、Eduardo Hernandez-Cuellar、河村伊久雄、光山正雄. The role of inflammasomes in bacterial infections. 第 85 回日本細菌学会総会 2012 年 3 月 29 日 長崎
  2. Eduardo Hernandez-Cuellar、河村伊久雄、原英樹、土屋晃介、方仁東、山本武司、酒井俊佑、光山正雄. Nitric oxide-dependent suppression of the NLRP3 inflammasome activation. 第 85 回日本細菌学会総会 2012 年 3 月 29 日 長崎
  3. 酒井俊佑、河村伊久雄、土屋晃介、光山正雄. PD-1 deficiency causes CD4 T cell-mediated exacerbation of *Mycobacterium tuberculosis* infection. 第 85 回日本細菌学会総会 2012 年 3 月 28 日 長崎
  4. 原英樹、Adaobi Igwilo、土屋晃介、山本武司、Eduardo Hernandez-Cuellar、河村伊久雄、光山正雄. Analysis of the region responsible for inflammasome activation in listeriolysin O. 第 85 回日本細菌学会総会 2012 年 3 月 27 日 長崎
  5. I. Kawamura, R. Yang, C. Xi, S. R. Dewamitta, M. Mitsuyama, et al. The RD1 locus in the *Mycobacterium tuberculosis* genome contributes to secretion of IL-1 $\alpha$  from infected macrophages through the induction of calcium influx. The 46 US-Japan cooperative medical science program Tuberculosis-Leprosy research conference. December 8, Ohmiya, 2011.
  6. 土屋晃介、原英樹、酒井俊佑、河村伊久雄、光山正雄. 致死性リステリア感染モデルにおける ASC の役割の解析 第 40 回日本免疫学会総会 2011 年 11 月 28 日 千葉
  7. H. Hara, K. Tsuchiya, T. Yamamoto, I. Kawamura and M. Mitsuyama. Involvement of listeriolysin O-mediated inflammasome activation in bacterial virulence upon *Listeria monocytogenes* infection. 第 40 回日本免疫学会総会 2011 年 11 月 28 日 千葉
  8. I. Kawamura, C. Xi, S. Sakai, K. Tsuchiya, H. Hara and M. Mitsuyama. 結核菌感染マクロファージの IL-1 $\alpha$ 産生における RD1 遺伝子領域の役割 第 40 回日本免疫学会総会 2011 年 11 月 28 日 千葉
  9. T. Yamamoto, H. Hara, K. Tsuchiya, S. Sakai, I. Kawamura and M. Mitsuyama. *Listeria monocytogenes* の菌株特異的な I 型 IFN 誘導能の違いは tetR の自然発生的な欠損に依存する 第 40 回日本免疫学会総会 2011 年 11 月 28 日 千葉
  10. S. Daim, I. Kawamura, K. Tsuchiya, H. Hara, T. Yamamoto, H. Qu and M. Mitsuyama. Expression of the *Mycobacterium tuberculosis* PPE37 protein in *Mycobacterium smegmatis* induces low tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 production in murine macrophages. 第 64 回日本細菌学会関西支部総会 2011 年 11 月 19 日 大阪
  11. I. Kawamura, K. Tsuchiya, H. Hara, R. Fang and M. Mitsuyama. The RD1 locus in the *Mycobacterium tuberculosis* genome contributes to secretion of IL-1 $\alpha$  from infected macrophages through the induction of calcium influx. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. September 8, 2011.
  12. K. Tsuchiya, H. Hara, R. Fang, S. Sakai, S. Daim, S. R. Dewamitta, C. Xi, H. Qu, I. Kawamura and M. Mitsuyama. A host-detrimental role of ASC in a lethal infection with *Listeria monocytogenes*. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. September 8, 2011.
  13. H. Hara, K. Tsuchiya, T. Yamamoto, I. Kawamura and M. Mitsuyama.

- Participation of inflammasome activation mediated by Listeriolysin O in bacterial virulence upon *Listeria monocytogenes* infection. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. September 8, 2011.
14. S. Sakai, I. Kawamura, K. Tsuchiya, T. Okazaki and M. Mitsuyama. PD-1 regulates the balance between protective and pathologic immune responses during murine tuberculosis. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. September 7, 2011.
  15. 河村伊久雄, 酒井俊佑, 土屋晃介, 原英樹, 光山正雄. 結核菌感染マクロファージの interleukin-1 産生における RD-1 遺伝子領域の重要性 第 22 回日本生体防御学会総会 2011 年 6 月 30 日 沖縄
  16. 河村伊久雄, 楊瑞麗, 陳曦, S. R. Dewamitta, 酒井俊佑, 土屋晃介, 原英樹, 光山正雄. 結核菌感染マクロファージの interleukin-1 $\alpha$ 産生における結核菌病原性関連遺伝子領域 RD1 の役割. 第 63 回日本細菌学会関西支部総会 2010 年 11 月 20 日 枚方
  17. R. Fang, K. Tsuchiya, I. Kawamura, Y. Shen, H. Hara, and M. Mitsuyama. Critical role of ASC in the activation of inflammasomes and resistance to pulmonary infection with *Streptococcus pneumoniae*. 第 63 回日本細菌学会関西支部総会 2010 年 11 月 20 日 枚方
  18. I. Kawamura, S. R. Dewamitta, T. Nomura, H. Hara, K. Tsuchiya, M. Mitsuyama, et al. Listeriolysin O-dependent bacterial entry into cytoplasm is required for calpain activation and IL-1 $\alpha$  secretion in macrophages infected with *Listeria monocytogenes*. The 14 International congress of Immunology, Osaka, August 25, 2010.
  19. S. Sakai, I. Kawamura, K. Tsuchiya, T. Okazaki, and M. Mitsuyama. PD-1 inhibitory receptor prevents immunopathological responses in murine tuberculosis. The 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology, Kobe, August 25, 2010.
  20. H. Hara, K. Tsuchiya, I. Kawamura, T. Yamamoto, T. Nomura and M. Mitsuyama. Involvement of type I interferon in inflammasome formation in macrophages infected with *Listeria monocytogenes*. The 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology, Kobe, August 25, 2010.
  21. T. Yamamoto, H. Hara, K. Tsuchiya, S. Sakai, T. Nomura, I. Kawamura and M. Mitsuyama. The importance of Lmo2588/2589 in the ability of *Listeria monocytogenes* to induce IFN-beta production. The 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology, Kobe, August 25, 2010.
  22. 山本武司, 原英樹, 土屋晃介, 酒井俊佑, 野村卓正, S. Daim, 河村伊久雄, 光山正雄. *Listeria monocytogenes* 感染後の IFN $\beta$ 産生誘導における *lmo2589* 遺伝子の重要性 第 21 回日本生体防御学会総会 2010 年 7 月 22 日 仙台
  23. 土屋晃介, 原英樹, 河村伊久雄, 山本武司, S. Daim, S.R. Dewamitta, 申艶那, 方仁東, 光山正雄. リステリア感染マクロファージにおけるインフラマソーム活性化機序 第 21 回日本生体防御学会総会 2010 年 7 月 22 日 仙台
  24. S. Sakai, I. Kawamura and M. Mitsuyama. PD-1 inhibitory signal is required for an orchestrated protective immunity to *Mycobacterium tuberculosis* in lung. The 45 U.S.-Japan cooperative medical science program Tuberculosis-Leprosy research conference Boston, USA, July 13, 2010.
  25. 酒井俊佑, 河村伊久雄, 土屋晃介, 岡崎拓, 本庶佑, 光山正雄. PD-1 inhibitory receptor prevents immunopathological responses in pulmonary tuberculosis. 第 83 回日本細菌学会総会 2010 年 3 月 29 日 横浜
  26. S. R. Dewamitta, 酒井俊佑, 土屋晃介, 原英樹, 野村卓正, 河村伊久雄, 光山正雄. Important role of ASC in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection *in vivo*. 第 83 回日本細菌学会総会 2010 年 3 月 29 日 横浜
  27. 土屋晃介, 原英樹, 野村卓正, S. Daim, S.R. Dewamitta, 河村伊久雄, 光山正雄. Mechanism of inflammasome activation upon infection with *Listeria monocytogenes*. 第 83 回日本細菌学会総会 2010 年 3 月 27 日 横浜
  28. 原英樹, 土屋晃介, 山本武司, 河村伊久雄, 野村卓正, 光山正雄. Listeriolysin O contributes to inflammasome formation through the phosphorylation of Syk. 第 83 回日本細菌学会総会 2010 年 3 月 27 日 横浜
  29. 山本武司, 原英樹, 土屋晃介, 酒井俊佑, 野村卓正, S. Daim, 河村伊久雄, 光山正雄. *Listeria monocytogenes* 菌株間での IFN $\beta$ 産生誘導能の違いにおける *lmo2589* の重要性. 第 83 回日本細菌学会総会 2010 年 3 月 27 日 横浜
  30. S. Yanna, T. Nomura, K. Tsuchiya, H. Hara, S. Sakai, H. Qu, S. Daim, S. R. Dewamitta, T. Yamamoto, I. Kawamura,

- and M. Mitsuyama. TLR2-dependent signal is involved in the efficient phagocytosis of *Listeria monocytogenes* by macrophages. 第 39 回日本免疫学会総会 2009 年 12 月 4 日 大阪
31. K. Tsuchiya, H. Hara, T. Nomura, S. R. Dewamitta, I. Kawamura, and M. Mitsuyama. Mechanism of the inflammasome activation upon infection with *Listeria monocytogenes*. 第 39 回日本免疫学会総会 2009 年 12 月 4 日 大阪
32. H. Hara, K. Tsuchiya, I. Kawamura, T. Yamamoto, T. Nomura, and M. Mitsuyama. LLO participates in caspase-1 activation in *Listeria monocytogenes*-infected macrophages via induction of IFN- $\beta$  production. 第 39 回日本免疫学会総会 2009 年 12 月 4 日 大阪
33. S. R. Dewamitta, I. Kawamura, H. Hara, R. Uchiyama, S. Daim, S. Sakai, K. Tsuchiya, T. Nomura, and M. Mitsuyama. RD1 locus in *Mycobacterium tuberculosis* genome contributes to the activation of caspase-1 via induction of potassium efflux in infected macrophages. 第 39 回日本免疫学会総会 2009 年 12 月 4 日 大阪
34. T. Nomura, S. R. Dewamitta, H. Hara, K. Tsuchiya, I. Kawamura, and M. Mitsuyama. Bacterial cytoplasmic entry-inducing intracellular calcium signaling is required for IL-1 $\alpha$ / $\beta$  production in *Listeria monocytogenes*-infected macrophages. 第 39 回日本免疫学会総会 2009 年 12 月 4 日 大阪
35. Sakai, S., I. Kawamura, K. Tsuchiya, T. Okazaki, and M. Mitsuyama. The PD-1:PD-L1 coinhibitory pathway is a critical determinant of host resistance to pulmonary tuberculosis. 第 39 回日本免疫学会総会 2009 年 12 月 4 日 大阪
36. I. Kawamura, S. Sakai and M. Mitsuyama. PD-1-dependent signal impairs protective T cell response in chronic *Mycobacterium bovis* BCG infection in mice. The 44 U.S.-Japan cooperative medical science program Tuberculosis-Leprosy research conference Fukuoka, July 29, 2009.
37. S. R. Dewamitta, 野村卓正, 原英樹, 土屋晃介, 暮沼武士, 申艶那, S. Daim, 酒井俊祐, 屈慧新, 山本武司, 河村伊久雄, 光山正雄. LLO-dependent entry of *Listeria monocytogenes* into cytoplasm is essential for calcium dependent calpain activation and IL-1 $\alpha$  secretion in infected macrophages. 第 20 回日本生体防御学会学術総会 2009 年 7 月 25 日 東京
38. 野村卓正, 申艶那, 土屋晃介, 原英樹, 酒井俊祐, 屈慧新, 河村伊久雄, 光山正雄. マクロファージのリステリア貪食能の TLR2 シグナルによる増幅. 第 20 回日本生体防御学会学術総会 2009 年 7 月 25 日 東京
39. K. Watanabe, T. Shimizu, Y. Emoto, I. Kawamura, M. Mitsuyama, and M. Emoto.  $\alpha$ -galactosylceramide promotes killing of *Listeria monocytogenes* within the macrophage phagosome through invariant NKT cell activation. 第 20 回日本生体防御学会学術総会 2009 年 7 月 25 日 東京

〔図書〕 (計 2 件)

1. 河村伊久雄, 結核菌・抗酸菌感染防御機構、日本臨床社、日本臨床、2011、第 69 巻、pp1340-1344.
2. 河村伊久雄, 結核に対する感染防御機構、日本結核病学会、結核、2010、第 85 巻、pp539-546.

〔その他〕

ホームページ

<http://bisei15.mb.med.kyoto-u.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河村 伊久雄 (KAWAMURA IKUO)  
京都大学・医学研究科・准教授  
研究者番号：20214695

(2) 研究協力者

Sita R. Dewamitta  
Eduardo Hernandez-Cuellar  
暮沼 武士 (KURENUMA TAKESHI)  
山本 武司 (YAMAMOTO TAKESHI)  
方 仁東 (FANG RENDONG)  
以上、京都大学・医学研究科・大学院生

Sylvia Daim

申 艶那 (SHEN YENA)  
屈 慧新 (QU HUIXIN)

以上、京都大学・医学研究科・研究生