

研究助成 2019 – 感染症領域 –

研究成果報告書（最終）＜概要＞

所 属	東北大学大学院医学系研究科 感染分子病態解析学分野 感染制御インテリジェンスネットワーク寄附講座
氏 名	佐藤 光
研 究 テーマ	クリプトコックスの潜在性感染・内因性再燃診断のための IGRA 法の開発

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。
（図表、写真などの貼付を含む）

クリプトコックスは経気道に肺に感染し、肺クリプトコックス症、さらには播種性クリプトコックス脳髄膜炎を引き起こす、莢膜を持った酵母型真菌である。本真菌は宿主の免疫応答に対して抵抗性を持ち、**食細胞内で増殖可能な細胞内増殖菌**であり、結核菌と同様に**不顕性感染後に潜在性感染 (latent *Cryptococcus neoformans* infection: LCNI)** し、免疫の破綻に伴って内因性再燃する可能性が報告されている。

クリプトコックス症の検査には、分離培養や墨汁染色、クリプトコックス抗原を調べる方法があるが、**いずれも潜在性感染を検出することは困難である**。結核の検査には、T 細胞抗原を用いた interferon-gamma release assay (IGRA) (図 1) が使用されており、**活動性結核だけでなく、潜在性感染も検出可能である**。**クリプトコックス症においても主要な T 細胞抗原であるキチンデアセチラーゼ 2 (Cda2) を用いることで活動性・潜在性感染を検出できる可能性が考えられる (図 1)**。特に基礎疾患をもつ患者において、クリプトコックスの潜在性感染を見つけることができれば、**発症予防・早期治療につながる**。本研究では、マウスモデル及びヒトサンプルを用いて、Cda2 刺激による IFN- γ 産生が検出できるか解析を行い、**クリプトコックス症診断のための IGRA 法の開発研究を行った**。

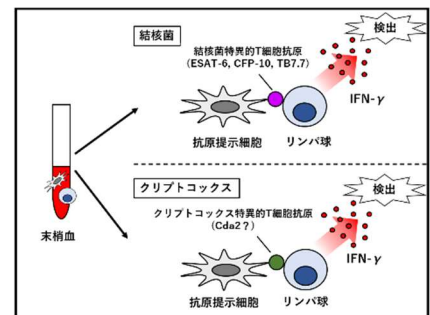


図1: IGRA法の概略

図2: 研究成果概要。マウスモデルとヒトサンプルの両方での研究結果を示す。マウスモデルではLCNIマウスモデルの樹立、内因性再燃マウスモデルの樹立、IGRA法の検討が行われた。ヒトサンプルでは全血を用いたIGRA法の検討、rCda2単体刺激でのIFN- γ 産生、クリプトコックス症例、対照例の解析が行われた。

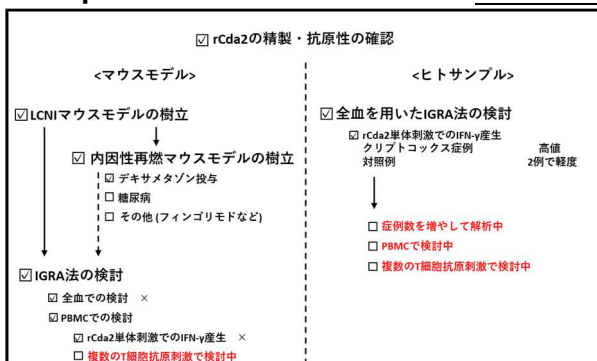


図2: 研究成果概要

研究成果の概要を図 2 にまとめる。まず初めに、大腸菌の発現系を用いてリコンビナント Cda2 (rCda2) を作製し、Cda2 特異的な TCR を高発現するトランスジェニックマウス (CnT-II) を用いて**抗原性を確認**した。我々がすでに樹立している LCNI マウスモデルの全血を用いて検討した結果、陽性コントロールであるコンカナバリン A でも IFN- γ 産生を検出できなかったため、末梢血単核球 (PBMC) を単離し解析を進めた。CnT-II マウスの PBMC は rCda2 刺激によって高濃度の IFN- γ を産生したが、**LCNI マウス**

では Cda2 特異的な IFN- γ 産生は検出できなかった。結核の IGRA 法 (QuantiFERON TB ゴールド) では、複数の結核抗原ペプチドが用いられていることから、LCNI モデルでも、Cda2 単独ではなく、**Cda1、Cda3、Fpd1、MP88、Sod1 などの複数の T 細胞抗原で刺激を行い、IFN- γ 産生を検出できるか**検討を進めている。また、同時に糖尿病などの内因性再燃マウスモデルの作成を行っている。以前のヒトサンプルでの検討では、クリプトコックス症患者及び、対照例より採取した末梢血 (全血) を、rCda2 で刺激し、IFN- γ 産生を測定した結果、**Cda2 単体でクリプトコックス感染、潜在性感染を検出することが可能であることが示唆されたが**、症例数が少ないため、現在症例数を増やして解析を進めている。特に、マウスモデルとの相違がみられたことから、**その原因の究明及び、PBMC での検討、複数の抗原での検討など、適切な刺激条件の検討を進めている**。

研究助成 2019 – 感染症領域 –

研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

所	属	東北大学大学院医学系研究科 感染分子病態解析学分野 感染制御インテリジェンスネットワーク寄附講座
氏	名	佐藤 光

1. 論文発表実績

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。
- 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。
- 国内外雑誌を問わない。
- 印刷中は in press と記入、投稿中の論文はその旨を記載すること。なお学会のアブストラクトは含めない。
- 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

1	<u>Sato K</u> , Matsumoto I, Suzuki K, Tamura A, Shiraishi A, Kiyonari H, Kasamatsu J, Yamamoto H, Miyasaka T, Tanno D, Miyahara A, Zong T, Kagesawa T, Oniyama A, Kawamura K, Kitai Y, Umeki A, Kanno E, Tanno H, Ishii K, Tsukita S, Kawakami K. Deficiency of lung-specific claudin-18 leads to aggravated infection with <i>Cryptococcus deneoformans</i> through dysregulation of the microenvironment in lungs. Scientific reports . 11: 21110. 2021. 査読有.
2	Kitai Y, <u>Sato K</u> , Tanno D, Yuan X, Umeki A, Kasamatsu J, Kanno E, Tanno H, Hara H, Yamasaki S, Saijo S, Iwakura Y, Ishii K, Kawakami K. Role of Dectin-2 in the phagocytosis of <i>Cryptococcus neoformans</i> by dendritic cells. Infect Immun . 89: e0033021. 2021. 査読有.
3	Sato Y, <u>Sato K</u> , Yamamoto H, Kasamatsu J, Miyasaka T, Tanno D, Miyahara A, Kagesawa T, Oniyama A, Kawamura K, Yokoyama R, Kitai Y, Umeki A, Ishizuka S, Takano K, Shiroma R, Nakahata N, Kawakami K, Kanno M, Tanno H, Yamasaki S, Hara H, Ishii K, Kawakami K. Limited role of Mincle in the host defense against infection with <i>Cryptococcus deneoformans</i> . Infect Immun . 88: e00400-20. 2020. 査読有.
4	<u>Sato K</u> , Yamamoto H, Nomura T, Kasamatsu J, Miyasaka T, Tanno D, Matsumoto I, Kagesawa T, Miyahara A, Zong T, Oniyama A, Kawamura K, Yokoyama R, Kitai Y, Ishizuka S, Kanno E, Tanno H, Suda H, Morita M, Yamamoto M, Iwakura Y, Ishii K, Kawakami K. Production of IL-17A at innate immune phase leads to decreased Th1 immune response and attenuated host defense against infection with <i>Cryptococcus deneoformans</i> . J Immunol . 205: 686-698. 2020. 査読有.

2. 学会発表実績		
● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ● 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ● 国内外を問わない。 ● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2021 年 10 月 29～30	第 65 回日本医真菌学会総会・学術集会/真菌症フォーラム 2021. 佐藤 光, 川上 和義. Host immune response to fungal infection. (シンポジウム (招待有))
2	2021 年 9 月 7～8 日	第 32 回日本生体防御学会学術総会. <u>佐藤 光</u> . クリプトコックス感染防御における免疫応答の解析. (奨励賞受賞講演)
3	2021 年 5 月 7～9 日	第 95 回日本感染症学会学術講演会/第 69 回日本化学療法学会総会. <u>佐藤 光</u> , 笠松 純, 篠宮 岳志, 山本 秀輝, 石井 恵子, 川上 和義. クリプトコックス感染防御における Claudin 欠損の影響. (一般演題 (口頭))
4	2021 年 5 月 7～9 日	第 95 回日本感染症学会学術講演会/第 69 回日本化学療法学会総会. 篠宮 岳志, 梅木 彩, <u>佐藤 光</u> , 笠松 純, 石井 恵子, 川上 和義. Poly (I:C) をアジュバントとしたクリプトコックス酸化鉄ナノ粒子ワクチンによる Th1 型抗体産生の誘導. (一般演題 (口頭))
5	2021 年 3 月 2～3 日	令和 2 年度仙台医療センター臨床研究部助成研究報告会. <u>佐藤 光</u> , 笠松 純, 北井 優貴, 西村 秀一, 石井 恵子, 川上 和義. ハイリスク状態におけるクリプトコックスに対する易感染性の免疫機序の解明. (一般演題 (ポスター))
6	2020 年 12 月 20 日	第 4 回東北医真菌研究会. <u>佐藤 光</u> , 笠松 純, 佐藤 祐樹, 菅野 恵美, 丹野 寛大, 石井 恵子, 川上 和義. クリプトコックス感染防御における Mincle の役割. (一般演題 (口頭))
7	2020 年 12 月 20 日	第 4 回東北医真菌研究会. 笠松 純, <u>佐藤 光</u> , 宮原 杏奈, 梅木 彩, 菅野 恵美, 丹野 寛大, 石井 恵子, 川上 和義. クリプトコックス感染早期防御における組織常在型メモリー T 細胞の役割. (一般演題 (口頭))
8	2020 年 10 月 21～23 日	第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会/第 67 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会. 笠松 純, <u>佐藤 光</u> , 北井 優貴, 石井 恵子, 川上 和義. グルコシルセラミドを標的としたクリプトコックス症のワクチン開発を目指した基礎研究. (一般演題 (口頭))
9	2020 年 10 月 11～12 日	第 95 回日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会. <u>佐藤 光</u> , 川上 和義. クリプトコックスの内因性再燃発症の可能性：結核との類似性. (シンポジウム (招待有))
10	2020 年 10 月 9～10 日	第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. <u>佐藤 光</u> , 川上 和義. クリプトコックス及び結核菌感染に対する Th1 免疫応答を介した感染防御機構. (シンポジウム (招待有))

11	2020 年 10 月 9～10 日	第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. <u>佐藤 光</u> , 笠松 純, 山本 秀輝, 石井 恵子, 川上 和義. クリプトコックス感染防御における Claudins 欠損の影響. (一般演題 (紙上))
12	2020 年 10 月 9～10 日	第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. 笠松 純, <u>佐藤 光</u> , 北井 優貴, 川上 和義. グルコシルセラミドを標的としたクリプトコックスワクチン開発のための基礎研究. (一般演題 (紙上))
13	2020 年 8 月 19～21 日	第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会. <u>佐藤 光</u> , 笠松 純, 山本 秀輝, 石井 恵子, 川上 和義. クリプトコックス感染防御における Tight junction タンパク質欠損の影響. (一般演題 (紙上))
14	2020 年 8 月 19～21 日	第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会. 中畑 那奈, 梅木 彩, <u>佐藤 光</u> , 笠松 純, 山本 秀輝, 石井 恵子, 川上 和義. クリプトコックス感染の自然免疫時相におけるメモリー、エフェクター T 細胞からの IFN- γ 産生. (一般演題 (紙上))
15	2020 年 2 月 25～26 日	令和元年度仙台医療センター臨床研究部助成研究報告会. <u>佐藤 光</u> , 笠松 純, 北井 優貴, 西村 秀一, 石井 恵子, 川上 和義. ハイリスク状態におけるクリプトコックスに対する易感染性の免疫機序の解明. (一般演題 (ポスター)) (最優秀ポスター賞)
16	2020 年 2 月 16 日	研究助成 4 領域合同 研究発表会. <u>佐藤 光</u> , 笠松 純, 石井 恵子, 川上 和義. クリプトコックスの潜在性感染・内因性再燃診断のための IGRA 法の開発. (一般演題 (ポスター))
17	2020 年 1 月 11 日	第 13 回リトリート大学院生研究発表会. 梅木 彩, 中畑 那奈, 篠宮 岳志, <u>佐藤 光</u> , 笠松 純, 山本 秀輝, 石井 恵子, 川上 和義. クリプトコックス感染早期における IFN- γ 産生機序の解析. (一般演題 (ポスター))

3. 投稿、発表予定

	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		