

長崎(2008年4月)

長田良雄、金澤 保

住血吸虫感染による関節炎予防効果 - 炎症性サイトカインの解析-

第77回 日本寄生虫学会大会

長崎(2008年4月)

長田良雄、熊谷貴、清水少一、金澤 保

寄生虫感染によるマウス関節炎の抑制

第29回 日本炎症・再生医学会

東京(2008年7月)

Osada Y, Shimizu S, Kumagai T, Yamada S, Kanazawa T.

Schistosome infection suppresses collagen - induced arthritis in mice.

XVIIth International Congress for Tropical Medicine and Malaria

Cheju, Korea (29<sup>th</sup>/Sep.-3<sup>rd</sup> Oct./2008)

清水少一、新井明治、金澤 保

アジスロマイシンの *Plasmodium berghei* に対する伝播阻止効果の検討

第7回 分子寄生虫・マラリア研究フォーラム

松山(2008年10月)

清水少一、新井明治、金澤 保

アジスロマイシンの *Plasmodium berghei* に対する伝播阻止効果の検討

第61回 日本寄生虫学会南日本支部大会・第58回

日本衛生動物学会南日本支部大会・合同大会

沖縄(2008年11月)

長田良雄

蠕虫抗原の免疫調節活性評価

第2回 蠕虫研究会

宮崎(2008年11月)

Arai M, Shimizu S, Kanazawa T.

Evaluation of the transmission-blocking effect of azithromycin against *Plasmodium berghei*.

The Japan-United States Cooperative Medical

Science Program: 43rd Joint Conference on Parasitic Diseases.

Tokyo, (8<sup>th</sup>/Jan./2009)

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## 厚生労働科学研究費補助金

(社会保障国際協力推進研究事業(国際医学協力研究事業))

— 寄生虫疾患の病態解明及びその予防・治療をめざした研究 —

### 分担研究報告書

#### リーシュマニア症対策疫学研究

研究分担者 筑波大学大学院人間総合科学研究科 教授 我妻ゆき子

#### 研究要旨

目的：本研究では、ニームオイルを家屋内散布することによって、リーシュマニア症コントロールが可能であるかを効果判定することを目的とする。

研究方法：バングラデシュにおいてリーシュマニア症が蔓延している地域において、その標準化家屋内散布介入をする世帯(850)とコントロール世帯(850)をランダム割り当てし、各世帯から1人のインデックスケースに対して、患者発生が減少したかを2年間モニタリングして評価する。

結果：介入1年後の血液検査を2007年11月-2008年1月に実施したが、本年度はそのデータ解析を行った。また、介入2年後の血液検査を2008年10月-12月に行い、現在データ入力中である。散布家屋において、抗体陽性化率の減少傾向と、吸血しているサシチョウバエの割合の減少がみられた。介入2年目のデータの入力、分析を行い、最終評価をする予定である。

まとめ：農業問題のない天然植物素材のニームオイルが、リーシュマニア症制圧に役立つことが示せれば、世界のリーシュマニア症患者を減らすことができるばかりでなく、他の媒介昆虫による重要疾患、たとえば、マラリアやデング熱への応用が示唆される。

#### A. 研究目的

本研究の分担研究者である我妻は、ニームオイルの散布がサシチョウバエの減少に効果があることを予備実験で確かめ、その成果を日本熱帯医学会にて2005年に発表している。リーシュマニア症は世界保健機構(WHO)の薦める重要感染症疾患に入っているにもかかわらず、人体投与薬物治療薬は非常に副作用の高い重金属アンチモニ製剤の注射薬で20日から60日の連続投与が必要である。小児や妊婦に使用が難しく、治療成績もばらばらで、治療後致死率はバングラデシュでは10%以上もあることを報告した(Bern et al, 2005)。当該申請研究には、農業問題のない天然植物素材であるニームオイルを家屋内散布することによって、リーシュマニア症コントロールが可能であるかを効果判定することを目的とする。

#### B. 研究方法

ニームオイル中の有効成分であるアザルダイクテンの含有度を正確に測り、その濃度と散布回数標準化を図り、バングラデシュのリーシュマニア症蔓延フィールドにおいて、その標準化家屋内散布介入をする家とそうでない家とをラ

ンダムに割り当て、2年間の観察評価をして、媒介昆虫が家屋内で減少したか、また、さらには、患者発生が減少したかを評価する。本年度は介入2年目にあたり、最終評価のための血液検査とCDC ライトトラップによるサシチョウバエの収集を行った。

#### (倫理面への配慮)

国際下痢症研究センター(ICDDR,B)の倫理委員会に研究プロトコルを提出し、承認を受けている。研究参加者にはインフォームド・コンセントを行い、同意書を取っている。

#### C. 研究結果

コミュニティサーベイランス人口(1700世帯;人口8,500人)のうち、3歳以上を対象にニーム介入1年後の疾病発生血液検査(セロサーベイ)を2007年11月-2008年1月に実施し、データ解析を行った。散布家屋においては罹患率の減少傾向(散布家屋=2.0%;非散布家屋=2.7%)がみられた。また、介入2年後の血液検査を2008年10月-12月に行い、現在データ入力中である。介入群において、吸血しているサシチョウバエの割合の減少がみられた。

#### D. 考察

環境残留有害物質の検出技術が向上するにつれ、農業問題はその加速度を増して難しくなっている。地球環境を考慮し、将来にわたって持続性ある安全な衛生動物制御が求められている。農業問題のない天然素材のニームオイルが、もしリーシュマニア症制圧に役立つことが示せれば、世界中のリーシュマニア症患者を減らすことができるばかりでなく、他の媒介昆虫による重要疾患、たとえば、マラリアやデング熱へも天然素材の応用が可能である道が開けるかもしれない。

#### E. 結論

ニーム介入群において、抗体陽性変化率の減少傾向と、吸血しているサシチョウバエの割合の低下がみられた。2年間介入継続後の抗体陽性率データを分析し、最終評価をする予定である。

#### F. 健康危険情報

該当せず。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし。

##### 2. 学会発表

Fukushige M, Alam MS, Mondal D, Haque R, Islam MZ, Itoh M, Wagatsuma Y. Preliminary results of the one-year follow-up study using neem oil as a prevention against visceral leishmaniasis in Bangladesh. Presented at the 17<sup>th</sup> International Congress for Tropical Medicine and Malaria, September 29 – October 3 2008, Jeju, Korea

Wagatsuma Y, Alam MS, Fukushige M, Ito M, Islam MZ, Haque R. Effectiveness of neem oil spray to control visceral leishmaniasis in Bangladesh. Presented at the 43<sup>rd</sup> US-Japan Joint Conference on Parasitic Diseases, 7-8 January, 2009, Tokyo, Japan.

Fukushige M, Alam MS, Mondal D, Haque R, Islam MZ, Itoh M, Wagatsuma Y. Preliminary results of the two-year follow-up study using neem oil as vector control in Bangladesh. Presented at the 4<sup>th</sup> World Leish Conference on Leishmaniasis, February 3-7, 2009, Lucknow, India

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）  
該当せず。

厚生労働科学研究費補助金  
(社会保障国際協力推進研究事業(国際医学協力研究事業))

分担研究報告書

マラリア原虫の宿主細胞認識と侵入機序の解析  
研究分担者 鳥居本美 愛媛大学大学院医学系研究科教授

研究要旨： マラリア原虫メロゾイトの赤血球結合分子 EBL (EBL: Erythrocyte Binding-Like) は赤血球侵入に必須とされる分子である。急激な原虫感染率の上昇により致死となる強毒株 (17XL) と致死でない弱毒株 (17XNL) の PyEBL 分子の塩基配列を比較したところ、オープンリーディングフレーム内で唯一、C 末端部の Cys に富む領域 (第 6 領域) 内のアミノ酸の一つが異なり、17XNL 株では Cys であるのに対し 17XL 株では Arg であることを見出した。免疫電子顕微鏡写真で詳細な局在を調べたところ、17XNL 株では PyEBL はマイクロネームに局在する一方、17XL 株ではデンスグラニュールに局在することを見出した。そこで、PyEBL の第 6 領域のアミノ酸を置換した遺伝子改変原虫を作成して詳細に検討した結果、第 6 領域のアミノ酸の変異が PyEBL 分子の細胞内輸送を変化させること、またマラリア原虫の赤血球への侵入動態に影響を及ぼし、さらには宿主への病原性にも変化をもたらすことが明らかとなった。

#### A. 研究目的

マラリア原虫メロゾイトの赤血球結合分子 (EBL: Erythrocyte Binding-Like) はメロゾイトの赤血球侵入に重要な機能を果たすことから、赤血球ステージ原虫に対するワクチン候補抗原として注目されている。我々は EBL 分子を標的とするワクチン開発のモデルとして、ネズミマラリア原虫 *Plasmodium yoelii* の EBL (PyEBL) の解析を行っている。感染後の急激な原虫感染率の上昇により致死となる強毒株 (17XL) と致死でない弱毒株 (17XNL) の PyEBL 分子の塩基配列を解析し、その結果から予想されるアミノ酸配列を比較したところ、オープンリーディングフレーム内での相違は、C 末端部のシステイン (Cys) に富む領域 (第 6 領域) 内の Cys の一つが、17XL 株では Arg に置換されている

ことのみであった。本研究は、この Cys の変異に着目して、この分子のアミノ酸変異が病原性の違いに関連性があるか否かを明らかにすることを目的として実施した。

#### B. 研究方法および結果

PyEBL をコードする遺伝子のコピー数を確認する目的で、*P. yoelii* 17XL および 17XNL の遺伝子を制限酵素を用いて切断してサザンプロットを行い、*pyebl* は単一の遺伝子にコードされていることを確認した。次に、Py17XNL と Py17XL で *pyebl* の転写レベル (mRNA 量) に差が見られるか否かを RT-PCR によって比較したところ、両者には差が認められなかった。

PyEBL のシグナルペプチドを含む領域と C 末端側の膜貫通領域を除いた部分の遺伝子

を増幅し、無細胞発現ベクター (pEU-E01 (TEV)-N2) に組み込み、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成法を用いて、組換え PyEBL タンパク質を作成したところ、可溶性タンパク質として発現させることが出来た。この GST 融合 PyEBL (R1-6) 組換えタンパク質をフロイントアジュバントと共に BALB/c マウスの腹腔内に投与して免疫して抗血清を作成した。

17XNL 株と 17XL 株のシゾン期原虫を用いたウエスタンブロッティングでは、PyEBL は両株ともに 110kDa のバンドとして検出された。また、バンドの染色強度に大きな差異が認められなかったことから、PyEBL は Py17XL と Py17XNL の両株共にタンパク質として発現されていることが確認された。ところが、間接蛍光抗体法によって PyEBL 分子の局在をみると、第 6 領域の 2 番目の Cys が保存されている 17XNL 株ではメロゾイト先端部に蛍光が限局しているのに対し、当該 Cys が Arg に置換されている 17XL 株では、蛍光は先端部に限局せず、細胞質内に拡散して観察された。そこで、細胞内での PyEBL の詳細な局在の違いについて免疫電子顕微鏡写真を用いて検討を行ったところ、17XNL 株では抗原の局在を示す金コロイド粒子がマイクロネームに認められたのに対し、17XL 株では他の細胞内小器官であるデンスグラニュールに金コロイド粒子が認められた。以上の所見から、PyEBL の第 6 領域が本分子の細胞内移送、特に侵入に深く関与すると考えられている先端部小器官への移送に関わる部位であることが予想された。

そこで、遺伝子改変によって 17XNL 株の PyEBL の第 6 領域の 2 番目の Cys を Arg に置換した原虫 17XNL (Cys-Arg) を作成したところ、本原虫の EBL の局在がマイクロネームからデンスグラニュールに変化した。また、17XL 株の PyEBL の第 6 領域の 2 番目の Arg を Cys に置換した遺伝子改変原虫 17XL (Arg-Cys) では、EBL の局在がデンスグラニュールからマイクロネームに変化がみられた。これらの所見から、PyEBL の第 6 領域がこの分子の細胞内輸送を規定する重要な部位であることが明らかとなった。

さらに、遺伝子改変原虫 17XNL (Cys-Arg) のマウスに対する感染動態を観察したところ、17XNL の標的赤血球である網状赤血球のみならず成熟赤血球へも侵入しており、その結果として、赤血球感染率が上昇することが判明した。また、遺伝子改変原虫 17XL (Arg-Cys) では標的赤血球がすべての赤血球から網状赤血球のみに変化し、赤血球感染率が 17XNL と同等のレベルまで大幅に減少することが明らかとなった。この結果は、EBL 分子の第 6 領域のアミノ酸置換が、マラリア原虫の赤血球への侵入嗜好性にも変化を及ぼし、その結果として病原性に影響することを示している。

## E. 結論

弱毒株の Py17XNL と致死株の Py17XL で PyEBL 分子の C 末端部の Cys に富む第 6 領域内の Cys の一つが、17XL 株では Arg に置換されていることに着目して検討を行った。免疫電子顕微鏡方による PyEBL の局在をみる

と、17XL 株では PyEBL は原虫先端部のマイクロネームに局在するのに対し、17XL 株では先端部より後方に位置するデンスグラニュールに局在していた。そこで、PyEBL の第 6 領域のアミノ酸を置換した遺伝子改変原虫を作成して検討した結果、第 6 領域が PyEBL 分子の細胞内輸送に重要であること、第 6 領域のアミノ酸変異がマラリア原虫の赤血球侵入動態に影響し、さらには病原性の変化をもたらすことを明らかにすることができた。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Iriko H, Kaneko O, Otsuki H, Tsuboi T, Su XZ, Tanabe K, Torii M. Diversity and evolution of the rhophil/clag multigene family of *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol*, 158(1):11-21, 2008
- 2) Hisaeda H, Tetsutani K, Imai T, Moriya C, Tu L, Hamano S, Duan X, Chou B, Ishida H, Aramaki A, Shen J, Ishii K, Coban C, Akira S, Takeda K, Yasutomo K, Torii M, Himeno K. Malaria parasites require TLR9 signaling for immune evasion by activating regulatory T cells. *J Immunol*, 180(4):2496-2503, 2008.
- 3) Tsuboi T, Takeo S, Iriko H, Jin L, Tsuchimochi M, Matsuda S, Han ET, Otsuki H, Kaneko O, Sattabongkot J, Udomsangpetch R, Sawasaki T, Torii T, Endo Y. Wheat germ cell-free system-based production of malaria proteins for discovery of novel vaccine candidates. *Infect Immun*, 76(4):1702-1708, 2008.
- 4) Yano K, Otsuki H, Arai M, Komaki-Yasuda K, Tsuboi T, Torii M, Kano S, Kawazu S-I. Disruption of the *Plasmodium berghei* 2-Cys peroxiredoxin TPx-1 gene hinders the sporozoite development in the vector mosquito. *Mol Biochem Parasitol*, 158(2):142-145, 2008.
- 5) Tetsutani K, Ishiwata K, Torii M, Hamano S, Hisaeda H, Himeno K. Short Report: Concurrent Infection with *Heligmosomoides polygyrus* modulates murine host response against *Plasmodium berghei* ANKA infection. *Am J Trop Med Hyg* 79(6):819-822, 2008

### 2. 学会発表

- 1) 大槻均、金子修、入子英幸、竹尾暁、坪井敬文、Thongkukiattkul Amporn、鳥居本美. ネズミマラリア原虫の赤血球結合分子相同体 EBL の局在と病原性 第 77 回日本寄生虫学会大会、長崎市 (2008, 04, 3-4)
- 2) 曹俊、金子修、Thongkukiattkul Amporn、橘真由美、大槻均、坪井敬文、鳥居本美. A complex formation of rhoptry neck protein 2 with a microneme protein, AMA1, in *Plasmodium falciparum*. 第 77 回日本寄生虫学会大会、長崎市 (2008, 04, 3-4)
- 3) Palacipac NQ, Arisue N, Culleton R, Tanabe K, Zeyrek FY, Coban C, Sattabongkot J, Tsuboi T, Torii M, Udomsangpetch R, Hotii T. Diversity in

- geographically distinct *Plasmodium vivax* populations. 第77回日本寄生虫学会大会、長崎市 (2008, 04, 3-4)
- 4) 竹尾暁、坂本寛和、平林直己、鳥居本美、坪井敬文 熱帯熱マラリア原虫赤血球期発病阻止ワクチン: 新規候補抗原分子の探索 第77回日本寄生虫学会大会、長崎市 (2008, 04, 3-4)
- 5) 橘真由美、永徳千穂、大槻均、Sattabongkot Jetsumon、鳥居本美、坪井敬文 生殖母体抗原 Pvs230 を標的とする新規三日熱マラリア伝搬阻止ワクチン 第77回日本寄生虫学会大会、長崎市 (2008, 04, 3-4)
- 6) 鉄谷耕平、屠麗萍、石渡賢治、鳥居本美、濱野真二郎、久枝一、姫野國祐 消化管蠕虫感染が引き起こす免疫修飾の解析-マラリアと共感染モデルを用いて 第77回日本寄生虫学会大会、長崎市 (2008, 04, 3-4)
- 7) Hitoshi Otsuki, Osamu Kaneko, Thongkukiattkul Amporn, Mayumi Tachibana, Hideyuki Iriko, Satoru Takeo, Takafumi Tsuboi, Motomi Torii Erythrocyte-Binding-Like molecule and Virulence of *Plasmodium yoelii*. 19th Annual Molecular Parasitology Meeting, Woods Hole, USA (2008, 9)
- 8) 坂本寛和、竹尾 暁、金子隆昌、谷上弘恵、松岡和弘、橘真由美、澤崎達也、Jetsumon Sattabongkot、鳥居本美、坪井敬文 熱帯熱マラリア原虫感染におけるヒトの抗体応答プロファイリング 第7回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム、松山 (2008, 10, 10-11)
- 9) 鉄谷耕平、屠麗萍、石渡賢治、鳥居本美、濱野真二郎、久枝一、姫野國祐 消化管蠕虫感染が引き起こす免疫抑制の解析-マラリアと共感染モデルを用いて 第49回日本熱帯医学会大会、東京都 (2008, 10, 25-26)
- 10) 横内ゆき、韓銀澤、大槻均、伊与久菜摘、竹尾暁、坪井敬文、鳥居本美 LDH 活性測定によるネズミマラリア原虫増殖率の迅速簡便測定法の確立 第49回日本熱帯医学会大会、東京都 (2008, 10, 25-26)
- 11) 金子修、Kaewthamasorn Morakot、八幡一英、Alexandre Jean、中澤秀介、鳥居本美、Sattabongkot Jetsumon、Udomsangpetch Rachanee マラリア原虫感染赤血球表面分子に対する選択圧 第49回日本熱帯医学会大会、東京都 (2008, 10, 25-26)
- 12) Jun Cao, Osamu Kaneko, Amporn Thongkukiattkul, Mayumi Tachibana, Hitoshi Otsuki, Takafumi Tsuboi, Motomi Torii A complex formation of rhoptry neck protein 2 with a microneme protein, AMA1, in *Plasmodium falciparum*. 57<sup>th</sup> ASTMH Annual Meeting, New Orleans, USA (December 7-11, 2008)
- 13) Mayumi Tachibana, Hideyuki Iriko, Olga Muratova, Guanhong Song, Yimin Wu, Jetsumon Sattabongkot, Satoru Takeo, Hitoshi Otsuki, Motomi Torii, Takafumi Tsuboi. Immunization with recombinant

proteins of a gametocyte protein Pfs230 expressed using wheat germ cell-free system successfully induce transmission-blocking antibodies against Plasmodium falciparum. 57<sup>th</sup> ASTMH Annual Meeting, New Orleans, USA (December 7-11, 2008)

14) Satoru Takeo, Hirokazu Sakamoto, Naomi Hirabayashi, Motomi Torii, Takafumi Tsuboi Novel antigens at Plasmodium falciparum schizont-merozoite stages as potential vaccine candidates. 57<sup>th</sup> ASTMH Annual Meeting, New Orleans, USA (December 7-11, 2008)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべきものはない



寄生虫感染と宿主応答

研究分担者 中西憲司 兵庫医科大学 教授

研究要旨

最近、IL-33がクローニングされ、orphan receptorであるST2のリガンドであることが明らかとなった。C57BL/6マウスにIL-33単独投与で杯細胞の活性化が誘導された。更に、RAG2KOマウスに投与しても杯細胞からのムチン産生が誘導された。この結果、T/B細胞がIL-33の標的でないことが明らかとなった。次に、IL-33を投与したマウスに経胃的（外科的）にNb成虫を投与したところ、24時間以内に完全排虫が認められた。この様な排虫効果はIL-13KOでは認められないが、RAG2KOでは認められたことから、IL-33がT/B細胞が不在でもIL-13を誘導し、杯細胞が誘導され排虫が誘導されることがあきらかとなった。

A. 研究目的

日本での腸管寄生線虫感染は奄美、沖縄などを中心に今尚多くの感染者が存在する。また近年、免疫不全患者の間で腸管寄生虫感染例が増加している。従って、宿主の排虫機構の解明は非常に重要である。マウスを用いた腸管寄生線虫(*Nippostrongylus brasiliensis*; Nb)の感染実験から、感染に伴いTh2応答が誘導され、その結果、高IgE血症、好酸球増多、杯細胞増多が誘導されることが明らかとなった。特に、Th2細胞由来のIL-13の作用で杯細胞が誘導される。そして、杯細胞はムチンを産生してNbの排虫を誘導する。最近、IL-33がクロー

ニングされ、orphan receptorのST2のリガンドであることが明らかとなった。本研究では、はじめにIL-33のTh2サイトカインの誘導作用、次にそれに伴う腸管の組織学的変化、更にはIL-33投与マウスの腸管寄生虫の排除機序を明らかにする。

B. 研究方法

C57BL/6マウス、あるいはC57BL/6バックのRAG2KO, ST2KO, MyD88KO, IL-13KO, にIL-33を投与し、杯細胞の誘導を組織学的に検討した。PAS染色で杯細胞を同定した。更に、IL-33を投与したマウスに経胃的（外科的）にNb成

虫を投与し、24時間以内の排虫を調べること、排虫能を調べた。

#### (倫理面の配慮)

動物実験は、関係法令を遵守し、「兵庫医科大学動物委員会」、「兵庫医科大学遺伝子組み換え委員会」の承認・許可された実験を行なっている。

#### C. 研究結果

C57BL/6マウスにIL-33単独投与で杯細胞の活性化が誘導された。更に、RAG2KOマウスに投与しても杯細胞からのムチン産生が誘導された。この結果、T/B細胞がIL-33の標的でないことが明らかとなった。次にST2KO, MyD88KO, IL-13KOにIL-33を投与したところ、いずれのマウスでも、杯細胞が誘導されなかったことから、IL-33のシグナルはST2/MyD88依存的で、IL-13の産生を介して杯細胞からのムチン産生を誘導することが明らかとなった。次に、IL-33を投与したマウスに経胃的（外科的）にNb成虫を投与したところ、24時間以内に完全排虫が認められた。この様な排虫効果はIL-13KOでは認められないが、RAG2KOでは認められたことから、IL-33がT/B細胞が不在

でもIL-13を誘導し、杯細胞が誘導され排虫が誘導されることがあきらかとなった。

#### D. 考察

Nb感染に伴い、Th2細胞が誘導され、IL-13が産生されることで杯細胞が誘導されること、また、腸管粘膜上皮あるいは近傍の細胞からIL-33が産生され、その作用でIL-13の産生が誘導され、やはり杯細胞からのムチン産生が誘導され、Nbの排除が起こると考えられる。

#### E. 結論

- (1) IL-33のシグナルはST2/MyD88依存的で、IL-13の産生を介して杯細胞からのムチン産生を誘導することが明らかとなった。
- (2) IL-33がT/B細胞が不在でもIL-13を誘導し、杯細胞が誘導され排虫が誘導されることがあきらかとなった。

#### F. 健康危険情報

該当せず。

## G. 研究発表

### ■ 論文発表 ■

#### [原著]

Seki, E., Kondo, Y., Iimuro, Y., Naka, T., Son, G., Kishimoto, T., Fujimoto, J., Tsutsui, H. and Nakanishi, K. Demonstration of cooperative contribution of MET- and EGFR-mediated STAT3 phosphorylation to liver regeneration by exogenous suppressor of cytokine signalings. *J. Hepatol.*, 48, 237-245, 2008.

Andoh, T., Kishi, H., Motoki, K., Nakanishi, K., Kuraishi, Y. and Muraguchi, A. Protective effect of IL-18 on Kainate- and IL-1 $\beta$ -induced cerebellar ataxia in mice. *J. Immunol.*, 180, 2322-2328, 2008.

Kosaka, H., Yoshimoto, T., Fujimoto, J. and Nakanishi, K. Interferon- $\gamma$  is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. *Nat. Med.*, 14, 437-441, 2008.

Imai, Y., Hayashi, N., Yasuda, K., Tsutsui, H., Mizutani, H. and Nakanishi, K. Freshly isolated Langerhans cells negatively regulate naive T cell activation in response to peptide antigen through cell-to-cell contact. *J. Dermatol. Sci.*, 51, 19-29, 2008.

Kondo, Y., Yoshimoto, T., Yasuda, K., Futatsugi-Yumikura, S., Morimoto, M., Hayashi, N., Hoshino, T., Fujimoto, J. and Nakanishi, K. Administration of IL-33 induces airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia in the lungs in the absence of adaptive immune system. *Int. Immunol.*, 20, 791-800, 2008.

Sakishita, M., Yoshimoto, T., Hirota, T., Harada, M., Ohkubo, K., Osawa, Y., Fujieda, S., Nakamura, Y., Yasuda, K.,

Nakanishi, K. and Tamari, M. Association of IL-33 level and IL-33 genetic variant with Japanese cedar pollinosis. *Clinical & Exp Allergy*, 38, 1875-1881, 2008.

#### [総説]

中西憲司 IL-18 で誘導されるユニークなアレルギー性炎症. *医学のあゆみ*, 227, 367-371, 2008.

中西憲司 アトピー性皮膚炎と気管支喘息において Super Th1 が果たす役割. *アレルギー* 57 (8), 989-994, 2008

今村美智子, 筒井ひろ子, 藤元治朗, 中西憲司. TLR シグナルによる IL-1 と IL-18 と分泌機序. *臨床免疫・アレルギー科*, 50, 147-153, 2008

松葉沙織, 近藤祐一, 善本知広, 中西憲司. IL-33 とアレルギー. *臨床免疫・アレルギー科*, 50, 323-332, 2008.

### ■ 学会発表 ■

#### [指定講演]

中西憲司 アレルギー疾患の複数病因論と Th2 細胞の誘導機序の多彩さ (特別講演) 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会, 11.27-29, 東京, 2008.

Nakanishi K IL-18 and atopic dermatitis :IL-18 might be a therapeutic target molecule for the treatment of infection associated allergic inflammation. (招待講演) *International investigative dermatology* 5.14-17, Kyoto, 2008.

#### [シンポジウム等]

中西憲司, 善本知広 IL1ファミリーサイトカインと自然型アトピー性炎症 (シンポジウム) 第58回日本アレルギー

一学会秋季学術大会, 11.27-29, 東京, 2008.

善本知広, 中西憲司 T 細胞の異常とアレルギー: IL-18 による Super Th1 細胞の誘導と IL-33 による Th2 細胞増強作用. (特別シンポジウム) 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (アレルギー, 57, 1276) 11.27-29, 東京, 2008.

善本知広, 中西憲司 気道炎症疾患と自然免疫: IL-18/IL-33 による自然型気管支喘息の誘導. (シンポジウム) 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会, (アレルギー, 57, 1301) 11.27-29, 東京, 2008.

Nakanishi, K., and Yoshimoto, T. Basophils induce and augment Th2 response. (シンポジウム) 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 12.1-3, 京都, 2008.

Yoshimoto, T., Kosaka, H., Fujimoto, J., Nakanishi, K. IFN- $\gamma$  is a therapeutic target molecule for prevention of postoperative adhesion formation. (シンポジウム) 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 12.1-3, 京都, 2008.

Kondo, Y., Yoshimoto, T., Yasuda, K., Fujimoto, J., and Nakanishi, K. Administration of IL-33 induces airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia in the lungs in the absence of adoptive immune system. (ワークショップ) 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 12.1-3, 京都, 2008.

Yasuda, K., Sasaki, Y., Kondo, Y., Matsumoto, M., Yoshimoto, T., Nakanishi, K. In vivo administration of IL-33 induces goblet cells capable of expelling *Nippostrongylus brasiliensis* in the

absence of adoptive immune system. (ワークショップ) 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 12.1-3, Kyoto, 2008.

中西憲司 術後の腸管癒着も免疫学的機序を基盤に形成される 第五回「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第 5 回 (最終) 公開シンポジウム, 12.15, 東京, 2008.

善本知広, 小坂久, 大橋浩一郎, 中西憲司 好塩基球は IL-4 産生能と抗原提示能の両機能を持ち生体内で Th2 応答を誘導、維持、増強する。「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第 5 回 (最終) 公開シンポジウム, 12.15, 東京, 2008.

松葉沙織, 善本知広, 杉村和久, 伊藤祐二, 北本祥, 森本麻衣, 三村治, 中西憲司 実験的アレルギー性結膜炎モデルにおける IL-33 の病因論的役割の解明。「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第 5 回 (最終) 公開シンポジウム, 12.15, 東京, 2008.

今井康友, 安田好文, 今村美智子, 林伸樹, 善本知広, 山西清文, 筒井ひろ子, 水谷仁, 中西憲司 新規 DC 免疫法: 抗原とアジュバントでパルスした樹状細胞はナイーブマウスに迅速かつ顕著な Th2 応答を誘導する。「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第 5 回 (最終) 公開シンポジウム, 12.15, 東京, 2008.

[一般講演]

安田好文, 佐々木由紀, 近藤祐一, 松本真琴, 善本知広, 中西憲司 IL-33 のマウス生体内投与は *Nippostrongylus brasiliensis* 排虫作用を有する杯細胞を誘導する. 第 77 回日本寄生虫学会大会, 4.3-4, 長崎, 2008.

Tarutani, M., Imai, Y., Tsuda, T., Nakanishi, K. and Yamanishi, K. Psoriasis-like hyperplastic and inflammatory lesions produced by epidemic-specific, inducible activation of Raf in mice. *International investigative dermatology*, 5.14-17, Kyoto, 2008.

小坂久, 善本知広, 中西憲司, 藤元治朗  
術後癒着形成は IFN- $\gamma$  / STAT1 依存性の PAI 亢進による, 第 108 回日本外科学会定期学術集会, 5.15-17, 長崎, 2008.

Kosaka, H., Yoshimoto, T., Nakanishi, K., and Fujimoto, J., Role of NKT cell-driven IFN- $\gamma$  in postoperative adhesion formation. *DDW(AGA)*, 5.17-22, San Diego · USA, 2008.

今井康友, 林伸樹, 安田好文, 筒井ひろ子, 水谷 仁, 中西憲司  
表皮ランゲルハンス細胞は、ペプチド抗原によるナイーブ T 細胞の活性化を細胞間相互作用によって抑制する, 第 29 回日本炎症・再生学会, 7.8-10 東京, 2008.

安田好文, 佐々木由紀, 近藤祐一, 松本真琴, 善本知広, 中西憲司  
IL-33 のマウス生体内投与は獲得免疫応答非依存性に *Nippostrongylus brasiliensis* 排虫作用を有する杯細胞を誘導する, 第 73 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会, 7.10-12, 北海道, 2008.

今村美智子, 安田弘文, 審良静男, 筒井ひろ子, 藤元治朗, 中西憲司  
TLR を介した caspase-1 活性化における TRIF の必要性. 第 73 回インターフェロン・サイトカイン学会学術集会, 7.10-12, 北海道, 2008.

小坂久, 善本知広, 中西憲司, 藤元治朗  
腹腔内術後癒着形成メカニズムの解明と予防, 第 63 回日本消化器外科学会総

会, 7.16-18, 北海道. 2008.

Yasuda, K., Sasaki, Y., Kondo, Y., Matsumoto, M., Yoshimoto, T., Nakanishi, K. In vivo administration of IL-33 induces goblet cells capable of expelling *Nippostrongylus brasiliensis* in the absence of adaptive immune system. The 8<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity, 9.7-11, Hyogo, 2008.

善本知広, 松葉沙織, 中西憲司  
IL-27 による新規抗アレルギー作用; IL-27 による気管支喘息とアレルギー性結膜炎発症の抑制. 第 20 回日本アレルギー学会春季学術大会, 6.12-14, 横浜, 2008.

松葉沙織, 善本知広, 安田好文, 池田誠宏, 三村治, 中西憲司  
RW 特異的 T 細胞株を用いたアレルギー性結膜炎モデル - IL-33 の病因的役割の解析 - . 第 20 回日本アレルギー学会春季学術大会, 6.12-14, 横浜, 2008.

Imamura, M., Tsutsui, H., Yasuda, K., Akira, S., Fujimoto, J. and Nakanishi, K. Requirement of MyD88 and TRIF but not ATP signaling for TLR4-mediated caspase-1 activation. The 8<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity. 9.7-11. Hyogo, 2008.

松葉沙織, 善本知広, 安田好文, 池田誠宏, 三村治, 中西憲司  
ブタクサ花粉特異的実験的アレルギー性結膜炎に対する IL-33 の病因的役割の解析. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 12.1-3, 京都, 2008.

小坂久, 善本知広, 中西憲司, 藤元治朗  
HGF を用いた術後腹腔内癒着形成予防法, 16<sup>th</sup> JDDW, 10.1-4, 東京, 2008.

川浩介, 筒井ひろ子, 松本譽之, 中西憲司 マウスエンドトキシンショックで認める、免疫応答を基盤とした PAI-1 の発現誘導. 第 38 回免疫学会総会・学術集会, 12.1-3, 京都, 2008.

Imamura, M., Tsutsui, H., Yasuda, K., Akira, S., Fujimoto, J. and Nakanishi, K. TLR4 を介した caspase-1 活性化における MyD88 と TRIF の必要性. 第 38 回免疫学会総会・学術集会, 12.1-3, 京都, 2008.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### ■ 特許 ■

特許名称：Th2細胞誘導用組成物およびTh2型疾患の治療組成物、ならびにこれらの利用。

発明者名：善本知広、中西憲司

権利者名：兵庫医科大学

出願番号：特願2008-281930 出願年月日：2008.10.31

特許名称：実験動物の腸管癒着を形成する方法、腸管癒着実験動物の製造方法、腸管癒着抑制剤のスクリーニング方法及び腸管癒着抑制剤。

発明者名：善本知広、藤元治朗、中西憲司

権利者名：兵庫医科大学

国際出願番号：PCT/JP2008/05229 出願年月日：2008.2.14

## 厚生労働科学研究費補助金分担研究報告書

遺伝子改変ハマダラカを作成し空飛ぶ注射器としての実用性を探る

分担研究者 松岡裕之 自治医科大学・教授

研究要旨 遺伝子導入技術により人類に有用なワクチン蛋白を蚊につくらせ、吸血とともにワクチン蛋白を注入してくれる蚊のモデルをつくるため、蚊の唾液腺特有蛋白遺伝子のプロモーター領域に、マラリア蛋白遺伝子をつないでハマダラカ受精卵に注射し、遺伝子導入蚊を作成した。唾液腺にはマラリア蛋白が 1ng 程度発現していたが、マラリア蛋白の唾液への移行はみられなかった。唾液腺で産生された外来蛋白を唾液中に分泌させる技術をさらに開発する必要がある。

### A. 研究目的

マラリアをはじめ各種疾病を媒介するために嫌悪されている蚊であるが、見方を変えると吸血相手に唾液を打ち込んで抗唾液抗体をつくらせる働きをしている。遺伝子導入技術により人類に有用なワクチン蛋白を蚊につくらせ、吸血とともにワクチン蛋白を注入してくれる有益な蚊がつかれないかと考えた。

### B. 研究方法

当ラボで新規に発見したハマダラカ唾液腺特有蛋白遺伝子のプロモーター領域に、マラリア蛋白遺伝子をつないでハマダラカ受精卵に注射し、遺伝子導入蚊を作成した。

### C. 研究結果

遺伝子導入蚊の作成に成功した。その唾液腺にはマラリア蛋白が 1ng 程度発現していた。この蚊群を繰り返しマウスに吸血させたところ、マウスは抗唾液抗体を産生したもののマラリア蛋白に対する抗体は産生しなかった。唾液中におけるマラリア蛋白の測定を試みたところ検出できなかった。

### D. 考察

遺伝子導入蚊の唾液腺においてマラリア蛋白は産生されているものの、唾液中に分泌さ

れておらず、そのため吸血のときマウスに注入されていないことが予想される。

### E. 結論

遺伝子導入蚊の作成には成功した。唾液腺で産生された外来蛋白を唾液中に分泌させる技術をさらに開発する必要がある。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

Yoshida S, Sudo T, Niimi M, Tao L, Sun B, Kambayashi J, Watanabe H, Luo E, Matsuoka H: Inhibition of collagen-induced platelet aggregation by anopheline antiplatelet protein, a saliva protein from a malaria vector mosquito. Blood 111(4): 2007-2014, 2008

#### 2. 学会発表

松岡裕之, 池澤恒孝, 服部隆太, 富田博之, 平井 誠: マラリア原虫蛋白を唾液腺に発現するハマダラカの作成 第60回日本衛生動物学会大会 2008年4月(抄録集 p63)

### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

マラリアにおける宿主病原体相互関係の解析

研究分担者 久枝 一 九州大学医学研究院准教授

**研究要旨** マラリア原虫の免疫回避はワクチン開発の妨げになっている。本研究では制御性T細胞の活性化による免疫回避の詳細なメカニズムを解析した。マラリア原虫感染赤血球が樹状細胞にTLR9を介して相互作用し、その結果樹状細胞が制御性T細胞を活性化することを示した。さらにTLR9欠損マウスでは制御性T細胞の活性化が起こらず致死性感染に部分的に抵抗性を示すことも明らかにした。

A. 研究目的

マラリアに対するワクチン開発が困難な理由の一つにマラリア原虫の持つ巧妙な免疫回避機構が挙げられる。ワクチンが奏効している麻疹等のウイルス感染には一度罹患すると2度と発症させない終生免疫が獲得される。一方でマラリアは流行地で繰り返し感染した人でも何度でも発症することからも免疫系がうまく作動していないことが明らかである。我々はこれまでにマウスマラリアモデルを用いて致死性感染を起こす高病原性の原虫株は宿主免疫の抑制に働くCD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>制御性T細胞(Treg)を選択的に活性化することで宿主免疫を抑制し免疫回避を謀ることを明らかにしてきた。今年度はマラリア原虫によるTregの活性化機構を解析した。

B. 研究方法

近交系マウスにネズミマラリア原虫 *Plasmodium yoelii* 17XL (PyL) を腹腔内に接種して感染させた。感染後の経過を末梢血中の感染赤血球の割合である虫血症率と致死率で評価した。Tregは脾臓よりMACS法により精製し、その機能をT細胞の増殖を抑制する程度で評価した。

全ての動物実験は九州大学倫理委員会の承認を得た後、ガイドラインに従って行われた。

C. 研究結果

1. PyL感染マウスにおけるTregの活性化

マウスにPyLを感染させると全てのマウスで速やかに原虫は増殖し、感染後10日目までに死亡する。これらのマウスの脾臓では

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>foxp3<sup>+</sup>Tregが有意に増加していた。

感染マウスから精製したTregは非感染マウスのものと比較して非常に強い抑制機能を持っていた。以上の結果からPyL感染がTregの増殖を促し、その抑制性の機能を増強することが明らかとなった。そしてこのTregの活性化は樹状細胞とTregと感染赤血球を共培養することによって再現された。

2. Treg活性化における樹状細胞の重要性

感染赤血球をTregとのみ共培養した場合、その活性化は見られなかったため感染赤血球は樹状細胞と作用することが分かった。ついで、樹状細胞による感染赤血球の貪食が必要であること、マラリア原虫によるTregの活性化は抗原非特異的に起こることが明らかとなった。

3. Treg活性化におけるTLR9の関与

感染赤血球は樹状細胞に何らかのシグナルを伝えていることが想定され、またマラリア原虫が種々のTLR (Toll-like receptor) のリガンドを持つことからTLRが関与している可能性が考えられた。そこで、TLRのアダプター分子であるMyD88、TRIF欠損マウスから樹状細胞をTregの活性化実験に供した。TRIFを持たない樹状細胞はTregの活性化を誘導したが、MyD88を欠く樹状細胞は活性化することができなかった。感染赤血球の貪食が必要であったことから関与の考えられるエンドソーム内に局在するTLR3, 7, 9のうち、MyD88を用いるTLR7, 9の関与が考えられたので、各々のノックアウトマウスの樹状細胞を用いた。TLR7を欠く樹状細胞でも活性化が見られたものの、TLR9欠損樹状細胞は活性化させることができなかった。



#### 4. TLR9 欠損マウスにおける PyL に対する抵抗性

Treg の強毒性が Treg の選択的活性化に起因することから、Treg を活性化できない TLR9 欠損マウスでは PyL に対して抵抗性を獲得できることが予想された。実際に、この変異マウスでは野生型で見られる感染後の Treg の活性化が認められなかった。そして、野生型マウスでは致死率は 100% であるがこのマウスでは 50% 程度であり、部分的ではあるが抵抗性をしめすことが確認できた。

#### D. 考察

TLR9 を欠損するマウスでは PyL は制御性 T 細胞を活性化することができず、致死性を十分には発揮することができないことからこの分子の重要性が分かる。TLR は本来病原体を察知して防御免疫を発動するための役割を果たす、とされているが、近年、TLR を介する免疫制御も報告されている。マラリア原虫は TLR9 のリガンドを発現することで樹状細胞に作用し、制御性 T 細胞を活性化させるようにしむけるのであろう。マラリア患者でも急激な原虫の増殖に制御性 T 細胞の増加が関わっていることも示され、我々の知見がマラリアのコントロールに新たな戦略の開発につながることを期待される。

#### E. 結論

マウスマラリア原虫 PyL の致死性の原因となる Treg の活性化に樹状細胞の発現する TLR9 が重要な役割を果たしていることを明らかにした。当初の目的である、マラリア原虫による Treg の活性化メカニズムの解明、の一端を果たした。

#### G. 論文発表

Hisaeda H, Tetsutani K, et al. Malaria parasites require TLR9 signaling for immune evasion by activating regulatory T cells. **J. Immunol.** 180: 2496-2503, 2008.

Tetsutani K, Ishiwata K, Torii M, Hamano S, Hisaeda H, Himeno K. Concurrent infection with *Heligmosomoides polygyrus* modulates murine host response against *Plasmodium berghei* ANKA infection. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 79: 819-822, 2008.

Jangpatarapongsa K, Chootong P, et al. *Plasmodium vivax* parasites alter the balance of myeloid and plasmacytoid dendritic cells and the induction of regulatory T cells. **Eur. J. Immunol.** 38: 2697-2705, 2008.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 該当なし

厚生労働科学研究費補助金（国際医学協力研究事業）  
分担研究報告書

マラリア感染におけるT細胞機能の解析

研究分担者 由井 克之 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科教授

研究要旨

<マラリア>マラリア感染において、CD8<sup>+</sup> T細胞は脳マラリア発症に重要な役割を担っていることが知られているが、その詳細は明らかではない。抗原特異的なCD8<sup>+</sup> T細胞の活性化とマラリア病態への関与を明らかにする目的で、モデル抗原をマウスマラリア原虫*Plasmodium berghei* ANKA (PbA) に導入して新たなモデル実験系を作成した。このモデルを用い、マラリア感染時に抗原特異的・非特異的CD8<sup>+</sup> T細胞の活性化機構と、それらのマラリア病態への寄与を明らかにした。<寄生虫感染免疫>蠕虫感染防御においては、Th2型免疫応答が重要な役割を有している。Th2応答の誘導機構について明らかにするため、転写因子 Interferon regulatory factor-4 (IRF-4) 遺伝子に着目して研究を行った。IRF-4欠損マウスでは、CD4<sup>+</sup> T細胞のTh2への分化が完全に欠如している。しかしながら、IRF-4欠損マウスのナイーブCD4<sup>+</sup> T細胞はT細胞受容体(TCR)刺激に反応してIL-4を産生する能力があることを明らかにした。さらに、IL-4産生において、ナイーブCD4<sup>+</sup> T細胞と記憶CD4<sup>+</sup> T細胞とでIRF-4は異なる機能を有しており、ナイーブCD4<sup>+</sup> T細胞では抑制的に、記憶CD4<sup>+</sup> T細胞では促進的に働くことを明らかにした。

A. 研究目的

脳マラリア発症にCD8<sup>+</sup> T細胞が重要な役割を果たすことが明らかにされている。しかしながら、マラリア赤内型の抗原は明らかにされており、抗原特異的な反応を調べることは不可能であった。そこで、モデル抗原としてマラリア原虫に卵白アルブミン (ovalbumin, OVA) を導入した組換えマラリア原虫 (OVA-PbA) を作成し、OVA特異的TCRトランスジェニックマウスCD8<sup>+</sup> T細胞を用いることにより、マラリア感染におけるCD8<sup>+</sup> T細胞

の動態と脳マラリア発症における役割について明らかにすることを目的とした。

CD4<sup>+</sup> T細胞の分化に関しては、転写因子IRF4がC57BL/6マウスT細胞の試験管内におけるTh2分化には必須であることを以前報告した。今回Th2に分化傾向のあるBALB/cマウスにIRF4 knock-outマウスをバッククロスし、Th2分化を強く誘導することの知られている*Nippostrongylus brasiliensis*感染を行い、Th2分化機能について再度解析することを目的と

した。

## B. 研究方法

組換えマラリア原虫の作成は、三重大学の油田先生との共同研究で行った。遺伝子コンストラクトをPbAに導入後、組換え原虫をラットに感染させて薬剤選択を行い、さらにマウスに感染させてクローニングした。OVAの発現はWestern blot法で解析した。

OVA特異的T細胞受容体トランスジェニックマウスOT-IのCD8<sup>+</sup>T細胞を精製してC57BL/6マウスに受け身移入し、さらにOVA-PbA或いは野性型PbA感染を行った。原虫血症上昇後、CD8<sup>+</sup>T細胞を精製し、OT-I細胞の反応を細胞表面マーカーや細胞内サイトカイン染色により解析した。

Th2分化の研究においては、BALB/cに10世代バッククロスしたIRF4 KOマウスを使用した。マウスに*Leishmania major*或いは*Nippostrongylus brasiliensis*を感染させ、CD4<sup>+</sup>T細胞を精製してサイトカイン産生をELISA或いはreal-time PCR法で測定した。

(倫理面への配慮)

組換えマラリア原虫の作成は、大臣確認実験として承認を得た後に承認された実験計画に沿って行った。動物実験は、長崎大学動物実験規則に則り、委員会の承認を得た実験計画に沿って行った。

## C. 研究結果

モデルマラリア抗原を用いた研究から、

以下の点が明らかになった。

1. 赤内型マラリア抗原特異的CD8<sup>+</sup>T細胞は、抗原提示細胞(主として樹状細胞)によりTAP分子依存性にクロスプレゼンテーションされたマラリア抗原抗原により活性化され、細胞傷害性T細胞へと分化する。

2. 赤内型マラリア抗原に非特異的なCD8<sup>+</sup>T細胞も一部活性化されて細胞傷害性T細胞へと分化する。この活性化には、NK細胞が関与する。ただし、活性化の程度は特異的活性化に比較すると低い。

3. 特異的に活性化されたCD8<sup>+</sup>T細胞は、脳へと特異的に集積し、宿主に対して病的に働く。一方非特異的に活性化されたCD8<sup>+</sup>T細胞には、宿主に対する攻撃的な働きは観察されなかった。

Th2分化に関しては、以下のことが明らかになった

1. 生体内でのTh2分化において、IRF4は必須の役割を担っている。

2. ナイーブCD4<sup>+</sup>T細胞のIL-4などのTh2サイトカイン産生においては、IRF4は抑制的な機能を有している。

3. 記憶CD4<sup>+</sup>T細胞のIL-4産生においては、IRF4は促進的な機能を有している。

## D. 考察

脳マラリアの発症において、マラリア特異的CD8<sup>+</sup>T細胞が深く関わっていることが明らかになった。今後は、その機構と共に、どのようなマラリア抗原が脳マラリア発症に関与するのかを明らかにす

る必要がある。これらの解析により、脳マラリア発症予防ワクチンの開発も可能になると考えられる。

Th2分化に関しては、IRF4の役割をさらに明らかにする必要がある。ここを標的にして、Th2分化を促進することにより蠕虫感染に対するワクチン、或いは逆に分化抑制することによりアレルギーの制御などの応用することが可能になると考えられる。

## E. 結語

脳マラリアの発症に関わるCD8<sup>+</sup> T細胞の活性化と病因との関わりを明らかにした。またTh2分化におけるIRF4の役割の一端を解明した。さらなる研究により、マラリアをはじめとする寄生虫疾患の予防・治療に有用な知見を明らかにしていきたい。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Miyakoda, M., Kimura, D., Yuda, M., Chinzai, Y., Shibata, Y., Honma, K., Yui, K. Malaria-specific and non-specific activation of CD8<sup>+</sup> T-cells during infection with *Plasmodium berghei*. J. Immunol., 181(2) : 1420-1428, 2008.

Honma, K., Kimura, D., Tominaga, N., Miyakoda, M., Matsuyama, T., Yui, K. Interferon regulatory factor-4 differentially regulates the production of Th2 cytokine in naïve vs. effector/memory CD4<sup>+</sup> T-cells, Proc. Natl. Aca

d. Sci. USA, 105: 15890-15895, 2008.

Yamano, T., Sugahara, H., Mizukami, S., Murata, S., Chiba, T., Tanaka, K., Yui, K., Udonno, H. Allele-selective effect of PA28 in MH C class I antigen processing., J. Immunol., 181: 1655-1664, 2008.

Mizukami, S., Kajiwara, C., Ishikawa, H., Katayama, I., Yui, K., Udonno, H. Both CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cell epitopes fused to heat shock cognate protein 70 (hsc70) can function to eradicate tumors. Cancer Science. 99(5):1008-1015, 2008.

### 2. 学会発表

木村大輔、都田真奈、本間季里、木村一美、油田正夫、鎮西康雄、由井克之 マラリア原虫感染により CD4<sup>+</sup> T細胞のサイトカイン産生は抗原非特異的に修飾される 第77回日本寄生虫学会大会 長崎 2008年4月3、4日

都田真奈、木村大輔、本間季里、木村一美、油田正夫、鎮西康雄、由井克之 マラリア感染におけるCD8<sup>+</sup> T細胞の活性化および感染病態・防御における役割 第77回日本寄生虫学会大会 長崎 2008年4月3、4日

本間季里、木村大輔、都田真奈、石渡賢治、松山俊文、由井克之 *Nippostrongylus brasiliensis* 感染排除における転写因子IRF-4の重要性 第77回日本寄生虫学会