

マラリア感染における T 細胞免疫応答の研究

研究協力者 長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・
感染免疫学講座・免疫機能制御学分野 由井 克之

研究要旨

マラリアは世界的に最も重要な感染症のひとつであるが、ワクチンは確立されていない。ワクチン開発の上では、長期間続く免疫記憶と有効な二次応答を誘導することが重要である。マラリア原虫感染では、免疫記憶が誘導されにくい或いは免疫抑制がかかるといわれており、これらの現象を正確に捉えメカニズムを解明することは重要である。本研究では、*Plasmodium berghei* ANKA 感染のマウス実験モデルを用い、CD8⁺ T 細胞の免疫記憶の誘導と記憶 T 細胞の応答に関して解析を行った。その結果、マラリア原虫感染治癒後記憶 CD8⁺ T 細胞が形成されること、記憶 CD8⁺ T 細胞の原虫感染に対する免疫応答はナイーブ T 細胞の応答に比べてより強く抑制されることが明らかになった。

A. 研究目的

マラリア赤外型感染では、不活化スポロゾイトの免疫により完全な防御免疫が成立することがマウスとヒトの実験系で示されている。しかしながら赤内型感染では防御免疫応答が抑制される。さらに一度防御免疫を獲得しても、流行地を離れて原虫フリーになると防御免疫を失う例も指摘されている。即ちマラリアの記憶は、獲得しがたく失いやすいとされる。本研究では、マラリア原虫 *Plasmodium berghei* ANKA のマウス感染実験モデルを用い、マラリアに対する防御免疫の成立と記憶 T 細胞の活性化について、リステリア菌感染の場合と比較検討した。

B. 研究方法

1. マラリア原虫感染後の免疫記憶
実験モデルでは、モデル抗原 OVA(卵白アルブミン)を発現する組換えマラリア原虫 *Plasmodium berghei* ANKA (PbA-OVA) を用いた。対象群は、OVA を発現するリステリア菌 *Listeria monocytogenes* (LM-OVA) を用いた。マウスに 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⁺ T 細胞を受け身移

入し、PbA-OVA 或いは LM-OVA を感染させた。PbA-OVA 感染群では、感染 6 日後から 2 週間にわたり抗マラリア剤で治療し、原虫を排除した。2 ヶ月にわたり末梢血中の OT-I 細胞の比率をモニターした。

2. 記憶 T 細胞のマラリア原虫感染に対する応答

記憶 T 細胞は、*in vitro* で OT-I 細胞に抗原刺激を行い調整するか、*in vivo* で作製した OT-I 記憶細胞をソーティングにより分離して用いた。ナイーブ OT-I 細胞は、Rag ノックアウト OT-I マウス CD8⁺ T 細胞を用いた。記憶 OT-I 細胞とナイーブ OT-I 細胞とを 1:1 で混和し、マウスに受け身移入した。なお、記憶 T 細胞、ナイーブ T 細胞、宿主 CD8⁺ T 細胞を区別するため、CD45.1 と CD45.2 のマーカーを用いた。このマウスに PbA-OVA 或いはコントロールの LM-OVA を感染させ、末梢血や各臓器内の記憶細胞由来 OT-I とナイーブ細胞由来 OT-I 細胞の数をマウス毎に調べた。

記憶 CD8⁺ T 細胞の増殖がマラリア原虫感染において低下する機構を解明するため、PbA-OVA 感染と LM-OVA 感染マウスにおける記

憶とナイーブOT-I由来細胞の細胞表面分子の発現を調べた。

C. 結果

1. マラリア原虫感染後の免疫記憶の獲得

感染2ヶ月後、PbA-OVA感染群では38%、LM-OVA感染群では62%のマウスでOT-I細胞が末梢血中に維持されていた。これらの細胞は、細胞表面分子発現及び機能において記憶細胞であった。さらにOVAを発現する腫瘍細胞の拒絶反応においてもPbA-OVA誘導の記憶細胞はLM-OVA誘導の記憶細胞と同等の能力を示した。

2. 記憶T細胞のマラリア感染に対する応答

記憶とナイーブOT-I細胞を移入したマウスの感染実験に結果、マラリア原虫感染では脾臓、リンパ節、骨髄、脳、肝臓、末梢血においてナイーブ細胞由来のOT-I細胞が記憶細胞由来OT-I細胞よりも著名に増加していた。一方LM-OVAを感染させた場合には、脾臓、骨髄、脳、肝臓、末梢血において記憶細胞由来OT-I細胞が著名に増加していた。リンパ節では逆にナイーブ細胞由来OT-I細胞の方が多かった。応答を抑制する補助シグナル分子であるPD-1とLAG-3の発現は、PbA-OVA感染マウスでは記憶細胞由来OT-Iで亢進していた。一方LM-OVA感染マウスでは亢進していなかった。

D. 考察

少なくとも*P. berghei*感染の動物モデルにおいては、マラリア原虫感染によりCD8⁺T細胞の免疫記憶が成立することが明らかになった。さらにマラリア原虫感染においては、記憶CD8⁺T細胞のクローン増殖がナイーブCD8⁺T細胞に比べて選択的に抑制される可能性が示唆された。記憶細胞に抑制性補助シグナル分子が高発現されることが、マラリア原虫感染における記憶CD8⁺T細胞の増殖抑制に関与している可能性が示唆された。

E. 結論

マラリア原虫感染では、記憶T細胞の活性化がナイーブT細胞に比べより強く阻害される可能性が示唆された。このメカニズムについては今後さらに詳細な研究が必要であるが、ヒトマラリア感染でも同様な抑制がかかる可能性が考えられる。マラリア原虫感染におけ

る免疫制御機構に関する研究は、ワクチンの有効性を確実にするためにも推進する必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文論文

Chapman, L.M., Aggrey, A.A., Field, D.J., Srivastava, K., Ture S., Yui, K., Topham, D.J., Baldwin III, W.M., Morell, C.N., Platelets presents antigen in the context of MHC class I, *J. Immunol.*, 189 (2): 916-923. 2012.

Inoue M., Jianxia T., Miyakoda M., Kaneko O., Yui, K., Culleton R., The species specificity of immunity generated by live whole organism immunization with erythrocytic and pre-erythrocytic stages of rodent malaria parasites and implications for vaccine development, *Int. J. Parasitol.*, 42; 859-870. 2012.

Miyakoda, M., Kimura, D., Honma, K., Kimura, K., Yuda, M., Yui, K. Development of memory CD8⁺ T cells and their recall responses during blood-stage infection with *Plasmodium berghei* ANKA. *J. Immunol.*, 189(9) : 4396-4404. 2012.

2. 学会発表

モデル抗原組換えマラリア原虫を用いた肝細胞期防御免疫機構の解析、木村一美、木村大輔、都田真奈、本間季里、田村隆彦、油田正夫、由井克之、第65回日本寄生虫学会南日本支部大会第62回日本衛生動物学会南日本支部大会合同大会、11月10-11日、2012年

IRF4 controls cytokine signals and plays critical roles for proliferation and differentiation of CD8⁺ T cells. M. Miyakoda, Honma, D. Kimura, K. Kimura, T. Matsuyama, K. Yui 第41回日本免疫学会学術集会、12月5-7日、2012年

CD4⁺ T cells produce EBI-3⁺ cytokine inhibiting their own protective immune responses during infection with malaria parasites. D. Kimura, M. Miyakoda, Honma, K. Kimura, H. Hara, H. Yoshida, K. Yui 第41回日本免疫学会学術集会、12月5-7日、2012年

Negative regulation of Th2-type cytokine

production by IRF4 in natural helper cells. K. Honma, D. Kimura, K. Kimura, M. Miyakoda, M. Kazuyo, S. Koyasu, T. Matsuyama, K. Yui 第41回日本免疫学会学術集会、12月5-7日、2012年

Regulation of T cell responses during infection with *P. berghei* ANKA leading to the protective immunity and pathogenesis of cerebral malaria. D. Kimura, M. Miyakoda, K. Kimura, K. Yui, The 6th Nagasaki symposium on tropical and emerging infectious diseases, The 11th Nagasaki-Singapore medical symposium. Dec. 10-12, 2012

Development of memory CD8⁺ T cells and their recall responses during blood-stage infection with *Plasmodium berghei* ANKA., M. Miyakoda, D. Kimura, K. Honma, K. Kimura, M. Yuda, K. Yui. Immunological mechanisms of vaccination, Part of the Keystone symposia global health series, Dec. 13-18, 2012.

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