

機関番号：12301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590421

研究課題名（和文）感染増悪を導くマラリア免疫応答の分子的解析

研究課題名（英文）Molecular study of anti-protective immune response upon malaria

研究代表者

鈴江 一友（SUZUE KAZUTOMO）

群馬大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：00333485

研究成果の概要（和文）：

われわれはマラリアにおいて原虫非特異的T細胞が影響を受けることを見出した。本現象のメカニズムとそれがもたらす影響を解析したところ、通常のT細胞の活性化とは全く異なる経路で影響を受けていることを見出した。また感染マウスの非特異的T細胞の機能変化はリステリア感染や接触性皮膚炎といったマラリアと無関係の免疫症状に影響を及ぼすことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

We have observed the functional changes of parasite-nonspecific T cells upon infection with *Plasmodium*. In this study, we addressed about the mechanisms and its impact of functional changes of parasite-non-specific T cells. First we identified that the functional changes of T cells are distinguishable of the activation pathway of conventional T cells. Next we identified that functional changes of T cells are influenced with another immune responses such as protection against *Listeria* and DNFB-induced contact hypersensitivity reaction.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2008年度 | 1,400,000 | 420,000 | 1,820,000 |
| 2009年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 2010年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,600,000 | 1,080,000 | 4,680,000 |

研究分野：寄生虫学

科研費の分科・細目：基礎医学・寄生虫学（含衛生動物学）

キーワード：マラリア、防御免疫、免疫記憶、ワクチン、マウス

1. 研究開始当初の背景

免疫系には「特異性」というルールがあり、このルールが正しく守られていなければ、ある病原体の感染を受けた場合に、病原体とは全く無関係な免疫細胞が増殖・活性化してしまうことになる。そうすれば、実際に感染を受けた病原体に対する防御免疫の成立を阻害するだけでなく、一定の割合で体内に存在

する自己応答性リンパ球やアレルゲンに対するリンパ球などが活性化し、それらの諸症状が発現する危険性がある。

一方、マラリアは流行地の住民間で反復感染し、免疫記憶が成立しにくい感染症として認知されている。我々はなぜマラリアで免疫が成立しにくいのかを追究したところ、マラリア原虫とは全く無関係な（非特異的な）T

細胞が、感染によって何らかの影響を受けていることを見出した。本申請ではマラリア防御応答にマイナスの効果を与えると考えられるマラリア抗原非特異的 T 細胞と防御免疫・免疫記憶の成立との関係にフォーカスをあて、マラリア防御免疫や免疫記憶の形成に対し、このマラリア非特異的 T 細胞の存在がどのように影響を与えるのかについて明らかにすることを目的として研究を進めた。またそれを踏まえ、われわれは本現象のメカニズムとそれがもたらす影響を解析した。

2. 研究の目的

マウスマラリア原虫感染モデルにおいてマラリア非特異的 CD8⁺T 細胞の存在が防御免疫応答・免疫記憶の成立にどのような影響を与えるかについて検討を加えた。またマラリア原虫の感染で生じる原虫非特異的免疫応答が起こるメカニズムと、それによってもたらされる種々の影響について検討を行った。

3. 研究の方法

マラリア弱毒株 *Plasmodium berghei* XAT の感染において、どのようなメカニズムで原虫非特異的 T 細胞が機能変化を受けるのかについて、リンパ節を欠損する *aly/aly* マウス、ジフテリア毒素投与によって CD11c⁺樹状細胞を消去することが出来る CD11c-DTRtg マウス、CD8⁺ T 細胞を欠損する MHC class I 欠損マウス、CD4⁺ T 細胞を欠損する MHC class II 欠損マウスなど、各種ノックアウトマウス及びトランスジェニックマウスを用いて感染マウス T 細胞の解析を行った。

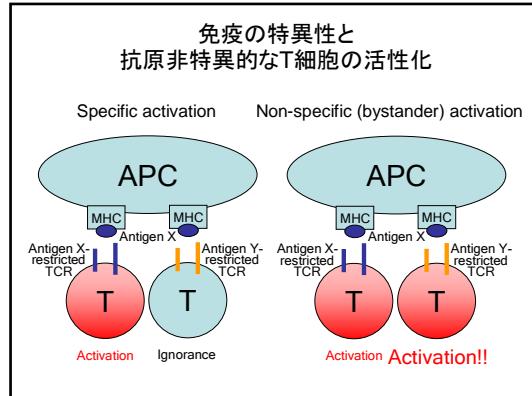
またマラリア感染マウスにおいて、感染によって起こる原虫非特異的 T 細胞の機能変化によってもたらされる種々の影響を評価するために、リステリア感染モデル及び接触性皮膚炎モデルをもちい、マラリア感染によってリステリア防御能がどう変化するか、また感染によって接触性皮膚炎症状がどう変化するかについて検討を行った。

4. 研究成果

まずマウス体内のどの臓器中で T 細胞機能変化が起こるのかについて、感染マウスのリンパ節と脾臓における T 細胞の機能変化について解析を行ったところ、いずれの二次リンパ器官においてもマラリア原虫非特異的 T 細胞の活性化マーカー CD62L の発現低下が認められた。次に脾臓摘出マウスやリンパ節を欠損する *aly* マウスに原虫を感染させ、これらのマウスの T 細胞を解析したところ、いずれのマウスにおいても原虫非特異的 T 細胞の CD62L の変動が認められた。以上の結果から、二次リンパ器官が T 細胞機能変化の場ではないことが推察された。この知見は、マラリア非特異的 T 細胞の機能変化が、通常の抗原特

異的な T 細胞の活性化とは全く異なる経路によって起っていることを示唆するものであった。

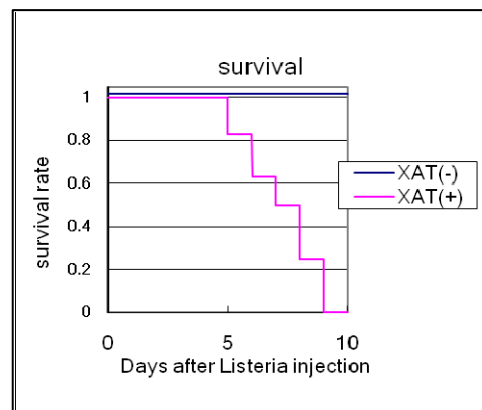
次にこの原虫非特異的 T 細胞の機能変化にどのような細胞・分子が関与しているかを調べるために、T 細胞の活性化に関与する種々の細胞や分子を欠損するマウスを用いて解析



を行った。すると、樹状細胞をコンディショナルに欠損させる CD11c-DTRtg マウス、MHC class I 欠損マウス、MHC class II 欠損マウス、いずれのマウスにおいてもマラリア感染で起こる原虫非特異的 T 細胞の CD62L の変動が認められた。以上の結果からも、感染における原虫非特異的 T 細胞の機能変化は通常の T 細胞の活性化とは全く異なる経路によってもたらされる現象であることを示唆するものであった。

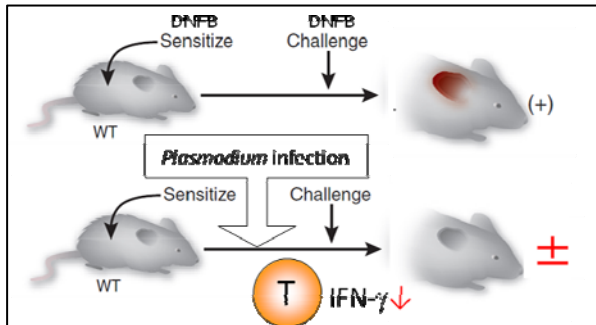
以上の結果から、マラリアで観察される非特異的 T 細胞の機能変化は、通常の T 細胞の活性化とは全く異なる経路で起こっていることを見出した。

つぎにマラリアで起こる原虫非特異的 T 細胞の機能変化によってどのような影響がもたらされるかについて、マラリア感染マウスにリステリア菌を感染させ、その防御免疫と免疫記憶の成立について検討を加えた。マラリア感染マウスに 10⁶ 個のリステリア菌を感染させたところ、マラリア非感染マウスでは全頭がリステリア感染を克服したのに対し、マラリア感染マウスでは、全頭が感染を克服できずに死亡した。またマラリア感染マウス



ではマラリア非感染マウスと比較して、脾臓中及び肝臓中のリステリア菌数が10-1000倍認められた。またマラリア感染マウスにおけるリステリア抗原特異的(マラリア原虫非特異的) T細胞応答を解析したところ、リステリア抗原再刺激によるT細胞由来のIFN- γ 生産が著しく傷害されていた。以上の結果から、マラリア感染によって、リステリア防御能が著しく傷害されることを見出した。また予めリステリアに対する免疫記憶を獲得したマウスに対して、マラリア感染によってその免疫記憶が影響を受けるかどうかを検討したところ、マラリア感染マウスではリステリアに対する防御免疫記憶も著しく抑制されていた。

次に接触性皮膚炎モデルにマラリア感染を導入した時、その症状の変化及びアレルギー特異的(原虫非特異的)免疫応答が感染によってどのような影響を受けるのかについて検討を加えた。DNFBを塗布して接触性皮膚炎を誘起させたマウスにマラリア弱毒株 *P.*



berghei XAT を感染させると、マラリア非感染マウスと比較して、皮膚炎の軽快効果が認められた。この軽快効果は DNFB 特異的 T細胞(マラリア非特異的 T細胞) 由来 IFN- γ 生産の低下によるものであった。以上の結果から、マラリアで見られる原虫非特異的 T細胞の機能変化は、マラリア以外の病原体感染防御応答やアレルギー応答などの免疫応答に対して明らかに影響を及ぼしていることを見出した。

本結果はマラリア浸淫地において、マラリア感染の密度と HIV の感染者の密度とが地域的に重なる傾向にあること、マラリア感染が EB ウイルスによるパーキットリンパ腫を悪化させること、また寄生虫感染の密度とアトピー性皮膚炎の発症密度とが逆相関を示す疫学的事実など、マラリア感染による他の免疫応答に対する影響を説明することが可能な実験的事実かもしれない。

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 4 件)

1. Matsuzaki-Moriya C, Tu L, Ishida H,

Imai T, Suzue K, Hirai M, Tetsutani K, Hamano S, Shimokawa C, Hisaeda H. A critical role for phagocytosis in resistance to malaria in iron-deficient mice. *Eur J Immunol.* 41. 1365-75. 2011 査読有。

2. Morimoto N, Murata Y, Motegi SI, Suzue K, Saito Y, Okazawa H, Ohnishi H, Kotani T, Kusakari S, Ishikawa O, Matozaki T. Requirement of SIRP α for protective immunity against *Leishmania major*. *Biochem Biophys Res Commun.* 22. 385-9. 2010. 査読有

3. Ishida H, Matsuzaki-Moriya C, Imai T, Yanagisawa K, Nojima Y, Suzue K, Hirai M, Iwakura Y, Yoshimura A, Hamano S, Shimokawa C, Hisaeda H. Development of experimental cerebral malaria is independent of IL-23 and IL-17. *Biochem Biophys Res Commun.* 26. 790-5. 2010 査読有

4. Suzue K, Kobayashi S, Takeuchi T, Suzuki M, Koyasu S. Critical role of dendritic cells in determining the Th1/Th2 balance upon *Leishmania major* infection. *Int. Immunol.* 20. 337-43. 2008 査読有

[学会発表] (計 2 件)

1. Suzue K, Udagawa M, Kitamura Y, Hisaeda H, Koyasu S, Suzuki M, Parasite non-specific T cells were suppressed upon malaria infection, 14th International congress of immunology, 2010. 8. 22, 神戸国際会議場(神戸市)

2. 鈴江 一友, 宇田川 麻衣, 北村 裕太, 久枝 一, 小安 重夫, 鈴木 守, マラリア感染で起こる原虫非特異的 T細胞の機能修飾によってもたらされる影響, 第79回日本寄生虫学会大会, 2010. 5. 20, 旭川市

[図書] (計 4 件)

1. 鈴江一友, 「感染症モデル」、秋山徹、河府和義編、「動物モデル活用ハンドブック」、羊土社、239-251 ページ、2011 年

2. 鈴江 一友, 鈴木 守, 「マラリア」、喜田宏編、「人獣共通感染症」、医薬ジャーナル社、423-430 ページ、2011 年

3. 鈴江一友, 鯉淵典之, 「増殖因子をはじめとする各種サイトカインはどう作用するのか?」、岡田隆夫編、「カラーイラストで学ぶ集中講義 生理学」、メジカルビュー社、2008 年、312-313 ページ

4. 鈴江 一友, 小安 重夫, リーシュマニ

ア原虫と樹状細胞、稲葉 カヨ 編、実験医学増刊 Vol.26 No.20 樹状細胞による免疫制御と臨床応用、羊土社、3273-78 ページ、2008 年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴江 一友 (SUZUE KAZUTOMO)

群馬大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：00333485