

マラリア感染における宿主の免疫応答と感染防御機構

誌名	動物の原虫病 = Journal of animal protozoosis
ISSN	09157506
著者	小林, 富美恵
巻/号	16巻2号
掲載ページ	p. 60-67
発行年月	2001年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



マラリア感染における宿主の免疫応答と感染防御機構 —赤内型原虫感染における T 細胞とサイトカイン—

小林 富美恵

* 杏林大学医学部感染症学講座

Protective Immunity to Blood Stage Malaria : —Role of T cells and Cytokines in Murine Malaria—

Fumie KOBAYASHI

Department of Infectious Diseases, Kyorin University School of Medicine,
6-20-2, Shinkawa, Mitaka, Tokyo 181-8611, Japan

(Received 21 October, 2001)

Abstract In both humans and rodents, an effective immune response can be accumulated against malaria parasites, but the mechanisms by which the host response kills the parasite or inhibits its growth mostly remain to be determined. Accumulating evidence suggests that $\gamma\delta$ T cells participate in the immune response to malarial parasites. Although $\gamma\delta$ T cells constitute a minority of T cells, these cells have been shown to participate in the immune response to several infectious organisms including malarial parasites. Increased numbers of $\gamma\delta$ T cells have been found in the peripheral blood and the spleen of patients with malaria. We have studied the functional role of $\gamma\delta$ T cells in immunity to malaria by using murine malaria models. In this review, the author summarizes the role of $\gamma\delta$ T cells and reports that $\gamma\delta$ T cells as well as $\alpha\beta$ T cells are essential for protective immunity in *Plasmodium berghei* blood-stage malaria. On the other hand, our previous report showed that mice infected with *P. yoelii yoelii* produced Th1- and Th2-type cytokines such as IFN- γ and IL-10 in response to malarial antigens early in the infection. The involvement of such cytokines in exacerbation or regulation of blood stage *P. y. yoelii* malaria will be also discussed in this review.

Key words : malaria, protective immunity, $\gamma\delta$ T cell, cytokine, *Plasmodium berghei*, *Plasmodium yoelii*

Journal of Animal Protozooses Vol. 16, No. 2 : 60-67, 2001

1. はじめに

マラリア原虫感染の結果おこる様々な病態は、宿主免疫応答の複雑な相互作用に依存しており、マラリア原虫と宿主の双方がその時々におこる状況を決定している。

しかし、マラリアにおける免疫応答やその制御機構に関与する細胞や因子に関する情報はいまなお不足している。それ故に、発症の機序のみならず、マラリア原虫が宿主と安定で症状のない関係を保つための巧妙な策略や、宿主が免疫応答を効率的に稼働し遂にはこの原虫を排除してゆくその仕組みについても、その多くがまだ明らかではない。

マラリア原虫に感染すると宿主には様々な T 細胞応

* 〒181-8611 東京都三鷹市新川 6-20-2
Tel : 0422-47-5511

答が惹起されるが、これらのうち CD4 陽性 $\alpha\beta$ T 細胞が、特に Th1 タイプサイトカインの産生などを介して赤内型感染における防御免疫や時には病態形成に深く関与する事が知られるようになってきた。これに対してマイナーな細胞集団である $\gamma\delta$ T 細胞については、*in vitro* 系においてヒト $\gamma\delta$ T 細胞が熱帯熱マラリア原虫のメロゾイトに対して殺滅効果を有すること⁵⁾ などから防御・病態形成への関与が示唆されていたものの、その詳細は明らかではなかった。そこで筆者らは、マウスマラリア原虫の *Plasmodium yoelii* や *P. berghei* 感染系を用いて、マラリア感染に伴う脾臓内の T 細胞応答やそれを除去した場合の特異的抗体産生などについて調べ、 $\gamma\delta$ T 細胞が CD4 陽性 $\alpha\beta$ T 細胞との interplay によってマラリア防御免疫において極めて重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。一方、多くの細胞内寄生原虫感染に認められる如く、マラリア原虫感染においても様々なサイトカイン応答が宿主に惹起される。筆者らは Th1 サイトカインと Th2 サイトカインの感染防御・病態形成における役割についてもマウスモデルを用いて検討し、*P. yoelii* 強毒株感染では Th1 型と Th2 型 T 細胞が感染初期に同時に活性化することをまず明らかにした⁹⁾。さらに、IL-10 が Th2 型細胞によって産生される主要なサイトカインの一つであり、その除去によってマウスは生残あるいは延命することなどから、この Th2 サイトカインが IFN- γ 産生の抑制を介して *P. yoelii* マラリアにおける病態の増悪・致死性に関与するとの仮説を提唱し、各種サイトカインに対するモノクローナル抗体の投与実験や¹⁰⁾ 遺伝子欠損マウスを用いることによって（投稿中）これを明確にした。一方、感染経過に伴い Th1-Th2 スwitchングが起こるマウスマラリアではこの Th2 サイトカインが防御に関与するとの議論がなされたが、筆者らは、この Th2 サイトカインはむしろ制御的役割を果たしているという結果を *P. berghei* 弱毒株感染系において得た。本稿では、マラリア原虫の赤内型感染における T 細胞とサイトカインの役割に関して、特に、マウスモデルで得られた知見をもとに概説したい。

2. マラリア感染防御免疫における CD4 陽性 T 細胞の役割

如何にして脊椎動物である宿主が赤内型マラリア原虫を体内から排除するのか、その詳細なメカニズムはまだ明らかにされていない。多くの研究者たちによって、宿主体内における赤内型マラリア原虫の殺滅あるいは増殖阻止は、宿主の細胞性免疫と体液性免疫の両機構の共同作用によってなされると考えられてきた。

T 細胞はマラリアの治癒に必須であると考えられている²⁹⁾。Weidanz のグループは、*Plasmodium chabaudi adami* 感染において胸腺を欠損するヌードマウスが血液中からこの原虫を排除することが出来なかったことから、*P. c. adami* による赤内型感染は T 細胞依存性であり抗体非依存性の免疫機構によって治癒すると考え、それを実証すべく研究を進めた。その結果、感染耐過後免疫を獲得したマウスの脾臓の CD4 陽性 T 細胞を移入すると、レシピエントのヌードマウスはこの原虫の感染を抑制し⁴⁾、これらの脾細胞から樹立された抗原特異的 T 細胞ライン・クローン (Th1 細胞) の移入もまたヌードマウスを感染から防御した^{2,3)}。即ち、それらの細胞を移入されると、マウスはその後の感染に対して原虫血症の上昇を示さなかったのである。抗原特異的な Th1 タイプ細胞ライン・クローンを移入されたマウスだけが治癒したことから、このマラリア原虫における赤内型感染に対する抵抗性には、CD4 陽性 T 細胞が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。特異的モノクローナル抗体で CD4 陽性 T 細胞を除去すると、*P. chabaudi* や *P. berghei* 弱毒株 (XAT) 感染においても防御免疫が抑制されたことから^{16,24,37)}、マラリア原虫赤内型感染における CD4 陽性 T 細胞の重要性は広く受け入れられるようになった。CD8 陽性 T 細胞については、*P. chabaudi*、*P. vinckei vinckei* や *P. yoelii* 17X、*P. berghei* の弱毒株の赤内型感染において CD8 陽性 T 細胞を抗体により除去しても、あるいは、免疫マウス脾臓由来 CD8 陽性 T 細胞をレシピエントマウスに移入してもその感染動態に何の影響も認められないことから、赤内型感染防御機構への関与は低いとされている^{12,13,35,37)}。

P. chabaudi 赤内型マラリアの感染初期には、まず細胞性免疫が賦活化され、体液性免疫の防御的役割は低いと考えられている³⁹⁾。このことは、*P. c. adami* 感染初期に認められる急性の赤内型マラリアが、B 細胞を除去したマウスにおいても正常マウスと同様の経過を辿って治癒する⁶⁾ ことなどから示唆されたが、同様の結果が *P. vinckei petteri*、*P. chabaudi chabaudi*、*Babesia microti* 感染でも得られている⁴¹⁾。さらに *P. chabaudi* 感染では、CD4 陽性 T 細胞は感染初期に IL-2 や IFN- γ (Th1 タイプサイトカイン) を、後期に IL-4 (Th2 タイプサイトカイン) を産生していることから、感染中に Th1 から Th2 へのフェノタイプのスイッチングが起こっており、Th1 細胞が細胞性免疫を賦活化させて急性期の高い原虫血症を抑制し、Th2 細胞が体液性免疫を賦活化させて感染後期に残る原虫を一掃すると考えられている¹⁵⁾。

3. マラリア感染免疫と $\gamma\delta$ T 細胞

T細胞のマラリア原虫感染赤血球に対する効果を考える時、考慮しなくてはならないのは赤血球表面上のMHC分子の欠如である。 $\gamma\delta$ T細胞はMHC拘束性・非拘束性の両方の機構により標的を攻撃しうる細胞傷害性のT細胞であるため、このMHC分子が欠如していても原虫感染赤血球に対して細胞傷害作用を起こす可能性を有する。Hoら⁸⁾とROUSSILHONら²¹⁾は、急性期の熱帯熱マラリア患者の末梢血の $\gamma\delta$ T細胞が有意に増加していることを見いだした。さらに、MINOPRIOら¹⁸⁾とVAN der HEYDEら³¹⁾はそれぞれ、*P. chabaudi*感染マウスと*P. c. adami*感染マウスの脾臓内 $\gamma\delta$ T細胞の有意な増加を認めた。特に、*P. c. adami*感染マウスでは $\gamma\delta$ T細胞は感染期間に依存して増加するが、この時、CD3陽性細胞中のTCR $\gamma\delta$ を発現する細胞の増加は、TCR $\alpha\beta$ を発現する細胞の減少に伴って起こった。即ち、これらのデータは、 $\gamma\delta$ T細胞こそがマラリア原虫抗原に応答してその増殖が有意におこるT細胞サブセットであることを示唆している。WEIDANZのグループは、*P. c. adami*感染において脾臓摘出により感染が増悪することを見出し、構造的にintactな脾臓が*P. c. adami*のクリアランスに必要なことを示した⁷⁾。赤脾髄は脾臓内のエフェクター細胞が原虫感染赤血球と接触出来る場所として重要であると考えられているが、彼らは $\gamma\delta$ T細胞が脾臓内でこの赤脾髄にのみ局在することを観察している(WEIDANZ, 私信)。このように、マラリア原虫感染マウスにおいて $\gamma\delta$ T細胞が $\alpha\beta$ T細胞よりも脾臓内で優位な増殖を示すことやその局在性から、このT細胞サブセットが赤内型マラリア原虫の防御免疫に関与する細胞なのかどうかについて興味もたれるようになり、*P. c. adami*の他、*P. c. chabaudi*や*P. yoelii* 17X感染における $\gamma\delta$ T細胞の動態や役割について調べられるようになった。ここでは、感染動態が*P. yoelii*感染系とも*P. chabaudi*感染系とも異なり、いわゆる急性期の赤内型感染において細胞性免疫と体液性免疫の両方が関与する*P. berghei*の弱毒株(XAT)感染免疫系^{37,38)}を用いて筆者らが得た結果を紹介する。

3.1. *P. berghei* XAT感染マウスにおける $\gamma\delta$ T細胞のexpansion

Plasmodium berghei XATは、強毒株である*P. berghei* NK65をX線照射して得られた弱毒化変異体である³⁶⁾。*P. berghei* NK65はマウスに対し致死感染を起こすが、*P. berghei* XAT感染では、多くのストレインのマウスは急性の赤内型感染を起こした後、自然治癒す

る。さらに、この変異株の感染では、感染耐過した宿主はその後の強毒株感染に対して強い防御免疫を獲得する。各種CD抗原に対するモノクローナル抗体の投与実験により、*P. berghei* XAT感染においても他のマウスマラリアと同様、CD4陽性T細胞が防御免疫に関与することが明らかとなっている³⁷⁾。この感染系を用いて、 $\gamma\delta$ T細胞の防御免疫への関与について検討した。本原虫感染赤血球 1×10^4 を正常マウスの静脈内に接種すると、接種後5~6日目に赤血球感染率が1~2%に達した後(第1ピーク)急激に低下する。その後12~13日目に5~10%のピークに至り(第2ピーク)、やがて治癒する。そこで本原虫感染後、7日目、14日目、24日目、49日目の各時期にフローサイトメーターにより脾臓中の $\alpha\beta$ T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞の増殖について調べた。その結果、原虫血症の第1ピークと第2ピーク付近の7日目と14日目では非感染マウスのそれと比較して有意差は認められなかったが、原虫血症下降期である感染後24日目では、 $\gamma\delta$ T細胞が著しく増加していた。この時、 $\alpha\beta$ T細胞も同様に増加したが、 $\alpha\beta$ T細胞総数が非感染マウスの2~3倍であったのに対し、 $\gamma\delta$ T細胞は約10倍以上を示すものもあった。しかし、原虫が血中から排除された後しばらく経過した49日目では、 $\gamma\delta$ T細胞数は減少傾向にあった。以上のように、*P. berghei* XATマラリアにおいても他のマウスマラリアと同様、原虫感染期間中に $\gamma\delta$ T細胞数が著明に増加することが明らかとなった。

3.2. *P. berghei* XATマラリアにおける $\gamma\delta$ T細胞の防御的役割

種々のマラリア原虫感染において $\gamma\delta$ T細胞数の増加が認められることから、この細胞がマラリア原虫のクリアランスに関与する可能性が考えられる。しかし、 $\gamma\delta$ T細胞が防御的役割を持つという確証を得るには、宿主体内のこれらの細胞を特異的に除去し、そうした $\gamma\delta$ T細胞欠損宿主が感染を治癒することが出来ないことを示す必要がある。TCR $\gamma\delta$ に対するモノクローナル抗体をマウスに投与すると、 $\gamma\delta$ T細胞を特異的に除去することが可能である。そこで筆者らは、*P. berghei* XAT原虫初感染における治癒に $\gamma\delta$ T細胞が必須であるかどうかを調べるため、また、その際のCD4陽性T細胞の関与についても同時に検討するため、抗TCR $\gamma\delta$ 抗体と抗CD4抗体を投与したマウスにおける原虫血症を調べた。その結果、コントロール群では、感染後2週目に赤血球感染率のピークを認めた後、3~4週目には自然治癒したのに対し、 $\gamma\delta$ T細胞を除去した群では、感染後2週目以降も赤血球感染率は上昇し、感染後3~6週目まで25%~40%

の間を推移して、中には死亡するマウスも認められた。

これらの結果から *P. berghei* XAT 初感染における治療には $\gamma\delta$ T 細胞が必須であると考えられた。また、CD4 陽性 T 細胞を除去したマウスでは、*P. berghei* XAT 感染による $\gamma\delta$ T 細胞の増加が認められなかったことから、 $\gamma\delta$ T 細胞の増殖には CD4 陽性 T 細胞の存在が必要であることが明らかとなった。本原虫感染では、マウスから CD4 陽性 T 細胞を除くと自然治療出来なくなることは既に報告されている³⁷⁾、その原因の一つに $\gamma\delta$ T 細胞が関与している可能性が示唆された。

本原虫感染の防御免疫は T 細胞由来の IFN- γ への依存性が極めて高いが、IL-4 はこの防御系に影響を与えないことが知られている³⁷⁾。そこで、 $\gamma\delta$ T 細胞および CD4 陽性 T 細胞の除去がマラリア感染におけるサイトカイン応答に及ぼす影響を調べた。その結果、CD4 陽性 T 細胞除去群では感染初期の脾細胞による IFN- γ 、IL-4、IL-10 などのサイトカイン産生は完全に阻害されたが、 $\gamma\delta$ T 細胞除去群では特に IFN- γ 応答が抑制されていた。また、マラリア原虫特異的抗体の産生について調べたところ、 $\gamma\delta$ T 細胞除去群では、マラリア原虫特異的 IgG2a 抗体の産生が阻害されていた。IgG2a は、Th1 型サイトカインにより産生が促進されると考えられている。これらの結果により、*P. berghei* XAT マラリアにおいて本原虫のクリアランスには $\gamma\delta$ T 細胞が必須であり、 $\gamma\delta$ T 細胞は Th1 タイプサイトカインを介して防御に関わることが示唆された。

3.3. $\gamma\delta$ T 細胞の再感染防御における役割

P. berghei 弱毒株 (XAT) を接種し感染耐過後に致死性の強毒株 *P. berghei* NK65 を接種すると、感染は抑制され宿主は死から免れる。即ち、宿主は attenuated vaccine により、強い感染抵抗性を賦与されたことになる。この免疫環境が、 $\gamma\delta$ T 細胞のみの除去により破綻し得るかどうかを調べた。弱毒株感染耐過後のマウス (免疫マウス) に強毒株をチャレンジした後に $\gamma\delta$ T 細胞を除去すると、原虫血症は一時低下するもののやがて急上昇してチャレンジ後 2 週目には平均 83.4% の赤血球感染率を呈し、死亡するマウスも認められた。この時、 $\gamma\delta$ T 細胞を除去した免疫マウスでは、マラリア原虫抗原特異的 IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM の血中レベルが対照群のマウスに比べて低下していた。特異的 IgG1 の血中レベルには有意差が認められなかった。さらに、フローサイトメーターにより脾臓中の各種細胞の population を調べると、 $\gamma\delta$ T 細胞を除去した免疫マウスでは CD4 陽性 T 細胞 (CD3⁺CD4⁺) と B 細胞 (CD3⁻B220⁺) のどちらも感染による増殖が抑制され、その総数・割合と

もに非感染マウスと同程度にまで減少していた。

以上、*P. berghei* XAT マラリアでは、初感染における原虫排除機構においても弱毒株感染により賦与された再感染防御のための免疫環境の維持においても、 $\gamma\delta$ T 細胞が極めて重要な役割を果たすことが示唆された (投稿中)。 $\gamma\delta$ T 細胞は特異抗体産生への関与あるいはエフェクター細胞の増殖を介してマラリア原虫感染宿主の attenuated vaccine による免疫環境を維持すると考えられるが、その詳細なメカニズムについては、さらに検討を進める必要がある。

3.4. 各種マラリア感染における $\gamma\delta$ T 細胞の防御的役割

これまで、マウスマラリアにおける $\gamma\delta$ T 細胞の増殖については、*P. chabaudi adami* (株名: 556KA)^{19,31)} の他、*P. chabaudi chabaudi* (株名: AS)³¹⁾、*P. vinckei petteri* (株名: CR)³³⁾ や *P. yoelii yoelii* (株名: 17X)³²⁾ が感染したマウスでの報告がなされている。しかし、 $\gamma\delta$ T 細胞の防御効果について直接的な確証が得られているものは、決して多くはない。赤内型感染の防御免疫が主に体液性免疫機構に依存している *P. yoelii* 17X (non-lethal; NL) 感染では²⁵⁾、遺伝的に $\alpha\beta$ T 細胞を欠損するマウスが血液中のマラリア原虫をコントロール出来なかったのに対して、 $\gamma\delta$ T 細胞欠損マウスは正常マウスと同様の感染動態を示して赤内型原虫を排除した³⁰⁾。さらに、遺伝的に B 細胞を欠損する J μ D マウスに *P. y. yoelii* を感染させると $\gamma\delta$ T 細胞は約 100 倍に増殖したのにもかかわらず、マウスは原虫を排除できなかった³²⁾。これらのことから、*P. yoelii* 赤内型感染における防御機構への $\gamma\delta$ T 細胞の関与は、高いとはいえないと考えられる。*P. yoelii* 17X NL 感染については、その後、T 細胞中に $\gamma\delta$ T 細胞が占める割合が、抵抗性マウスは感受性マウスより、弱毒株感染は強毒株感染よりそれぞれ多いことが報告されるなど¹¹⁾、 $\gamma\delta$ T 細胞が赤内型感染の免疫に関与する可能性が示唆されてはいるものの、直接的な実験的証拠は得られていない。一方、赤内型感染の防御免疫が主に細胞性免疫機構に依存している *P. c. adami* では^{14,34)}、当初、正常マウスから抗体処理により $\gamma\delta$ T 細胞を除去するとマウスは原虫をコントロール出来なかったという報告³²⁾と、同様な実験でマウスは原虫を排除できたという報告²²⁾があり混乱したが、前者のグループはその結果を最近の報告で事実上訂正している⁴²⁾。現在では、 $\gamma\delta$ T 細胞と B 細胞を遺伝的に欠損したダブルノックアウトマウスを用いた結果から、 $\gamma\delta$ T 細胞は急性期の赤内型感染 (原虫接種後 3~4 週間で原虫血症がピークを示した後 0.01% 以下になる頃までを急性

期という場合が多い) をクリアするには必須ではないが、その後の慢性期の原虫を排除するのに必要であると考えられている⁴²⁾。また、*P. c. chabaudi* でも同様の考察がなされている^{17,23)}。このように、防御システムを体液性免疫に依存する *P. yoelii* 感染系に比べ、細胞性免疫への依存度が高い *P. chabaudi* 感染系では、 $\gamma\delta$ T 細胞の防御免疫への関与がより高くなる傾向が認められるようである。

こうした中で、筆者らが *P. berghei* の弱毒株 (XAT) 感染で得た結果は興味深い。この原虫の赤内型感染系では、intact のマウスから $\gamma\delta$ T 細胞を除去しただけで、マウスは感染をコントロールすることが出来なかった。このことは、*P. berghei* XAT 原虫の殺滅・排除に $\gamma\delta$ T 細胞が極めて重要な役割を担っていることを意味する。マラリア免疫における $\gamma\delta$ T 細胞の機能を知る上でこの感染系は有用なモデルとなると思われる。

4. Th1/Th2 タイプサイトカインと防御免疫

CD4 陽性 T 細胞が、赤内型のマラリア原虫感染の結果おこる様々な病態あるいは防御免疫を規定する要因として重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた^{28,40)}。上述した如く、自然治癒する感染系である *P. chabaudi* マラリアでは感染経過に伴って Th1-Th2 スwitching が認められるが¹⁵⁾、Th1 型ヘルパー T 細胞と Th2 型ヘルパー T 細胞のどちらも感染防御に関与すると報告されている^{26,27)}。また、*P. berghei*³⁷⁾ や *P. vinckei*⁴¹⁾ の感染では、Th1 タイプのサイトカインが原虫の排除に関わるとされている。しかし、これら各々の型の細胞やそれによって産生されるサイトカインがどのような機序によって感染防御・病勢の悪化に関与しているのかについては、NO などの関与が示唆されているもの²⁶⁾、その詳細は明らかではない。

筆者らはこれまでに、マウスのマラリア感染に伴うヘルパー T 細胞サブセットの応答についてサイトカインの産生を指標として調べ、*P. y. yoelii* 17X の弱毒株感染では主に Th1 型ヘルパー T 細胞 (IFN- γ 産生を指標として) の活性化のみが認められるのに対し、強毒株感染では Th1 型のみならず Th2 型ヘルパー T 細胞 (IL-10 産生を指標として) の活性化が認められることを明らかにしてきた⁹⁾。この結果は、感染初期の Th2 応答がマラリアにおける増悪・致死性に関与することを示唆していた。そこで、これらのヘルパー T 細胞応答についてさらに詳細に検討すると、本原虫の強毒株感染後における Th1 応答と Th2 応答のピークの時期に差が認められないこと、即ち、*P. chabaudi* マラリアに認められる Th1-

Th2 スwitching あるいはクロスレギュレーションとは異なる応答と経過を、宿主が本種感染に対してとることが明らかとなった。そこで、*P. y. yoelii* 17X 強毒株感染において強い産生が認められる IFN- γ と IL-10 の意義について明らかにするため、抗 IFN- γ 抗体投与と抗 IL-10 抗体投与の感染経過に及ぼす影響について検討した。その結果、抗 IFN- γ 抗体投与によってマウスの死亡開始日が早まること、および、抗 IL-10 抗体投与によって約半数のマウスが治癒することなどが明らかとなった。これらより、本原虫感染では、Th1 型ヘルパー T 細胞が防御に、Th2 型ヘルパー T 細胞が増悪に関与すると考えられた。また、本原虫感染における IFN- γ がと IL-10 産生のピーク時に採取した脾細胞の NO 産生を検討すると、その産生量は抗 IFN- γ 抗体の添加により減少し、抗 IL-10 抗体投与により上昇することから、防御免疫における NO の関与が示唆された¹⁰⁾。

ANSTEY ら¹⁾ は、タンザニアでマラリアに罹患した子供たちを調べ、重症患者ほど plasma IL-10 は高く、NO や NOS が低いことを報告しており、このサイトカインや NO の病態形成あるいは防御における役割について詳細に検討する意義は大きいと考えられた。そこで、さらに IL-10 を遺伝的に欠損したマウスを用いて、*P. y. yoelii* 感染における宿主の応答について検討した。まず、IL-10 遺伝子欠損マウス (以下、IL-10 KO マウス) と対照群の野生型マウスに *P. y. yoelii* 17X の強毒株の感染赤血球 1×10^6 を接種し、その感染動態を比較した。その結果、野生型マウスでは感染初期から高いレベルの原虫血症が認められ死亡率は 80% であったのに対し、IL-10 KO マウスでは死亡率は 20% に留まり、残りは感染後 4 週目までに治癒した。これらの結果は、本原虫感染において感染初期に産生される IL-10 は病態の悪化に関与するという筆者らの仮説を支持するものと考えられた。次に、脾細胞によるサイトカイン産生について比較検討すると、両群とも感染初期に (1 週目まで) に IFN- γ を産生したが、IL-10 KO マウスの脾細胞は野生型マウスに比して有意に高いレベルの IFN- γ を産生することが明らかとなった。この時同時に、野生型マウスでは IL-10 が産生されていたが (IL-10 KO マウスでは予想通り検出限界以下であった)、IL-4, TNF- α は両群とも検出限界以下であった。

P. berghei の強毒株である NK 65 株感染における IFN- γ は病態悪化に関与することが知られている³⁷⁾。しかし、*P. y. yoelii* 17X の強毒株感染により産生される IFN- γ は防御的に機能することを抗 IFN- γ 抗体投与と実験によって筆者らは既に明らかにしているため、これまで

の結果を総合することにより、本原虫感染において感染初期に産生される Th1 サイトカイン (IFN- γ) は感染防御に関与し、Th2 サイトカイン (IL-10) は感染の増悪に関与すると結論してよいと思われる。IL-10 は、IFN- γ の産生を抑制しあるいはその防御的機能を制御することにより病態の悪化に関与するのかも知れない。

一方、iNOS mRNA の発現と NO 産生について調べた結果、野生型マウスでは脾臓で5日目に iNOS mRNA の弱い発現が認められ7日目には消失したが、IL-10 KO マウスでは、5日目から認められた iNOS は7日目にさらに強く発現した。さらに、脾細胞による NO 産生について調べると、IL-10 KO マウスでは強い産生が認められたが、野生型マウスでは極めて弱い産生に留まった。これらの結果は、先に報告した抗 IFN- γ 抗体と抗 IL-10 抗体投与実験によって得られた結果とほぼ一致した。しかし、NO 合成酵素の阻害剤であるアミノグアニジンにマウスに投与して原虫血症への影響を調べた実験で対照群との間に有意差が認められなかったので¹⁰⁾、*P. y. yoelii* 17X 防御免疫への NO の関与については否定的に考えている。

5. おわりに

以上、マラリア防御免疫における T 細胞とサイトカインの役割について、主にマウスモデルを用いた研究によって得られてきた知見を、筆者らのデータを含めて紹介した。近年、地球の温暖化や新興・再興感染症など様々な問題から、マラリアはこれまでも増して注目される寄生虫疾患のひとつとなった。この人類を脅かす疾患を撲滅するには、その感染における宿主・寄生虫相互関係の成立のメカニズムを徹底的に解析し、宿主側の寄生虫に対する一連の応答と、それに対する寄生虫側の生き残り戦略とを理解するための基礎研究を積み重ねていく必要がある。こうした基礎研究の蓄積は、臨床・応用研究の成果と共に、マラリア撲滅の日をより近い将来へとたぐり寄せる駆動力となる筈である。

稿を終えるにあたり、この総説を執筆する機会を与えて下さいました日本動物原虫病学会会長菅野康則先生に厚く御礼申し上げます。

文 献

1) ANSTEY, N.M., WEINBERG, J.B., HASSANALI, M.Y., MWAIKAMBO, E.D., MANYENGA, D., MISUKONIS, M.A., ARNELLE, D.R., HOLLIS, D., McDONALD, M.I. and GRANGER, D.L. (1996) Nitric oxide in Tanzanian children with malaria: inverse rela-

tionship between malaria severity and oxide production/nitric oxide synthase type 2 expression. *J. Exp. Med.* **184**, 557-567.

- 2) BRAKE, D.A., WEIDANZ, W.P. and LONG, C.A. (1986) Antigen-specific, interleukin 2-propagated T lymphocytes confer resistance to a murine malaria parasite, *Plasmodium chabaudi adami*. *J. Immunol.* **137**, 347-352.
- 3) BRAKE, D.A., WEIDANZ, W.P. and LONG, C.A. (1988) Adoptive protection against *Plasmodium chabaudi adami* malaria in athymic nude mice by a cloned T cell line. *J. Immunol.* **140**, 1989-1993.
- 4) CAVACINI, L.A., LONG, C.A. and WEIDANZ, W.P. (1986) T cell immunity in murine malaria: adoptive transfer of resistance to *Plasmodium chabaudi adami* in nude mice with splenic T cells. *Infect. Immun.* **52**, 637-643.
- 5) ELLOSO, M.M., VAN der HEYDE, H.C., VAN de WAA, J.A., MANNING, D.D. and WEIDANZ, W.P. (1994) Inhibition of *Plasmodium falciparum* *in vitro* by human $\gamma\delta$ T cells. *J. Immunol.* **153**, 1187-1194.
- 6) GRUN, J.L. and WEIDANZ, W.P. (1981) Immunity to *Plasmodium chabaudi adami* in the B-cell-deficient mouse. *Nature* **290**, 143-145.
- 7) GRUN, J.L., LONG, C.A. and WEIDANZ, W.P. (1985) Effects of splenectomy on antibody-independent immunity to *Plasmodium chabaudi adami* malaria. *Infect. Immun.* **48**, 853.
- 8) HO, M., WEBSTER, H.K., TONQTACOE, P., PATTANAPANYASAT, K. and WEIDANZ, W.P. (1990) Increased $\gamma\delta$ T cells in acute *Plasmodium falciparum* malaria. *Immunol. Lett.* **25**.
- 9) KOBAYASHI, F., MORII, T., MATSUI, T., FUJINO, T., WATANABE, Y., WEIDANZ, W.P. and TSUJI, M. (1996) Production of interleukin 10 during malaria caused by lethal and nonlethal variants of *Plasmodium yoelii yoelii*. *Parasitol. Res.* **82**, 385-391.
- 10) KOBAYASHI, F., ISHIDA, H., MATSUI, T. and TSUJI, M. (2000) Effects of *in vivo* administration of anti-IL-10 or anti-IFN- γ monoclonal antibody on the host defense mechanism against *Plasmodium yoelii yoelii* infection. *J. Vet. Med. Sci.* **62**, 583-587.
- 11) KOPACZ, J. and KUMAR, N. (1999) Murine gamma-delta T lymphocytes elicited during *Plasmodium yoelii* infection respond to *Plasmodium* heat shock proteins. *Infect. Immun.* **67**, 57-63.12.
- 12) KUMAR, S., GOOD, M.F., VINETZ, J.M. and MILLER, L.H. (1989) Interdependence of CD4⁺ T cells

- and malarial spleen immunity to *Plasmodium vinckei vinckei*. J. Immunol. **143**, 2017-2023.
- 13) KUMAR, S. and MILLER, L.H. (1990) Cellular mechanisms in immunity to blood-stage infection. Immunol. Lett. **25**, 109-114.
 - 14) MELANCON-KAPLAN, J. and WEIDANZ, W.P. (1989) Role of cell-mediated immunity in resistance to malaria. In *Malaria: Host responses to infection* (M.M. Stevenson, ed) CRC Press, Inc., Florida 37-63.
 - 15) LANGHORNE, J., GILLARD, S., SIMON, B., SLADE, S. and EICHMANN, K. (1989) Frequencies of CD4⁺ T cells reactive with *Plasmodium chabaudi chabaudi*: distinct response kinetics for cells with Th1 and Th2 characteristics during infection. Int. Immunol. **1**, 416-424.
 - 16) LANGHORNE, J., SIMON-HAARHAUS, B. and MEDING, S.J. (1990) The role of CD4⁺ T cells in the protective immune response to *Plasmodium chabaudi in vivo*. Immunol. Lett. **25**, 101-107.
 - 17) LANGHORNE, J., MOMOBERTS, P. and TONEGAWA, S. (1995) $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ T cells in the immune response to the erythrocytic stages of malaria in mice. Int. Immunol. **7**, 1005.
 - 18) MINOPRIO, P., ITOHARA, S., HEUSSER, C., TONEGAWA, S. and COUTINHO, A. (1989) Immunobiology of *T. cruzi* infection: the predominance of parasite-nonspecific responses and the activation of TCRI T cells. Immunol. Rev. **112**, 183.
 - 19) NAKAZAWA, S., BROWN, A.E., MAENO, Y., SMITH, C. D. and AIKAWA, M. (1994) Malaria-induced increase of splenic $\gamma\delta$ T cells in humans, monkeys, and mice. Exp. Parasitol. **79**, 391-398.
 - 20) PERLMANN, H., KUMAR, S., VINETZ, J.M., KULLBERG, M., MILLER, L.H. and PERLMANN, P. (1995) Cellular mechanisms in the immune response to malaria in *Plasmodium vinckei*-infected mice. Infect. Immun. **63**, 3987-3993.
 - 21) ROUSSILHON, C., AGRAPART, M., BALLEST, J.J. and BENSUSSAN, A. (1990) T lymphocytes bearing $\gamma\delta$ T cell receptor in patients with acute *Plasmodium falciparum* malaria. J. Infect. Dis. **162**, 283-285.
 - 22) SAYLES, P.C. and RAKHMILEVICH, L. (1996) Exacerbation of *Plasmodium chabaudi* malaria in mice by depletion of TCR $\alpha\beta$ ⁺ T cells, but not TCR $\gamma\delta$ ⁺ T cells. Immunology **87**, 29-33.
 - 23) SEIXAS, E.M.G. and LANGHORNE, J. (1999) $\gamma\delta$ T cells contribute to control of chronic parasitemia in *Plasmodium chabaudi* infections in mice. J. Immunol. **162**, 2837-2841.
 - 24) SUSS, G., EICHMANN, K., KURY, E., LINKE, A. and LANGHORNE, J. (1988) The role of CD4⁻ and CD8⁻ bearing T lymphocytes in the immune response to the erythrocytic stages of *Plasmodium chabaudi*. Infect. Immun. **56**, 3081.
 - 25) TAYLOR, D.W. (1989) Humoral immune responses in mice and man to malarial parasites. In *Malaria: Host responses to infection* (M.M. Stevenson, ed) CRC Press, Inc., Florida 1-35.
 - 26) TAYLOR-ROBINSON, A.W., PHILLIPS, R.S., SEVERN, A., MONCADA, S. and LIEW, F.Y. (1993) The role of Th1 and Th2 cells in a rodent malaria infection. Science **260**, 1931-1934.
 - 27) TAYLOR-ROBINSON, A.W. and PHILLIPS, R.S. (1994) Th1 and Th2 CD4⁺ T cell clones specific for *Plasmodium chabaudi* but not for and unrelated antigen protect against blood stage *P. chabaudi* infection. Eur. J. Immunol. **24**, 158-164.
 - 28) TAYLOR-ROBINSON, A.W. (1995) Regulation of Immunity to malaria: Valuable lessons learned from murine models. Parasitol. Today **11**, 334-342.
 - 29) TROYE-BLOMBERG, M., BERZINS, K. and PERLMANN, P. (1994) T cell control of immunity to the asexual blood stages of the malaria parasite. Crit. Rev. Immunol. **14**, 131-155.
 - 30) TSUJI, M., MOMBAERTS, P., LEFRANCOIS, L., NUSSENZWEIG, R.S., ZAVALA, F. and TONEGAWA, S. (1994) $\gamma\delta$ T cells contribute to immunity against the liver stages of malaria in $\alpha\beta$ T-cell-deficient mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **91**.
 - 31) VAN der HEYDE, H.C., ELLOSO, M.M., ROOPENIAN, D.C., MANNING, D.D. and WEIDANZ, W.P. (1993) Expansion of the CD4⁻, CD8⁻ $\gamma\delta$ T cell subset in the spleens of mice during non-lethal blood-stage malaria. Eur. J. Immunol. **23**, 1846-1850.
 - 32) VAN der HEYDE, H.C., ELLOSO, M.M., CHANG, W.-L., KAPLAN, M., MANNING, D.D. and WEIDANZ, W.P. (1995) $\gamma\delta$ T cell function in cell-mediated immunity to acute blood-stage *Plasmodium chabaudi adami* malaria. J. Immunol. **154**, 3985-3990.
 - 33) VAN der HEYDE, H.C., ELLOSO, M.M., CHANG, W.-L., PEPPER, B.J., BATCHELDER, J. and WEIDANZ, W.P. (1996) Expansion of the $\gamma\delta$ T cell subset *in vivo* during bloodstage malaria in B cell-deficient mice. J. Leukc. Biol. **60**, 221-229.
 - 34) VAN der HEYDE, H.C., CHANG, W.-L. and WEIDANZ, W.P. (1997) Specific immunity to malaria and the pathogenesis of disease. In *Host response to*

- intracellular pathogens* (S.H.E. Kaufmann, ed) Chapman & Hall, New York, N.Y. 195-226.
- 35) VINETZ, J.M., KUMAR, S., GOOD, M.F., FOWLKES, B. J., BERZOFKY, J.A. and MILLER, L.H. (1990) Adoptive transfer of CD8⁺ T cell from immune animals does not transfer immunity to blood stage *Plasmodium yoelii* malaria. *J. Immunol.* **144**, 1069-1074.
- 36) WAKI, S., TAMURA, J., IMANAKA, M., ISHIKAWA, S. and SUZUKI, M. (1982) *Plasmodium berghei*: Isolation and maintenance of an irradiation attenuated strain in the nude mouse. *Exp. Parasitol.* **53**, 335-340.
- 37) WAKI, S., UEHARA, S., KANBE, K., ONO, K., SUZUKI, M. and NARIUCHI, H. (1992) The role of T cells in pathogenesis and protective immunity to murine malaria. *Immunology* **75**, 646-651.
- 38) WAKI, S., UEHARA, S., KANBE, K., NARIUCHI, H. and SUZUKI, M. (1995) Interferon-gamma and the induction of protective IgG2a antibodies in non-lethal *Plasmodium berghei* infection in mice. *Parasit. Immunol.* **17**, 503-508.
- 39) WEIDANZ, W.P. and GRUN, J.L. (1983) Antibody-independent mechanisms in the development of acquired immunity to malaria. *Adv. Exp. Med. Biol.* **162**, 409-423.
- 40) WEIDANZ, W.P. and LONG, C.A. (1988) The role of T cells in immunity to malaria. *Prog. Allergy (or In Malaria Immunology. P. Perlmann and H. Wigzell, eds. Karger Press, New York, p. 215)* **41**, 215-252.
- 41) WEIDANZ, W.P., MELANCON-KAPLAN, J. and CAVACINI, L.A. (1990) Cell-mediated immunity to the asexual blood stages of malaria parasites: animal models. *Immunol. Lett.* **25**, 87-96.
- 42) WEIDANZ, W.P., KEMP, J.R., BATCHELDER, J.M., CIGEL, F.K., SANDOR, M.S. and VAN der HEYDE, H. C. (1999) Plasticity of immune responses suppressing parasitemia during acute *Plasmodium chabaudi* malaria. *J. Immunol.* **162**, 7383-7388.