

津田（井上）愛美 論文内容の要旨

主論文

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

（赤内期又は赤外期マラリア原虫に対する免疫の種特異性の検証とワクチン開発に対する示唆）

Megumi Inoue, Jianxia Tang, Mana Miyakoda, Osamu Kaneko, Katsuyuki Yui, Richard Culleton
（井上愛美、唐建霞、都田真奈、金子修、由井克之、リチャード・カレトン）

International Journal for Parasitology （2012 年掲載予定）

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 新興感染症病態制御学系専攻

（主任指導教員： 金子修 教授）

緒 言

マラリア原虫は、感染蚊の吸血により皮下に注入されたスポロゾイトが肝臓に到達し、肝細胞内で発育・分裂（赤外期）した後、多数のメロゾイトとなり血流へ放出され、赤血球への侵入と赤血球内での発育・分裂、血中への放出を繰り返す（赤内期）。マラリアワクチンの開発が進められている中で弱毒ワクチンが注目されており、これまでに弱毒スポロゾイトの接種により同種マラリア原虫に対する防御免疫が獲得されることが明らかにされている。また少量の赤内期マラリア原虫を接種後、投薬治療した後は同種マラリア原虫に感染しないことも明らかにされている。一方でマラリア流行地域には複数のマラリア原虫種が同時に流行しているが、異種マラリア原虫種の赤内期感染により、宿主がそれまでに得たマラリア原虫種に対する防御免疫が減弱するという報告がある。そのため、弱毒スポロゾイトワクチンの開発を進める上で、弱毒スポロゾイト接種により獲得された防御免疫に対するマラリア赤内期感染の影響を検証することは重要である。本研究では、弱毒マラリア原虫接種により獲得された免疫の（１）種特異性と（２）異なる原虫種に対する交差免疫、（３）弱毒スポロゾイト接種により獲得された防御免疫への $CD8^+$ T 細胞の関与および（４）弱毒スポロゾイト接種により獲得された防御免疫に対するマラリア赤内期感染の影響について検証を行った。

方 法

ネズミマラリア原虫の *Plasmodium yoelii* と *Plasmodium vinckei* を用いた。マウスに *P. yoelii* スポロゾイト接種と同時にメフロキンを投与し、赤外期マラリアに対する免疫を賦与した。またマウスに *P. yoelii* 又は *P. vinckei* 赤内期感染させ、メフロキン投与により治療することで、赤内期マラリアに対する免疫を賦与した。スポロゾイトを感染させた 2 日後に肝臓を

抽出し、肝内原虫量を定量 PCR により測定した。また、ギムザ染色した末梢血塗沫標本から感染の有無と感染率を計算した。CD8⁺ T 細胞の除去はスポロゾイト感染の 2 日前に抗 CD8⁺ T 細胞抗体を投与することで行った。赤外期マラリア感染に対する免疫を賦与したマウスの血清中の抗体反応はスポロゾイトを抗原とした間接蛍光抗体法 (IFA) にて検討した。赤内期マラリア感染に対する免疫を賦与したマウスの血清中の抗体価は、感染赤血球から抽出した原虫タンパク質を抗原とした ELISA 法にて測定した。

結 果

実験の結果、以下の事が明らかとなった。(1) *P. yoelii*、*P. vinckei* いずれの原虫種の赤内期マラリアに対する免疫は赤外期マラリアに対する免疫に比べてより種特異的に成立する。(2) *P. yoelii*、*P. vinckei* のスポロゾイトを接種したマウスの血清は同種スポロゾイトに対して反応したが、異種スポロゾイトに対し反応しなかった。また、赤内期マラリアに対する免疫を賦与したマウスの血清は、同種マラリア原虫粗抗原と異種マラリア原虫粗抗原の両者に反応した。(3) *P. yoelii* 赤外期マラリアに対する免疫を賦与したマウスと非免疫マウスでは同種スポロゾイトを感染させると肝内原虫量に有意差が認められるが、CD8⁺ T 細胞を除去すると、肝内原虫量に有意差が認められなくなった。(4) *P. yoelii* 赤外期マラリアに対する免疫を賦与したマウスに同種又は異種の赤内期マラリア原虫を感染させ、投薬治療した 4 週間後に *P. yoelii* スポロゾイトを感染させたが、この操作により赤外期マラリアに対する免疫が減弱するという結果は得られなかった。

考 察

赤内期、赤外期それぞれを標的とした弱毒マラリアワクチンの開発が進められているが、本研究は初めて両者の比較を同時に行った。その結果、赤内期、赤外期それぞれに対して免疫を賦与した場合、得られる防御免疫は種特異的に成立することを示した。また、赤外期マラリアに対する免疫は赤内期マラリアに対する免疫に比べて種特異性が低いことが示唆された。さらに赤内期マラリア感染により以前に確立された宿主防御免疫が減弱することが報告されていたことを踏まえ、弱毒スポロゾイト接種により得られた防御免疫に対する赤内期マラリア感染の影響を評価したが、我々の実験系では以前の報告と異なり、防御免疫の減弱は認められなかった。以上の結果は弱毒スポロゾイトを用いたマラリアワクチンが、複数のマラリア原虫種が流行するマラリア流行地においても有効である可能性を示唆する。