

亀井里加 論文内容の要旨

主 論 文

Accumulation of MHC class II⁺CD11c⁺ non-lymphoid cells in the spleen during infection with *Plasmodium yoelii* is lymphocyte-dependent

(マラリア原虫 *Plasmodium yoelii* 感染動物における
MHC class II⁺CD11c⁺ 非リンパ系細胞の集積は、リンパ球依存的である。)

亀井里加、都田真奈、田村隆彦、木村大輔、本間季里、木村一美、由井克之

Microbiology and Immunology (In press)
(2012 年、12 月 26 日、受理報告あり。34 ページ)

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：由井克之教授)

緒 言

脾腫はマラリアの特徴的な症状であり、赤内期の原虫感染（赤内型）に伴い様々な細胞が脾臓内に流入し増殖する。赤内型マラリア原虫感染の防御には、原虫特異的 CD4⁺ T 細胞の活性化が必須であるが、抗原提示細胞は T 細胞の活性制御を通して原虫感染制御に主要な役割を有する。しかしながら、主要な抗原提示細胞である樹状細胞は、赤内型感染の進行に伴いむしろ減少することが知られている。我々は、マラリア原虫感染に伴い、樹状細胞以外にも T 細胞を活性化できる抗原提示細胞が脾臓内に出現するのではないかと考え、CD4⁺ T 細胞への抗原提示に必要な MHC クラス II を発現する非リンパ球に着目して研究を行った。

対象と方法

- ① C57BL/6 と Rag-2^{-/-}マウスにマラリア原虫 *Plasmodium yoelii* を感染させ、脾細胞及び骨髓細胞表面分子を抗体で染色してフローサイトメトリーで解析した。細胞数は、血球計算盤を用いて数えた。
- ② Rag-2^{-/-}マウス(CD45.2⁺)に B6-Ly5.1 マウス(CD45.1⁺)の脾細胞を移入し、3週間後 *P. yoelii* を感染させた。感染8日目に、脾臓内の宿主 (CD45.2⁺) とドナー (CD45.1⁺) 細胞の数と細胞表面分子発現を比較検討した。
- ③ *P. yoelii* 感染マウスの脾臓から CD3⁺CD19⁺CD11c^{hi}MHCII⁺ (樹状細胞)、CD3⁺CD19⁺CD11c⁺MHCII⁺ IgM⁺及び CD3⁺CD19⁺CD11c⁺MHCII⁺IgM⁺細胞を精製し、感染赤血球で刺激してサイトカイン産生を ELISA 法で調べた。
- ④ *P. yoelii* 感染マウスの脾臓から精製した CD3⁺CD19⁺CD11c^{hi}MHCII⁺ (樹状細胞)と CD3⁺CD19⁺CD11c⁺MHCII⁺細胞に抗原 OVA をパルスし、CFSE ラベルした OVA 特異的 CD4⁺ T 細胞と共培養して上清中に産生される IL-2 を測定した。また、CFSE の減衰により T 細胞の増殖を解析した。

結 果

- ① *P. yoelii* に感染した C57BL/6 マウスの脾臓では、樹状細胞は減少したが、CD3⁺CD19⁺CD11c⁺MHCII⁺細胞が感染 8-9 日目をピークに増加した。この細胞集団には IgM⁺細胞が含まれていたため、以後の実験は CD3⁺CD19⁺CD11c⁺MHCII⁺IgM⁺細胞を用いて行った。この細胞集団は、末梢血や骨髄にも増加していた。また、形態学的解析と細胞表面分子の解析から、この細胞集団には複数のサブセットが含まれると考えられた。
- ② 脾臓の CD3⁺CD19⁺CD11c⁺MHCII⁺IgM⁺細胞は、リンパ球のいない Rag2^{-/-}マウスでは増加しなかった。そこで、この細胞集団自身がリンパ系細胞なのか、或いは非リンパ球だが増殖にリンパ球が必要なのかを明らかにするため、Rag-2^{-/-}マウスに B6-Ly5.1 マウスの脾細胞を移入して *P. yoelii* 感染させた。その結果、宿主 (Rag-2^{-/-}) 由来の CD3⁺CD19⁺CD11c⁺MHCII⁺IgM⁺細胞の増加が観察された。
- ③ 感染マウスの CD3⁺CD19⁺CD11c⁺MHCII⁺IgM⁺細胞を感染赤血球で刺激すると、樹状細胞と同程度の IL-6 及び TNF- α を産生したが、IL-12 産生はわずかであった。
- ④ 感染マウスの CD3⁺CD19⁺CD11c⁺MHCII⁺細胞に抗原 OVA をパルスして OVA 特異的 CD4⁺ T 細胞への抗原提示能を調べたところ、OVA ペプチドでは増殖が観察されたが、蛋白抗原では増殖及び IL-2 産生とも殆ど観察されなかった。

考 察

マラリア原虫感染に伴い、脾臓で CD11c⁺MHCII⁺非 T 非 B 細胞が増加したが、リンパ球をもたない Rag2^{-/-}マウスでは増加しなかった。リンパ球を移入することにより Rag2^{-/-}マウス由来の CD11c⁺MHCII⁺非 T 非 B 細胞が増加したことから、この細胞群は非リンパ系細胞であり、原虫感染に伴いリンパ球依存的に増殖することが明らかになった。機能的には、MHCII を発現することから当初 T 細胞活性化機能を予想したが、抗原提示能は乏しかった。しかし、原虫刺激に対して炎症性サイトカインを産生することから、マラリア原虫感染制御に寄与している可能性が示された。本研究は、マラリア感染に伴い、自然免疫系細胞の増殖が獲得免疫系細胞により制御されている可能性を示しており、マラリアの感染防御免疫と病態形成における免疫細胞間ネットワークの仕組みを解明する上で重要な知見であると考えられる。