

Ganchimeg Bayarsaikhan 論文内容の要旨

主 論 文

Activation and exhaustion of antigen-specific CD8⁺ T cells occur in different splenic compartments during infection with *Plasmodium berghei*

マラリア原虫感染において、抗原特異的 CD8⁺ T 細胞の活性化と疲弊は、脾臓の異なる領域で惹起される

Ganchimeg Bayarsaikhan、都田真奈、山本一男、木村大輔、
Masoud Akbari、油田正夫、由井克之

Parasitology International (印刷中 2017年)
[29 頁]

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

マラリア原虫特異的 CD8⁺ T 細胞は、感染赤血球期において樹状細胞の交叉抗原提示により活性化されて細胞傷害性 CD8⁺ T 細胞となり、感染防御とマラリア病態に重要な役割を担う。一方原虫感染後期では、活性化 CD8⁺ T 細胞は PD-1 や LAG-3 などの抑制性受容体を発現し、機能低下をきたして疲弊状態となることが知られている。脾臓は白脾髄、赤脾髄、辺縁帯から構成され、マラリア赤内型における免疫応答の主要臓器である。脾臓内 CD8⁺ T 細胞の動態は、リステリア感染モデルで研究が進んでいるが、マラリア原虫感染における抗原特異的 CD8⁺ T 細胞の活性化動態は、十分に理解されていない。

本研究では、卵白アルブミン OVA をモデル抗原とし、OVA を発現するリステリア、OVA を発現するマラリア原虫及び OVA 特異的 T 細胞受容体トランスジェニックマウスを用い、マラリア原虫感染における抗原特異的 CD8⁺ T 細胞の動態をリステリア感染と比較検討した。

対象と方法

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 (OT-I 細胞) を C57BL/6 マウスに受け身移入し、OVA 発現マラリア原虫あるいは OVA 発現リステリアを感染させ、以下の実験を行った。

- 1、脾臓組織を蛍光抗体で染色し、OT-I 細胞の局在を蛍光顕微鏡で解析した。
- 2、白脾髄と赤脾髄の T 細胞を区別するため、蛍光ラベル抗 CD8 α 抗体を投与し 3 分後にマウスを安楽死させた。脾細胞を蛍光抗体で染色し、OT-I 細胞の比率、活性化マーカーの発現、細胞死をフローサイトメトリー的手法を用いて解析した。抗 CD8 α 抗体は、赤脾髄/辺縁帯まで到達したが、白脾髄の細胞には到達せず、両者を区別することができた。
- 3、蛍光物質 CFSE でラベルした OT-I 細胞をマウスに受け身移入し、感染後脾細胞のフローサイトメトリー解析を行い、OT-I 細胞の分裂回数を調べた。
- 4、脾細胞を OVA ペプチドで刺激後、細胞内サイトカイン染色を行った。

結 果

組織染色では、OVA 発現マラリア原虫感染後、OT-I 細胞は白脾髄と赤脾髄/辺縁帯両方で増加した。フローサイトメトリー解析では、OVA 発現マラリア原虫感染後、OT-I 細胞は白脾髄で増加し、その後赤脾髄/辺縁帯で増加した。CFSE ラベル OT-I 細胞による解析では、OVA 発現リステリア感染初期に OT-I 細胞は白脾髄で増殖し、その後赤脾髄へ移行すると考えられた。活性化マーカーを用いた解析では、OVA 発現マラリア原虫とリステリア感染の両方で、最初に白脾髄で活性化し、後に赤脾髄/辺縁帯に移行することが示唆された。

OT-I 細胞のサイトカイン産生細胞数は、OVA 発現マラリア原虫感染 6 日後をピークに低下に転じたが、常に白脾髄に比べ赤脾髄/辺縁帯が多かった。抑制性受容体 PD-1、LAG-3、TIM-3 の発現は、OVA 発現マラリア原虫感染後、主として赤脾髄/辺縁帯の OT-I 細胞で増加した。これらの OT-I 細胞には細胞死も多く観察された。一方、OVA 発現リステリア感染では、白脾髄の OT-I 細胞が抑制性受容体を一時的に発現したのみであった。

考 察

OVA 発現マラリア原虫とリステリア両方で、OT-I 細胞は白脾髄で活性化され、その後赤脾髄に移動すると考えられた。PD-1 などの抑制性受容体分子発現は、マラリア原虫特異的 CD8⁺ T 細胞で持続的に発現され、特に赤脾髄/辺縁帯で高レベルであった。一方リステリア感染では、感染初期一時的に白脾髄で抑制性受容体分子発現が観察されるのみであった。このことから、マラリア原虫感染では、CD8⁺ T 細胞は白脾髄で活性化後、主として赤脾髄で抑制性分子を発現し、疲弊状態になると考えられた。T 細胞の疲弊状態を誘導する脾臓内環境について、さらなる研究が望まれる。