

免疫細胞のミトコンドリア活性酸素がマラリア感染防御において果たす役割

井上 信一

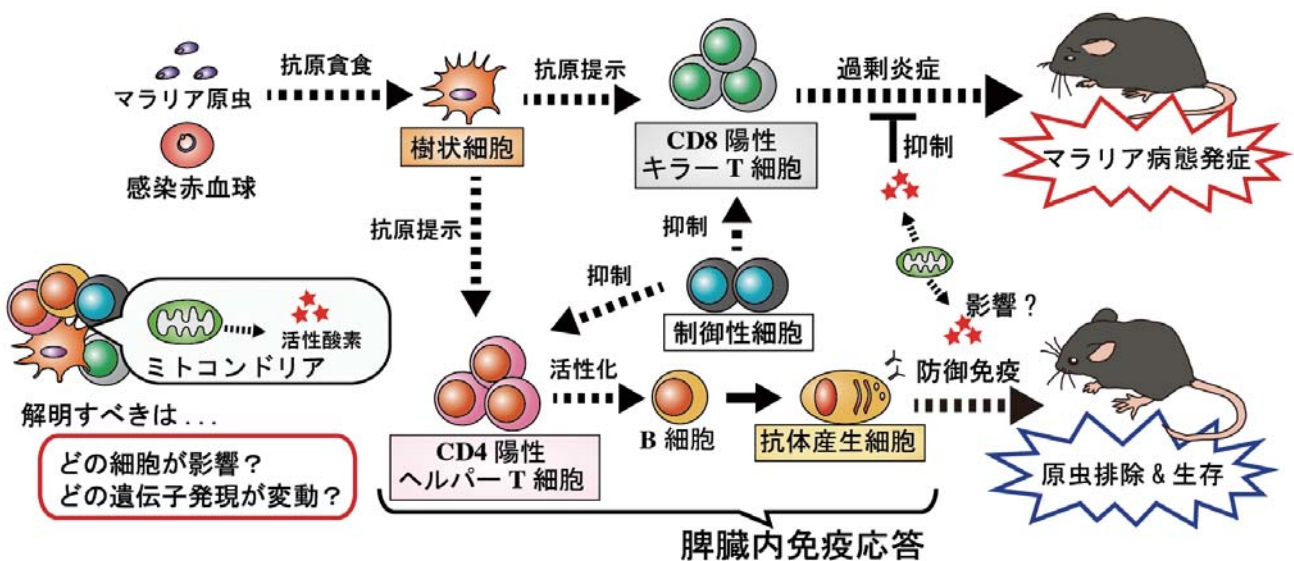
杏林大学医学部感染症学

マラリアは全世界で毎年2億人が罹患し、そのうち約60万人の人命を奪っており、結核とエイズとともに世界三大感染症とされる疾患である。マラリアが人類にとって脅威であり続ける理由として、疾患を予防するための効果的なワクチンが未だに出来ていないことが挙げられる。マラリアに対する有効なワクチンを開発するには、マラリアの病態発症機構や防御免疫機構を詳しく知る必要があるが、未だに十分に解明されているとは言い難い。

我々は、マラリアに対する宿主の免疫応答機構、特に防御免疫機構の全容解明を目指して研究をおこなっている。我々はこれまでに、遺伝子組換えマウスとマウスマラリア原虫を用いた感染実験系を駆使してその仕組みの一端を解明してきた（参考文献：Inoue *et al.* 2012, 2013, 2014）。本研究では、マラリア防御免疫の巧妙な仕組み

をさらに明らかにするため、免疫細胞内のミトコンドリア活性酸素がマラリア防御免疫において果たす役割とその仕組みを解明することを目的とした（研究概要図参照）。

近年、宿主細胞内ミトコンドリアがその膜上分子を介してRNAウイルス感染に対する免疫応答に関わることや、CD8陽性キラーT細胞が細胞内のミトコンドリア好気呼吸活性を上昇させて免疫記憶の維持に関わることが明らかになるなど、“ミトコンドリアによる免疫制御/防御機構”が次第に注目されてきた。ミトコンドリアは、電子伝達系を利用して大量のATPを産生させる重要な細胞内小器官であるが、同時に多くの活性酸素が漏出する場でもある。このミトコンドリア活性酸素は、ガンや生活習慣病や老化の原因とも考えられ、一般的に有害分子とみなされている。そこで、ミトコンドリア活性酸素が感染防御免疫にどう影響するのかを確認するために、



研究概要図

ミトコンドリア活性酸素が過剰産生しているミトコンドリアDNA変異マウス (A11マウス) を用いて感染実験をおこなった (参考文献: Yokota M *et al.*, 2010; Hashizume *et al.*, 2012)。

強毒株マラリア原虫の *Plasmodium berghei* ANKA 株をマウスに感染させると、マウスは過剰な免疫応答に起因する脳マラリア症状を呈して死に至る。そこで、まず、ミトコンドリア由来の活性酸素産生がマラリアの病態に与える影響をしらべるため、A11マウスと野生型マウスに強毒株マラリア原虫ANKA株を感染させて、病態を比較した。強毒株マラリア原虫ANKA株の感染によって、野生型マウスとA11マウスは共に全個体が死亡した。しかし、野生型マウスと比較するとA11マウスでの延命がみられた。次に、脳マラリア症状にはCD8陽性T細胞の脳組織への浸潤が重要であることが分かっていることから、脳組織へ浸潤したCD8陽性T細胞数を比較したところ、A11マウスで浸潤細胞数が低下していることが分かった。この浸潤CD8T細胞が発現するGranzyme BやIFN γ は、脳マラリア症の発症に重要であることが報告されている。そこで、野生型マウスとA11マウスの脳浸潤CD8陽性T細胞におけるGranzyme BとIFN γ の発現を細胞内サイトカインアッセイにより解析した。すると、Granzyme Bについては、両群全ての脳浸潤CD8陽性T細胞で発現がみられた。一方、IFN γ の発現する割合は、野生型マウスに比べてA11マウスの脳浸潤CD8陽性T細胞において低下していた。これらの結果は、ミトコンドリア活性酸素がマラリアの病態発症を抑える、即ち、ミトコンドリア活性酸素が宿主にとって有益な分子となる場合があるということを示唆する極めて興味深いものである。今後は、ミトコンドリア活性酸素がどのようなメカニズムでマラリア感染防御 / 制御機構と関わるのか、その詳細分子機序を解明する予定である。

参考文献

- 1) Inoue S-I *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 109(30): 12129~12134, 2012.
- 2) Inoue S-I *et al.*, *Front Immunol*, 4(258): 1~9, 2013.
- 3) Inoue S-I *et al.*, *FEBS Lett*, 588(13): 2147~2153, 2014.
- 4) Hashizume *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA*, 109(26): 10528~10533, 2012.
- 5) Yokota M *et al.*, *FEBS Lett*, 584(18): 3943~3948, 2010.

List of publication

1. Inoue S-I, Niikura M, Inoue M, Mineo S, Kawakami Y, Uchida A, Ohnishi H, Kamiya S, Watanabe T, Kobayashi F: The protective effect of CD40 ligand-CD40 signalling is limited during the early phase of *Plasmodium* infection. *FEBS Lett*, 588(13): 2147~2153, 2014.
2. 小林富美恵, 渡邊 卓¹, 大西宏明¹, 井上信一, 新倉保 (¹医学部臨床検査医学) (平成25年度杏林大学医学部共同研究プロジェクト受賞 研究成果報告): マウスにおける造血系攪乱とその制御機構の解明. 杏林医学会誌

誌 45(3) (補遺), s27-s29, 2014.

講演記録

I. シンポジウム 口演

生体防御若手研究者シンポジウム (演者, 兼座長)

1. 井上信一, 新倉 保, 井上愛美, 小林富美恵: マラリア原虫感染防御の感染初期における $\gamma\delta$ T細胞を介した樹上細胞活性化の重要性. 第25回日本生体防御学会学術総会・日本比較免疫学会第26回学術集会, 仙台, 平成26年7月9-11日.

II. 一般口演・ポスター

1. Shin-Ichi Inoue, Mamoru Niikura, Megumi Inoue, Shoichiro Mineo, Fumie Kobayashi: $\gamma\delta$ T cell-involved protective immunity against *Plasmodium berghei* XAT. International Congress of Parasitology (ICOPA XIII), Mexico City, August 10th-15th, 2014.
2. Mamoru Niikura, Shin-Ichi Inoue, Megumi Inoue, Fumie Kobayashi: The role of nucleoside transporters during asexual phase of *Plasmodium berghei* parasites. International Congress of Parasitology (ICOPA XIII), Mexico City, August 10th-15th, 2014.
3. Masuo Nakamura¹, Hiroo Wada¹, Mitsuru Sata¹, Toshiya Inui¹, Kojiro Honda¹, Keitaro Nakamoto¹, Manabu Higaki¹, Saori Takata¹, Takuma Yokoyama¹, Akihiko Kudo², Shinichi Inoue³, Tomoko Hanawa³, Fumie Kobayashi³, Hiroshi Kamma⁴, Hajime Takizawa¹, Hajime Goto¹ (¹Dept of Resp. Med., ²Anat., ³Infect. Dis., and ⁴Pathol., Kyorin University School of Medicine): Interleukin-17A/F regulates MMP-9 expression in the lung of mice after inhalation of cigarette smoke. European Respiratory Society Congress 2014, Munich, September 6-10, 2014.
4. Mamoru Niikura, Shin-Ichi Inoue, Megumi Inoue, Fumie Kobayashi: Severe pathology in pregnant mice during malaria. The 18th Japanese-German Cooperative Symposium on Protozoan Diseases. Dresden, October 1st-3rd, 2014.
5. Shin-Ichi Inoue, Mamoru Niikura, Megumi Inoue, Fumie Kobayashi: $\gamma\delta$ T cells are key player for protective immunity against *Plasmodium berghei* XAT infection. The 18th Japanese-German Cooperative Symposium on Protozoan Diseases. Dresden, October 1st-3rd, 2014.
6. Mamoru Niikura, Shin-Ichi Inoue, Megumi Inoue, Fumie Kobayashi: Purine nucleosides were mainly transported by nucleoside transporter 1 during the asexual phase of *Plasmodium*. The 2nd Asian Congress of Protistology (ACOP 2014) and the 9th conference on ciliate biology, Kalyani, West Bengal, November, 27-29, 2014.
7. 井上信一, 新倉 保, 井上愛美, 小林富美恵: マラリア原虫感染防御の免疫機構を探る ~*Plasmodium burgher* XATと $\gamma\delta$ T細胞を通じて~. 第22回分子寄生虫学ワークショップ&第12回分子寄生虫マラリアフォーラム合同大会, 帯広, 平成26年8月31日-9月3日.
8. 新倉 保, 井上信一, 井上愛美, 小林富美恵: 妊娠によるマラリアの重症病態化機構の解明. 第22回分子寄生虫学ワークショップ&第12回分子寄生虫マラリアフォーラム合同大会, 帯広, 平成26年8月31日-9月3日.
9. 峯尾松一郎, 新倉 保, 井上信一, 黒田雅彦¹, 小林富美恵 (¹東京医大・分離病理): マウスモデルを用いた妊

- 娠中のマラリアによる胎盤組織障害機序の解明. 第22回日本胎盤学会学術集会, 京都, 平成26年10月3-4日.
10. 新倉 保, 井上信二, 井上愛美, 小林富美恵: 赤内期マラリア原虫における nucleoside transporter の生理的役割. Nucleoside transporter 1 plays an essential role for transporting nucleosides and nucleobases in *Plasmodium burgher* in the asexual phase. 第55階日本熱帯医学会第29回日本国際保健医療学会合同大会, 東京, 平成26年11月1-3日.
 11. 井上信二, 新倉 保, 井上愛美, 石川 香¹, 中田和人¹, 林 純一¹, 小林富美恵 (筑波大学 生命環境化学系): 免疫細胞内ミトコンドリア活性酸素がマラリア感染防御において果たす役割. 第43回杏林医学会総会 (平成26年度杏林大学医学部研究奨励賞中間報告), 東京, 平成26年11月15日.
 12. 関根 将, 新倉 保, 井上信二, 小林富美恵: マラリアにおけるプリンヌクレオチド合成とATP産生との関係. 第43回杏林医学会総会, 東京, 平成26年11月15日.
 13. 井上信二, 新倉 保, 井上愛美, 小林富美恵: マラリア原虫感染初期における $\gamma\delta$ T細胞を介した樹上細胞活性化の重要性. 第37回日本分子生物学会年会, 横浜, 平成26年11月25-27日.
 14. Shin-Ichi Inoue, Mamoru Niikura, Megumi Inoue, Fumie Kobayashi: $\gamma\delta$ T cells promote humoral immunity to *Plasmodium berghei* XAT. 第43回日本免疫学会学術集会, 京都, 平成26年12月10日-12日.
 15. Megumi Inoue, Shin-Ichi Inoue, Mamoru Niikura, Makoto Osaka¹, Richard Culleton², Fumie Kobayashi (¹Kyorin Univ. Sch. Med., ²Malaria Unit, Instit. Trop. Med., Nagasaki Univ.): The effect of *Schistosoma mansoni* infection on malaria sporozoite induced immunity. 第8回寄生虫感染免疫研究会, 大阪, 平成27年2月27日-28日.
 16. 井上信二, 新倉 保, 井上愛美, 小林富美恵: $\gamma\delta$ T細胞は *Plasmodium berghei* XAT感染に対する液性免疫の維持に働く. 第84回日本寄生虫学会大会, 東京, 平成26年3月21-22日 (発表22日).
 17. 井上愛美, 井上信二, 新倉 保, 尾坂 真¹, 森保妙子², 濱野真二郎², カレトン リチャード³, 小林富美恵 (¹杏林大学医学部, ²長崎大・熱研・寄生虫, ³長崎大・熱研・病理学分野マラリアユニット) スポロゾイト接種による赤外期マラリア免疫に対するマンソン住血吸虫感染の影響. 第84回日本寄生虫学会大会, 東京, 平成26年3月21-22日 (発表21日).