

実験的バベシア病の感染防御に おける細胞性免疫の検討

五十嵐 郁 男

原虫病分子免疫研究センター

1. 目 的

赤血球内寄生原虫性疾患であるピロプラズマ病は家畜に大きな被害を与えている。しかしながら、薬剤耐性や毒血接種における白血病ウィルス感染等の問題があり、現在のところ効果的な治療及び予防法は確立されていない。このため有効で安全なワクチンの開発が強く切望されており、そのためには感染防御機構を解明することが極めて重要と考えられる。ネズミバベシア原虫 *Babesia microti* は一過性の原虫血症を示すが、その後流血中から原虫は消失し、マウスは生残耐過する。今回、血流中の原虫排除に果たすTリンパ球の役割について、先天的に機能的T細胞を欠くヌードマウス及びTリンパ球に対するモノクローナル抗体 (mAb) を用いて基礎的な検討を行った。

2. 材料と方法

動物：7週令、雌 BALB/c 系の nu/nu(ヌード)、nu/+マウスをクレア社から購入し、滅菌したケージ、餌および水で飼育し実験に用いた。雌 BALB/c マウスは家畜生理学教室で繁殖・飼育したものをを用いた。

バベシア原虫：ベルリン自由大学寄生虫学・熱帯獣医学研究所ハイドン教授から供与を受けた *Babesia microti* ミュンヘン株を実験に供した。1x10⁷ 個の感染赤血球を腹腔内接種し、尾静脈から血液塗抹標本を作成しギムザ染色をした後、感染している赤血球の百分率を算出した。

モノクローナル抗体：T細胞サブセット CD 4, CD 8 に対する mAb はそれぞれ GK 1.5 および 53-6.72 のハイブリドーマを用いて作成した。ヌードマウスにフロインド不完全アジュヴァントを腹腔内投与して1週間後、ハイブリドーマ1x10⁷ 個を腹腔内接種した。10~14 日後に腹水を回収後、50% 飽和硫酸アンモニウム沈澱法により精製し、ブラッドフォード法により蛋白質濃度を測定した。

3. 結果と考察

最初に nu/nu マウスと nu/+マウスに *Babesia microti* 1x10⁷ 個の感染赤血球を腹腔内接種し、1 日おきにパラジテミアを算出して比較した。nu/+マウスでは感染 4 日目から流血中にバベシア原虫が認められ、10 日目に最高値を示した。その後漸減し、3 週以後では原虫は殆ど認められなかった。一方、nu/nu マウスでは 10 日目に約 70% の原虫血症を示し、その後も 40% 前後の原虫血症を維持した(図 1)。この結果より、流血中のバベシア原虫の排除にはT細胞が重要な役割を果たしていることが示唆された。

次にT細胞のどのサブセットがバベシア原虫排除に関与しているか検討するために、BALB/c マウスに抗 CD 4 mAb, 抗 CD 8 mAb, 及び対照として正常ラット IgG を 0.5 mg を連続 3 日間腹腔内投与して、各マウスの原虫血症の動態を比較した。その結果、抗 CD 8 mAb 処理マウスは非処理および正常ラット IgG 処理マウスと同様に感染後 8 日目を境に原虫血症が減少し始め、3 週以後はいずれのマウスにも原虫は殆ど認められなかった。しかし、抗 CD 4 mAb 処理マウスは感染後 10 日目に約 70% の原虫血症を示し、その後も 40% 前後の原虫血症を維持した (図 2)。この結果により、CD 4 陽性細胞がバベシア原虫の排除により重要な役割を果たしていること推察された。しかし、CD 4 陽性細胞がどのような機構でバベシア原虫の排除に関与しているのか不明である。

CD 4 陽性細胞は、B 細胞による抗体産生の補助をするヘルパー T 細胞 (Th) としての機能を果たすことが一般的に知られている。更に最近、インターロイキン 2 (IL-2) や γ インターフェロン (IFN- γ) を産生し、マクロファージの活性化に関与する Th 1 細胞と、IL-4, IL-5, IL-6 等を産生し B 細胞の増殖を促す Th 2 細胞にグループ分けされている。ネズミマラリア感染において、Th 1 細胞が初感染における原虫血症からの回復に関与していることが報告されている。バベシア感染においても、今後これらのサイトカインの産生量や原虫に対する影響を検討し、CD 4 陽性細胞がどのような機構で原虫の排除に関与しているか解明することが必要である。

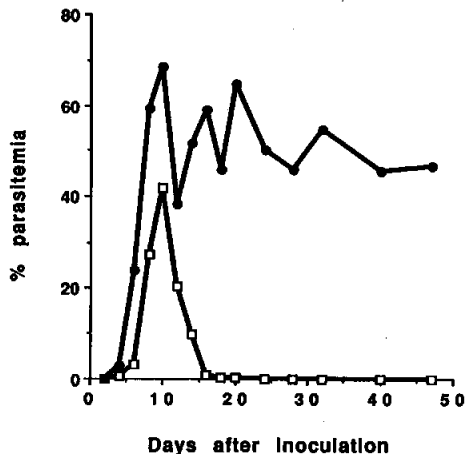


図 1. nu/+マウス(□)と nu/nu マウス(●)における *Babesia microti* 感染経過の比較

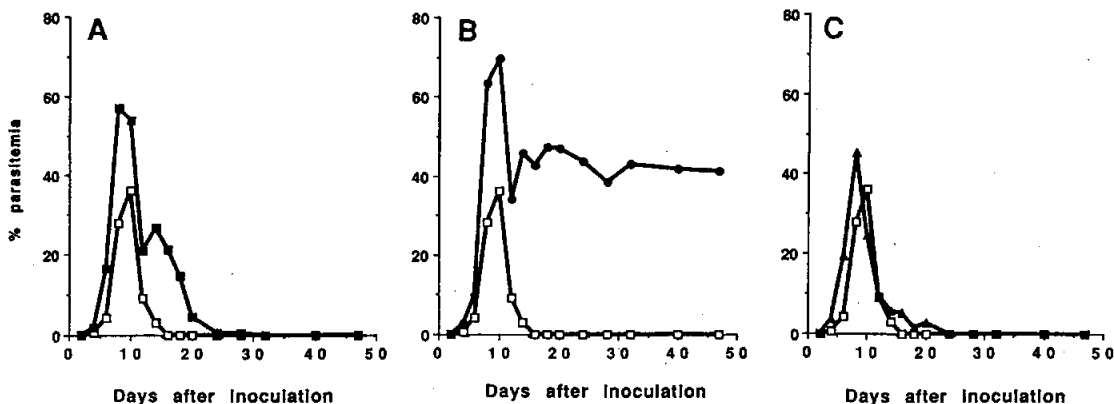


図 2. T 細胞サブセットに対するモノクローナル抗体処理による *Babesia microti* 感染経過の影響
非処理(A-C, □), ラット IgG 処理(A, ■), 抗 CD4 mAb 処理(B, ●), 抗 CD8 mAb(C, ▲)