

皮膚リーシュマニア症と T helper 細胞の分化

山下 隆夫・松田 幹夫・細谷 幸雄・三澤 寿美

T helper subset differentiation in cutaneous leishmaniasis

Takao YAMASHITA, Mikio MATSUDA, Yukio HOSOYA, Sumi MISAWA

Abstract : The mechanisms involved in healing or non-healing in experimental murine infection with *Leishmania major* have attracted much attention not only among parasitologists but also among immunologists, because Th1/Th2 dichotomy that determines the fate of *L. major*-infected mice seems to modulate not only various infections but also the outcome of autoimmune diseases and other immune disorders. In this article, we review the current understanding of Th1/Th2 cell differentiation in *L. major*-infected BALB/c and C57BL/6 mice.

Key words : *L. major*, Th1 cells, Th2 cells

はじめに

寄生虫は単細胞の原虫類から多細胞の蠕虫類まで分類されており、感染後の宿主体内でも、それぞれの寄生虫が異なる生活史をもち、自己の存亡をかけて宿主の排除機構から回避しようとする。他方、同じ種類の寄生虫に感染しても宿主の違いにより治癒するものから、慢性化したり、さらには死に至るものもあり、寄生虫と宿主の関係はいまだに解明されない機構が存在する。病原体に対する免疫応答は CD4⁺T helper cell (Th) の分化と産生されるサイトカインのパターンの解析により 1990 年代頃から急速に進歩してきた。本稿では、実験モデルとして確立しやすい皮膚リーシュマニア症における Th 細胞の分化と感染防御機構について筆者らの研究結果を含め最近の知見をふまえて総説する。

1. リーシュマニア症とリーシュマニア原虫

リーシュマニア症の病原虫はトリパノソーマ科に属し、サシチョウバエの消化管内で鞭毛型として細胞外寄生して 2 分裂によって増殖し、ヒトへはサシチョウバエが吸血するさいに唾液腺から鞭毛型が経皮的に感染する。体内に侵入した原虫は食細胞に貪食されるが、好中球に貪食されると殺滅されるのに対して、マクロファージに貪食されるとファゴゾーム内で無鞭毛型となり 2 分裂で増殖し、さらに他のマクロファージに感染が波及していく。ヒトに病原性を示すリーシュマニア原虫は現在 22 種が知られており種の違いや寄生部位の違いにより内臓型の内臓リーシュマニア症、皮膚型の皮膚リーシュマニア症の 2 つに大別される。*Leishmania donovani* や *L. infantum* 感染によって起こる内臓リーシュマニア症は、定型的発症は 40℃ 前後の発熱ではじまり、脾腫や肝腫が現れ、造血機能も傷害されるため貧血が目立ち、皮膚は薄黒くなるため、俗に黒熱病 (kala-azar) とも言われる。このタイプは予後が悪く適切な治療が行われないと、患者の致死率は高くなる。*L. tropica*, *L. major*, *L. mexicana* の感染で起こる皮膚リーシュマニア症は、原虫が感染部位の皮膚内の網内系細

胞で増殖して、それらを破壊していくため、発赤、丘疹で発症し、やがてその中央部に潰瘍を形成する (Fig. 1)。皮膚型では自然治癒する軽度のものから、病変が広がる瀰漫性皮膚型や *L. braziliensis* 感染のように病巣が鼻腔口腔の粘膜に転移する粘膜皮膚型まである。これらのリーシュマニア症はヒト、イヌ科の動物、齧歯類の動物を保虫宿主とする人畜 (獣) 共通感染症である。日本国内ではサシチョウバエが生息していないため媒介動物による感染はないが、1998年のWHOの報告によれば本症は世界の88カ国で約3億5000万人が感染の危機にさらされ、1,200万人が感染していると推定されている¹⁾。また、最近ではリーシュマニア原虫とHIVが同時に感染することにより、無症状で経過している患者がリーシュマニア症およびAIDSが急速に進行することが、地中海沿岸、インド、バングラディシュ、中南米地域など25カ国から報告されている¹⁾。

2. 実験的皮膚リーシュマニア症

L. major 感染によるマウスの実験的皮膚リーシュマニア症は宿主マウスの遺伝的背景によって予後が決定される。その例として、 4×10^7 個の *L. major* を遺伝的背景の異なるBALB/c及びC57BL/6マウスのfootpadに感染させた後、その感染部位の腫脹を計測した結果、BALB/cマウスで



Fig. 1 皮膚リーシュマニア症、パラグアイ国にて筆者 (山下) 撮影

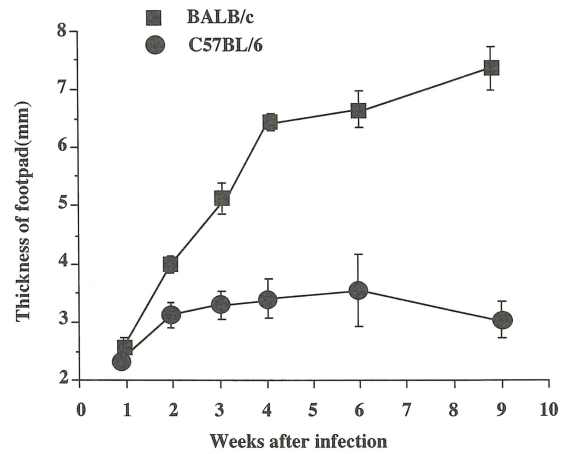


Fig. 2 *L. Major* 感染マウスの足蹠の腫脹

4×10^7 (0.02ml のリン酸緩衝液後に懸濁) の *L. major* promastigote をマウスの後左足 foot pad に感染させた。結果は対照として同量のリン酸緩衝液を投与した右足 foot pad との差を示した。

は感染部位は2週目より腫脹し、9週目には正常の3倍まで腫脹し、その後は内臓へと感染が拡大して治癒しないが、C57BL/6では感染後2週から6週までは、正常の約1.5倍まで腫脹するが9週には正常の大きさまで回復し治癒した (Fig. 2)。

3. *L. major* 感染防御機構とTh1/Th2細胞

リーシュマニア原虫は宿主の好中球に貪食されると殺滅および消化されるがマクロファージに貪食されると食胞内で増殖することが可能である。他方、宿主の抗体や補体は細胞内寄生原虫に対する感染防御として作用しない。なぜFig. 2のようにマウスの系統によりリーシュマニア原虫に対する感染抵抗性の違いがどのようにしておこるのか、その理由を Reiner and Locksley, 1995²⁾はリーシュマニア原虫感染後の宿主におけるCD4⁺ ThがTh1細胞またはTh2細胞のどちらかに分化誘導されることによってその病態が左右されると説明している。生体内に侵入したリーシュマニア原虫は抗原提示細胞に取り込まれ一部の原虫はペプチド断片に消化された後HLAクラスII分子との複合体として細胞表面に提示され、T cell receptor (TCR) を介して抗原を認識したナイーブT細胞はTh1細胞またはTh2細胞に分化する³⁾ (Fig. 3)。

Th1/Th2細胞は最初Tadaら, 1978⁴⁾により報告された。その後の多くの研究結果から、現在はTh1/Th2細胞は産生されるサイトカインの違いによって分けられる。IL-2, IFN- γ , TNF- β を産生するT細胞はTh1細胞, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10,

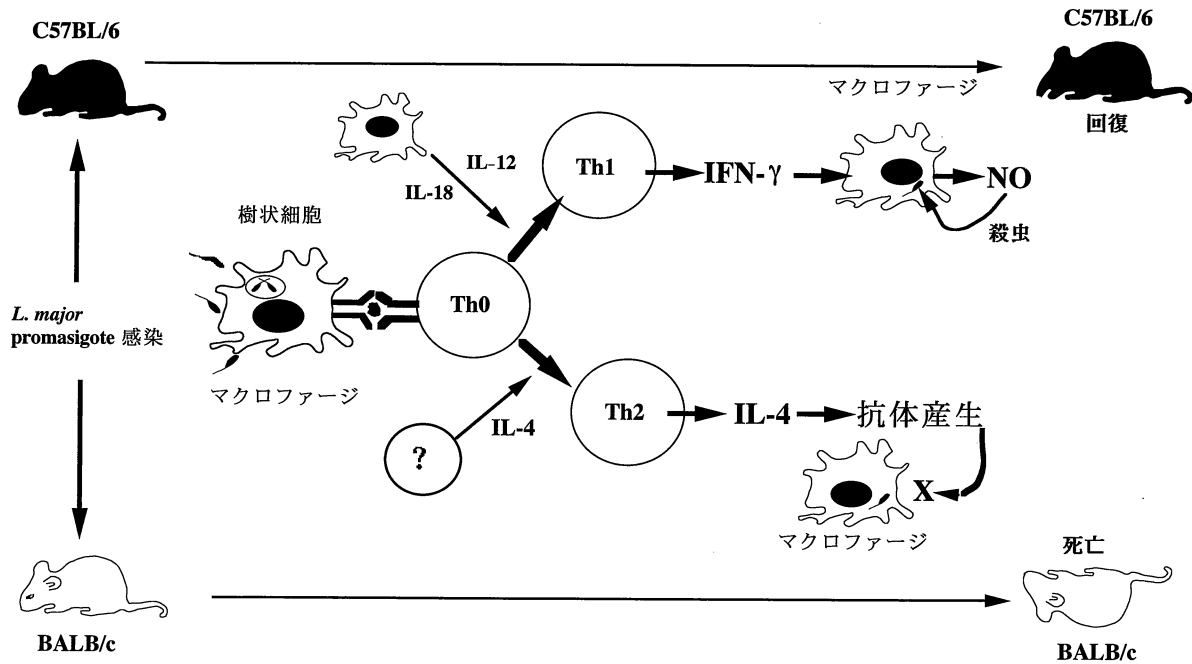


Fig. 3 *L. major* 感染マウスにおける Th1/Th2 細胞分化と感染抵抗性 / 感受性

IL-13 を産生する T 細胞は Th2 細胞と呼ばれている。これらの細胞群は生体防御, 免疫応答における働きも異なり, Th1 細胞から産生される IFN- γ はマクロファージを活性化して, 細胞内原虫を殺滅する一酸化窒素 (NO) を産生させる。一方, Th2 細胞は細胞外病原体を排除する液性免疫を誘導する IL-4, IL-5, IL-6 を産生したり, マクロファージの機能を抑制する IL-10 を産生する⁹⁾。このような Th1/Th2 細胞はそれぞれ別の前駆細胞から分化するのではなく, 遺伝的素因, 暴露される抗原量, costimulatory 分子, 抗原提示を受ける際に周囲に存在する T 細胞以外の細胞から産生されるサイトカイン (サイトカイン環境), などにより, 共通の前駆細胞から分化する^{6, 7, 8)}。

4. *L. major* 感染マウスにおける IL-4 および IFN- γ 産生動態

リーシュマニア原虫感染における防御機構の研究はマクロファージの機能および CD4⁺ T 細胞の Th1/Th2 細胞分化機構の解析に多大な貢献をしており, これまでの多くの報告について前川ら, 2001⁹⁾ がまとめている。しかしながら, 抗原提示細胞によるリーシュマニア原虫抗原の処理, 抗原を提示された直後からの T 細胞の動態, 周囲の T 細胞以外から産生されるサイトカイン環境についてはいまだ不明な部分として残っているが, 本稿

ではリーシュマニア原虫感染後のどの時期に Th1/Th2 細胞が分化しているのかについてこれまでの我々の実験結果をもとに考察したい。

Th1/Th2 細胞の検出は細胞表面のマーカーがいまだ見つかっていないことから, 産生されるサイトカインの種類によって分類されている。現在のところ PCR による mRNA の検出, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) による培養液中に分泌されたサイトカインの検出, ELISA を応用した分泌細胞を一個当たりで検出できる enzyme-linked immunospot assay (ELISPOT), 細胞内サイトカインの検出ができる Flow cytometry 法が, 用いられている。多くの報告ではサイトカインの検出には *in vitro* の培養系で細胞を抗原または抗体などで再刺激したあと, サイトカインの測定を行っている。この方法は確かにサイトカインの分泌量を上げることにより検出率の上昇にはなるが, 生体内ではサイトカインを分泌していないナイーブ細胞やメモリー細胞まで刺激することになり, 生体内のサイトカイン分泌を反映していないと考えられる。Yamashita ら, 1999¹⁰⁾ は一個の分泌細胞でも検出できる ELISPOT 法で IFN- γ , IL-4 産生を検討した。*L. major* 感染部位の footpad の腫脹が顕著に認められるようになる感染 3 週のマウスを用いて検討した結果, 感染部位に近い popliteal

lymph node, 脾臓, 肝臓における IFN- γ 分泌細胞は *in vitro* で抗原刺激なしでは検出されないが, 抗原刺激を行うことにより C57BL/6 および BALB/c マウスのどちらでも検出できることがわかった (Table 1)。

次に, IL-4 分泌細胞についても同じように検討した結果, C57BL/6 マウスでは *in vitro* で *L. major* 抗原による刺激を行わないと IL-4 分泌細胞は検出できないが, BALB/c マウスの脾臓および肝臓からは *in vitro* での抗原刺激なしで IL-4 を分泌する細胞が検出された (Table 2)。*in vitro* での抗原刺激なしでの IL-4 産生細胞は BALB/c マウスの脾臓で感染 1 週後に検出され, その数は感染 4 週には減少するが, BALB/c マウスの肝臓からは, 1 週後には検出されないものの, 感染 2 週後になると検出され, その後さらに増加することがわかった (Table 3)。*L. major* 感染における Th1/Th2 細胞分化について, 肝臓の単核球からの IL-4 産生細胞の報告は Yamashita ら, 1999¹⁰⁾ が初めてであり, 感

染早期の肝臓における IL-4 産生細胞の増加が病態の予後に関与していることが強く示唆された。

リーシュマニア原虫感染における CD4⁺ T 細胞の Th1/Th2 細胞への分化については, 抗原提示細胞の種類, 抗原プロセッシング, サイトカイン環境のそれぞれの分野からの解説がなされており, 抗原提示細胞の種類としてマクロファージより樹状細胞が Th1/Th2 細胞のバランスを決定するとの報告¹¹⁾ や抗原が分解されるエンド・リソソーム内のタンパク分解酵素カテプシン B によって処理された抗原が感染初期の IL-4 産生を促進させることから Th 細胞分化が抗原プロセッシングに関与するタンパク分解酵素によって調節されているとの報告がある¹²⁾。その他に, ナイーブ T 細胞を Th1 細胞に分化させるサイトカインとして樹状細胞やマクロファージから産生される IL-12¹³⁾ が報告されている。実際, *L. major* 感染 BALB/c マウスに感染後 1 週間以内に大量の IL-12 を投与すると治癒するが¹⁴⁾, IL-18 と共に投与すると単独では効果

Table 1 *L. major* 感染マウスより取り出した細胞からの IFN- γ 産生における *in vitro* での抗原刺激の影響

Source of cells	Strain	Number of IFN- γ secreting cells/10 ⁶ cells		
		Concentration of <i>L. major</i> antigen (μ g/ml)		
		0	1	10
Popliteal lymph node cells	C57BL/6	0	10 \pm 1	21 \pm 2
	BALB/c	0	4 \pm 1	7 \pm 3
Spleen cells	C57BL/6	0	19 \pm 2	58 \pm 5
	BALB/c	0	6 \pm 2	23 \pm 2
Hepatic mononuclear cells	C57BL/6	0	10 \pm 3	7 \pm 2
	BALB/c	0	3 \pm 0	3 \pm 1

各細胞は *L. major* 感染 3 週後のマウスより調整し, *L. major* 抗原で 6 時間 *in vitro* で培養した後, ELISPOT で IFN- γ 産生細胞を検出した。結果は 10⁶ 細胞あたりの IFN- γ 産生細胞。(文献 10 より改変)

Table 2 *L. major* 感染マウスより取り出した細胞からの IL-4 産生における *in vitro* での抗原刺激の影響

Source of cells	Strain	Number of IL-4 secreting cells/10 ⁶ cells		
		Concentration of <i>L. major</i> antigen (μ g/ml)		
		0	1	10
Popliteal lymph node cells	C57BL/6	0	3 \pm 2	12 \pm 5
	BALB/c	0	3 \pm 2	13 \pm 5
Spleen cells	C57BL/6	0	18 \pm 1	10 \pm 2
	BALB/c	3 \pm 1	85 \pm 15	150 \pm 12
Hepatic mononuclear cells	C57BL/6	0	22 \pm 9	18 \pm 5
	BALB/c	62 \pm 6	400 \pm 23	310 \pm 30

各細胞は *L. major* 感染 3 週後のマウスより調整し, *L. major* 抗原で 6 時間 *in vitro* で培養した後, ELISPOT で IL-4 産生細胞を検出した。結果は 10⁶ 細胞あたりの IL-4 産生細胞。(文献 10 より改変)

Table 3 *L. major* 感染マウスより取り出した細胞を *in vitro* で抗原刺激しない状態での IL-4, IFN- γ 産生細胞の動態

Cells	Strain	Cytokine	Weeks after infection				
			1	2	3	4	5
Popliteal lymph node cells	C57BL/6	IFN- γ	0	0	0	0	0
		IL-4	0	0	0	0	0
	BALB/c	IFN- γ	0	0	0	0	0
		IL-4	0	0	0	0	0
Spleen cells	C57BL/6	IFN- γ	0	0	0	0	0
		IL-4	0	0	0	0	0
	BALB/c	IFN- γ	0	0	0	0	0
		IL-4	16 \pm 4	13 \pm 2	16 \pm 3	3 \pm 2	4 \pm 1
Liver lymphocytes	C57BL/6	IFN- γ	0	0	0	0	0
		IL-4	0	0	0	0	0
	BALB/c	IFN- γ	0	0	0	0	0
		IL-4	0	35 \pm 8	62 \pm 6	125 \pm 9	153 \pm 12

各細胞 (5×10^6) を抗原刺激なしで6時間培養して、ELISPOT で IL-4, IFN- γ 産生細胞の検出をおこなった。

を示さない濃度でも感染抵抗性を示す。すなわち、IL-18には単独ではナイーブ T 細胞を Th1 細胞に分化させる機能はないことから、IL-12により IL-18 receptor の発現が増強され IL-18により IFN- γ が産生され、その結果、産生された NO が *L. major* を殺滅する¹⁵⁾と考えられる。*L. major* 感染 BALB/c マウスにおいても感染 24 時間後には IL-12 を産生¹⁶⁾ することができるにもかかわらず、Th1 細胞を誘導できない機序として、感染後早期に産生される IL-4 によって IL-12 receptor の発現が抑制されるため IL-12 に対する反応性が低下することからその後の Th1 細胞への分化が阻害される¹⁷⁾ と推測される。

今回我々の示した *in vivo* での産生状況を反映する検出方法の結果からも *L. major* 感染 BALB/c マウスは感染早期に IL-4 を産生していることが確かめられた。他方、感染抵抗性である C57BL/6 では IFN- γ を産生している細胞は生体から取り出した後に、*L. major* 抗原で再刺激しないと検出できなかった。正常マウスのリンパ球は *in vitro* で6時間の抗原刺激を行っても IFN- γ 分泌細胞は検出できないことから、確かに感染によって IFN- γ を産生する Th1 細胞になりうる細胞は出現しているが、IFN- γ 分泌細胞まで分化するには *in vitro* での抗原刺激のような要因が必要であることを示唆しており、生体内の局所ではどのような現象が起き

Table 4 *L. major* 感染マウス BALB/c の肝臓より取り出した IL-4 産生細胞の phenotypes

Phenotype	% of IL-4 producing cells		
	Weeks after infection		
	2	3	5
CD4 ⁺	36.7	13.7	5.4
CD8 ⁺	0	7.7	7.1
$\gamma \delta$ ⁺	16.1	4.9	3.3
$\alpha \beta$ ⁺	0	14.0	26.1
Non characterized	47.1	59.5	57.8

感染マウスの肝臓より分離した単核球を1時間培養液のみで培養し、続いて3 μ g/ml の monensin 存在下で2時間培養、細胞表面の phenotype マーカーを色素結合抗体で標識後、細胞を paraformaldehyde で固定した。細胞内 IL-4 は 0.5% saponin で細胞膜表面に穴をあけ、色素結合抗 IL-4 抗体と反応させた後、flow cytometry で検出した。結果は各週の IL-4 産生細胞総数の割合 (%) として表した。(文献 10 より改変)

ているのか、さらに、数は少ないが感染感受性である BALB/c マウスでも Th1 細胞になりうる細胞は出現しているのに、なぜ治癒しないのか、IL-4 以外の要因が存在するのか等については今後の研究課題である。

5. IL-4 産生細胞の phenotype

L. major 感染 BALB/c マウスの肝臓で IL-4 を産生している細胞はどのような phenotype の細胞かを検討した (Table 4)。細胞外へ分泌された IL-4

が, どの細胞から分泌されたのかについては特定できない。そこでゴルジ体から分泌される IL-4 を monensin で細胞内に閉じこめ, 次に細胞表面の特定のタンパク分子を色素結合モノクローナル抗体で標識した後, 細胞全体を paraformaldehyde で固定して, さらに saponin で細胞表面に穴を開け, 細胞内の IL-4 を色素結合抗 IL-4 抗体で標識することにより, 細胞一個あたりについて, 細胞内の IL-4 とマーカーとなる細胞表面の固有のタンパク質を同時に特定できる flow cytometry 法を用いた¹⁸⁾。Table 4 には *L. major* 感染 BALB/c マウスの肝臓より取り出した IL-4 分泌細胞総数のうち, それぞれの phenotype をもつ IL-4 産生細胞が何%かを示した。感染2週後に検出できる IL-4 分泌細胞の phenotype は CD4⁺ T 細胞および $\gamma\delta^+$ T 細胞であるが, これらの細胞はその後減少した。CD8⁺ T 細胞と $\alpha\beta^+$ T 細胞は感染後2週にならないと検出できないが, $\alpha\beta^+$ T 細胞は感染5週後まで増加した。その他に, T 細胞ではない IL-4 産生細胞も感染後2週~5週まで47~59%を占めており, これらの細胞からの IL-4 も重要と考えられ, 今後の研究課題である。

ナイーブ T 細胞が Th2 細胞に分化するには抗原と IL-4 の刺激を必要とするが, 免疫応答の初期に IL-4 を産生する細胞として NKT 細胞¹⁹⁾, 肥満細胞²⁰⁾, 好酸球²¹⁾, $\gamma\delta^+$ T 細胞²²⁾ が知られている。我々の結果では, IL-4 分泌細胞は感染1週後の脾臓細胞からも検出されたが, 細胞の phenotype を特定するには細胞数が少なく不可能であった。細胞の phenotype を特定するための細胞数が確保できたのは感染2週後の肝臓の単核球であり, それらの細胞の中で最初に検出される IL-4 分泌細胞の中に $\gamma\delta^+$ 細胞も含まれていたが, phenotype を特定出来ない IL-4 分泌細胞が47%あった。Reiner ら, 1993²³⁾ および Launois ら, 1997²⁴⁾ は *L. major* 感染 BALB/c マウスで TCR が V α 8/V β 4 を発現している T 細胞が感染後90分以内に IL-4 を産生すると報告している, しかし, ナーブ T 細胞が IL-4 mRNA を発現するには, 抗原刺激に36時間必要であることやメモリー T 細胞での IL-4 転写に12時間かかる結果^{25, 26)} と矛盾する。他方, Julia ら, 2000²⁷⁾ は腸管内細菌抗原で刺激を受けている CD62^{low} CD44^{high} CD45RB^{low} の CD4⁺ T 細胞が交叉反応性に *L. major* 抗原刺激で最初に IL-4 を産生すると報告

しておりまだ一致した結論は得られていない。

Th1/Th2 細胞バランスの偏りは感染症のみならず, アレルギー, 自己免疫疾患, 臓器移植など多くの分野での病態形成に大きく関与しており人為的に Th1/Th2 細胞バランスを制御できると治療に役立つと考えられる。特に, 実験的リーシュマニア症は Th1/Th2 細胞の分化機構を解明するのに有用なモデルであり, 今後さらに解明していきたい。

文 献

- 1) WHO Leishmaniasis and HIV in gridlock: WHO/CTD/LEISH/98 9, 1-28, 1998.
- 2) Reiner, S. L. & Locksley, R. M. : The regulation of immunity to *Leishmania major*. Annual Review of Immunology 13, 151-177, 1995
- 3) Seder, R. A. & Paul, W. E. : Acquisition of lymphokine-producing phenotype by CD4⁺ T cells. Annual Review of Immunology 12, 635-673, 1994.
- 4) Tada T., Takemori T., Okumura K., Nonaka M. & Tokuhisa T. : Two distinct types of helper T cells involved in the secondary antibody response: independent and synergistic effects of Ia- and Ia⁺ helper T cells. Journal of Experimental Medicine 147, 446-458, 1978.
- 5) Mossman, T. R. & Coffman, R. L. : TH1 and TH2 cells : Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. Annual Review of Immunology 7, 145-173, 1989.
- 6) 青木一郎: アクセサリー細胞と Th1/Th2 細胞の分化, 臨床免疫 29, 1072- 1076, 1997.
- 7) 中島敦夫: Th1/Th2 バランスに及ぼす costimulatory molecule の影響. 臨床免疫 30, 449-454, 1998.
- 8) 成内秀雄: Th1 細胞へのコミットメントと新規転写因子 T-bet. 臨床免疫 36, 106- 110, 2001.
- 9) 前川洋一, 張天塹, 姫野國祐: リーシュマニア感染と Th1/Th2. 臨床免疫 35, 580-586, 2001.
- 10) Yamashita, T., Miyata, H., Miyaji, C., Watanabe, H., Abo, T., Kobayaka, T., Kaneko, A. & Sando, F. : CD4⁺ and/or $\gamma\delta^+$ T cells in the liver spontaneously produce IL-4 in vitro during the early phase of *Leishmania major* infection in susceptible BALB/c mice. Acta Tropica 73, 109-119, 1999.
- 11) 鈴江一友, 小林正規, 竹内勤, 小安重夫:

- Leishmania major* 感染における Th1/Th2 のバランスは樹状細胞が決定する. 第 70 回日本寄生虫学会・第 53 回日本衛生動物学会合同大会記録, 95, 2001.
- 12) Maekawa, Y., Himeno, K., Ishikawa, H., Hisaeda, H., Sakai, T., Dainichi, T., Asao, T., Good, R. A. & Katunuma, N.: Switch of CD4⁺ T cell differentiation from Th2 to Th1 by treatment with cathepsin B inhibitor in experimental leishmaniasis. *Journal of Immunology* 161, 2120-2127, 1998.
- 13) Hsieh, C. S., Macatonia, S. E., Tripp, C. S., Wolf, S. F., O'Garra, A. & Murphy, K. M.: Development of TH1 CD4⁺ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages. *Science* 260, 547-549, 1993.
- 14) Heinzl, F. P., Schoenhaut, D. S., Rerko, R. M., Rosser, L. E. & Gately, M. K.: Recombinant interleukin 12 cures mice infected with *Leishmania major*. *Journal of Experimental Medicine* 177, 1505-1509, 1993.
- 15) Ohkusu, K., Yoshimoto, T., Takeda, K., Ohkusu, K., Yoshimoto, T., Takeda, K. & Ogura, T.: Kashiwamura, S., Iwakura, Y., Akira, S., Okamura, H., Nakanishi, K.: Potentiality of Interleukin-18 as a useful reagent for treatment and prevention of *Leishmania major* infection. *Infection and Immunity* 8, 2449-245, 2000.
- 16) Scharton-Kersten, T., Afonso, L.C., Wysocka, M., Trinchieri, G. & Scott, P.: IL-12 is required for natural killer activation and subsequent T helper 1 cell development in experimental leishmaniasis. *Journal of Immunology* 154, 5320-5330, 1995.
- 17) Himmelric, H., Parra-Lopez, C., Tacchini-Cottier, F., Louis, J. A. & Launois, P.: The IL-4 rapidly produced in BALB/c mice after infection with *Leishmania major* down-regulates IL-12 receptor beta 2-chain expression on CD4⁺ T cells resulting in a state of unresponsiveness to IL-12. *Journal of Immunology* 161, 6156-6163, 1998.
- 18) Murphy, E., Shibuya, K., Hosken, N., Openshaw, P., Maino, V., Davis, K., Murphy, K. & O'Garra, A.: Reversibility of T helper 1 and 2 population is lost after-term stimulation. *Journal of Experimental Medicine* 183, 901-913, 1996.
- 19) Yoshimoto, T. & Paul, W. E.: CD4⁺ NK1.1⁺ T cells promptly produce interleukin 4 in response to *in vivo* challenge with anti-CD3. *Journal of Experimental Medicine* 179, 1285-1295, 1994.
- 20) Paul, W. E., Seder, R. A. & Plaut, M.: Lymphokine and cytokine production by Fc epsilon R 1⁺ cells. *Advanced Immunology* 53, 1-29, 1993.
- 21) Moqbel, R., Ying, S., Barkans, J., Newman, T. M., Kimmitt, P., Wakelin, M., Taborda-Barata, L., Meng, Q., Corrigan, C. J. & Durham, S. R.: Identification of messenger RNA for IL-4 in human eosinophils with granule localization and release of the translated product. *Journal of Immunology* 155, 4939-4947, 1995.
- 22) Rosat, J.-P., MacDonald, H. R. & Louis, J. A.: A role for gamma delta + T cells during experimental infection of mice with *Leishmania major*. *Journal of Immunology* 150, 550-555, 1993.
- 23) Reiner, S. L.: Th1 and Th2 cell antigen receptors in experimental leishmaniasis. *Science* 259, 1457-1460, 1993.
- 24) Launois, P., Maillard, I., Pingel, S., Swihart, K. G., Xenarios, I., Acha-Orbea, H., Diggelmann, H., Locksley, R. M., MacDonald, H. R. & Louis, J. A.: IL-4 rapidly produced by V beta 4 V alpha 8 D4⁺ T cells instructs Th2 development and susceptibility to *Leishmania major* in BALB/c mice. *Immunity* 6, 541-549, 1997.
- 25) Croft, M., Bradley, L. M. & Swain, S. L.: Naive versus memory CD4 T cell response to antigen memory cells are less dependent on accessory cell costimulation and can respond to many antigen-presenting cell types including resting B cells. *Journal of Immunology* 152, 2675-2685, 1994.
- 26) Croft, M. & Swain, S. L.: Recently activated naive CD4⁺ T cells can help resting B cells, and can produce sufficient autocrine IL-4 to drive differentiation to secretion of T helper 2-type cytokines. *Journal of Immunology* 154, 4269-4282, 1995.
- 27) Julia, V., McSorley, S. S., Malherbe, L., Breittmayer, J. P., Girard-Pipau, F. & Beck, A., Glaichenhaus, N.: Priming by microbial antigens

from the intestinal flora determines the ability of CD4⁺ T cells to rapidly secrete IL-4 in BALB/c mice infected with *Leishmania major*. Journal of

Immunology 165, 5637-5645, 2000.

— 2001. 10. 24. 受稿, 2002. 1. 4. 受理 —

要 約

L. major 感染では CD4⁺T 細胞が Th1 細胞, Th2 細胞のどちらに分化するかにより病態が全く異なる。*L. major* 感染抵抗性 C57BL/6 マウスと感受性 BALB/c マウスにおける IL-4, IFN- γ 産生を検討した結果, 感染マウスから取り出した細胞は *in vitro* で *L. major* 抗原存在下ではどちらの感染マウスの細胞も IL-4, IFN- γ を産生するが, 抗原不在では BALB/c マウスからの細胞のみが IL-4 を産生し, 特に感染早期の肝臓における IL-4 産生細胞の増加が病態の予後に関与していることが強く示唆された。

謝 辞

本研究の一部は山形県立保健医療短期大学共同研究の助成により行われた。

キーワード : Th1/Th2 細胞の分化, *L. major* 感染, BALB/c, C57BL/6, IL-4, IFN- γ