

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月15日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590384

研究課題名（和文）糞線虫排除における IgE の役割に関する研究

研究課題名（英文）IgE-mediated host defense mechanism during *Strongyloides venezuelensis* infection

研究代表者

松本 真琴 (MATSUMOTO MAKOTO)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：40380521

研究成果の概要（和文）：免疫グロブリンのクラススイッチ能力を欠いた AID 欠損マウスに糞線虫を感染させると糞線虫の排除が遅延した。糞線虫を感染させた野生型マウスから採取した血清を AID 欠損マウスに移入すると糞線虫が迅速に排除された。感染血清から精製した IgG、IgE は排虫活性を有し、それぞれ Fc $\gamma$ RIII、Fc $\epsilon$ RI を介して機能していた。さらに IgG と IgE が相補的かつ協調的に機能していることが分かった。IgG と IgE の標的細胞は肥満細胞であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Activation-induced cytidine deaminase-deficient (AID $^{-/-}$ ) mice, lacking the ability to switch IgM to other isotypes, required much longer period to expel *S.venezuelensis* than wild-type (WT) mice. Adoptive transfers of immune sera from *S. venezuelensis*-infected mice restored AID $^{-/-}$  mice to promptly expelled *S.venezuelensis*. Immune serum-derived IgG and IgE induced worm expulsion via Fc $\gamma$  receptor III (Fc $\gamma$ RIII) and Fc $\epsilon$  receptor I (Fc $\epsilon$ RI), respectively. IgG and IgE played redundant roles but acted in concert to promote *S.venezuelensis* expulsion. My findings also suggest that mast cells are cellular targets of IgG and IgE.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・寄生虫学（含衛生動物学）

キーワード：免疫、抗体、蠕虫

## 1. 研究開始当初の背景

糞線虫は熱帯、亜熱帯地方に住む人類約 1 億人に感染していると推測されている。正常な免疫機能を有する感染者は消化器症状を呈する程度の軽症で済む場合がほとんどで

ある。しかし、HTLV-1 あるいは HIV を重複感染している場合、糞線虫が全身に播種し、致命的になる例がある。また、ステロイドなどの免疫抑制剤を服用すると同様に全身播種を起こすことがある。今後糞線虫が蔓延して

いる地方の生活水準、医療水準が向上してくるに従い、糞線虫感染が公衆衛生学上の重要課題として浮上してくることが予測される。

ヴェネズエラ糞線虫はラットを宿主とし、マウスにも感染することが出来る。ヒト糞線虫のモデルとして 1990 年代から研究材料として使用されてきた実績がある。1990 年以前は別種である *Strongyloides ratti* がモデルとして使用され、この 2 種を用いて宿主からの排除機構は詳細に解析されてきた。糞線虫の幼虫は皮膚から侵入し、血流に乗り、肺に至る。肺で脱皮した後、気道分泌物に紛れて、食道に侵入、胃を通過し、小腸上部で成虫に成長、大量に産卵する。しかし、その後宿主の免疫反応 (Th2 応答) が作用し、感染後約 1 2 日間で排除される。Th2 応答の中身は IgG1、IgE 産生、好酸球増加、好塩基球増加、IL-13 による小腸微絨毛上皮における杯細胞増加、杯細胞によるムチン産生、IL-13 による小腸平滑筋収縮促進、IL-3、IL-9 による小腸微絨毛上皮内肥満細胞増殖などである。このうち、小腸微絨毛上皮内に増殖する肥満細胞は粘膜型肥満細胞であり、皮膚型肥満細胞とは含有する顆粒内成分が大幅に異なる。この粘膜型肥満細胞が糞線虫の成虫排除に重要な役割を果たしていることが 1980 年代以降、日本人研究者を中心として明らかにされて来た。粘膜型肥満細胞が糞線虫を排除する分子機構について 2000 年頃に肥満細胞顆粒内に存在するコンドロイチン硫酸が糞線虫に作用し、小腸壁からの離脱を促すという仮説が提唱されている。

2000 年に宮崎大学の名和教授のグループが免疫グロブリン Fc 受容体 FcR $\gamma$  の欠損マウスは糞線虫排除が大幅に遷延することを報告した。ところが、粘膜型肥満細胞の増殖は正常に起こっていたことから、粘膜型肥満細胞による排虫機構の理解が現状のままでは不十分であると認識されていた。私たちは、免疫グロブリンによる排虫機構という観点からこの問題に取り組むことにした。

## 2. 研究の目的

蠕虫感染は宿主に Th2 応答を誘導する。その結果免疫グロブリンのクラススイッチが生じ、IgE が大量に産生される。IgE は感染した蠕虫排除に働いていると一般的に信じられてきた。しかし、IgE が蠕虫排除に働いていると厳密に証明された例は極めて少ない。今まで *Schistosoma mansoni*、*Trichinella spiralis*、*Brugia malayi* の 3 種の蠕虫排除に IgE が働いていると言われている。しかし、これらの報告は IgE を投与して排虫が促されるというデータを欠いており、説得力に乏しい。一方、免疫グロブリン Fc 受容体 FcR $\gamma$  欠損マウスは糞線虫排除が初感染時に大幅に遷延するという報告が

あり、その後の解析が十分に進んでいなかった。そこで、私たちは IgE が糞線虫排除に機能しているという仮説を立て、実証することにした。もし、糞線虫排除に IgE が大きな役割を果たしていることが分かれば、蠕虫感染免疫学全体に与えるインパクトがあり、かつ将来的に糞線虫に対するワクチンを開発するための基盤的知識を提供することにつながる考えた。

## 3. 研究の方法

FcR $\gamma$  欠損マウスとよく似た表現型を示すことが予測された AID 欠損マウスを用いて実験を行った。AID 欠損マウスは IgM 以外の免疫グロブリン IgA、IgG、IgE を産生することが出来ないが、Fc 受容体は持っているため、抗体の移入実験のレシピエントとして最適である。野生型マウスに糞線虫を感染させ、十分免疫グロブリンを産生させた後、血清を採取し、血清から IgG、IgE を精製し、AID 欠損マウスに投与することによって、これらの免疫グロブリンの排虫活性を測定した。

## 4. 研究成果

(1) AID 欠損マウスに糞線虫を感染させると野生型マウスが 1 2 日間で排虫を完了するのに対し、排虫が遅延し、感染期間が 20 日以上遷延した。また、小腸内の成虫数も感染後 10 日目で比較すると AID 欠損マウスで約 3 倍多く認められた。

(2) AID 欠損マウスに糞線虫を感染させ、感染後 6、8、10 日目に感染血清を投与すると感染期間が 22 日から 11 日に短縮した。また感染後 6、7 日に感染血清を投与し、8 日目に小腸内の成虫数を数えると約五分の一に減少していた。

(3) 感染血清から IgE または IgG を除くと排虫活性が減弱した。IgE と IgG 両方を除くと排虫活性が完全に消失した。このデータから IgG と IgE が感染血清中の排虫活性を示す責任分子であることが強く示唆された。次に IgG、IgE を精製して投与すると、それぞれ容量依存的に排虫活性を示した。

(4) IgG、IgE はそれぞれ Fc $\gamma$ R1111 欠損マウス、Fc $\epsilon$ RI 欠損マウスにおいて排虫活性を發揮出来なかったため、IgG、IgE の受容体はそれぞれ Fc $\gamma$ R1111、Fc $\epsilon$ RI であることが証明された。ところが、Fc $\gamma$ R1111 欠損マウス、Fc $\epsilon$ RI 欠損マウスに糞線虫を感染させるとそれぞれ野生型マウスと同様に排虫が起こった。このデータは上で示したデータと一見矛盾する。しかし、Fc $\gamma$ R1111 欠損マウスにおいては IgG が働かない代わりに IgE が働き、Fc $\epsilon$ RI 欠損マウスにおいては IgE が働かない代わりに IgG が働いていると考えたと説明がつく。実際、図 1 に示すように Fc $\gamma$ R1111 欠損マウスにおいて IgE を  $\alpha$  IgE で中和すると排

虫が大幅に遅れた。同様に図2にあるように FcεRI 欠損マウスにおいて FcγRIII への IgG の結合を αFcγRIII で阻害すると排虫が大幅に遅れた。

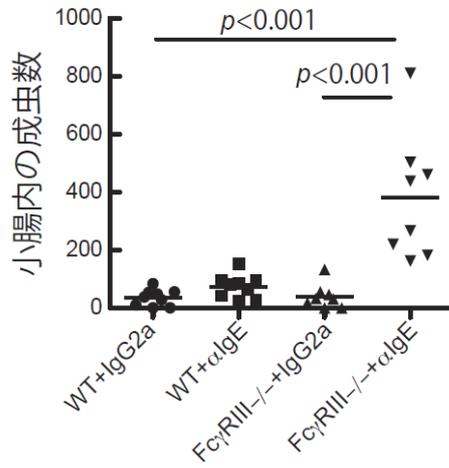


図 1

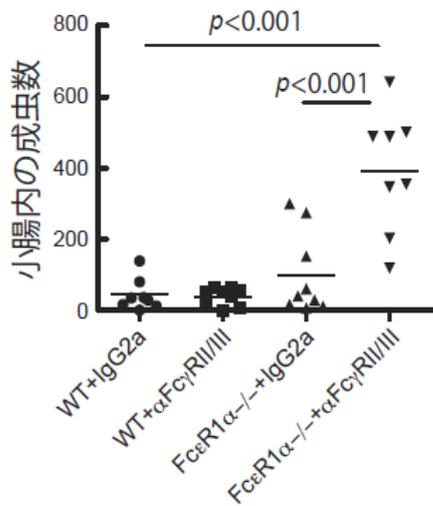


図 2

(5) 図3に示すように IgG、IgE を混合して投与すると IgG、IgE それぞれの単独投与より排虫活性が増強した。つまり、IgG と IgE は協調して排虫促進に働いていることが明らかになった。

(6) IgG、IgE は肥満細胞を欠く W/W<sup>v</sup> マウスにおいては排虫活性を全く示さなかった。このデータから IgG、IgE は肥満細胞に働いて排虫活性を発揮していることが強く示唆さ

れた。

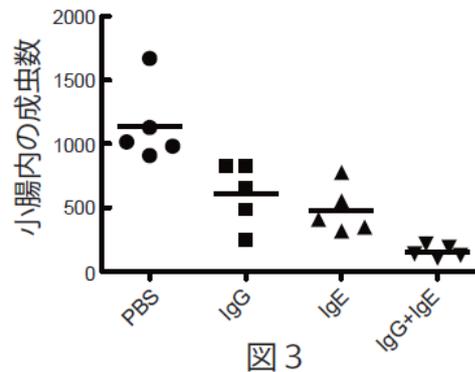


図 3

(7) 当初、私たちは IgE が糞線虫排除に機能しているという仮説を立て、実験によって検証した。その結果、IgE だけでなく、IgG も糞線虫を排除する活性を有し、IgG と IgE が協調して働いていることを証明することが出来た。本研究で得られたデータから FcRγ 欠損マウスで排虫が遅延するのは IgG と IgE がそれぞれ FcγRIII、FcεRI を介して機能出来ないためであることが明確に証明された。また IgG と IgE の標的細胞は肥満細胞であると推測される。AID 欠損マウスにおいて小腸上皮内の肥満細胞の増殖は正常に生じていたが、IgG と IgE による活性化が不十分であるため排虫活性が低いままに留まっていると考えられる。しかし、この点に関しては推測の域を出ず、さらなる解析が必要である。

##### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線) [雑誌論文] (計 1 件)

1. Makoto Matsumoto, Yuki Sasaki,

Koubun Yasuda, Toshiyuki Takai,

Masamichi Muramatsu, Tomohiro

Yoshimoto, Kenji Nakanishi, IgG and IgE

collaboratively accelerate expulsion of

*Strongyloides venezuelensis* in a primary

infection. *Infection and Immunity*, 査読有、

Vol.81, No.7, 2013, 2518-2527

DOI: 10.1128/IAI.00285-13

[学会発表] (計 1 1 件)

① 松本真琴, 佐々木由紀, 安田好文, 善本知広, 中西憲司. 感染後産生される IgG と IgE はヴェネズエラ糞線虫の排除を促進

する. 第 82 回日本寄生虫学会大会  
2013.3.30 東京

② 松本真琴, 佐々木由紀, 安田好文, 村松正道, 本庶佑, 善本知広, 中西憲司. Antibody-mediated expulsion of *Strongyloides venezuelensis* in a primary infection. 第 41 回日本免疫学会総会 2012. 12. 7 神戸

③ 松本真琴, 佐々木由紀, 安田好文, 善本知広, 中西憲司. ヲェネズヱラ糞線虫に対する抗体依存性排虫機構. 第 77 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 2012. 6. 22 神戸

④ 松本真琴, 佐々木由紀, 安田好文, 善本知広, 中西憲司. 抗体による ヲェネズヱラ糞線虫排除機構. 第 81 回日本寄生虫学会大会 2012. 3. 24 西宮

⑤ 松本真琴, 佐々木由紀, 安田好文, 村松正道, 本庶佑, 善本知広, 中西憲司. 抗体による ヲェネズヱラ糞線虫の排除機構. 第 40 回日本免疫学会総会 2011. 11. 27 千葉

⑥ 松本真琴, 佐々木由紀, 安田好文, 村松正道, 本庶佑, 善本知広, 中西憲司. ヲェネズヱラ糞線虫に対する抗体依存性排除機構について. 第 67 回日本寄生虫学会西日本支部大会 2011. 10. 7 金沢

⑦ 松本真琴, 安田好文, 善本知広, 中西憲司. *Strongyloides venezuelensis* の感染防御における好酸球と好塩基球の役割について. 第 80 回日本寄生虫学会大会, 2011. 7. 18 東京

⑧ Makoto Matsumoto, Koubun Yasuda, Masato Kubo, Tomohiro Yoshimoto, Kenji Nakanishi. Basophils are essential for rapidly expelling *Strongyloides venezuelensis*. The Joint International Meeting Sponsored by The Japanese Society for Interferon and

Cytokine Research and The Japanese Society for Macrophage Molecular and Cell Biology 2011. 5. 25 Osaka

⑨ Makoto Matsumoto, Koubun Yasuda, Tomohiro Yoshimoto, Kenji Nakanishi. Basophils are essential for rapidly expelling *Strongyloides venezuelensis*. 45th Annual Japan-U. S. Joint Conference on Parasitic Diseases 2011. 1. 11 Tokyo

⑩ 松本真琴, 安田好文, 久保允人, 善本知広, 中西憲司. *Strongyloides venezuelensis* の感染防御における好酸球と好塩基球の役割について 第 66 回日本寄生虫学会西日本支部大会, 2010. 11. 6 岡山

⑪ Makoto Matsumoto, Koubun Yasuda, Masato Kubo, Tomohiro Yoshimoto, Kenji Nakanishi. Basophils play a pivotal role in the expulsion of gastrointestinal nematode *Strongyloides venezuelensis*. 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology, 2010. 8. 27 Kobe

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松本 真琴 (MATSUMOTO MAKOTO)  
兵庫医科大学・医学部・講師  
研究者番号：40380521

### (2) 研究分担者

中西 憲司 (NAKANISHI KENJI)  
兵庫医科大学・医学部・教授  
研究者番号：60172350