

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25460520

研究課題名(和文) 小形条虫の虫卵再感染防御と成虫排虫を担う細胞と分子の相互作用

研究課題名(英文) Cellular and molecular mechanisms of protection against reinfection with *Vampirolepis nana* eggs and expulsion of adult worms

研究代表者

渡辺 直熙 (Watanabe, Naohiro)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：00057019

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、小形条虫の虫卵再感染防御と成虫排虫の機序について、マウスによる実験で解析した。虫卵再感染防御は、CD4陽性abT細胞とgdT細胞の共存による自然免疫機構とCD4陽性abT細胞に主導される獲得免疫機構とにより強く発現する。成虫の初感染および再感染後の排虫は、抗体とマスト細胞に依存するが、それぞれに異なる機序が介在する。

研究成果の概要(英文)：This study examined the mechanisms of protection against reinfection with *Vampirolepis nana* eggs and expulsion of adult worms in mice. Protection against reinfection with eggs was strongly induced by innate immunity under co-existence of CD4-positive abT cells and gdT cells, and acquired immunity through CD4-positive abT cells. Expulsion of *V.nana* adults from the intestine after primary and secondary infection depended on antibody and mast cells with different mechanisms.

研究分野：寄生虫学

キーワード：小形条虫 感染防御 自然免疫 T細胞 I g E マスト細胞 獲得免疫

1. 研究開始当初の背景

小形条虫は世界に分布する人体寄生虫でマウスにも感染する。小形条虫の防御には虫卵再感染に対するものと成虫の排虫とがある。虫卵再感染防御では、マウスで初感染後1日で成立する機序と免疫記憶による機序が知られ、1000個の虫卵の再感染でも1隻の寄生も許さないきわめて強力な防御がみられる。この研究は免疫学の知見が乏しい1970年以前に多く行われていた。しかしながら、現在、小形条虫の実験研究を行っているのは世界で我々のみとなり、この明解な現象を知る者も少なくなった。成虫の排虫については、我々がIgEとマスト細胞の関与を1994年に報告したのが最後である。小形条虫は消化管に限定して寄生することから、本研究は消化管の免疫機構に新たな理解をもたらすことが期待される。

2. 研究の目的

本研究は、小形条虫の虫卵による再感染防御について、防御の誘導を初感染1日後に成立する自然免疫機序と免疫記憶による獲得免疫機序とに区別してとらえ、つぎに防御のエフェクター機序に焦点をあて、成虫の排虫については、IgE抗体を介した好塩基球とマスト細胞の活性化を中心に、これらの反応を担う細胞と分子を同定しそれらの相互作用をマウスを用いて解明することで、消化管における免疫機構に新たな概念を導入することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 虫卵再感染防御

1 初感染後1日で成立する虫卵再感染防御の実験系

マウスに小形条虫の虫卵50個を経口感染し2日後に虫卵1000個を再感染し、その4日後に小腸絨毛内の虫体(擬嚢尾虫)の数を算定し防御を判定する。防御の特異性を調べるため、4種の消化管寄生線虫を感染10-13日後に小形条虫虫卵1000個を経口感染させ、その4日後の絨毛内の小形条虫の擬嚢尾虫の

数を算定した。

2 免疫記憶による虫卵再感染防御の実験系
マウスに小形条虫の虫卵50個を経口感染して免疫し、5と6日後に発育した成虫を駆虫し、その24日後に虫卵1000個で攻撃感染し、その4日後の絨毛内の小形条虫の擬嚢尾虫の数を算定して防御を判定した。

3 虫卵再感染防御の機序解析

初感染後1日で成立する虫卵再感染防御および免疫記憶による虫卵再感染防御のいずれの実験系においても、防御にかかわる細胞と分子の同定は、各種欠損マウスまたは再感染時に各種抗体を投与したマウスと正常対照との比較で評価した。

(2) 成虫の排虫

1 初感染後の成虫の排虫の実験系

マウスに小形条虫の虫卵50-100個を経口感染し、14-21日後の小腸内の小形条虫の成虫数を算定し防御を判定した。一部の試験では、虫卵に変えて中間宿主から得た擬嚢尾虫50隻の経口感染を行い、8-12日後の小腸内の小形条虫の成虫数を算定し防御を判定した。

2 再感染後の成虫の排虫の実験系

マウスに小形条虫の虫卵50個を経口投与して免疫し、10日後に成虫を駆虫し、その20日後擬嚢尾虫50隻を攻撃感染させ、その8-12日後の小腸内の小形条虫の成虫数を算定し防御を判定した。

3 初感染後および再感染後の成虫の排虫の機序解析

いずれの実験系においても、排虫にかかわる細胞と分子の同定は、各種欠損マウスまたは各種抗体を投与したマウスと正常対照との比較で評価した。

4. 研究成果

(1) 虫卵再感染防御

1 初感染後1日で成立する虫卵再感染防御(自然免疫)

虫卵初感染後の再感染防御は24時間後ですでに誘導され、36時間後には完全な防御とな

る。この結果から実験系では2日後に攻撃感染をすることにした。初感染による防御免疫の誘導は、虫卵による消化管への感染が必要で、虫卵を皮下および腹腔に投与しても成立しない。防御を担う細胞として、CD4陽性のabT細胞とgdT細胞の共存が必要で、それぞれの単独での防御は発現しない。CD8T細胞、NK細胞、NKT細胞、マスト細胞、好塩基球は関与しない。補助分子としてICOSLがかかわる。サイトカインとしてIL4とIL13の関与はあるが、IFNgとIL12の関与はない。これらの知見から、2種のCD4T細胞がICOSLならびにIL4とIL13を介して短期間に発現する防御は自然免疫の新たな機序と考えられる。防御発現の抗原特異性については、4種のうち3種の消化管寄生線虫と交叉反応を認めたと、部分的で小形条虫虫卵の場合にみられる完全な防御ではなかった。マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析では、防御を担う分子の同定はできなかった。

2 免疫記憶による虫卵再感染防御（獲得免疫）

虫卵初感染後5日ですでに獲得免疫が示唆され、3か月以上防御能が維持される。獲得免疫の誘導には虫卵の経口感染が必須で、皮下または腹腔への虫卵投与では起らない。免疫記憶による虫卵再感染防御発現では、CD4陽性のabT細胞が主導するが、CD8T細胞、NK細胞、NKT細胞、マスト細胞、好塩基球は関与しない。分子として、IL4、IL13、IFNg、IL12、ICOSLおよび抗体はかかわらない。防御の誘導が免疫記憶をもつCD4陽性abT細胞であることは妥当と思われるが、防御のエフェクターの同定が今後の課題となる。

2) 成虫の排虫

1 初感染後の成虫の排虫

成虫の排虫は虫卵経口感染後14日以降に起こる。防御にはIgE受容体の関与が示唆され、マスト細胞と好塩基球のいずれも排虫にか

かわる。ちなみに、排虫時には抗小形条虫IgE抗体が検出された。虫卵感染を経ない擬嚢尾虫の経口感染の場合も同様の排虫がみられ、排虫の誘導に虫卵由来の六鉤幼虫の小腸絨毛内への侵入は不要と考えられる。

2 再感染後の成虫の排虫

虫卵感染による成虫で免疫後、擬嚢尾虫の攻撃感染に対する排虫の経過にはマウス系統で差がみられた。再感染後の排虫ではIL4とIL13がかかわり、抗体の関与が示されたが、IgE抗体の関与は疑わしい。細胞としてマスト細胞が必要だが好塩基球は不要であった。これらの知見から、初感染と再感染における排虫は、抗体とマスト細胞に依存する共通点があるものの、それぞれ異なる機序で発現することが想定される。

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 2 件)

1 Watanabe N. Impaired protection against *Trichinella spiralis* in mice with high levels of IgE. *Parasitology International* 査読有 63, 2014, 332-336 DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2013.12.004>

2 Obata-Ninomiya K., Ishiwata K., Tsutsui H., Nei Y., Yoshikawa S., Kawano Y., Minegishi Y., Watanabe N., Kanuka H., Karasuyama H. The skin is an important bulwark of acquired immunity against intestinal helminths. *Journal of Experimental Medicine* 査読有 210, 2013, 2583-2595 DOI:www.jem.org/cji/doi/10.1084/jem.20130761

〔学会発表〕(計 10 件)

1 Watanabe N., Ishiwata K., Asano K. Rapid induction of protection to reinfection with *Vampirolepis nana* eggs in mice. 第42回日本免疫学会総会・学術集会、2013年12月11-13日 幕張

2 渡邊直熙, 石渡賢治, 浅野和仁 小形条虫の虫卵による再感染の防御機構 第83回日本寄生虫学会大会 2014年3月27-28日 松山

3 渡邊直熙, 石渡賢治, 浅野和仁 小形条虫の虫卵再感染における自然免疫による防御 第25回日本生体防御学会学術総会 2014年7月10-11日 仙台

4 Watanabe N., Ishiwata K., Asano K.
Protection to reinfection with
Vampirolepis nana eggs depending on innate
immunity in mice. 第43回日本免疫学会総
会・学術集会、2014年12月11-13日 京都
5 渡邊直熙、石渡賢治、浅野和仁 自然免疫
と獲得免疫による小形条虫の虫卵再感染防
御 第84回日本寄生虫学会大会 2015年3月
20-21日 東京

6 渡邊直熙、石渡賢治、浅野和仁 小形条虫
の虫卵再感染に対する防御機構 第26回日
本生体防御学会学術総会 2015年7月10-12
日 東京

7 Watanabe N., Ishiwata K., Asano K.
Protection to reinfection with
Vampirolepis nana eggs depending on innate
and acquired immunity in mice. 第44回
日本免疫学会総会・学術集会、2015年12月
18-20日 札幌

8 渡邊直熙、石渡賢治、池田愛、浅野和仁 小
形条虫の感染における免疫防御機構 第85
回日本寄生虫学会大会 2016年3月19-20日
宮崎

9 Watanabe N., Ishiwata K., Asano K.
Expulsion of Vampirolepis nana from the
intestine in mice. 第45回日本免疫学会
総会・学術集会、2016年12月5-7日 宜野
湾

10 Watanabe N., Ishiwata K., Asano K.
Protective immunity against Vampirolepis
nana adult worms. 第86回日本寄生虫学会
大会 2017年5月28-29日 札幌

〔図書〕(計 1 件)

横山卓也、嘉糠洋陸、渡辺直熙、浅野和仁
(2013) 寄生虫学研究 材料と方法 2013年
版 p61-5 三恵社

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 直熙 (WATANABE Naohiro)
東京慈恵会医科大学・医学部・教授
研究者番号：00057019

(2) 研究分担者

石渡 賢治 (ISHIWATA Kenji)
東京慈恵会医科大学・医学部・准教授
研究者番号：00241307

浅野 和仁 (ASANO Kazuhito)
昭和大学・保健医療学部・教授
研究者番号：80159376

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()