

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24年 6月 8日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590465

研究課題名（和文）リーシュマニア症の発症に及ぼす体内環境因子の影響評価とその解析

研究課題名（英文）Analyses and Evaluation of the effects of environmental factors on the outcome of leishmaniasis

研究代表者

濱野 真二郎（HAMANO SHINJIRO）

長崎大学・熱帯医学研究所・教授

研究者番号：70294915

研究成果の概要（和文）：

本研究の目的はリーシュマニア症の発症や重症化の危険因子となりうる体内環境因子を同定・評価し、その機序を科学的に解明することにある。腸管蠕虫に感染したマウスや栄養不良状態のマウスを準備し、*Leishmani major* を感染させたが、各群間で有意差は認められなかった。バングラデシュでのフィールド調査から、脂質と感染感受性・抵抗性の関連が示唆されるデータが得られているので、今後はその辺りの関連を研究していく予定である。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of this study was to identify and estimate the effects of environmental risk factors for the development to active leishmaniasis. We prepared mice with malnutrition and intestinal parasitism and monitored nutrient and immunological status. These mice were subcutaneously challenged with *L. major* and no significant difference among the groups of mice was observed. Further study will be carried out in Bangladesh, one of the endemic countries of leishmaniasis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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： 原虫、リーシュマニア症、蠕虫、免疫、栄養

1. 研究開始当初の背景

リーシュマニア症はサシチョウバエによ

って媒介される原虫性疾患である。発展途上国の貧しい人々が罹患する風土病であり、

21 世紀の Neglected Diseases と呼ばれる。同原虫はマクロファージに寄生する典型的な細胞内寄生病原体である。Th1/Th2 の発見と相俟って、同原虫に対する感染防御機構は世界中で精力的に研究されてきた。インターフェロン(IFN)- γ 産生に代表される Th1 反応はマクロファージを活性化し感染防御に働くが、Th2 反応が誘導されると感染病態が増悪する。IL-12/IL-18 は Th1 細胞の分化を促し IFN- γ 産生を介した防御免疫を誘導する因子である。一方、IL-4 は Th2 細胞の分化を促し、結果として IFN- γ に依存した防御免疫の誘導を阻害する。近年、ヒトにおいてもマウスにおいても、この Th1/Th2 に加えて免疫制御性サイトカインである IL-10 や TGF- β 、制御性 T 細胞がリーシュマニア症の病態形成に深く関わることが認識されるようになった。

上述のごとく、同原虫に対する感染防御機構の研究は目覚ましく発展したにもかかわらず、未だに臨床的に有効で安全なワクチンが供給されるには至っていない。一方、リーシュマニア原虫に対する既存の薬剤は高価で副作用が大きいばかりでなく、痛みを伴う治療を1ヶ月以上も要する。さらなる問題として薬剤耐性を示す原虫の出現が報告されている。2008年、申請者は内蔵型リーシュマニア症(カラ・アザール)の流行地を訪問し現状をつぶさに観察した。現地の研究協力者と申請者が着目するのは、リーシュマニア原虫に感染しながらも発症に至らない多数の住民の存在である。カラ・アザールの流行地での予備的な調査から、カラ・アザールの発症の有無にはヒトの遺伝形質に加えて、栄養不良状態・腸管内蠕虫感染・家屋や寝床の形態などの体内環境因子が大きく影響していることが示唆された(Mymensingh Med J. 2008)。

いくつかの体内環境因子の中で、蠕虫の駆虫や不足する栄養素の補充は感染の浸淫する途上国でも容易に実現でき、リーシュマニア原虫に罹患しつつも未発症の住民において、更なる病気の進展を予防できる可能性がある。我々人類は現時点でリーシュマニア症に対する効果的なワクチンを保有せず、また発症後の既存薬剤での治療には様々な問題がある。現地の貧しさを考慮に入れた時に、発症を抑制する安全で安価な方法の導入は有意義でかつ効果的ある。

2. 研究の目的

本研究では腸管内蠕虫感染や栄養不良状態がリーシュマニア症の発症に及ぼす影響を評価し、その機序を科学的に解明することを目的とする。

3. 研究の方法

リーシュマニア症の発症に及ぼす体内環境因子の影響を評価し、そのメカニズムを解明するために、以下のような研究を計画した。宿主としてはマウスを用い、

A) 腸管蠕虫感染マウス：*Heligmosomoides polygyllus* の経口感染による。

B) 栄養不良マウス：低カロリー食、Vitamin A、Zinc、Iron 欠乏食などによる。

を準備し栄養状態や免疫状態を解析する。一定期間後に *L. major* を感染させ、その病態・臓器内原虫数・免疫応答の変化を経時的に測定する。

(1) A 群や B 群において病態の増悪やリーシュマニア原虫数の増加が認められたら、免疫応答、栄養状態、腸管内細菌叢などを詳細に解析し、病態変化の原因を明らかにする。

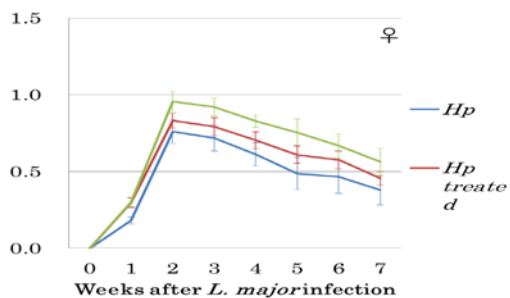
(2) 次に A 群や B 群のマウスで病態が徐々に進行する程度の比較的少ない数のリーシ

ユマニア原虫を接種し、そこに駆虫や栄養補給などの介入を行い、再び、病態・臓器内原虫数・免疫応答の変化を経時的に測定する。
 (3) 駆虫や栄養補給などの効果が認められたら、そのメカニズムの解明を進める

4. 研究成果

H. polygyalus 感染では IL-4、IL-5 や IL-13 の産生に代表される Th2 タイプの免疫応答が認められ、好酸球の増加、腸管杯細胞の過形成、IgE の上昇が認められた。

Iron 欠乏食を投与したマウスにおいては血清鉄の低下ならびに鉄欠乏性貧血が、Vitamin A 欠乏食を投与したマウスにおいては皮膚状態の変化が認められた。



【*Leishmania* 感染後の足部腫脹】

このようなマウスに *Leishmania major* を皮下感染させた。各実験群では *Leishmania* 感染後にコントロール群と同様の足部腫脹、免疫応答が観察され、各群間で有意差は認められなかった。

バングラデシュ ICDDR, B. の共同研究者らのフィールド調査から、脂質と感染感受性・抵抗性の関連が示唆されるデータが得られているので、今後はその辺りの関連を研究していく予定である。

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3件)

1. Matsuzaki, C.M., Tu, L., Ishida, H., Imai, T., Suzue, K., Hirai, M., Tetsutani, K., Hamano, S., Shimokawa, C., Hisaeda, H.: A critical role for phagocytosis in resistance to malaria in iron-deficient mice. **Eur. J. Immunol.** 2011; 41(5): 1365-1375.
2. Nakaya, M., Hamano, S., Yoshida, H., Yoshimura, A., Kobayashi, T.: Aberrant IL-4 production by SOCS3-overexpressing T cells during infection with *Leishmania major* exacerbates disease manifestations. **Int. Immunol.** 2011; 23(3): 195-202.
3. 原田倫世、濱野真二郎: アメーバ赤痢やクリプトスポリジウム症の現状と最新の知見、**化学療法の領域** 2011; 27(4): 72-79.

[学会発表] (計5件)

1. 第81回 日本寄生虫学会総会、兵庫医科大学西宮キャンパス、2012年3月23日、Keishi Adachi, Shinjiro Hamano: *Schistosoma mansoni* infection induces the unique T cell populations in the livers of mice.
2. 第40回日本免疫学会学術集会、幕張メッセ、2011年11月27日、Keishi Adachi, Shinjiro Hamano: Analysis of the unique immunological reactions in the liver after *Schistosoma mansoni* infection in mice.

3. 第 52 回日本熱帯医学会、東京大学、2011 年 11 月 4 日、ミニシンポジウム『熱帯医学からの発信』、濱野真二郎、「フィールド・ラボ双方向からのアプローチ」
4. 第 5 回蠕虫研究会、青島サンクマール、2011 年 7 月 29 日、安達圭志、濱野真二郎、「マンソン住血吸虫感染時に肝臓内で誘導される免疫反応についての解析」
5. 第 48 回日本アフリカ学会学術大会、弘前大学、2011 年 5 月 21 日、シンポジウム『もし眠り病の特効薬ができたなら - 病気への学際的アプローチ-』、濱野真二郎、「熱帯感染症の克服を目指して～眠り病からのアプローチ」

〔図書〕（計 2 件）

1. 下川周子・濱野真二郎：ジアルジア症、自由生活性アメーバ症、赤痢アメーバ症、**感染症事典**、481-494. オーム社 2012年
2. 濱野真二郎：トキソプラズマ症、リーシュマニア症、アニサキス症、疥癬症、蟯虫症、日本海裂頭条虫症、**感染症事典**、495-497、510-512、514-515、519、526-527、547-548. オーム社 2012年

〔その他〕

ホームページ等

日本

語 <http://www.tm.nagasaki-u.ac.jp/nekken/research/parasitology.html>

英語

<http://www.tm.nagasaki-u.ac.jp/nekken/english/research/parasitology.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

濱野 真二郎 (HAMANO SHINJIRO)

長崎大学・熱帯医学研究所・教授

研究者番号：70294915