

琉球大学学術リポジトリ

Strongyloides

venezuelensisを用いた糞線虫感染防御免疫の研究

メタデータ	言語: 出版者: 佐藤良也 公開日: 2009-12-16 キーワード (Ja): 寄生虫病, 糞線虫症, ベネゼラ糞線虫, 感染防御免疫, インターロイキン5, ヌードマウス キーワード (En): parasitic infection, strongyloidiasis, Strongyloides venezuelensis, protective immunity, nude mouse, IL-5, susceptibility 作成者: 佐藤, 良也, Sato, Yoshiya メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/13991

*Strongyloides venezuelensis*を用いた
糞線虫感染防御免疫の研究

(研究課題番号 01570218)

平成2年度 科学研究費補助金 (一般研究C)

研究成果報告書

平成3年3月

研究代表者 佐藤良也

(琉球大学医学部
同 地域医療研究センター・教授)

は し が き

糞線虫 (*Strongyloides stercoralis*) の感染によってひき起こされる糞線虫症は、世界の熱帯、亜熱帯地域において主要な人体寄生虫病のひとつである。本症の最も特徴的な点は、普段の不顕性感染状態が、時として一転して激しい、致命的な重症化に至ることである。かかる重症化は、自家感染という、本線虫がもつ特異な生活環に由来するものであり、自家感染の増強は患者の免疫能の低下にともなってもたらされることなどは、既によく知られた事実である。しかしながら、本症がいかなる免疫不全状態のもとで重症化するかといった、重症化の免疫学的メカニズムはまだ不明である。その最大の理由として、本症は、今日まだ、適当な実験動物を用いた感染モデルが開発されていないことがあげられる。各種の免疫学的研究を行なうにあたって、今日最も便利な実験動物は言うまでもなくマウスである。しかしながら、現在の段階でマウスに固有な *Strongyloides* 属線虫は見出だされておらず、これまでの研究はもっぱらラット由来の *S. ratti* を用いた感染モデルで実施されてきた。一方、マウスは *S. ratti* 感染に対して比較的感受性が低いこと、感染後の幼虫の体内移行経路が特異で、ヒトにおける *S. stercoralis* 感染の場合とは大きく異なることなど、*S. ratti*-マウス感染モデルは必ずしも適当な実験モデルとは言い難い面がある。我々は、最近、沖縄で野性のドブネズミから別な *Strongyloides* 属線虫 (*S. venezuelensis*) を分離し、マウスへの感染実験から、これが従来の *S. ratti*-マウスモデルに比べていくつかの点で優れた感染モデルであることを確認した。

本研究は、糞線虫症の新しい実験モデルとして、*S. venezuelensis* のマウスでの感染動態、およびその防御免疫発現の様態を明らかにすることを目的として実施された。

研 究 組 織

研究代表者：佐 藤 良 也
(琉球大学医学部教授)

研 究 経 費

平成1年度	900千円
平成2年度	700千円
計	1,600千円

研 究 発 表

(1) 学会誌等

1. HASEGAWA, H., ORIDO, Y., SATO, Y. & OTSURU, M.: *Strongyloides venezuelensis* Brumpt, 1934 (Nematoda: Strongyloididae) collected from *Rattus norvegicus* in Naha, Okinawa, Japan. Jpn. J. Parasitol., 37, 429-434, 1988.
2. SATO, Y. & TOMA, H.: *Strongyloides venezuelensis* infections in mice. Intern. J. Parasitol., 20, 57-62, 1990.
3. SATO, Y. & TOMA, H.: Effects of spleen cells and serum on transfer of immunity to *Strongyloides venezuelensis* infection in hypothymic (nude) mice. Intern. J. Parasitol., 20, 63-67, 1990.

4. KORENAGA, M., HITOSHI, Y., YAMAGUCHI, N., SATO, Y., TAKATSU, K. & TADA, I.: The role of interleukin-5 (IL-5) in protective immunity to *Strongyloides venezuelensis* infection in mice. *Immunology*, 72, 502-507, 1991.

(2) 口頭発表

1. 佐藤良也、大鶴正満、城間祥行： 3種 *Strongyloides* 属線虫の抗原性の比較。 第56回日本寄生虫学会大会。 昭和62年4月7日。
2. 佐藤良也、大鶴正満、城間祥行： ネズミ糞線虫各発育時期における抗原性の検討。 第40回日本寄生虫学会南日本支部大会。 昭和62年10月10日。
3. 佐藤良也、当真 弘、大鶴正満： *Strongyloides venezuelensis* のマウスでの感染性および防御免疫の発現について。 第57回日本寄生虫学会大会。 昭和63年4月4日
4. 佐藤良也、当真 弘： *Strongyloides venezuelensis* に対するマウス感染防御免疫の研究。 第41回日本寄生虫学会南日本支部大会。 昭和63年10月27日。
5. 佐藤良也、当真 弘： *Strongyloides venezuelensis* に対するマウス感染防御免疫の研究 (II)。 第58回日本寄生虫学会大会。 平成1年4月5日。
6. 是永正敬、等 泰道、山口直人、佐藤良也、高津聖志、多田 功： 腸管寄生線虫感染防御反応におけるインターロイキン5の役割。 第20回日本免疫学会総会。 平成2年11月27日。
7. 是永正敬、等 泰道、山口直人、佐藤良也、高津聖志、多田 功： ベネゼラ糞線虫感染防御反応におけるインターロイキン5の役割。 第60回日本寄生虫学会大会。 平成3年4月8日。

研 究 成 果

1. *Strongyloides venezuelensis*

ベネゼラ糞線虫 (*S. venezuelensis*: Stv) は、南米ベネゼラにおいてラットから見出だされ、Brumpt によって 1934 年に最初に記載された。その形態は、図 1 に示すごとく、ネズミ糞線虫 (*S. ratti*: Str) に近似するが、寄生世代雌成虫の卵巣がラセン状に巻くことや、虫卵がその発育の早い段階で糞便中に排出されることなどの点で Str と区別できるとされている。また、感染ラットの糞便を培養しても自由生活世代がほとんど発育してこないという特徴も備えている。本種は 1986 年那覇市において捕獲されたドブネズミからも検出され、日本における最初の記載として当教室から報告された。捕獲されたドブネズミには Str も混合感染していたが、形態的に Stv と確認された寄生性雌成虫のみを外科的に別なラットの消化管内に移植する方法によって Str と分離し、以後、当教室においてラットを用いて継代維持している。

本研究ではこの Stv を使用して以下の検討を行なった。

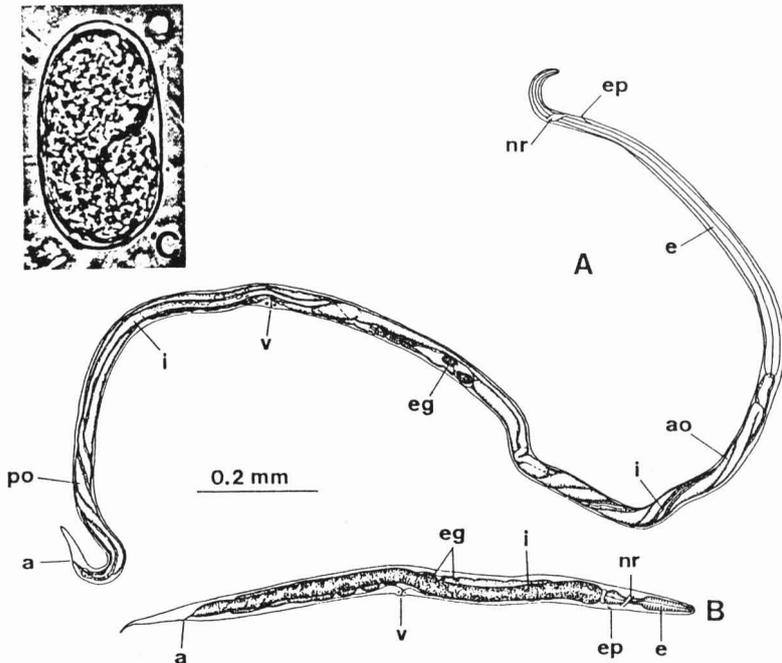


図 1 ベネゼラ糞線虫 (*Strongyloides venezuelensis*) (Hasegawa *et al.*, 1988)
A. 寄生世代雌成虫、B. 自由生活世代雌成虫、C. 虫卵

2. マウスにおける *S. venezuelensis* の感染動態

Stv のマウスへの感染性や感染動態を調べるために BALB/c 雌マウス (4 週令) に 500 隻の Stv フィラリア型 (L3) 幼虫を皮下接種して感染させ、その後の糞便内虫卵数 (E.P.G.: eggs per gram faeces) を経時的に測定した結果を図 2 に示した。また、従来使用されてきた Str 感染モデルとの比較のため、Str L3 幼虫 500 隻を同様に感染させたマウスの結果も合わせて示した。Stv の場合、虫卵は感染後 5 日目から検出されるようになり、翌 6 日目にはピーク値 (平均 $137,000 \pm 33,000$ S.E.M.) に達した。その後、虫卵数は急速に減少し、12 日目には E.P.G 値で 200 以下となった。一方、Str の場合もほぼ同様の E.P.G. 値の消長パターンを示したが、この場合、7 日目のピーク値でも Stv 感染のわずか $1/16$ 以下の排出虫卵数であった。

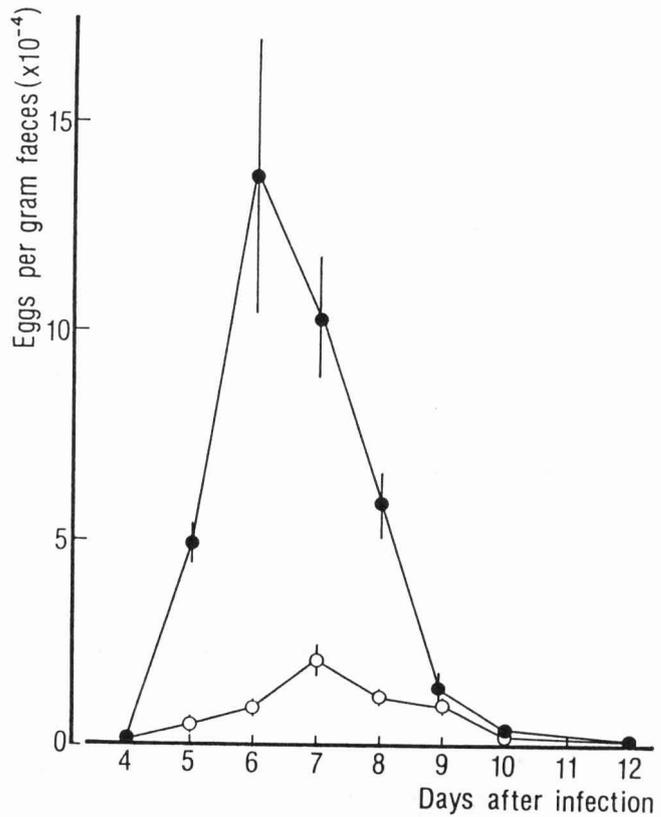


図 2 *S. venezuelensis* および *S. ratti* 感染マウスにおける糞便内排出虫卵数の比較

●: Stv 感染 ○: Str 感染

図2に示した糞便内虫卵の消長パターンを感染後の虫体の体内移行との関係でみたのが図3である。実験は同様に 500 隻の *Stv* L3 を皮下経由で感染させた BALB/c 雌マウスで行なった。図に示すごとく、幼虫は感染3日目をピークとして肺から検出される。肺からの幼虫回収率は時に 70%を越えることもあり、本種では肺を経由するルートが体内移行の主たる経路であると考えられた。肺での幼虫の検出は一過性であり、6日目にはほとんど検出されなくなる。他方、虫体が消化管内に検出されるのは早いもので感染2日目であるが、以後急速に増加し、6日目にはピークに達する。消化管からの虫体回収率はピーク時で 45%に達したが、この場合にも回収虫体数はすぐに減少に転じ、10日目には全く検出されなくなった。糞便内虫卵数は、この消化管成虫数の動きに合わせ、これに 2-3 日遅れた消長を示すのが分かる。

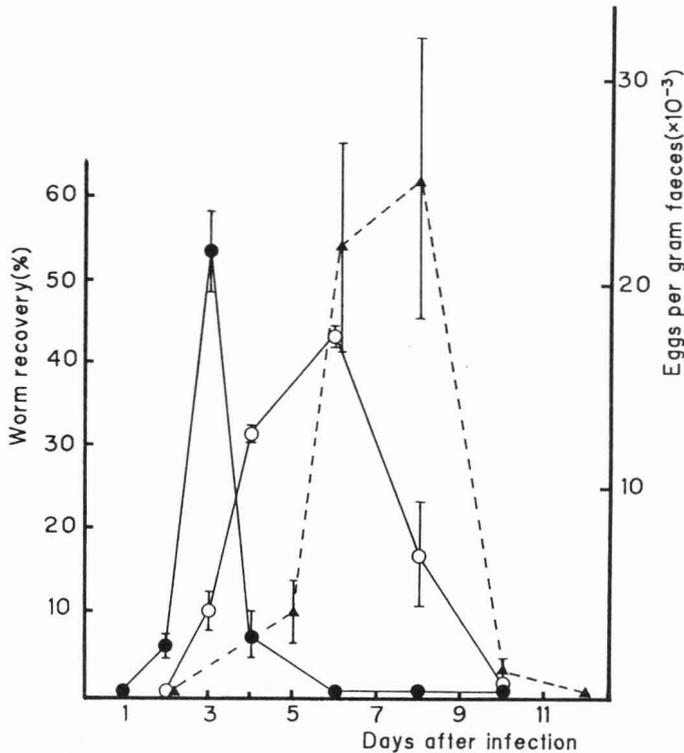


図3 *S. venezuelensis* 感染後の肺および消化管からの虫体回収率と糞便内虫卵数の関係

●:肺虫体回収率、 ○:消化管虫体回収率、 ▲:糞便内虫卵数 (E. P. G.)

図2に示したごとく、Stv は Str に比べて高いレベルの虫卵を排出するが、これは両種における感染性の差というよりも、単に雌成虫の間の産卵能力の差によるものであることも考えられる。そこで肺および消化管からの虫体回収率を両種間で比較してみた。図4は Stv および Str 幼虫 500 隻を皮下接種した BALB/c マウスの肺および消化管からの虫体回収率を比較して示したものである。肺からの虫体回収率はピーク値で Stv が Str の約 25 倍、消化管からの成虫回収率でも約 8 倍の高値であった。ちなみに Str は感染後、頭蓋内経路で消化管に至るルートが主な体内移行経路であり、肺から回収される虫体はわずかであることが知られている。Str について本実験で得られた虫体回収率は、従来、他の研究者によって報告された結果とほぼ一致するものであった。肺からの虫体回収率のこの差は、このような両種間の体内移行経路の差によるものと考えられるが、他方、消化管からの成虫回収率にもやはり大きな差が見られたことから、Stv は Str に比べてマウスに対する高い感染性を有することが確認された。

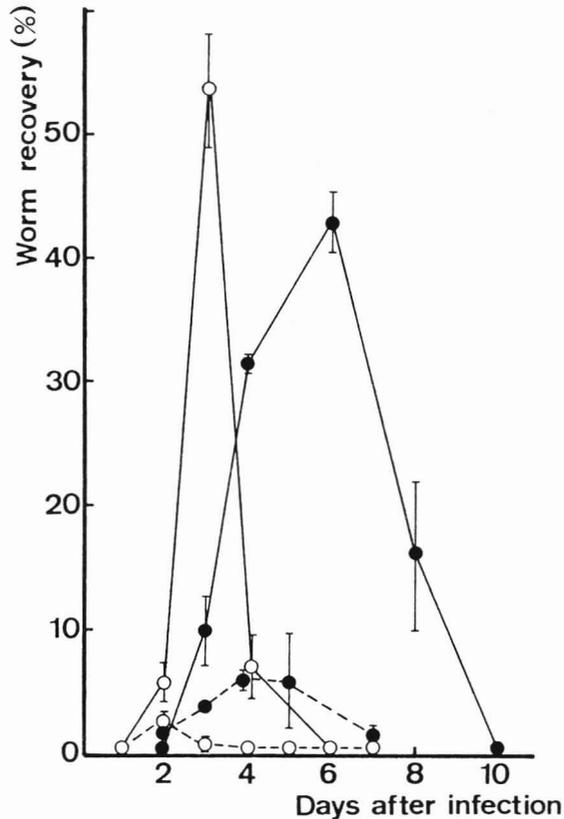


図4 *S. venezuelensis* および *S. ratti* 感染マウス肺および消化管からの虫体回収率の比較。

—— : Stv 感染、 - - - - : Str 感染
 ○ : 肺虫体回収率、 ● : 消化管虫体回収率

以上の結果から、Stv はマウスに対して非常に優れた感染性を示すこと、他方、Str の場合と同様、その感染は長期間持続することはなく、およそ 10 日前後で自然排虫が起こることなどが明らかになった。また、Stv では消化管に至る前の幼虫は大部分が肺から回収された。感染後の虫体移行経路について、経時的に検討した別な実験においても Stv は血行性に肺を経由して消化管に至ることが明らかにされている。このことは皮下経路で頭蓋内に到達した後、消化管へ移行するという Str の体内移行経路とは大きな相違であった。Stv の移行経路はヒトでの *S. stercoralis* のそれと同じものと考えられ、これらの点において、Stv-マウス感染モデルはヒトの糞線虫感染モデルとして好適な実験モデルになり得るものと考えられた。また、体内移行期の幼虫が肺を経由するという事実は、移行期幼虫に対する免疫防御効果を肺からの虫体回収率をもって簡単に検討することを可能にするものと考えられる。

3. マウス週令、性別、系統差による *S. venezuelensis* 感染性の検討

Str 感染モデルを用いた実験ではマウスの週令、性別、系統差などによって感受性に差が見られることが既に確認されている。Stv 感染の場合についても、より適格な実験条件を求めるために、同様の検討を行なった。

表 1 は異なる週令の BALB/c マウスにおける Stv の感染性を検討したものである。4 週令マウスでの感染 6 日目の E.P.G. 値が他の 8、12 週令マウスのそれに比べて有意に高い結果を得た。しかし、その後の 8、10 日目では、これら 3 群の週令マウス間で排出虫卵数に特に有意の差を認めなかった。

表1 異なる週令マウスにおける *S. venezuelensis* 感染性の検討

週 令	糞 便 内 虫 卵 数 (E.P.G.)		
	6 日 目	8 日 目	10 日 目
4	60200±9900	70300±11900	8700±1900
8	30800±4800	76800±8100	13200±2600
12	24700±7300	65000±18100	11800±4100

数値は平均±S. E. M.

図5に示したのは感受性の雌雄差を同様に検討した結果である。4週令のBALB/c マウス雌雄に各々 500 隻の *Stv* 幼虫を感染させた場合の E.P.G. 値を示した。E.P.G. 値はほぼ同様の消長パターンを示すが、7日目のピーク時で雄マウスのそれが雌マウスをかなり上回った。しかし、それ以外の時期では E.P.G. 値に大きな差は見られず、また、ピーク時の E.P.G. 値の差も統計的に有意のものではなかった。Str を用いたこれまでの検討でも、一般に雌よりも雄が高い感受性を示すことが知られている。

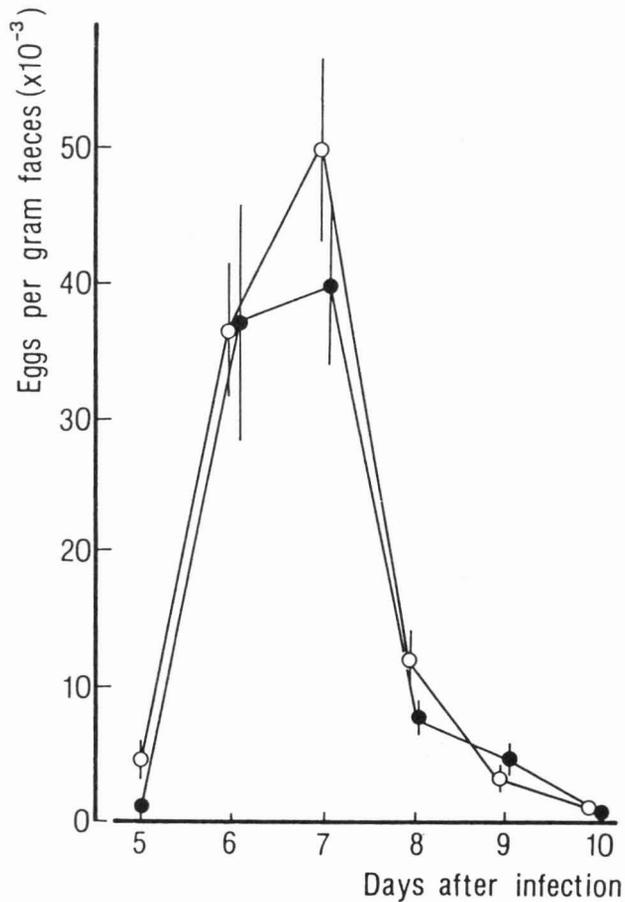


図5 BALB/c 雄および雌マウスにおける *S. venezuelensis* 感染性
○:雄マウス、●:雌マウス

次いで、BALB/c を含む4系統のマウスにおける感受性を検討し、その結果を図6に示した。いずれの系統でもマウスは4~6週令のものを用いた。感染後の E.P.G. 値はマウス系統間で若干異なる消長パターンを示し、なかでも

C57BL/6 マウスの感受性が最も高いことがこの結果から分かる。C57BL/6 マウスは一般に各種病原体に対する感受性が高いことが知られており、Str 感染の場合でも他の系統マウスに比べて有意に高い感受性を示すことが報告されている。一方、BALB/c、C3H/He マウスはともに中程度の感染性を示し、DBA/2 マウスはこれら4系統のマウスの中では最も感受性が低かった。

以上の結果をもとに、BALB/c、4週令、雌マウスを実験宿主として選び、以後の検討を行なった。

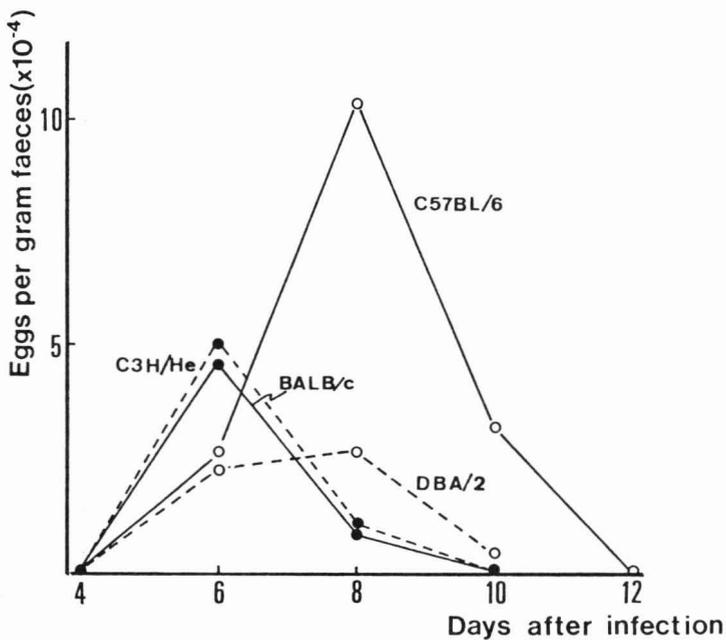


図6 マウス系統間の *S. venezuelensis* 感染性の検討

4. *S. venezuelensis* 感染マウスにおける防御免疫の様態

前述したごとく、マウスでの *Stv* 感染は一過性であり、短期間のうちに自然排虫が起こる。この排虫現象の免疫学的メカニズムを検討するために、胸腺欠損ヌードマウス (nu/nu) に *Stv* を感染させ、その感染動態を調べた結果が

図7である。対照とした有毛 (nu/+) マウスでは早期に虫卵の排出が見られなくなるのに対し、ヌードマウスでは感染後 100 日を越えて高いレベルの感染が持続する。このことは、自然排虫がT細胞依存性の免疫学的機序によって起こることを示している。ヌードマウスにおいて、Stv の感染が最終的にどの程度持続するかを検討することはできなかったが、感染後 98 日目には E.P.G. が約 1/10 に低下したのを受けて、再感染を行なった。その結果、E.P.G. 値は再び上昇し、もとの高いレベルにまで回復した。このことから、ヌードマウスでは再感染に対して何らの防御効果も発現しないと判断した。このように、ヌードマウスでは Stv の感染が長期間持続するが、その E.P.G. 値は平衡値に達したのち変化することはなく、ヌードマウス体内での自家感染の成立による過剰感染状態を窺わせるような結果は得られなかった。

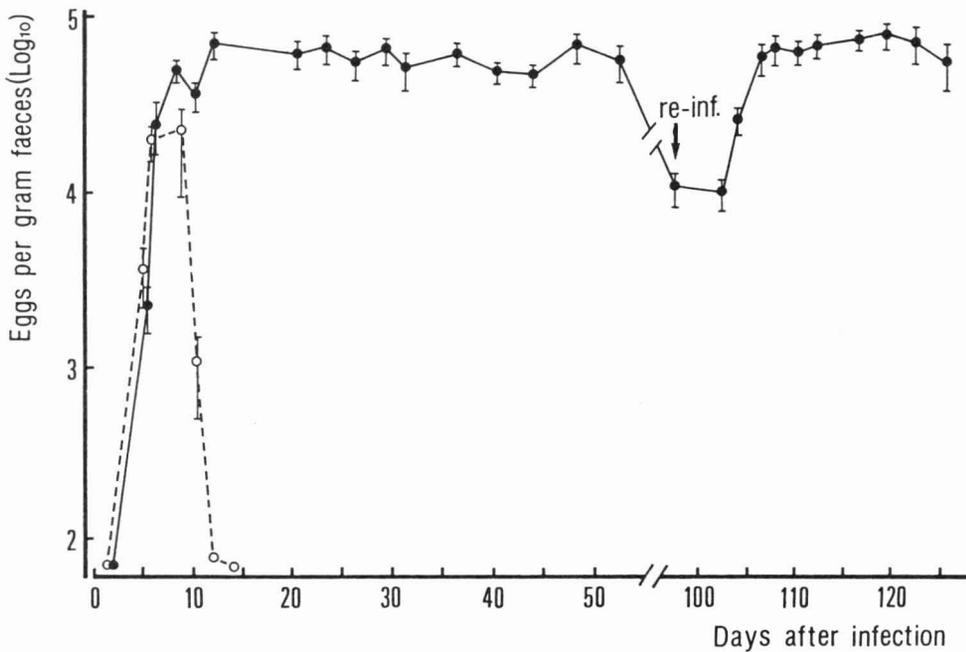


図7 BALB/c ヌードマウスにおける *S. venezuelensis* 感染動態
 ● : ヌード (nu/nu) マウス, ○ : 有毛 (nu/+) マウス

また、Str を用いた感染実験では、この自然排虫に消化管の肥満細胞が何らかの重要な役割を演じていることが確かめられている。同様の現象が Stv 感染の場合にも認められるかどうかを次に検討した。

図8に示したのは肥満細胞欠損マウス (WBXC57BL/6 F_1 - W/W^v) に Stv を感染させ、その後の虫卵排出状況を同じ F_1 - $+/+$ マウス、BALB/c マウスでのそれらと比較した結果である。図にみられるごとく、 W/W^v マウスでの虫卵排出数、排出期間ともに $+/+$ マウス、BALB/c マウスのそれらを大きく上回っている。特に虫卵排出期間は約2倍の延長がみられた。しかしながら、このマウスでの感染持続期間はヌードマウスの場合ほど延長することはなく、自然排虫にとって肥満細胞が何らかの重要な役割を担っていることは理解できるものの、これ以外に別なエフェクター機構も介在する可能性が考えられる。

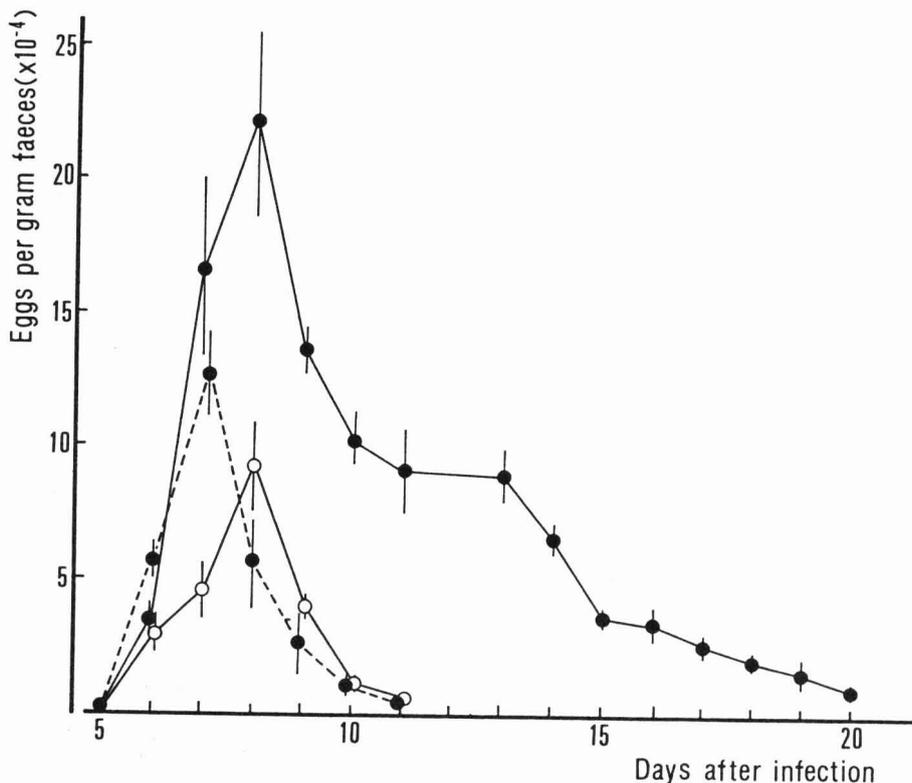
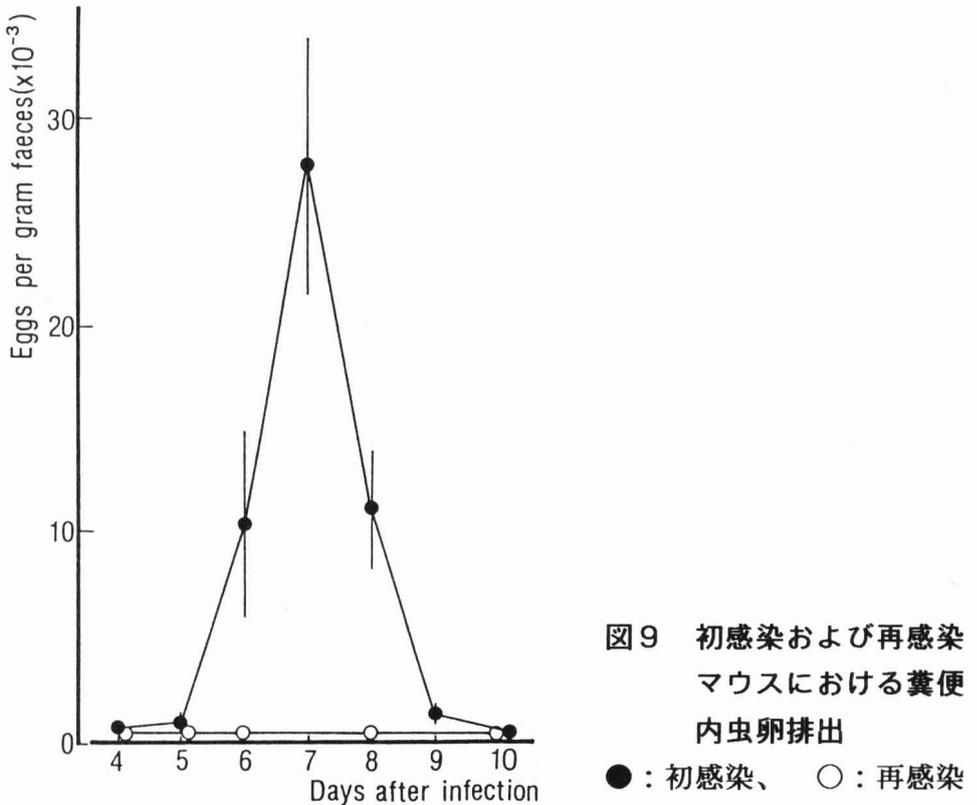


図8 肥満細胞欠損 W/W^v マウスにおける *S. venezuelensis* 感染動態

●—● : W/W^v マウス、○—○ : $+/+$ マウス、●---● : BALB/cマウス

次に、BALB/c 有毛マウスにおける再感染防御免疫について検討を行なった。図9に示したのは Stv L3 幼虫 500 隻を感染させ、これが完全に排虫された2週間後に同様に 500 隻の幼虫を再感染させたマウスでの E.P.G. 値を測定した結果である。対照とした初感染マウスでは感染後7日目をピークとして著しい虫卵の排出が認められるのに対し、再感染後のマウスではいずれの時期にも虫卵の排出は全く認められず、再感染に対して完全な防御免疫の発現を認めることができる。



上記の結果は排出虫卵数について検討したものであるが、同様に肺および消化管からの虫体回収率を初感染と再感染の間で比較した結果が図10である。再感染マウスでの虫体回収率は初感染の対照マウスに比べて著しく低く、肺からの回収率はピーク時で対照とした初感染マウスの1/5以下、さらに消化管からの回収虫体数にいたっては2匹のマウスからわずか9隻の虫体(4日目)が回収されたのみであった。

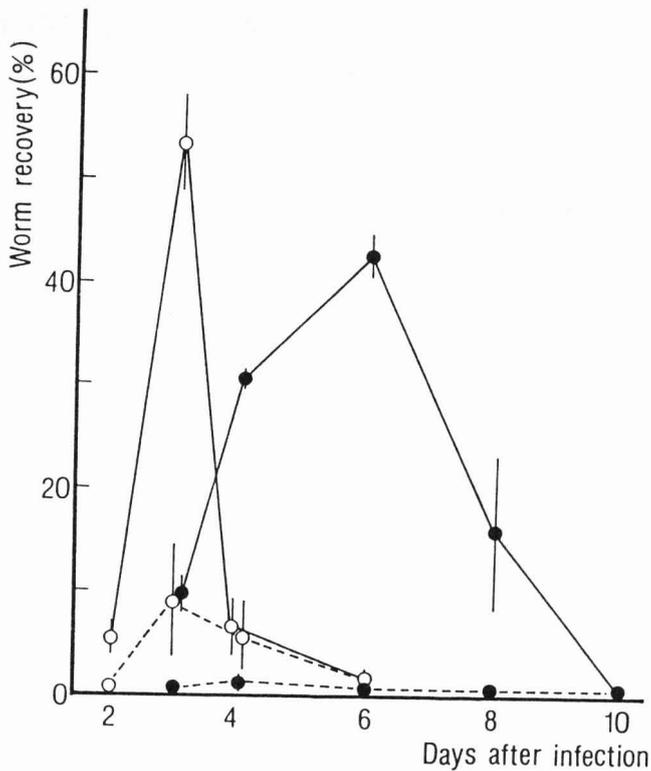


図 10 初感染および再感染マウスにおける虫体回収率の比較
 — :初感染、 - - - :再感染、 ○ :肺虫体回収率、 ● :消化管虫体回収率

このように、再感染マウスでは体内移行期の幼虫に対して強い防御免疫の発現を認めることができるが、これが消化管内成虫にどのような免疫効果を示すかについて、以下に検討した。図 11 に示したのは感染後 3 日目のマウス肺から回収した虫体を別なマウスに経口的に移入した場合の虫卵排出状況を示したものである。虫体移入後 2 日目から虫卵が検出されるようになり、経口移入された虫体が消化管内に定着することが分かる。虫卵の排出は 4 日目にはピークに達したが、この場合、成虫の感染持続期間は皮下経路で感染させた場合よりもやや延長する傾向を示すものの、感染はやはり一過性であり、11 日目には虫卵がほとんど検出されなくなる。このマウスは体内移行期の幼虫に暴露されることなく、消化管経路でのみ感染が成立したことになるが、このようなマウス

に皮下経由で幼虫を再感染をさせると、やはり虫卵の排出が見られず、強い再感染防御が認められた。

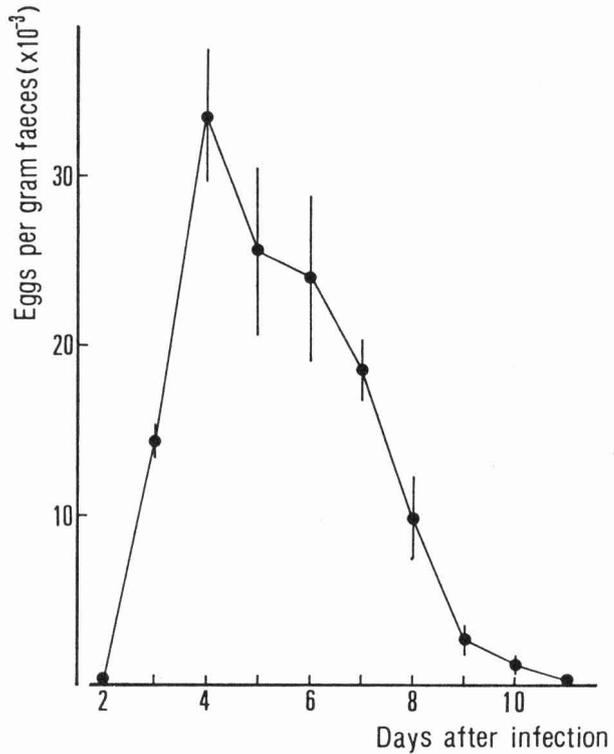


図 11 肺回収虫体を経口移入されたマウスでの糞便内虫卵排出状況

このように消化管経由でのみ感染させたマウスでの再感染防御反応を肺からの虫体回収率と消化管虫体回収率とで更に検討した。図 12 に示したごとく、肺からの回収虫体率は初感染の対照マウスのそれに比べて、それ程大きな低下は見られず、体内移行期幼虫に対する防御効果は著明でないが、反面、消化管からはほとんど虫体が回収されず、消化管内成虫に対してのみ強い防御効果を認めた。逆に、皮下経由で感染させたマウスに感染 3 日目から駆虫薬を連用すると消化管での成虫の定着が見られず、虫卵の排出も起こらない。このようなマウスに皮下経由で再感染させると肺移行虫体数が著しく抑制されること、他方、肺から回収された虫体を直接消化管内に経口投与して再感染を行なった場合には多数の成虫の定着が見られることなども確認され、これらのことから、感染マウスにおける消化管からの虫体排除反応と、体内移行期の幼虫に対する強い再感染防御反応は各々異なる免疫機序によって担われているものと考えられた。

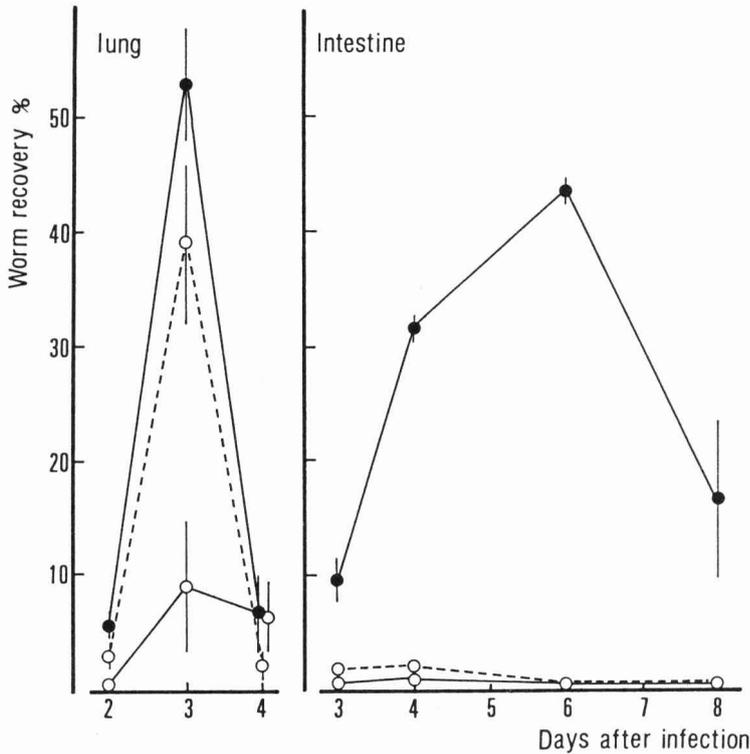


図 12 肺回収虫体を消化管内移入されたマウスにおける再感染防御
(再感染後の肺および消化管からの虫体回収率の比較)

● — ● : 初感染対照マウス、○ — ○ : 再感染対照マウス
○ - - - ○ : 消化管移入後再感染マウス

以上の結果から、Stv 感染マウスでは消化管からの虫体排除と再感染幼虫に対する強い防御反応の発現を認めることができる。T細胞欠損ヌードマウスではこれらの排虫現象も再感染防御も見られないことから、これらの防御反応は、ともにT細胞依存性の免疫学的イベントであることが明らかになった。他方、Str 感染でも既に明らかにされているように、これらの防御反応には stage specificity があり、成虫の排除反応と再感染幼虫に対する防御反応は各々別な免疫機序によって担われていることも改めて確認された。

5. 細胞および血清移入によるヌードマウスでの防御免疫の誘導

ヌードマウスでは、有毛マウスでみられるような体内移行期の幼虫および消化管内成虫に対する有効な防御免疫が発現されない。そこで、これらヌードマウスに有毛マウスの脾細胞、又は血清を移入した場合、どのような免疫効果が発現するかについて検討を加えた。

図 13 に示したのは、Stv 500 隻を皮下経由で感染させ、その 20 日目のヌードマウスに非感染および感染有毛マウスからの脾細胞を各々 1.0×10^6 個宛移入した場合の E.P.G. 値の推移をみたものである。感染有毛マウスの脾細胞を移入されたヌードマウスでは、細胞移入前に維持されていた高いレベルの E.P.G. 値が細胞移入 4 日目から急速に減少しはじめ、約 10 日目には虫卵の排出がほとんど認められなくなった。他方、非感染の有毛マウス脾細胞を移入したグループでは、細胞移入後も E.P.G. 値はしばらくの間変化をみせず、高いレベルの値が持続するが、7 日目からやはり減少をみせはじめ、18 日目にはほとんど虫卵を検出できなくなった。これに対し、細胞の移入を受けないヌードマウスでは E.P.G. 値に大きな変化はなく、そのまま高いレベルで虫卵の排出が持続するのが分かる。

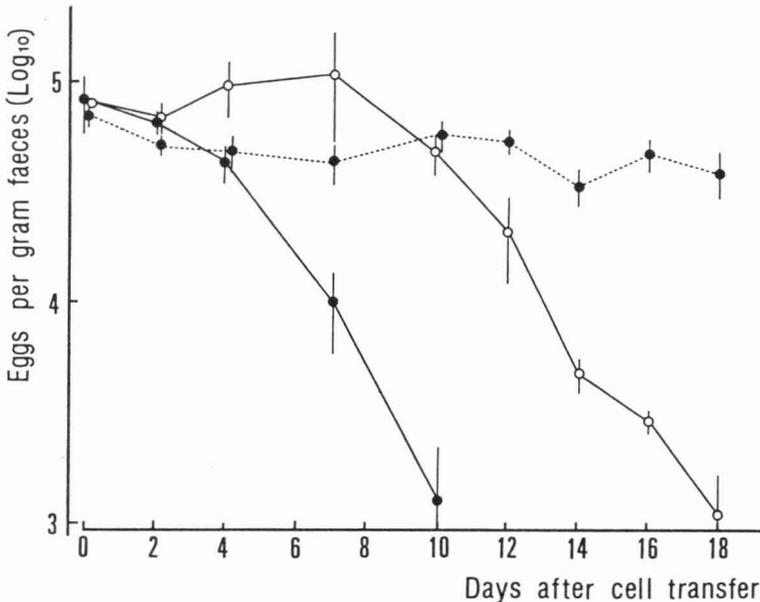


図 13 感染ヌードマウスにおける排虫作用への有毛マウス脾細胞移入の効果

- — ● : 感染脾細胞移入群、 ○ — ○ : 非感染脾細胞移入群
- ---- ○ : 脾細胞非移入群

同様の検討を血清を移入されたヌードマウスでも検討した。ここでは、感染 20 日目のヌードマウスに非感染および感染有毛マウスからの血清を各々 0.5 ml づつ 2 日間、計 1.0 ml 宛静脈内に注射し、その後の E.P.G. 値の変化を調べた。結果は図 14 に示したごとく、感染および非感染マウス血清を移入されたヌードマウスは共にその後の E.P.G. 値に大きな変化をみせず、血清移入前の高いレベルの E.P.G. 値が長期間持続した。

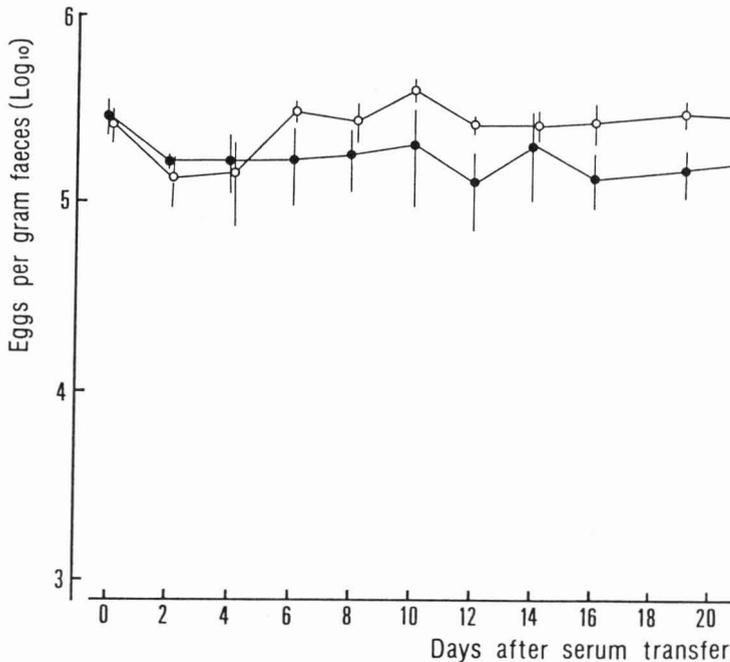


図 14 感染ヌードマウス排虫作用への有毛マウス血清移入の効果

○：感染血清移入群、 ●：非感染血清移入群

以上の結果より、消化管成虫の排虫現象にはTリンパ球が何らかの重要な役割を担っていると判断されるが、反面、感染血清はそれ単独では排虫に何ら影響を及ぼさないと考えられた。

次いで、体内移行期の幼虫に対する脾細胞および血清移入の防御効果を同様に検討した。図 15 に示したのは、ヌードマウスにあらかじめ 2.0×10^7 個の有毛マウス脾細胞を移入しておき、その2日後に 500 隻の幼虫で攻撃感染を行なった際の3日目の肺内幼虫回収率と、その後の E.P.G. 値を調べた結果で

ある。左図に示したごとく、肺からの幼虫回収率は非感染脾細胞を移入されたヌードマウスに比べて感染脾細胞移入ヌードマウスで約 25 %の低下を示した。さらにその後の E.P.G. 値で比べてみると、8 日目のピーク時で感染脾細胞移入群が非感染脾細胞移入群に比べて約 1/10 のレベルに達したのみであり、かつ虫卵の排出期間も著明に短かった。この結果から、感染有毛マウス脾細胞は体内移行期の幼虫に対しても何らかの効果的な防御反応を發揮していることが示唆された。

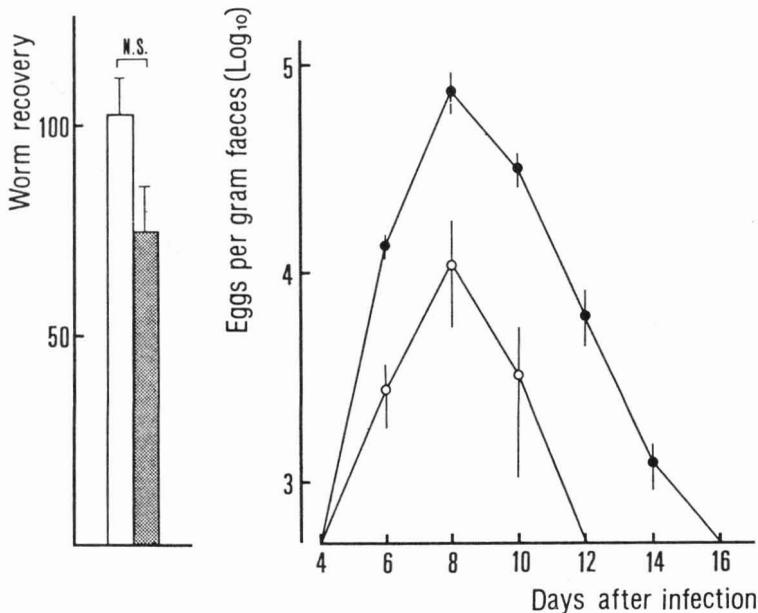


図 15 有毛マウス脾細胞を移入されたヌードマウスにおける Stv 感染防御
 左図：感染 3 日目における肺虫体回収率 (□：非感染脾細胞移入群、
 ■：感染脾細胞移入群)
 右図：E.P.G. 値 (●：非感染脾細胞移入群、○：感染脾細胞移入群)

同様の検討を感染有毛マウスと非感染の有毛マウス血清を各々移入されたヌードマウスでも実施した。図 16 に示したのは感染、非感染有毛マウス血清 1.0 ml を移入し、その 24 時間後に 500 隻の Stv 幼虫で攻撃感染を行なったヌードマウス肺からの虫体回収率と、その後の E.P.G. 値を比較して示したものである。感染 3 日目の肺回収虫体数で比較した場合、感染血清移入群におい

て非感染血清移入群に比べて有意に低い結果を得た。しかしながら、その後の E.P.G. 値でみると、感染血清移入群での E.P.G. 値の上昇は非感染血清を移入された場合に比べてやや遅れた上昇パターンを取るものの、10 日目には非感染血清移入群とほぼ同じレベルに達し、更に 14 日目以降では非感染血清移入群を上回る E.P.G. 値となった。

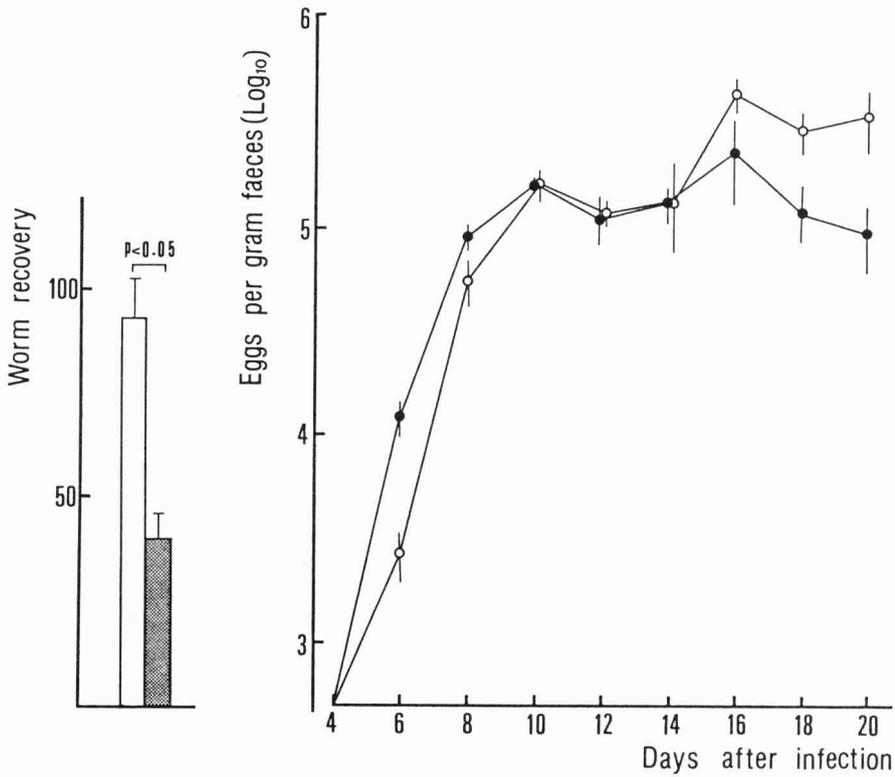


図 16 有毛マウス血清を移入されたヌードマウスにおける Stv 感染防御

左図：感染 3 日目における肺虫体回収率 (: 非感染血清移入群、
 : 感染血清移入群)

右図：E.P.G. 値 (● : 非感染血清移入群、 ○ : 感染血清移入群)

感染3日目の肺回収虫体数において著明な差を認めながら、E. P. G. 値で最終的に有意の差を認めることはできなかったことから、肺からの虫体回収率を更に24時間毎に比較、検討してみた(図17)。非感染血清を移入されたヌードマウス、および血清移入を受けなかったヌードマウスでの幼虫回収率は、ほぼ同じパターンで推移し、両群の間で差がみられなかった。他方、感染血清移入ヌードマウスでは、感染後2、3日目における幼虫回収率が他の2群のヌードマウスに比べて著明に低かった。しかし、このヌードマウスでの幼虫回収率は翌4日目にはさらに上昇し、結果的には非感染血清移入マウスや血清を移入しなかったマウスでの3日目のピーク値とほぼ同じレベルに達した。

これらの結果は、感染血清にはそれ自体、単独では体内移行期の幼虫に対して有効な防御効果を示さないものの、感染後の体内移行の時期をやや遅らせる程度の効果があるものと判断された。

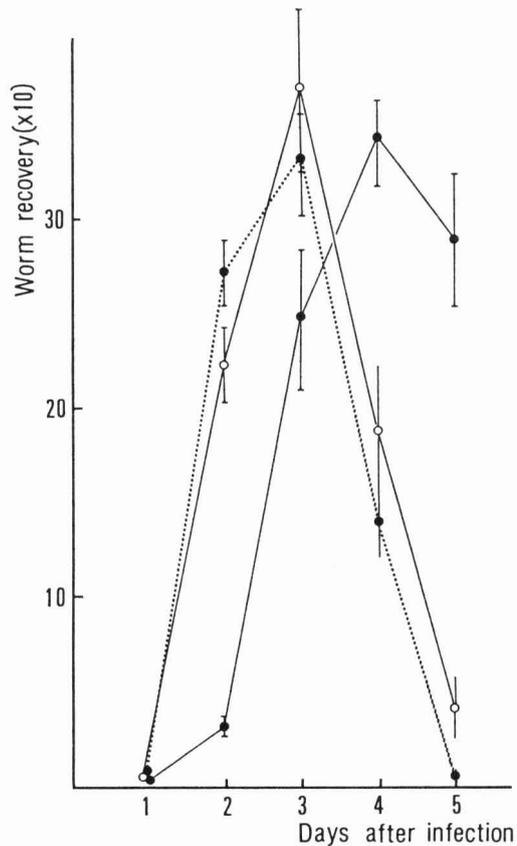


図 17 有毛マウス血清を移入されたヌードマウスにおける肺虫体回収率の比較

○ — ○ : 非感染血清移入群、 ● — ● : 感染血清移入群
 ● - - - ● : 血清非移入群

6. 防御免疫におけるインターロイキン5の役割

最近、*S. ratti* を用いた感染実験でインターロイキン (IL) 3 が成虫の排虫現象にとって重要な役割を演じていることが報告された。IL-3 が消化管粘膜での肥満細胞を増生させ、これがエフェクター細胞として働き、強い排虫が起きることが指摘されている。他方、ある種の寄生虫感染において、末梢および局所での好酸球増多が IL-5 依存性であることが示されている。好酸球は種々の寄生蠕虫幼虫に対して抗体依存性の殺滅作用を示すことから、*Stv* の感染防御において IL-5 がどのような役割を果たすかについて検討した。

マウスは C57BL/6 を用い、これに抗 IL-5 単クローン抗体を腹腔内投与したのち、*Stv* 500 隻を攻撃感染させた。その結果、初感染後の虫卵の排出数、消化管での成虫回収率、および感染持続期間のいずれにおいても、単クローン抗体処理群と無処理群との間で有意の差を認めなかった。他方、単クローン抗体処理マウスに再感染を行い、体内移行期の幼虫に対する防御反応への影響を肺からの虫体回収率で検討した結果、再感染幼虫の回収率は無処理群でのそれに較べて有意に高く、初感染の場合のそれとほぼ同じレベルに回復することを確認した。これらのことは、*Stv* 感染後の体内移行期幼虫に対する再感染防御機構は IL-5 依存性であるが、他方、消化管における成虫の排除機構は IL-5 は非依存性であることを示唆している。

7. 考 察

Stv はネズミの糞線虫であり、その卵巣がねじれた構造を持つことや、糞便中に排出される虫卵がまだ発育の早い段階にあることなどを除けば、形態的には *Str* に近似する。本種は自然界で *Str* と混合感染を起こしていることが、これまでにしばしば報告されていたが、糞線虫症の感染モデルとして従来使用されてきたのは、もっぱら *Str* であった。特に、*Str* がマウスにも感染することが確かめられてから、*Str*-マウス感染モデルを用いた防御免疫の研究が活発に進められるようになった。本研究において、我々は先ず *Stv* のマウスへの感染性について *Str* を用いた場合のそれと比較し、*Stv* のほうがマウスに対して優れた感染性を示すことを初めて明らかにした。消化管から回収される *Stv* 成虫は、ピーク時で約 40 %に達したのに対し、*Str* 感染の場合、成虫の

回収率はわずか 6 % 弱であった。これに対応して、排出虫卵数も E.P.G. 値で Stv が Str の約 16 倍にも達した。一方、マウスでの両種の感染経過にはほとんど差がなく、虫卵は感染 4 日目頃から検出されるようになり、約 10 日目にはほとんど検出されなくなった。消化管内の成虫も多くが約 8 日程度で自然排虫され、Str の場合と同様、Stv の感染は一過性であることが示された。

他方、感染後の幼虫の体内移行経路は Stv と Str では大きな差が認められた。Stv の場合、幼虫のほとんどは肺に移行することが明らかになり、肺からの幼虫回収率は常に 50 % を越え、時に 70 % に達することもあった。ちなみに、Str 感染の場合、肺からの幼虫回収率はわずか 2.5 % 程度であった。Str 感染では、感染後の幼虫が肺のほか、肝、腎、脾、脳など、多彩な臓器から検出されることが知られていた。その後の詳細な検討により、Str 幼虫は皮下経路で頭蓋内に至り、そこから消化管に移行する経路が主要な移行経路であることが確かめられた。一方、Stv について我々の教室で検討した結果では、大多数の幼虫は最初の 43 時間には皮下や筋肉組織にみられるが、続く 48-60 時間後には肺や気管に到達し、次いで消化管に至ることが確かめられた。この間、幼虫は血液中からも検出されたが、脳や他の器官から検出されることはなかった。このことから、Stv の体内移行経路は血行性に肺に移行し、そこから消化管に至る classical pathway であると判断された。そして、この体内移行経路はヒトにおける糞線虫症のそれに対応するものであり、この点においても、本感染モデルはヒトの糞線虫感染モデルとしてより優れた実験モデルであると考えられた。また、幼虫が肺を経由するという事実は、肺からの幼虫回収率をもって体内移行期幼虫に対する防御免疫の効果を簡単に推定する手段としても使用できるものと思われた。

なお、マウスでの Stv の感染性は、マウスの系統や性別、週令によって異なっていた。これらのことは既に Str でも確認されていることであるが、実験にあたってはマウスの系統、週令、性別などを整えて実施する必要があることを示している。

本研究では、感染マウスにおいて 2 つのタイプの防御免疫の発現を認めることができた。初感染では、この防御免疫は消化管内成虫の長期間の定着を阻止するかたちで発揮され、その後、再感染の体内移行期幼虫に対するほぼ完全なかたちでの再感染防御免疫が発現する。再感染では、肺に移行する幼虫の数が初感染の場合の 1/6 以下であり、消化管から回収される成虫数はさらに僅か

となる。これらの再感染マウスでは糞便内に虫卵もほとんど検出されない。これらの結果から、再感染虫体は大多数が肺に到達できず、肺に到達できた少数の幼虫もさらに消化管に至る過程で死滅するか、消化管に到達できたとしてもそこに定着することなく排除されるものと考えられた。初感染後の成虫の排除反応では、消化管粘膜の肥満細胞が何らかの重要な役割を演じていることが肥満細胞欠損 W/W^v マウスを用いた感染実験から示された。また、肺から回収された幼虫を別なマウスの消化管内に直接移入して感染させ、これが排除された後に再感染を行なった場合、消化管内成虫の定着に対する強い防御効果は認められるが、体内移行期幼虫には著明な効果を示さず、成虫の排除反応と移行期幼虫の殺滅反応は、各々異なる免疫機序によって担われていることが示唆された。

T細胞欠損ヌードマウスでは、成虫の消化管内からの排除も、体内移行期幼虫に対する再感染防御も認められず、これらはいずれもT細胞依存性の免疫学的イベントであることが確かめられた。ヌードマウスでの成虫の定着期間の延長は Str 感染でも認められているが、Str 感染の場合、虫卵の排出は 12日目のピークを越えると次第に減少をみせ、E.P.G. 値は 45 日までに著しい低下を示す。これに対し、Stv 感染では、E.P.G. 値は同じく 12 日目にピーク値に達した後、ほとんど低下することなく 53 日にわたって持続した。このことはやはり、Stv がマウスに対して優れた感染性を有することを示している。ヌードマウスの生存期間が短いこともあって、Stv 感染がどの程度長期間持続するかを最終的に確認することはできなかったが、98 日目には E.P.G. 値が著明に低下したのを受け、このヌードマウスに再感染を行なった。その結果、E.P.G. 値は再び著しい上昇をみせ、再感染に対する防御効果の発現を認めることはできなかった。また、ピーク値に達した E.P.G. 値は、その後、長期間にわたって平衡状態を維持し、これらヌードマウスにおいて自家感染の成立を示唆するような虫卵数の再増加を確認をすることはできなかった。自家感染が免疫欠損マウスにおいても成立しないことは、既に Str 感染モデルでも指摘されており、実験小動物を用いた糞線虫自家感染モデルの開発は、ひき続き重要な研究課題として残された。

本研究では、正常有毛マウスの脾細胞をヌードマウスに移入することによって、感染防御効果に移入することができた。脾細胞の移入による防御効果は体内移行期幼虫数を減少させる効果のみならず、成虫の消化管への定着、生存を

阻害する効果としても示された。また、消化管での成虫の定着阻害、排除効果は感染マウス脾細胞を移入することによって著しく促進され、成虫排除反応においても既往性の反応が関与することが示された。細胞移入による防御効果賦与に関する研究は、Str 感染モデルでも実施されているが、この場合、リンパ節細胞移入による防御効果の発現を認めることはできるものの、脾細胞では移入効果が示されないことが報告されている。Str 感染の場合、なぜ脾細胞による防御効果の移入ができなかったのかは不明であるが、この報告では recipient マウスに intact な有毛マウスを使用している。移入された脾細胞による防御効果が十分に発揮される前に、recipient マウスの防御効果が強く発現してしまったためと考えられる。一方、感染有毛マウスの血清移入によってヌードマウスに成虫および再感染幼虫に対する防御効果を賦与することはできなかった。Str を用いた検討では、やはり感染血清による防御効果の移入が報告されている。しかし、この場合も血清の移入を受けるマウスに正常有毛マウス用いており、感染血清がT細胞依存性の何らかのエフェクター細胞と共に働いた可能性がある。ヌードマウスを用いた我々の研究では、感染血清移入によって肺からの幼虫回収率や消化管からの成虫排除に影響を与えることはなかったが、虫体の体内移行時期に若干の遅れが認められた。血清移入によって防御効果を賦与できたとする報告でも、血清移入の効果は感染後 24 時間以内という、ごく初期の段階に限られているという。感染した幼虫が消化管に至るまでのかかる時間的遅れが、ヌードマウス以外では移行期幼虫に対するより強い細胞性の反応を誘導する時間的余裕を与え、結果として成虫の感染成立を抑制したという可能性も考えられる。いずれにしても、ヌードマウス用いた Str 感染モデルは、糞線虫の感染防御に与る免疫学的ファクターの解析にとって、有用な実験モデルであると考えられる。

前述したごとく、糞線虫に対する防御反応には移行期幼虫と消化管内成虫に対する異なる stage specificity の存在することが知られている。IL-3 がヌードマウスにおいて Str 成虫の排除を促進すること、抗一好酸球抗体処理されたマウスでは移行期幼虫に対する防御反応が低減するが、成虫の排除反応には影響を及ぼさないことなど、防御反応に関わる細胞性、液性因子の研究が最近活発になされるようになってきた。本研究では IL-5 に対する単クローン抗体処理が糞線虫の防御免疫に及ぼす影響を検討した。抗 IL-5 単クローン抗体処理を受けたマウスでは、移行期幼虫に対する防御作用が明らかに抑制された

が、消化管内成虫の排除反応は影響を受けないことを確認した。IL-5 には好酸球の分化を促す作用があり、抗IL-5 抗体処理によって著明な eosinophilia の抑制も認められた。寄生虫にとって好酸球が抗体依存性の障害作用をもつことは、よく知られた事実であり、感染を受けたマウス好酸球は IL-5 receptor を有することも確かめられている。移行期幼虫に対する防御反応にとって好酸球は基本的に重要なエフェクター細胞と考えられ、この反応には IL-5 が深く関わっていることが示唆された。