学位論文題名

Immunological studies on larval *Echinococcus multilocularis* infection in scid mice.

（重度複合免疫不全・scid マウスにおける多包虫感染の免疫学的研究）

学位論文内容の要旨

多包条虫 *Echinococcus multilocularis* は、中間宿主の齧歯類やヒトでは致死的な経過をたどる病原性の強い寄生虫で、北方圏諸国に広く分布し医学・獣医学上問題となっている。本幼虫はヒトや中間宿主の齧歯類体内で無性増殖および転移し、病原性を発揮する。中間宿主への感染は、本来の虫卵の経口摂取以外に、実験的に幼虫の組織である嚢胞や原頭節を腹腔や皮下に接種しても成立し、無性増殖し、多数の原頭節を産生するようになる。この幼虫に対する感受性は動物により様々であり、年齢、性、抗体、補体、顆粒球、マクロファージ、リンパ球などの諸因子が感受性に関与することが知られている。様々な免疫応答を引き起すが、防御にはリンパ球が重要な役割を果たしていることが示唆されてきた。まず最初にこれらの因子について考察し、マウスにおける多包虫感染時の宿主-寄生体相互作用をリンパ球の役割を中心に調べるために、C.B-17マウス（以下正常マウス）のミュータントで、機能的TおよびB細胞を先天性に全く欠損する重度複合免疫不全マウス（以下 scid マウス）を用い検討を加えた。

まず、scidマウスおよび正常マウスに原頭節を腹腔内投与し、マウス腹腔内における多包虫の成長をシスト重量ならびに組織学的観察によって比較した。感染後6週目までは scid マウスおよび正常マウスともにシスト重量の著しい変化はみられなかったが、それ以降正常マウスではシスト周

圃に顕著な肉芽腫様炎症反応が現れ、シスト内の幼虫の発育が抑制された。一方、scidマウスでは二段階の発育をすることが明らかとなった。すなわち、感染後6週目までは正常マウスと同様に発育を抑制したが、感染後7週目よりシスト重量は急激に増加し、感染後15週目までに体重の約1/2を占めるようになった、また、組織学的検査では原頭節の形成がみられた。

次にシスト重量の増加と原頭節形成へのTおよびB細胞の影響を明らかにするために、多包虫感染および非感染正常マウスから得られた胸腺および脾臓細胞を scid マウスに移入し、その後原頭節を腹腔内投与した。正常マウス細胞移入 scid マウスでは正常マウスと同様にシスト重量の増加が抑制され、移入細胞のドナーが多包虫感染しているものと感染していないものでシスト重量に差は認められなかったが、シスト内の原頭節形成状態は細胞のドナーの感染/非感染によって異なった。すなわち、多包虫感染正常マウスの細胞移入では原頭節の形成は遅れたが、非感染正常マウスの細胞移入 scid マウスでは原頭節の形成状態は無移入 scid マウスと同様で、感染11週で原頭節がみられた。これらの結果はリンパ球がマウス体内での多包虫の発育(シスト重量の増加と原頭節形成)の抑制に関与していることを示唆している。

次に、免疫グロブリン産生細胞であるB細胞の多包虫に対する影響を検討した。まず多包虫感染正常マウスの脾細胞よりB細胞を Magnetic activated cell sorter (MACS) を用いて分離し、scidマウスに移入した。B細胞移入 scidマウスおよび無移入 scid マウスに原頭節を腹腔投与してシスト重量を比較した。脾細胞の MACS による分離精製結果はフローサイトメトリーおよび分離B細胞移入 scidマウスにおける多包虫に対する特異的抗体の産生により確認した。B細胞移入群ではシスト重量の増加が無移入 scid マウス群のものよりも早い時期にみられ、T細胞非依存性特異もしくは非特異免疫グロブリンがシスト重量の増加を促進している可能性

が示唆された。そこで、多包虫の発育へ及ぼす多包虫特異的免疫グロブリンの影響を検討するために多包虫感染正常マウスの血清（感染血清）を分離し、scid マウスに原頭節投与前および投与後経時的に接種した。対照として非感染マウス血清を接種した scid マウスおよび無処置 scid マウスを用いて、これらのマウスにおける原頭節の発育を比較観察した。その結果、感染血清を投与した scid マウスは正常血清投与または無処置マウスよりシスト重量の増加が早い時期にみられ、多包虫に対する抗体が多包虫の発育を促進することが示唆された。このように興味深い結果が得られ、宿主-寄生体相互作用における免疫応答の役割について考察を加えた。

その他、多包虫感染に対する防御に関与することが示唆されているマクロファージ、および最近、住血吸虫感染で寄生虫に有利に作用することが示唆されているTNF- α について検討したが、有意差のある結果は示すことは出来なかった。

以上の成績から、重度複合免疫不全 (scid) マウスを用いることにより寄生虫エキノコックスが中間宿主体内で宿主の免疫系あるいはその産物を利用して増殖している可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 神 谷 正 男
副 査 教 授 板 倉 智 敏
副 査 教 授 小 沼 操
副 査 助 教 授 奥 祐 三 郎

学位論文題名

Immunological studies on larval *Echinococcus multilocularis* infection in scid mice.

(重度複合免疫不全・scid マウスにおける多包虫感染の免疫学的研究)

多包条虫 *Echinococcus multilocularis* は、北方圏諸国に広く分布し、中間宿主の齧歯類やヒトでは致命的な経過をたどる寄生虫である。多包虫感染時の宿主の免疫応答を明らかにするために、C.B-17マウス（以下C.B-17）のミュータントで、TおよびB細胞を先天的に欠損する重度複合免疫不全scidマウス（以下scid）を用い検討を加えた。

まず、scidおよびC.B-17で多包虫感染の様子を比較した。C.B-17では幼虫の発育が抑制されたが、scidでは6週目まで発育が同様に抑制され、その後急激にシスト重量が増加した。C.B-17から得られた胸腺および脾臓細胞を scid に移入し、感染を行ったところシスト重量は抑制されていた。これらの実験の結果はリンパ球がマウス体内での多包虫の発育の抑制に関与し、成熟化に影響を及ぼすことを明らかにした。

次に、B細胞の多包虫に対する影響を検討した。細胞移入マウスではシスト重量の増加が非移入 scid 群のものよりも大きかった。そこで、多包虫感染C.B-17の血清をscid に投与したところ、感染血清を投与した scid は正常血清投与または無処置マウスよりシスト重量が大きくなり、多包虫に対する抗体が多包虫の発育を促進することが示唆された。その他、多包虫感染に対する防御に関与することが示唆されているマクロファージ、およびTNF- α の役割についても検討した。

以上のように、本論文はエキノコックス-scid マウスの実験系を用いることにより、免疫系が多包虫の発育を抑制するだけでなく、多包虫の増殖を促進する可能性を示すもので多包虫症の感染防御機構の解析に資するところが大きいと考えられる。よって、審

査員一同は、申請者マシュー チャールズ ブレイフォード氏が博士（獣医学）の学位を受ける資格が十分あるものと認める。