

学 位 論 文 題 名

エキノコックス感染終宿主における
組織反応，虫体の発育ならびに再感染防御

学位論文内容の要旨

エキノコックス症は世界的に分布する重要な人獣共通寄生虫病であり、病原体として特に重要なのは多包条虫 *Echinococcus multilocularis* および単包条虫 *E. granulosus* の2種である。本症の予防には、感染源すなわち終宿主対策が有効と考えられているが、現在に至るまで感染源対策に資する十分な知見が得られているとはいえない。本研究では、エキノコックス終宿主における虫体排除機構を明らかにすることを目標として、感染終宿主（代替終宿主を含む）における組織反応、成虫体への発育、発育要因ならびに再感染防御について検討し、以下の結果が得られた。

1. 単包条虫感染犬および多包条虫感染代替終宿主（ゴールデンハムスター）の組織反応を感染後経時的に観察し、宿主の腸管の組織反応が虫体の排除に関与する可能性について検討した。

1) 単包条虫感染犬の小腸

単包条虫感染犬において、ほとんどの原頭節が経口投与後排除され、投与後1日目から小腸上部において急性の炎症性反応が認められた。

2) 多包条虫感染代替終宿主の小腸

ゴールデンハムスターではプレドニゾロンを投与せずとも、小腸内で多包条虫の成虫が、短期間寄生しうる。プレドニゾロン処置と無処置のゴールデンハムスターに、原頭節を経口投与後5日目に剖検した。虫体回収率はプレドニゾロン処置群では無処置群に較べ有意に高かった。プレドニゾロン無処置群の小腸粘膜固有層において感染後炎症性細胞の浸潤を伴う浮腫と虫体の付着部での杯細胞の増多が処置群に較べて顕著に認められたことから、これらの変化が虫体の排除にとって重要な要因であること

が示唆された。

2. 終宿主に適用するワクチン開発の可能性を探るために、多包条虫の原頭節の再感染に対する獲得抵抗性について、代替終宿主ゴールデンハムスターの感染実験を行い、初感染の投与経路が経口、腹腔内のいずれであっても、終宿主レベルでの再感染防御が起こることを明らかにした。

3. エキノコックス成虫に対する終宿主の感受性に関与する因子について調べる目的で、単包条虫に対するゴールデンハムスターとスナネズミの感受性、多包条虫に対する北米産齧歯類の感受性、重度の免疫不全マウス（scid）の腸管外での成虫への発育を検討した。

1) 単包条虫の代替終宿主としてのゴールデンハムスターではプレドニゾロン処置群と無処置群のいずれでも感染後10日目まで虫体が回収された。プレドニゾロン処置をしたスナネズミでは、成獣を用いた場合には感染の初期に少数の虫体只得られたただけであったが、若齢のスナネズミを用いることにより14日目まで多数の虫体が回収されたことから、単包条虫の代替終宿主モデル確立の可能性が初めて示された。

2) 北米産齧歯類 5属 7種： *Spermophilus* sp., *Perognathus* spp., *Peromyscus* spp., *Onychomys* sp. および *Reithrodontomys* sp. における多包条虫に対する感受性と虫体の発育を検討した。 *Perognathus* spp. においてのみ、長期の寄生が認められ、プレドニゾロン無処置の動物で感染後25日に5匹中2匹から、それぞれ5.2%および0.9%の虫体が回収され、生殖器の発達も見られた。このことは、エキノコックスの新たな代替終宿主確立の可能性を示し、さらに、北米大陸において分化した齧歯類を用いた実験をとおして、原始齧歯類においてエキノコックスの系統が確立されたとする仮説を支持するものである。

3) scid マウスの腸管外（脳、皮下、腹腔）に原頭節を接種し、成虫への成長を観察したところscid マウスおよび正常 C.B-17 マウスのどの接種部位からも、翻転した原頭節が回収されたが、皮下および腹腔から回収された虫体の生存率は正常 C.B-17 マウスよりscid マウスからのほうが高かった。脳内から得られた虫体の生存率はいずれも87.7%以上と高値を示した。感染4週目以降のscidマウスの脳内と皮下の虫体では片節の形成が認められはじめた。scid マウスの腹腔内に原頭節を接種し7週目から、

最大3個の片節を形成した虫体や、生殖原基を形成した虫体が認められたが、12週後でもその後の生殖器の発達は認められなかった。これらの虫体をプレドニゾロン処置ゴールデンハムスター小腸に移植したところ、その後の生殖器の発達が進んだことから、腸管外でも多包条虫は片節を形成するが、生殖器の発達は起こらないことが明らかとなった。

4) 多包条虫代替終宿主ゴールデンハムスターとスナネズミの作出に用いられるプレドニゾロンは抗炎症、免疫抑制作用以外に糖質コルチコイドとして代謝に及ぼす作用があることが知られている。また、ゴールデンハムスターは血清および胆汁コレステロール値が高く、スナネズミではコレステロールの代謝が他の実験動物と異なっており、さらに、条虫はコレステロールを体内で合成することができず体外から取入れなくてはならないとされている。これらに着目し、プレドニゾロン処置による血清、胆汁コレステロール値への影響や、コレステロール添加飼料の虫体回収数に及ぼす効果を調べ、多包条虫原頭節の初期定着にコレステロールが直接関与しているのかどうかを検討した。プレドニゾロン無処置のスナネズミおよびゴールデンハムスターの血清および胆汁コレステロール値はマウス、ラット等にくらべて高値であることが明らかになった。とくにスナネズミの胆汁コレステロール値は極めて高かった。また、プレドニゾロン投与により血清コレステロール値の上昇が認められた。胆汁コレステロール値の上昇作用についてはゴールデンハムスターでは有意に認められたが、スナネズミでは認められなかった。2%コレステロール添加飼料を与えられたゴールデンハムスター、スナネズミでは血清コレステロール値の有意な上昇が認められたが、小腸における初期定着、回収率などとの相関は本研究では確認できなかった。

以上、エキノコックス防除対策に最も重要と考えられる感染源に関連して、終宿主における感染初期の特徴的な宿主組織反応、成虫の発育、再感染防御など、虫体排除機構の一端を明らかにすることができた。

学位論文審査の要旨

主査	教授	神谷正男
副査	教授	喜田宏
副査	教授	小沼操
副査	助教授	奥祐三郎

学位論文題名

エキノкокクス感染終宿主における 組織反応、虫体の発育ならびに再感染防御

エキノкокクス症は世界的に分布する重要な人獣共通寄生虫病であり、病原体として特に重要なのは多包条虫 *Echinococcus multilocularis* および単包条虫 *E. granulosus* の2種である。本研究では、エキノкокクス終宿主における虫体排除機構を明らかにすることを目的として、感染終宿主（代替終宿主を含む）における組織反応、成虫体への発育、発育要因ならびに再感染防御について検討し、以下の結果を得た。

1. 単包条虫感染イヌの組織反応について解析したところ、ほとんどの原頭節が経口投与後定着を阻害され、投与後1日目から小腸上部において急性の炎症性反応を認めた。

2. ゴールデンハムスターではプレドニゾロン処置をせずとも、多包条虫の成虫が、短期間寄生しうる。プレドニゾロン処置と無処置とで虫体の回収と小腸の反応を比較したところ、プレドニゾロン処置群では無処置群に較べ回収虫体数が有意に高く、無処置群の小腸粘膜固有層において認められた、炎症性細胞の浸潤を伴う浮腫と虫体の付着部での杯細胞の増多がほとんど認められなかったことから、これらの変化が虫体の排除にとって重要な要因であることを示した。

3. 終宿主に適用するワクチン開発の可能性を探るために、多包条虫の原頭節の再感染に対する獲得抵抗性について、代替終宿主ゴールデンハムスターを用いて解析したところ、初感染の投与経路が経口、腹腔内のいずれであっても、終宿主レベルでの再感染防御が起こることを明らかにした。

4. ゴールデンハムスターとスナネズミの単包条虫に対する感受性について検討したところ、ゴールデンハムスターではプレドニゾロン処置に関わらず感染後10日目まで少数の虫体が回収された。一方、プレドニゾロン処置をした若齢スナネズミでは、14日目まで多数の虫体が回収され、単包条虫の新たな代替終宿主モデルを初

めて提示した。

5. 北米産齧歯類 5 属 7 種：*Spermophilus sp.*, *Perognathus spp.*, *Peromyscus spp.*, *Onychomys sp.* および *Reithrodontomys sp.* における多包条虫に対する感受性と虫体の発育を検討したところ、*Perognathus spp.* においてのみ、長期の寄生と虫体の発育が認められ、新たな代替終宿主モデルを提示した。

6. 重度免疫不全 (scid) マウスの腸管外 (脳、皮下、腹腔) で原頭節は死滅せず、成虫へ成長することを明らかにした。scid マウスの腹腔内に原頭節を接種し 7 週目から、最大 3 個の片節を形成した虫体や、生殖原基を形成した虫体が認められた。しかし、12 週後でもそれ以降の発達は認められなかった。これらの虫体をプレドニゾロン処置ゴールデンハムスター小腸に移植したところ、生殖器の発達が進んだことから、多包条虫は腸管外でも片節を形成するが、生殖器の発達を起こさないことを示した。

7. プレドニゾロンの抗炎症、免疫抑制以外の作用が代替終宿主における虫体の回収を亢進している可能性について調べるために、プレドニゾロン処置による血清、胆汁コレステロール値への影響や、コレステロール添加飼料の虫体回収数に及ぼす効果を調べたところ、プレドニゾロン投与により血清コレステロール値の上昇が認められた。胆汁コレステロール値の上昇作用についてはゴールデンハムスターでは有意に認められたが、スナネズミでは認められなかった。2% コレステロール添加飼料を与えられたゴールデンハムスター、スナネズミでは血清コレステロール値の有意な上昇が認められたが、小腸における初期定着、回収率などとの相関は本研究では確認できなかった。

以上のように、申請者は終宿主における感染初期の特徴的な宿主組織反応と成虫の発育、再感染防御など、虫体排除機構の一端を明らかにした。これらの結果は、エキノコックス防除対策において、最も重要と考えられる感染源対策に基礎的情報を提供するものである。よって、審査員一同は猪原潤子氏が博士 (獣医学) の学位を受ける資格が十分あるものと認めた。