

学位論文題名

Immune responses to *Echinococcus multilocularis* infection and immune modulation by the parasite in the definitive hosts

(終宿主の多包条虫感染に対する免疫応答と免疫抑制)

学位論文内容の要旨

多包条虫 *Echinococcus multilocularis* は北半球に広く分布し、人において重篤な疾病を引き起こす。人への感染機会を減少させるために、駆虫薬入りのベイトの散布などいくつかの試みがなされてきたが、終宿主に対するワクチン開発は重要な課題である。終宿主の多包条虫感染の免疫学的研究の大半は診断目的で、腸管の成虫感染に対する免疫応答に関するものは限られている。

本研究は多包条虫成虫感染における宿主-寄生虫相互関係を明らかにすることを目的とし、本来の終宿主であるイヌと代替終宿主モデルであるスナネズミを用いて、多包条虫の感染に対する免疫応答を観察し、腸粘膜における多包条虫の定着・生存に重要と考えられる寄生虫成分の免疫系への影響について調べ、また、糖鎖成分についても解析した。

まず、第 I 章では基礎的な感染後の免疫応答を明らかにするために、2 頭の犬を用いて多包条虫感染後の液性および細胞性免疫応答を経時的に観察した。

1. 感染後、寄生虫に対する抗体産生が誘導され(血清 IgG1 は感染後 10 日目、IgG2 は感染後 7 日目から)、特に原頭節の排泄・分泌抗原に対する抗体応答が顕著であったことから、腸粘膜における虫体の免疫原としての頭節の重要性が示唆された。
2. コンカナバリン A (ConA) に対する末梢血単核球の増殖応答は感染後 7 日目に低下し、一過性の免疫抑制が示唆された。
3. 感染後 21 日までの観察期間を通し、末梢血単核球の原頭節抗原の刺激に対する細胞増殖応答は認められなかったが、感染後 21 日目に脾細胞、腸間膜リンパ節およびパイエル板細胞の細胞増殖応答を調べたところ、1 頭の犬のパイエル板細胞において、原頭節の排泄・分泌抗原に対する増殖応答が観察され、頭節から排泄・分泌される物質に対する腸管局所の細胞性免疫応答が示唆された。
4. しかし、原頭節抗原の添加によって ConA に対する細胞増殖応答が全体的に抑制され、特に原頭節の排泄・分泌抗原で抑制が顕著であったことから、局所の免疫応答の抑制により、虫体の小腸における定着を促進するものと推測された。また、この原頭節排泄・分泌抗原の抑制効果は感染前・感染後のリンパ球の両方において観察されたことから、原頭節排泄・分泌抗原は感染初期だけでなく、再感染時においても虫体の

定着・生存を促進する役割を果たすことが推察された。

第 II 章では、終宿主モデルとしてのスナネズミの多包条虫に対する免疫応答について調べた。齧歯類の代替終宿主モデルとしてはステロイド処置されたスナネズミが用いられているが、本実験では免疫応答を観察するために、プレドニゾン未処置の動物を主に用いて多包条虫感染に対する免疫応答を観察した。

1. プレドニゾン未処置動物では感染後 3 日以内にほとんどの虫体が体外に排出され、原頭節に対する腸管 IgA 抗体は感染後 7 日目より上昇が認められ、14 日目の検査では血清 IgG 抗体が検出された。一方、プレドニゾン処置動物では抗体応答は認められず、虫体が長期間残存した。
2. プレドニゾン未処置のスナネズミに原頭節を経口投与した後、原頭節抗原に対する脾細胞、腸間膜リンパ節およびパイエル板細胞の増殖応答を調べたところ、パイエル板細胞で顕著な増殖応答が観察された。
3. 原頭節虫体抗原による免疫応答の抑制効果をマイトジェン (ConA および LPS) に対するリンパ球増殖応答の阻害程度により調べたところ、スナネズミにおいても原頭節抗原によるリンパ球増殖応答の抑制が認められた。

さらに多包条虫抗原の宿主免疫応答の抑制効果を調べるために、未感染スナネズミの脾細胞に原頭節の虫体抗原および排泄・分泌抗原、成虫の虫体抗原および排泄・分泌抗原をマイトジェン (ConA および LPS) と共刺激し、増殖応答の抑制を観察した。ほとんどの多包条虫抗原が脾細胞の ConA 応答を用量依存的に抑制したが、LPS 応答の抑制は顕著でなかったことから、多包条虫抗原は B 細胞の機能より、T 細胞またはマクロファージの機能を顕著に抑制することが示唆された。ConA 応答の抑制効果は原頭節排泄・分泌抗原において顕著であった。

第 III 章では、多包条虫抗原の糖鎖成分について検討した。

1. 糖染色によって多包条虫抗原は糖鎖成分を含有していることが明らかとなった。特に原頭節排泄・分泌抗原の糖/蛋白比が高い値を示した。
 2. 原頭節および成虫抗原 (虫体抗原および排泄・分泌抗原を含む) の多包条虫感染犬の血清を用いたイムノプロットによる解析から、多包条虫に対する抗体の多くが糖に対するものであることが示唆された。
 3. 多包条虫抗原の糖鎖成分を調べるためにレクチンプロットを行ったところ、すべての多包条虫抗原において、N 型および O 型糖鎖の両方を混合していた。また、多包条虫の成虫が O 型糖鎖を含有・分泌していることを初めて明らかにした。
- これらの結果から、多包条虫が排泄・分泌する物質に含まれる糖鎖、特にムチン型糖鎖およびシアル酸が宿主-寄生虫相互関係において重要な役割を果たしている可能性について考察した。

本研究によって、終宿主の腸粘膜に寄生する多包条虫に対して液性および細胞性免疫応答が誘導されるが、多包条虫が糖鎖を多く含んだ物質を排泄・分泌することで、局所の免疫応答を抑制することが示唆され、この糖鎖を多く含む排泄・分泌物が寄生虫の腸における定着・生存に関与するものと推察された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 片 倉 賢
副 査 教 授 小 沼 操
副 査 教 授 高 島 郁 夫
副 査 助 教 授 奥 祐 三 郎

学 位 論 文 題 名

Immune responses to *Echinococcus multilocularis* infection and immune modulation by the parasite in the definitive hosts

(終宿主の多包条虫感染に対する免疫応答と免疫抑制)

多包条虫 *Echinococcus multilocularis* 対策には、終宿主の腸管内における寄生虫の定着や虫卵の形成・排泄を阻止するワクチンの開発が望まれている。本研究は、終宿主である犬と代替終宿主と成りうるスナネズミにおいて、多包条虫の感染による免疫応答と虫体成分の免疫系への影響を検討したものである。

まず、論文提出者は2頭のビーグル犬に多包条虫の原頭節を投与し、原頭節の分泌・排泄抗原に対して顕著な抗体産生が起こること、ならびに感染局所のパイエル板において細胞増殖応答が誘導されることを示した。一方、末梢血単核球の concanavalin A (ConA) 刺激に対する増殖応答が一過性に抑制されること、および ConA 刺激に対する腸間膜リンパ節やパイエル板などのリンパ球増殖が原頭節抗原の添加によって抑制されることを示し、多包条虫感染犬において免疫抑制が起こることを明らかにした。

つぎに、スナネズミの多包条虫感染においても、犬の場合とほぼ同様に、原頭節抗原の添加によって ConA 刺激に対するリンパ球増殖応答が抑制されることを示した。しかし、lipopolysaccharide に対するその抑制は顕著でなかったことから、多包条虫抗原は T 細胞またはマクロファージの機能を抑制している可能性を示唆した。

加えて、多包条虫抗原は糖鎖成分を多く含み、N 型および O 型糖鎖の両方を含有することなどを明らかにした。

以上、論文提出者は、多包条虫が感染した終宿主においては免疫応答が誘導されるが、虫体から分泌・排泄される糖鎖を多く含んだ物質が宿主の腸管局所の細胞性免疫応答を抑制し、腸管での寄生虫の定着や生存を有利に導いている可能性を示唆した。

よって、審査委員一同は、上記博士論文提出者加藤尚子の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規程による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。