

学 位 論 文 題 名

Molecular characterization of *Echinococcus multilocularis* tetraspanins and their potential as vaccine antigens

(多包条虫 Tetraspanin の性状解析とその組換えタンパク質を用いたワクチン試験)

学位論文内容の要旨

Echinococcus multilocularis (多包条虫)はテニア科、*Echinococcus* 属に属する条虫で、北方圏に広く分布する。日本では北海道に分布し、ヒトにおいて重篤な症状を引き起こす人獣共通感染症の病原体であり、公衆衛生上ならびに経済上の問題となっている寄生虫でもある。ヒトの多包条虫症 (Alveolar Echinococcosis) はゆっくり進行するが、適切な治療がされなかった場合致死率 90%以上とされる致命的な感染症である。伝統的な薬物治療は副作用があり、早期発見と病変部の外科的治療 (肝切除術、肝移植) が最善の治療法とされるが、自覚症状が現れるのは感染数年から十数年後であるため早期発見は困難である。本研究では本寄生虫の新規蛋白質の解析と、有効な多包条虫症制御ワクチンの開発を目指した。すなわち、多包虫幼虫 cDNA ライブラリーからテトラスパニン (tetraspanin, TSP) ファミリー分子 (7種類) を選択し、組換え蛋白質を作製、皮下免疫と粘膜免疫 (経鼻免疫) のワクチン効果を調べた。

7種類のテトラスパニン(TSP)の組換え蛋白質を作製しBALB/cマウスに免疫して得た抗血清を用いて免疫染色を行い、テトラスパニンの多包条虫シストと原頭節中の局在を調べたところ、本分子が主にシストと原頭節の外皮に発現していることが明らかとなった。特に、分子量が25 kDのテトラスパニン (TSP5)の分子構造が*Taenia solium*の診断用抗原であるT-24蛋白質と類似しており、多包条虫診断法開発上有力な候補分子であることが予想された。

そこで、発現した蛋白質でBALB/c マウスを免疫し、実験室内において虫卵感染させた際のワクチン効果を、肝臓に形成されたシストの数を指標として、判定した。テトラスパニン組換え蛋白質の免疫により、高い血清力価が得られ、7種類のテトラスパニンの免疫群におけるシスト数はコントロール群と比較してそれぞれ23%、35%、15%、33%、26%、27%、62%であった。本結果により、テトラスパニンファミリー分子にはマウスの多包条虫 metacestode 一次感染に対して高いワクチン効果があり、有効なワクチンを開発する上で有力な候補であることが示された。

また、粘膜免疫 (経鼻免疫) におけるワクチン効果を調べるため、本研究では皮下免疫で高いワクチン効果があったTSP1とTSP3を選んで、粘膜ワクチン効果を検討した。免疫群におけるシスト数はコントロール群と比較して37%と62%であった。本結果により、テトラスパニン3はマウスの多包条虫 metacestode 一次感染に対して高い粘膜ワクチン効果があり、将来多包条虫症に対する粘膜ワクチン研究の有力な候補であることが示された。

以上の研究から、テトラスパニンは日本で発生が見られる多包条虫症制御に新規のワクチン開発の有力な候補であることが示された。

学位論文審査の要旨

主査	教授	杉本千尋
副査	教授	片倉賢
副査	教授	大橋和彦
副査	准教授	奥祐三郎

学位論文題名

Molecular characterization of *Echinococcus multilocularis* tetraspanins and their potential as vaccine antigens

(多包条虫 Tetraspanin の性状解析とその組換えタンパク質を用いたワクチン試験)

Echinococcus multilocularis (多包条虫)はテニア科、*Echinococcus*属に属する条虫で、北方圏に広く分布する。日本では北海道に分布し、ヒトにおいて重篤な症状を引き起こす人獣共通感染症の病原体であり、公衆衛生上ならびに経済上の問題となっている寄生虫でもある。ヒトの多包条虫症 (Alveolar Echinococcosis) はゆっくり進行するが、適切な治療がされなかった場合致死率90%以上とされる致命的な感染症である。伝統的な薬物治療は副作用があり、早期発見と病変部の外科的治療 (肝切除術、肝移植) が最善の治療法とされるが、自覚症状が現れるのは感染数年から十数年後であるため早期発見は困難である。本研究では本寄生虫の新規蛋白質の解析と、有効な多包条虫症制御ワクチンの開発を目指した。すなわち、多包虫幼虫cDNAライブラリーからテトラスパニン (tetraspanin, TSP) ファミリー分子 (7種類) を選択し、組換え蛋白質を作製、皮下免疫と粘膜免疫 (経鼻免疫) のワクチン効果を調べた。

7種類のテトラスパニン(TSP)の組換え蛋白質を作製しBALB/cマウスに免疫して得た抗血清を用いて免疫染色を行い、テトラスパニンの多包条虫シストと原頭節中の局在を調べたところ、本分子が主にシストと原頭節の外皮に発現していることが明らかとなった。特に、分子量が25 kDのテトラスパニン (TSP5)の分子構造が *Taenia solium*の診断用抗原であるT-24蛋白質と類似しており、多包条虫診断法開発上有力な候補分子であることが予想された。

そこで、発現した蛋白質でBALB/c マウスを免疫し、実験室内において虫卵感染させた際のワクチン効果を、肝臓に形成されたシストの数を指標として、判定した。テトラスパニン組換え蛋白質の免疫により、高い血清力価が得られ、7種類のテト

ラスパニンの免疫群におけるシスト数はコントロール群と比較してそれぞれ23%、35%、15%、33%、26%、27%、62%であった。本結果により、テトラスパニンファミリー分子にはマウスの多包条虫虫卵感染に対して高いワクチン効果があり、有効なワクチンを開発する上で有力な候補であることが示された。

また、粘膜免疫（経鼻免疫）におけるワクチン効果を調べるため、本研究では皮下免疫で高いワクチン効果があったTSP1とTSP3を選んで、粘膜ワクチン効果を検討した。免疫群におけるシスト数はコントロール群と比較して37%と62%であった。本結果により、テトラスパニン3はマウスの多包条虫虫卵感染に対して高い粘膜ワクチン効果があり、将来多包条虫症に対する粘膜ワクチン研究の有力な候補であることが示された。

以上の研究から、テトラスパニンは日本で発生が見られる多包虫症制御に新規のワクチン開発の有力な候補であることが示された。よって、審査委員一同は、上記博士論文提出者党志胜君の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定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。