

地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業）

「寄生虫疾患の病態解明及びその予防・治療をめざした研究」

研究協力者 報告書

寄生蠕虫の寄生適応および免疫修飾機構の研究

研究協力者 産業医科大学 免疫学・寄生虫学 金澤 保

研究要旨

昨年度我々は、*Heligmosomoides polygyrus* (Hp) およびマンソン住血吸虫 (Sm) がマウスにおける1型糖尿病 (T1D) の誘発型モデルである多回・低用量ストレプトゾトシン誘発糖尿病を抑制すること、その作用はSTAT6やIL-10に依存しないことを報告した。本年度はSm感染マウスの膵臓および膵リンパ節における関連遺伝子の発現について解析した。STZ投与T1D誘発マウスの膵リンパ節においては、無処置マウスに比べIFN- γ 、IL-1 β 、TNF- α 、FasL、IL-6の発現上昇が観察された。これに対しさらにSmを感染させたマウスにおいては、上記サイトカインのほとんどの発現が抑制され、IL-4やArg-1などT1Dを抑制する因子の上昇が確認された。また、抗体でTregを抑制してもT1D抑制作用には影響が見られなかった。

A. 研究目的

蠕虫症の蔓延する熱帯地では、細菌・ウイルス・真菌・原虫など多くの他の感染症もまた蔓延している。寄生蠕虫はその生体内適応の過程で、自身に対する宿主の免疫応答のみならず、他の抗原に対する免疫応答をも修飾することが知られている。たとえば、住血吸虫感染宿主は一般的に他の蠕虫に対しては防御能が亢進する一方、原虫やウイルス感染に対しては防御能が低下することが知られている (Osada et al., 2011)。したがって蠕虫感染が他の疾患に与える影響を解明することは、熱帯地における公衆衛生政策決定に際して重要な情報を与えると考えられる。一方先進諸国ではアレルギーや自己免疫疾患が増加傾向にあり、これには微生物への曝露機会の減少が関係しているのではないかという仮説が唱えられている (衛生仮説)。微生物だけではなく蠕虫感染に関してもアレルギーや自己免疫疾患の発症を抑制するという実験報告があるが、蠕虫感染がもたらす免疫学的修飾 (Th2の誘導、Tregの誘導、M2マクロファージの誘導、B細胞の増殖など)のうち、いずれが疾患抑制作用において必要で十分であるかという点はまだ明らかにされてはいない。

我々は、寄生蠕虫の免疫修飾作用および抗炎症効果のメカニズムの解明を通じ、左記の様々な保健衛生上の問題への解決の糸口を見つめることを目的として研究を行っている。一昨年度までに、住血吸虫感染が実験的関節炎およびTh17応答の抑制作用をもつことを報告した。昨年度より我々は、1型糖尿病 (T1D) に対する蠕虫感染の影響を検討している。マンソン住血吸虫 (Sm) や *H. polygyrus* (Hp) がNODマウス (T1D自然発症モデル) におけるT1D抑制作用を示すことは既に報告されているが、NODマウスの系では遺伝子欠損マウス (その多くはC57BL/6背景) を用いた実験が行いにくいいため、抑制作用に関与する因子の解析に不便である。そこで我々は、C57BL/6マウスに対して低用量のストレプトゾトシン (STZ) を多回投与することで、ヒトと同じく「免疫学的機序」の関与するT1Dを誘発し、寄生虫感染の効果を検討している。昨年度までに、HpおよびSmのいずれもがNODマウスのT1Dと同様に誘発型モデルのT1Dも抑制すること、そしてその作用はSTAT6およびIL-10に依存しないことを明らかにしてきた。本年度はSm感染マウスの膵臓および膵リンパ節における関連遺伝子の発現について解析した。

また、Sm の T1D 抑制作用に対する Treg の関与についても検討を行った。

B. 研究方法

Sm 100 隻を経皮感染させ、6 週後に STZ 50mg/kg を連続 5 日間腹腔内投与した。初回投与 1 週後（最終投与 3 日後）の膵臓を採取しリアルタイム PCR を行った。Treg の関与を解析する実験では、STZ 初回投与前日より 1 週おきに PC61 抗体をマウス 1 匹当たり 0.2mg を腹腔内投与した。

[倫理面への配慮]

実験動物に苦痛を与える処置の際は必ず麻酔を使用した。産業医科大学動物実験及び飼育倫理審査において承認を受けている（承認番号：AE06-003）。なお本研究では人体材料は用いていない。

C. 結果

STZ 投与マウスの膵リンパ節では、無処置マウスに比べ IFN- と IL-1 の顕著な上昇に加え、TNF- 、 FasL 、 IL-6 の発現上昇が観察された。これに対し Sm 感染マウスにおいては、上記サイトカイン（IL-6 を除く）と iNOS の発現が抑制されていた。また感染マウスでは IL-4 や Arg-1 など T1D 抑制因子の上昇が確認された。膵実質においても同様の傾向が観察された。Treg の実験では、PC61 投与群においても対照群と同等以上の血糖値抑制作用が観察された。

D. 考察

膵臓において細胞破壊に関わる多くのメディエーターの発現が住血吸虫感染によって抑制されることが明らかになった。しかし IFN- K0 マウスにおいても T1D が発症し STAT6KO においても住血吸虫の T1D 抑制効果は減弱しないことが判明しているため、膵リンパ節において観察された IFN- の抑制や IL-4 の上昇は本抑制作用に必須ではないと考えられた。また、Treg を抑制しても T1D 抑制効果は減弱しなかったため、Treg も本抑制作用に必須ではないと思われる。

E. 結論

住血吸虫感染によって T1D 促進因子の発現上昇が抑制され、T1D 抑制因子が増強されていたが、

いずれの変化が essential であるかは未だ不明であり、今後の研究で明らかにしていきたい。

G. 研究発表

1. 論文発表

和文論文

金澤保 長田良雄.
日本住血吸虫と神経系. 神経内科. 77 (3)
p267-273, 2012.

英文論文

Mbanefo EC, Chuanxin Y, Kikuchi M, Shuaibu MN, Boamah D, Kirinoki M, Hayashi N, Chigusa Y, Osada Y, Hamano S, Hirayama K.
Origin of a novel protein-coding gene family with similar signal sequence in *Schistosoma japonicum*. BMC Genomics. 2012 Jun 20;13:260.

2. 学会発表

長田良雄、山田壮亮、金澤保.
寄生蠕虫の抗糖尿病効果に関与する因子の解析.
第 81 回日本寄生虫学会大会、兵庫医大・西宮キャンパス、西宮、平成 24 年 3 月 23 - 24 日.

Osada Y, Yamada Y, Kanazawa T.
Helminths reduce severity of experimental type 1 diabetes in mice via STAT6- and IL-10- independent mechanisms.
Forum Cheju 15. The 15th Japan-Korea Parasitologists' Seminar. Current Trends in Parasitology Research in Japan and Korea. 青島パームビーチホテル、宮崎、平成 24 年 5 月 23 - 25 日.

長田良雄、山田壮亮、金澤保.
STZ 投与マウス膵臓の炎症メディエーター発現に対する寄生蠕虫の効果.
第 65 回日本寄生虫学会南日本支部大会・第 62 回日本衛生動物学会南日本支部大会合同大会、長崎大学医学部ポンペ会館、長崎、平成 24 年 11 月 10 - 11 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし