

## M-1 ラットマラリア感染モデルにおける生体防御機構の微小環境解析

<sup>1)</sup> 獨協医科大学 熱帯病寄生虫病室, <sup>2)</sup> 同 解剖学,

<sup>3)</sup> 川崎医科大学 病院病理部

田中麻友<sup>1)</sup>, 松野岳志<sup>3)</sup>, 上田祐司<sup>2)</sup>, 松野健二郎<sup>2)</sup>, 徳田信子<sup>2)</sup>, 川合 覚<sup>1)</sup>

【背景と目的】熱帯熱マラリアは易重症化で致死性が高く, 多臓器に様々な合併症を誘発するが効果の高いワクチンはいまだ開発されていない。私たちはこれまでに多重免疫染色を駆使して免疫応答の微小環境を組織形態学的に解析してきた。今回, ラットマラリア感染モデルを作製し, 病態と生体防御の推移を切片レベルで解析した。

【方法】8週齢の雄ラット(2系統)にネズミマラリア原虫 *Plasmodium berghei* (*Pb*) NK65 感染赤血球  $10^6$  cells を静注して感染ラットを作製した。経時的に新鮮凍結標本を作製する際, サンプリング1時間前には増殖細胞の標識として BrdU を静注した。酵素多重免疫染色法, あるいは蛍光多重免疫染色法にてマラリア抗原, 免疫細胞, 組織構築などを可視化し, 免疫微小環境の推移を免疫組織学的に解析した。

【結果と考察】感染は day 6 頃より顕在化しはじめ, 16日前後には溶血や脾腫(約6倍)が認められた。しかし, 興味深いことに病態は3週間目にかけて急激に収束し, この治癒効果は2系統共に再現された。一連の免疫応答変化を経時的に解析すると, *Pb* 抗原は day 10, 17 の脾臓赤脾髄, 次いでリンパ濾胞 LF でも検出された。ここで後者は免疫複合体であると推察し B 細胞応答を解析したところ, LF や辺縁帯で激しい B 細胞増殖像が見られ, 赤脾髄の *Pb* 抗原は CD163, CD169 陽性マクロファージの細胞内に認められた。さらに day 6 では白脾髄内の樹状細胞の増加が, day 10 の白脾髄では一過性の T 細胞増殖がそれぞれ認められた。一方, 肝臓では Kupffer 細胞や細胞傷害性 T 細胞の応答を認めたが脾臓に比して遅く, かつ弱かった。これは本系が感染赤血球の投与モデルであるために肝臓期を経ず, 脾臓を中心とした生体防御応答であると考えられた。以上より, NK65 はマウスでは致死性であるが, ラットではマラリアに対する免疫応答が脾臓で適切に誘導され, 抗体依存性の生体防御機構が中心となり治癒に至ったと考えられた。

## M-2 日本住血吸虫感染動物の血中に出現する免疫検査妨害因子について

獨協医科大学 熱帯病寄生虫病室

桐木雅史

【背景】住血吸虫症はヒトを含む哺乳動物の血管に寄生して病害を起こす人獣共通感染症である。NTDs(顧みられない熱帯病)のひとつとして, WHO が 2030 年までの制圧を目指す対象疾患となっている。演者は血流中を流れる日本住血吸虫(Sj)由来物質, すなわち循環抗原を標的とする検査法の開発に取り組んできた。これまでに循環抗原の一つを特定し, SjCA(Sj Circulating Antigen)と命名して住血吸虫症検査への導入を試みた。SjCAを検出する sandwich-ELISA 法を開発する過程で, 血清中に検査の障害となる因子が含まれることをみとめ, 第 50 回獨協医学会学術集会で報告した。問題の因子は HRP(西洋ワサビ peroxidase)分子と直接的または間接的に結合することで HRP 標識二次抗体を用いる Sandwich-ELISA の結果に干渉することから“HRP 反応因子”と名付けた。HRP 反応因子は感染ウサギ血清で顕著で, ヒトでは比較的微弱であった。限外濾過および電気泳動解析などから, 100 kDa 以上の高分子タンパク質であると推定されている。本発表ではその後得られた知見を報告する。

【実験と結果】HRP が妨害因子であることから, 標識酵素として Alkali Phosphatase (ALP) を用いて Sandwich-ELISA を施行したところ, HRP 標識抗体と同様, 二次抗体の有無にかかわらず感染ウサギ血清で高い値を示した。抗 SjCA 抗体でコーティングしていないプレートでは反応がないため, この現象には SjCA 分子も関与していると考えられる。また, HRP 反応因子と同一の原因であるか否かは明らかでない。

住血吸虫症の制圧には, ヒト以外の固有宿主動物, すなわち保虫宿主対策も重要であることから, この現象の原因究明を進めるとともに, 保虫宿主動物検査への応用の可能性も併せて検討していく。