

様式 (二)

論 文 の 内 容 の 要 旨

獣医学 専攻

平成 11 年度博士課程 入学 (進学)

氏 名 大森 崇司

指導教官名 小野 憲一郎

論文題目 マウスのバベシア感染における宿主感染防御に係るインターロイキン 12 (IL-12) に関する研究

バベシア症は、赤血球内寄生の原虫性疾患で、古くから全世界的に広く認められ、牛、馬、犬、猫などの家畜や伴侶動物ばかりでなくヒトにも感染が認められている。本症は発熱、溶血性貧血、黄疸を呈し、家畜ではその経済的な損失も大きく、畜産学上あるいは獣医学上解決の望まれる疾患の一つである。本症の原因となる *Babesia* 原虫には、その種によって感染経過、宿主の免疫応答、糖代謝特性など様々な相違が認められている。マウスバベシア症の原因原虫である *B. microti* と *B. rodhaini* では、前者に感染したマウスは、一過性の感染赤血球率の増加を示した後に耐過し、生存するのに対し、後者は急性で著しい感染赤血球率の増加を示した後、斃死する。この感染経過の相違はおもに宿主の免疫応答に関連し、細胞性免疫の活性化によるものと考えられており、とくに感染早期の脾臓中 IL-12 の産生・分泌が重要と推測されている。しかしながら、IL-12p70 の測定法が確立されていないため、IL-12 の生理活性を示す IL-12p70 からの検討はなされていない。

そこで本論文では、まず、*B. microti* ならびに *B. rodhaini* 感染マウスにおける宿主の細

胞性免疫の活性化と IL-12p70 の変動について、ついで、*B. microti* ならびに *B. rodhaini* 感染における感染感受性に対するマウスの系統による差を IL-12p70 ならびに細胞性免疫の活性化の点から検討した。さらに、抗 IL-12p70 抗体投与マウスと IL-12p40 ノックアウトマウスを用いて、IL-12p70 枯渇時の *B. microti* 感染における宿主の免疫応答について検討した。

第1章では、*B. microti* または *B. rodhaini* を BALB/c マウスに感染させ、その感染経過、遅延型過敏反応、脾臓中の IFN- $\gamma$  濃度、脾臓内 CD4 陽性 T 細胞の IFN- $\gamma$  および IL-4 mRNA の発現、血中ならびに脾臓中の IL-12p70 濃度の変動について検討した。*B. microti* 感染では、感染赤血球率は感染 19 日後にピークを示した後、減少し、耐過したが、*B. rodhaini* 感染では感染 10 日後に著しい感染赤血球率の増加を示し、斃死した。遅延型過敏反応は、*B. microti* 感染では感染 2 日後に増加し、感染 4 ならびに 6 日後もその増加を維持した。一方、*B. rodhaini* 感染では遅延型過敏反応の増加は認められなかった。また、*B. microti* 感染では感染 2 ならびに 4 日後に脾臓内 CD4 陽性 T 細胞に IFN- $\gamma$  mRNA の発現が認められるのに対し、*B. rodhaini* 感染では観察されなかった。一方、血中 IL-12p70 濃度は *B. microti* 感染ならびに *B. rodhaini* 感染ともに検出限界以下であったが、脾臓中の濃度は *B. microti* 感染で感染 1 日後ならびに 4 日後に有意な上昇を示す 2 峰性の産生・分泌が認められた。しかしながら *B. rodhaini* 感染では IL-12p70 の変動は観察されなかった。したがって、*B. microti* ならびに *B. rodhaini* 感染における感染経過の相違ならびに宿主の免疫応答では、感染初期（感染 1~2 日後）の細胞性免疫の活性化、すなわち遅延型過敏反応ならびに脾臓内 CD4 陽性 T 細胞の IFN- $\gamma$  mRNA の発現など、脾臓内 Th 細胞の Th1 細胞への分化・誘導が重要と考えられた。またこの分化・誘導には、脾臓中の IL-12p70 の 2 峰性の産生・分泌が関連するものと考えられた。

第2章では *B. microti* ならびに *B. rodhaini* の感染感受性に対するマウス系統の差について細胞性免疫の活性化ならびに IL-12p70 の点から検討した。すなわち先天的に脾臓内 Th1 細胞が優位とされる系統である C57BL/6、DBA/1 ならびに CBA マウスを用いて *B. microti* および *B. rodhaini* 感染における感染経過、遅延型過敏反応、脾臓内 CD4 陽性 T 細胞の IFN- $\gamma$  および IL-4 mRNA の発現、脾臓中 IL-12p70 濃度の変動について、BALB/c マウスのそれと比較検討した。*B. microti* 感染に

おける感染赤血球率は、BALB/c マウスでは感染 19 日後にピークを示すのに対し、C57BL/6 マウス (14 日後)、CBA マウス (16 日後)、DBA/1 マウス (18 日後) ともに感染赤血球率のピークが BALB/c マウスに比較して早期に認められた。しかしながら、感染赤血球率はその後減少し、いずれの系統のマウスにおいても感染耐過した。*B. rodhaini* 感染では、いずれのマウスとも感染 8 から 10 日後に斃死した。*B. microti* 感染における遅延型過敏反応は、いずれのマウスにおいても感染 2 日ならびに 4 日後に増加したが、BALB/c マウスが感染 6 日後もその増加を維持するのに対し、C57BL/6、CBA ならびに DBA/1 マウスでは感染 6 日後には減少した。また、*B. rodhaini* 感染では BALB/c マウスを含め、いずれのマウスにおいても遅延型過敏反応の増加は認められなかった。脾臓内 CD4 陽性 T 細胞の IFN- $\gamma$  mRNA の発現は、*B. microti* 感染では感染 2 日後に、いずれのマウスにも認められるのに対し、*B. rodhaini* 感染では観察されなかった。一方、脾臓中 IL-12p70 濃度は、*B. microti* 感染では、BALB/c マウスでは感染 1 日ならびに 4 日後にピークを示すのに対し、C57BL/6 ならびに CBA マウスでは感染 1 日ならびに 3 日後に、DBA/1 マウスでは感染 1 日および 6 日後にピークを示す 2 峰性の産生・分泌を示した。一方、*B. rodhaini* 感染ではいずれのマウスにおいても脾臓中 IL-12p70 濃度の変動は認められなかった。したがって、Th1 優位な系統とされる C57BL/6、CBA および DBA/1 マウスいずれにおいても *B. rodhaini* 感染に対する宿主の免疫応答ならびに IL-12p70 に系統による差は認められなかった。また *B. microti* 感染では、いずれのマウスにおいても感染早期 (感染 2 日後) に脾臓内 Th 細胞が Th1 細胞へ分化・誘導され、細胞性免疫が活性化していることが明らかとなった。また、この誘導には脾臓中 IL-12p70 産生・分泌の感染 1 日後のピークが関連すると推測された。一方、C57BL/6、CBA および DBA/1 マウスでは感染赤血球率の増加が BALB/c マウスに比較して早期に発現した。これらのマウスでは、感染 4 日後の遅延型過敏反応が著しく増加し、感染 6 日後には減少するのに対し、BALB/c マウスでは感染 6 日後まで持続した。したがって、感染後早期に認められる感染赤血球率の増加は、細胞性免疫の過剰発現あるいは細胞性免疫が持続しないためと推測された。

第 3 章では、抗 IL-12p70 抗体投与 BALB/c マウスならびに IL-12p40 ノックアウト BALB/c マウスを用いて *B. microti* 感染における宿主の免疫応答について検討した。抗 IL-12p70 抗体投与マウ

スならびに対照としたラット IgG 投与マウスの感染赤血球率は、無処置マウスに比較して早期にピークを示したが、いずれも感染耐過した。また抗 IL-12p70 抗体投与マウスでは、ラット IgG 投与マウスおよび無処置マウスとは異なり感染 6 日後の遅延型過敏反応は増加しなかった。さらに、脾臓内 CD4 陽性 T 細胞の IFN- $\gamma$  mRNA の発現も認められず、脾臓内 Th 細胞の Th1 細胞への分化・誘導は観察されなかった。このように抗 IL-12p70 抗体投与による IL-12p70 枯渇時には、感染赤血球率が無処置マウスに比較して感染早期に増加することから、IL-12p70 の産生・分泌による細胞性免疫の活性化は主に感染早期の原虫排除に関与するものと考えられた。一方、IL-12p40 ノックアウトマウスにおいても、感染赤血球率のピークは感染 15 日後と無処置マウスに比較し早期に発現した。IL-12p40 ノックアウトマウスでは、脾臓内 CD4 陽性 T 細胞の IFN- $\gamma$  mRNA の発現は認められず、脾臓内 Th 細胞の Th1 細胞への分化・誘導は認められなかった。したがって、IL-12p40 ノックアウトマウスにおける IL-12p70 枯渇時においても、感染赤血球率の増加は早期に発現し、IL-12p70 の産生・分泌ならびにそれに伴う細胞性免疫の活性化は感染初期の原虫の排除に関与すると考えられた。

以上の結果、バベシア原虫の感染時に認められる感染早期の宿主の免疫応答には、脾臓中 IL-12p70 の感染早期の産生・分泌、それに伴う脾臓内 Th 細胞の Th1 細胞への分化・誘導、ならびに細胞性免疫の活性化が重要で、この免疫応答は感染早期の原虫の排除に関与していると考えられた。しかしながら、IL-12p70 を枯渇させた場合であっても *B. microti* 感染に感染耐過することから、IL-12p70 の産生に伴った感染早期の細胞性免疫の活性化のみでは *B. rodhaini* 感染で認められる著しい増加を示す原虫の排除はできないことが明らかとなった。したがって、*B. microti* ならびに *B. rodhaini* 感染で認められる感染経過の相違には、宿主の他の感染防御機構を考慮する必要があると考えられた。