

経皮侵入性線虫 *Strongyloides venezuelensis* の宿主体内移行における 終末糖化産物受容体の役割

坪田 梨央^{1,2}, 坪川 大悟¹, 八田 岳士¹, 辻 尚利¹
(指導: 寄生虫学・熱帯医学 坪川 大悟)

¹北里大学医学部寄生虫学・熱帯医学

²北里大学医学部5年(令和元年度)

経皮侵入性線虫は宿主体内を移行する際、宿主免疫応答を回避していると考えられるが、そのメカニズムは不明である。我々は、炎症反応の発端である終末糖化産物受容体 (receptor for advanced glycation end product: RAGE) を欠損させたマウス (RAGE^{-/-}) にベネズエラ糞線虫 (*Strongyloides venezuelensis*) を感染させ、幼虫移行に伴う影響を調べた。皮下組織の病理組織学的解析から野生型マウス (Wt) で確認された虫体周囲の炎症性細胞浸潤がRAGE^{-/-}では軽度であることが分かった。次いで、幼虫移行による肺の点状出血斑を観察したところ、RAGE^{-/-}では大きさが増大していることが認められ、幼虫数も有意に増加していることが分かった。以上より、RAGEは体内移行する幼虫に対して免疫応答を介在し、幼虫移行を妨げる役割を有していると考えられた。

Key words: *Strongyloides venezuelensis*, RAGE, 幼虫移行

序 文

ラット、マウスを終宿主とするベネズエラ糞線虫 (*Strongyloides venezuelensis*) は、経皮侵入性寄生線虫「糞線虫」の一種であり、感染型幼虫の宿主への経皮感染後、血流を介して3日目に肺、気道から咽頭を経て4日目に最終寄生部位である小腸に到達し、7日目に成熟して産卵する¹。この広範囲にわたる速やかな幼虫の体内移行に対抗するため、哺乳動物は免疫機構を発達させてきた。*S. venezuelensis*の再感染時には、移行経路の肺で、好酸球増加により幼虫移行が阻害される²。しかし、初感染後の幼虫移行への応答や移行阻害のメカニズムについては不明な点が多い。

Receptor for advanced glycation end product (RAGE) は終末糖化産物の受容体として同定されたパターン認識受容体で、哺乳動物の皮膚や肺組織の平滑筋細胞、内皮細胞に強発現する。RAGEは病原体侵入に伴い放出されるS100蛋白などのダメージ関連分子パターン (damage-associated molecular patterns: DAMPs) を認識することで、サイトカインや接着分子の発現が亢進され炎症反応を引き起こす³。寄生線虫幼虫の組織侵入後にDAMPsが発現上昇し、免疫応答を引き起こすという報告があり⁴、移行組織局所における宿主応答にはRAGE

が関与することが予想される。本研究ではRAGE欠損マウス (RAGE^{-/-}) を用いて、*S. venezuelensis*の幼虫移行組織の病理学的観察と移行虫体数の計測を行い、幼虫体内移行におけるRAGEの役割を調べた。

対象と方法

1. 実験動物

C57BL/6マウスの野生型 (Wt) とRAGE欠損型 (RAGE^{-/-}) を、それぞれ15匹ずつ実験に用いた。

2. 寄生虫感染

マウス1匹あたり、*S. venezuelensis*感染型幼虫 (iL3) 5,000隻を皮下投与し、感染3日後に肺を回収した。回収直後に臓器を1 mm²片に細断し、リン酸緩衝生理食塩水 (pH 7.2) 中に浸し37 °C 2時間で幼虫を遊出させ、バールマン法により回収した⁶。虫体数を実体顕微鏡下で計測した。さらに病理組織標本の作製のため、マウス1匹あたり、iL3 10,000隻を皮下投与し、感染2時間後に皮膚、3日後に肺、4日後に小腸を回収した。非感染マウスの臓器も同様に回収した。

Received 19 June 2019, accepted 23 July 2019

連絡先: 坪川大悟 (北里大学医学部寄生虫学・熱帯医学)

〒252-0374 神奈川県相模原市南区北里1-15-1

E-mail: dtsubo@med.kitasato-u.ac.jp

3. 病理組織化学的検討

回収した組織を10%ホルマリンリン酸緩衝液 (pH 7.4) 中で固定し, H&E (hematoxylin-eosin) 染色により, 虫体周囲の組織を病理学的に観察した。

4. 統計学的解析

虫体数の評価はスチューデントのt検定により $P < 0.05$ を有意とした。

結 果

1. 幼虫移行組織の病理学的検討

幼虫の移行経路である皮膚, 肺, 小腸について虫体

周囲を中心に病理組織学的検討を行った。Wtの皮下組織で確認された虫体周囲の細胞浸潤が, RAGE^{-/-}では抑制される所見が得られた (図1A)。肺では肺胞の破壊と顕著な出血がみられ (図1B), 小腸については柔毛の萎縮がみられたが (図1C), WtとRAGE^{-/-}の間には差は認められなかった。

2. 皮膚から肺における移行幼虫数の検討

幼虫が肺に到達する感染3日目において, Wtと比較してRAGE^{-/-}では, 幼虫移行を表す肺の点状出血斑の大きさが増大した (図2A)。実際に肺への移行幼虫数については, Wt (429.8 ± 172.2 隻) と比較してRAGE^{-/-} (726.2 ± 182.5 隻) では有意に増加した (図2B)。

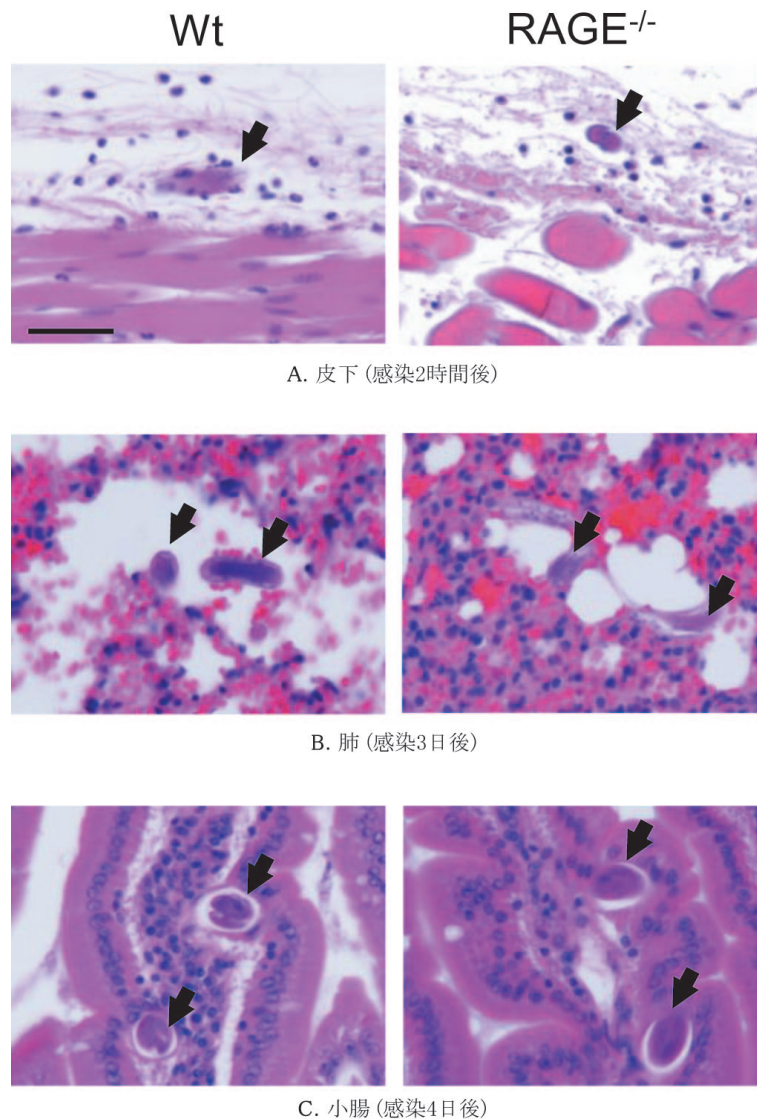


図1. *Strongyloides venezuelensis*幼虫が移行したマウス組織のH&E染色 (矢印: 虫体断面, スケール: 50 μ m)

野生型マウス (Wt) の皮下組織において顕著な細胞浸潤がみられるが, RAGE欠損マウス (RAGE^{-/-}) では抑制される。

考 察

RAGE^{-/-}マウスでは、皮下組織において *S. venezuelensis* 侵入後に起こる炎症性細胞浸潤が抑制され、皮膚から肺までの移行幼虫数が増加することがわかった。よって、RAGEは *S. venezuelensis* 幼虫に対して免疫応答を介し、体内移行を妨げる役割を果たしていることが強く示唆された。寄生虫はマクロファージ遊走阻止因子など様々な生理活性物質を放出しながら宿主免疫機構を攪乱していることが明らかとなってきた^{7,8}。実際に、外部寄生虫のマダニは吸血の際、RAGEを標的とするロンギスタチンを分泌して、サイトカインなどの炎症性物質の産生を下方制御している。*S. venezuelensis* では、RAGEに親和性を有するカルシウム結合蛋白のベネスタチンが単離されていることから^{10,11}、今後、RAGEを介する寄生生理機能を解析することで、寄生虫の宿主免疫からの回避機構が明らかになると考えら

れる。

謝辞: 本研究テーマを学生医学論文としてまとめるにあたり、坪川大悟助教(北里大学医学部寄生虫学・熱帯医学)の指導を受けたことを記し謝意を表する。

利益相反

本論文内容に関する著者の利益相反: なし

文 献

1. Viney M, Kikuchi T. *Strongyloides ratti* and *S. venezuelensis* - rodent models of *Strongyloides* infection. *Parasitology* 2017; 144: 285-94.
2. Yasuda K, Matsumoto M, Nakanishi K. Importance of Both Innate Immunity and Acquired Immunity for Rapid Expulsion of *S. venezuelensis*. *Front Immunol* 2014; 5: 118.
3. Cipollone F, Iezzi A, Fazia M, et al. The receptor RAGE as a progression factor amplifying arachidonate-dependent inflammatory and proteolytic response in human atherosclerotic plaques: role of glycemic control. *Circulation* 2003; 108: 1070-7.
4. Scalfone LK, Nel HJ, Gagliardo LF, et al. Participation of MyD88 and interleukin-33 as innate drivers of Th2 immunity to *Trichinella spiralis*. *Infect Immun* 2013; 81: 1354-63.
5. Myint KM, Yamamoto Y, Doi T, et al. RAGE control of diabetic nephropathy in a mouse model: effects of RAGE gene disruption and administration of low-molecular weight heparin. *Diabetes* 2006; 55: 2510-22.
6. Maruyama H, Yabu Y, Yoshida A, et al. A role of mast cell glycosaminoglycans for the immunological expulsion of intestinal nematode, *Strongyloides venezuelensis*. *J Immunol* 2000; 164: 3749-54.
7. Crowe J, Lumb FE, Harnett MM, et al. Parasite excretory-secretory products and their effects on metabolic syndrome. *Parasite Immunol* 2017; 39: e12420.
8. Maizels RM, Pearce EJ, Artis D, et al. Regulation of pathogenesis and immunity in helminth infections. *J Exp Med* 2009; 206: 2059-66.
9. Anisuzzaman, Hatta T, Miyoshi T, et al. Longistatin in tick saliva blocks advanced glycation end-product receptor activation. *J Clin Invest* 2014; 124: 4429-44.
10. Tsubokawa D, Hatta T, Kikuchi T, et al. Venestatin, a Ca⁺⁺-binding protein from the parasitic nematode *Strongyloides venezuelensis*, is involved in the larval migration process. *Int J Parasitol* 2017; 47: 501-9.
11. Tsubokawa D, Lee JM, Hatta T, et al. Characterization of the RAGE-binding protein, *Strongyloides venestatin*, produced by the silkworm-baculovirus expression system. *Infect Genet Evol* 2019; 75: 103964

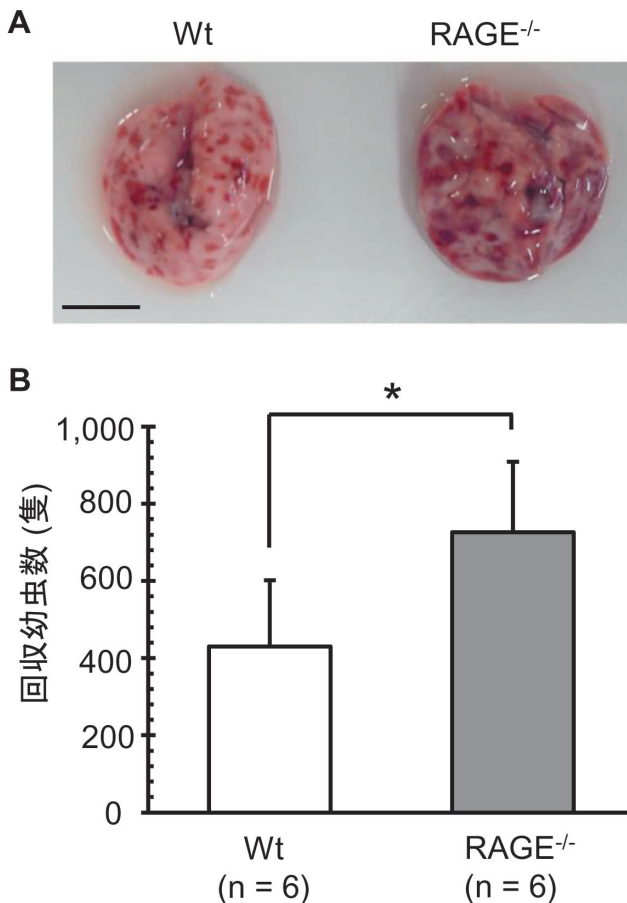


図2. *Strongyloides venezuelensis* 幼虫のマウス肺への移行

A. 感染3日後の肺マクロ所見 (スケール: 1 cm)
幼虫の移行を表す点状出血斑が、野生型マウス (Wt) に比べRAGE欠損マウス (RAGE^{-/-}) で増大した。

B. 感染3日後の肺から回収された幼虫数 (平均値 ± SD [n = 6], *P < 0.05 vs. Wt)

Wtに比べ、RAGE^{-/-}の肺からの回収幼虫数が有意に増加した。