

分子寄生虫学入門

分子のアプローチが紐解く 生命現象

監修

北 潔

東京大学大学院医学系研究科

嘉糠洋陸

帯広畜産大学原虫病研究センター

第7回 ネズミに罹る寄生虫： マラリアに強いマウス、 弱いマウス

大野民生

名古屋大学大学院医学系研究科
附属医学教育研究支援センター実験動物部門

はじめに

今や動物実験施設の主役は、マウスやラットなどのネズミ（齧歯類）であるといっても過言ではない。他の実験動物種と比較して、その飼育頭数だけ見ても桁違いに多く、施設に出入りするスタッフや研究者数の比ではない。それらのネズミの大半は、SPF (specific pathogen free) という微生物学的に厳密な制御を受けた特殊な環境下で飼育されている。各施設ごとにSPFの基準（どの病原体をspecificとするか）に多少の違いはあるが、よほど厳格な管理を行っている施設でない限り、いまだにネズミの腸管内寄生線虫（きょうちゅう 蠕虫）や腸管内寄生原虫（鞭毛虫類）など数種類の寄生虫にお目にかかることがある。これらの寄生虫はヒトへの感染性がないうえ、ネズミへの病原性もきわめて低いまたはないため、施設利用者の関心は低い。しかし、動物実験施設の管理運営に携わる者からすると、ネズミの寄生虫は退治に時間と労力を要する厄介者である。その厄介者たちは、感染したネズミから体外に虫卵やシストとして排出され、それらをまた別のネズミが経口的に接種することで次の感染が成立するという、共通の生活環を持っている。ゆえに、いったん侵入してしまえば外界から完全に遮断された動物実験施設の環境の中でも暮らしていける。しかし、一部の寄生虫学者から反感をかうことを承知で個人的な嗜好を述べると、私には中間宿主となる動物を必要とせずに感染を拡大できる寄生虫は寄生虫らしくないように思えてならないのである。そこで、ここではネズミの中でもマウスを例に挙げて、我々が意識的にマウスに感染させなければ動物実験施設で生息できない寄生虫の話を取り上げてみる。

マウスにおける寄生虫感染モデルの方向性

そもそも、なぜ寄生虫などの病原体をマウスに感染させるのだろうか？ 多くの人が思い付く最も単純かつ明快な返事

は“ヒトでは感染実験ができないからその代わりとして使う”というものである。では、もし仮にヒトで感染実験ができればマウスで感染実験を行わないのであろうか？ 答えは間違いなく“No”である。今やマウスは感染症の領域では必須の解析ツールとなっており、その主な理由を表1にまとめてみた。感染症の病態は、感染した病原体の病原性だけでなく、年齢・栄養状態・免疫力などを含めた宿主側の感染に対する抵抗力などきわめてたくさんの因子が複合的に絡み合って形成されている。したがって、これらの因子を完全に統御することが困難なヒトのみを対象として研究を行っても、ある感染症の全体像を詳細に理解するには限りがある。一方、マウスでは、ヒトでは統一することが不可能な様々な因子を厳密に制御したうえで感染実験を行うことができるため、感染症に影響を与える様々な因子のうちのただ1つだけ（例えば特定の遺伝子など）を変えた場合の結果を的確に評価することができる。したがって、これらの結果を1つ1つ丁寧に紡ぎ合わせていけば、ある寄生虫による病態の全体像を分子レベルで把握でき、新たな予防法や治療法の開発に繋がる重要な知見が得られると期待される。したがって、この段落の冒頭の質問に対する回答の1つとして“ヒトではわからないことがマウスを使えばわかる”という部分を加えることが適切であると思われる。

今後は、まずマウスの寄生虫感染モデルにおいて感染の成立から病態形成に至る複雑な過程を説明する多元的な分子カスケードの雛形を構築し、その雛形をヒトの知見と比較することにより何処のカスケードがヒトとマウスで共通し何処が異なっているのかを解明することで、ヒトの寄生虫症の発症や病態機構の理解がより深められると考えられる。

ヒトのマラリア抵抗性遺伝子

多種多様な人体寄生虫の中で最も高名かつ邪悪なマラリア原虫を例に挙げて、もう少し具体的な話をしてみよう。マ

表1. 感染症研究における実験用マウスの利点

- ・哺乳類であることからヒトとの遺伝子や生物機能の相同性が高い。
- ・小型で飼育・繁殖が容易であり、飼育コストが比較的低い。
- ・様々な環境要因を厳密に統御することが可能であり、均一な条件下で感染実験ができる。
- ・近交系やコンジェニック系統など遺伝的に統御された系統が多数確立されている。
- ・発生工学的手法により特定の遺伝子を欠損または導入した遺伝子改変個体を作製できる。
- ・哺乳動物の中ではヒトに次いで詳細なゲノム解析がなされている。

表2. ヒトのマラリア抵抗性への関与が示唆されている遺伝子

遺伝子名	疾患名
赤血球異常	
α -, β -Globin	サラセミア症, 鎌型赤血球症
G6PD	G6PD 欠損症
SLC4A1 (Band3)	楕円赤血球症
DARC	ダフィー抗原欠損
その他	
TNF- α	
HLA-B, -DR	
ICAM-1	
NOS2	
CD36	

Fortin A, et al: Hum Mol Genet (2002) 20: 2469-2478 より改変。

マラリア原虫 (*Plasmodium* 属) の生活環はハマダラカと原虫固有の宿主 (脊椎動物) から成り立っている。原虫はハマダラカの吸血により宿主体内に侵入し、まず肝細胞内で増殖するが、この段階までは宿主病態には関与しない。その後、感染細胞を赤血球に移して激しく増殖し (図1A)、このときに発熱を始めとするマラリア特有の臨床症状を引き起こす。このマラリアは熱帯・亜熱帯地域を中心に年間約200万人の死者を出し、依然として人類に猛威を振るい続けている。では、ハマダラカの吸血により運悪くマラリア原虫を接種してしまった人はすべてマラリアに罹るのであろうか？また、その病態には個人差はないのであろうか？

西アフリカにはダフィー抗原という赤血球膜表面に発現するタンパク質を欠損している人々が多く暮らしている。ヒトの主なマラリア原虫4種のうち三日熱マラリア原虫 (*P. vivax*) は、まず赤血球表面のダフィー抗原に接着してから赤血球内に侵入する。したがって、ダフィー抗原を欠損している人々は、三日熱マラリア原虫が体内に侵入してもマラリア特有の病態を引き起こす赤血球のステージには移行しないので発症しない¹⁾。さらに、鎌型赤血球症、サラセミア症、G6PD欠損症などの先天性の赤血球異常症の患者はマラリア抵抗性を示

すことから、本来は生存に不利であるはずのこれら赤血球異常症の遺伝子がマラリア流行地では淘汰されず、それ以外の地域より高頻度に見られることが知られている^{2), 3)}。また、これ以外にも遺伝疫学的調査より TNF- α , HLA などの遺伝子多型とマラリア抵抗性との関連が報告されている^{2), 3)} (表2)。すなわち、仮に同じ種類のマラリア原虫を等量接種されたとしても、重篤な病態を呈する人からほとんど病態を呈さない人まで様々なのである。この病態の多様性を生み出す宿主の機構を明らかにすることは、マラリアに対する新たな予防法や治療法の開発のヒントにつながるはずである。しかし、ヒトでマラリア発症機構の詳細な解析を行うには限界があるため、マウスのお力を拝借することになる。

ネズミマラリア原虫感染モデル

マラリア原虫を使ったマウスの実験系について簡単に説明する。マウスと同じ齧歯目ネズミ亜科に分類されるアフリカの野生ネズミ (マウスとは別種) から複数のネズミマラリア原虫株が分離されており、これらはいずれもマウスへの感染性を有している。ネズミマラリア原虫もヒトマラリア原虫と同様の生活環を有しており、ハマダラカの吸血により侵入した原虫は、まず肝細胞内で増殖した後、感染細胞を赤血球に移して激しく増殖を繰り返す (図1B)。ただし、マウスを用いた多くの実験系では、マラリア原虫の感染による宿主病態の解析を目的としているため、臨床症状のない肝臓のステージを省いて、感染赤血球を直接マウスに接種する実験系を用いている。すなわち、蚊を飼育しなくとも感染したマウスの赤血球を凍結保存しておけば、いつでもマウスをマラリアに罹らせることができる。また、マラリア原虫は宿主特異性が高いため、ネズミマラリア原虫はヒトには絶対に感染しない。ちなみに、汎用されている主なネズミマラリア原虫には3種 (*P. chabaudi*, *P. yoelii*, *P. berghei*) あり、私は今までにこれらすべての原虫種について感染血の付着したシリンジを誤って指に刺したことがあるが、私は一度もマラリアに罹っていない。さらに、媒介するハマダラカがいない動物実験施設内であれば他のマウスに感染が広がることもない。すなわち、ネズミマラリア原虫の感染実験系は比較的手間がかからず安全性が高いことが利点である。そのうえ、ネズミマラリア原虫の生活環を構成するすべての生物 (原虫・蚊・マウス) のゲノム情報がすでに利用可能となっている。今後、ネズミマラリア原虫感染マウスはこれらのゲノム情報を基盤として様々な角度からヒトのマラリアの病態機構の解明や治療法・予防法の確立に貢献すると期待されている。

マウスのマラリア抵抗性遺伝子の解析

ヒトマラリア原虫はマウスには感染しないが、ネズミマラ

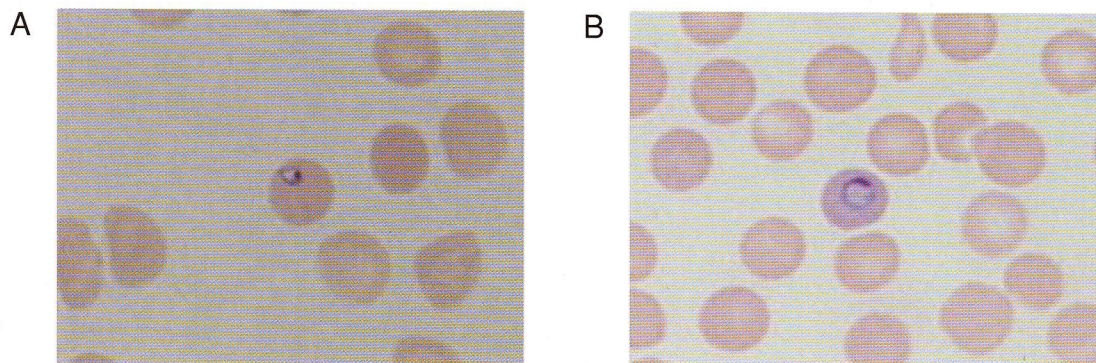


図1. 赤血球内に寄生するマラリア原虫（それぞれ写真中央部）

ギムザ染色により赤血球内に指輪状に青紫色に染まって見えるのがマラリア原虫。A: ヒトマラリア原虫 (*P. falciparum*)。B: ネズミマラリア原虫 (*P. berghei* ANKA)。写真提供: 国立国際医療センター研究所・河津信一郎博士, 同・矢野和彦博士。

マラリア原虫に感染したマウスは、ヒトマラリアに類似した病態を呈することがある。しかも、上述したヒト集団内に見られるマラリア抵抗性の差と同様に、マウス系統間には各種ネズミマラリア原虫感染に対してきわめて大きな抵抗性の差が存在していることが知られている^{3), 4)}(図2)。そこで、マウスのネズミマラリア原虫感染モデルを用いれば、ヒトでは困難な解析が可能で、マラリア原虫の感染から病態形成に至る全体像を分子レベルで把握するためのこの上ないモデルとなりうる³⁾。その一例を以下に簡単に紹介する。

ヒトに最も重篤な症状を引き起こす熱帯熱マラリア原虫 (*P. falciparum*) に感染すると、感染赤血球が脳などの毛細

血管に付着することにより脳を障害し、痙攣・昏睡などの致死的な合併症が起こる。この合併症は脳マラリアと呼ばれマラリア患者の主要な死亡原因となっている。マウスでは *P. berghei* ANKA というネズミマラリア原虫株を特定の感受性系統 (C57BL/6, CBA) に感染させた場合のみ、ヒトの脳マラリアに酷似した一連の病態を作り出すことができる。これまでに、脳マラリア感受性系統と抵抗性系統の交配群を用いた連鎖解析が行われ、発症に関与するいくつかの染色体領域が特定されている^{5)~7)}。残念ながら、まだその領域に存在する原因遺伝子が同定されるには至っていないが、今後この手法による解析が進めば、我々が想像もしなかった遺伝子や機

コラム: wormy mice (虫だらけのマウス)

ヨーロッパでは2種 (*Mus musculus musculus*, *M. m. domesticus*) の野生マウス (ハツカネズミ) が生息しており、両亜種の生息域は hybrid zone と呼ばれ両亜種の交雑群が生息する幅数十kmの地域を挟んで完全に分離されている。ドイツからオーストリアにまたがり南北に走る hybrid zone の東側には *M. m. musculus* が、西側には *M. m. domesticus* が分布し、hybrid zone を越えて両亜種間の交雑が進むことなく生息域が均衡に保たれている (図)。この hybrid zone で捕獲され遺伝的に両亜種の交雑種であるとされた野生マウスは、hybrid zone の外側で捕獲されたそれぞれの純粋な亜種と比較して腸管内寄生線虫や条虫の感染率が劇的に高いことが報告された^{1), 2)}。この現象より、両亜種はそれぞれ異なる寄生虫抵抗性機構を遺伝的に獲得しているのに対し、hybrid zone の野生マウスは交雑によりその機構が崩れて wormy (虫だらけ) となり生存力が低下することが、両亜種の分布域が均衡を保つ一因になっているという仮説が出された³⁾。最初の報告から20年近くが経過しても、その具体的な抵抗性機構が解明されたとの報告がないのは残念であるが、寄生虫が宿主の分布域調節の一端を担っているかもしれないという仮説は、寄生虫好きの私には依然として魅力的に思える。

文献

- 1) Sage RD, et al: Nature (1986) 324: 60-62
- 2) Moulia C, et al: J Evol Biol (1991) 4: 679-689
- 3) Moulia C, et al: Adv Parasitol (1996) 38: 120-167

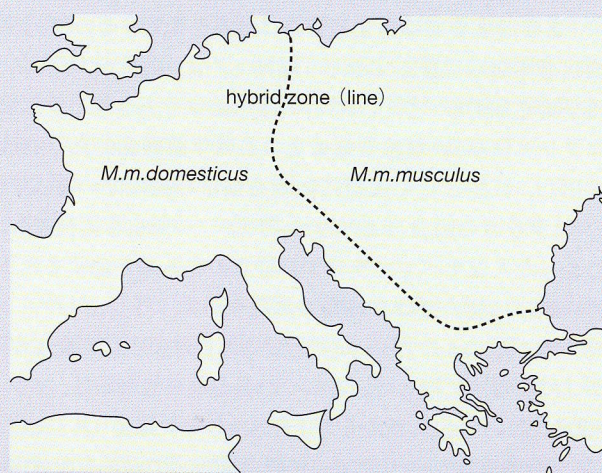


図. ヨーロッパにおける2種の野生ハツカネズミの分布域とその境界線 (hybrid zone)。Moulia C, et al: Adv Parasitol (1996) 38: 120-167 より改変。



図2. マラリアに強いマウスと弱いマウス

マウスでは特性の異なった様々な系統が樹立されており、このように毛色が各系統で異なっている。これと同様に、マラリア抵抗性も系統によって異なっている。この写真のマウスのうちで、どの系統が最もマラリア抵抗性だと思われますか？ ちなみに、毛色とマラリア抵抗性とはほとんど相関はないようです（右から順にDBA/2, NC/Jic, C57BL/6J, 129X1/SvJ, CBA/N）。

能が知られていなかった遺伝子が脳マラリアの発症に関与していることが示されるかもしれない。一方、脳マラリア感受性のC57BL/6系統の遺伝的背景を持つマウスで、発症への関与が推定される様々な遺伝子を欠損させて脳マラリアの病態を比較する解析も進められている。この方法により数々の遺伝子が脳マラリアの発症に関与することが判明し⁸⁾、これまでヒトおよびマウスの脳マラリアの発症にきわめて大きな役割を担うと考えられていたTNF- α よりもLT- α がマウスの脳マラリア発症により中心的な役割を果たしているなど興味深い事実も蓄積されつつある⁹⁾。また、脳マラリア感受性マウス系統の脳で発現量が特異的に変化する遺伝子群の解析^{10), 11)}も進められている。これら様々な解析により得られた知見を、バイオインフォマティクスを最大限活用して組み上げていくことにより、脳マラリア発症に至る宿主の遺伝子カスケードが構築されるであろう。さらに、その知見の一部をヒトの脳マラリア患者を対象とした大規模な調査で検証したり、マウスよりヒトに類似した所見を示すサルやマウスと比較することで、ヒトとマウスの脳マラリアの特殊性と共通性が分子レベルでより鮮明に説明できるようになると考えられる。

おわりに

今回紹介したネズミマラリア原虫以外にも、マウスに罹る寄生虫はたくさんある。さらに、マウス系統間で病態の程度や感染率などに明確な違いがある寄生虫は、ただマウスに罹るという寄生虫より研究対象として面白いはずである。しかし、寄生虫感染による宿主病態や感染機構について精力的に

解析がなされているのは、マラリア原虫以外にリーシュマニア原虫やトリパノソーマ原虫などごく一部の寄生原虫種に限られている。これら以外にも、マウスに罹ることは知られているがマウス系統間の抵抗性の差がまったく調べられていない寄生虫や、さらにはマウスに罹るかどうかさえ調べられていない寄生虫が多数存在しているはずであり、基礎的な調査研究の中から新たな寄生虫感染モデル系が見いだされてくるかもしれない。

寄生虫は寄生虫と宿主のせめぎ合いにより生じる宿主病態である。ゲノムプロジェクトが進化した今世紀以降は、寄生虫症を宿主と寄生虫のゲノム間相互作用という観点から分子レベルで理解することが求められている。マラリア原虫を始めとする単細胞の寄生虫（原虫類）よりもはるかに大きなゲノムを有している多細胞の寄生虫（蠕虫類）は、宿主とより複雑なせめぎ合いを演じているはずである。そこには我々がまだ知らない神秘的な現象が隠されているに違いない。特に寄生蠕虫類の中で最も患者数が多い住血吸虫（*Schistosoma*）についてはゲノム解析が進行しているうえ、マウスでの実験的感染も可能であることからたいへん興味深い。上述の視点からアプローチしている研究者がきわめて少ないのは残念である。寄生原虫に限らずマウスに罹る様々な寄生虫を駆使して、宿主と寄生虫のゲノム間相互作用を解明してみようという若手研究者が増えることを願う。

大野民生 (Tamio Oono)

名古屋大学大学院医学系研究科附属医学教育研究支援センター実験動物部門

E-mail: ohno@med.nagoya-u.ac.jp

1995年名古屋大学大学院農学研究科博士後期課程畜産学専攻修了、博士（農学）。長寿科学振興財団リサーチレジデント、浜松医科大学寄生虫学講座助手を経て、1999年より名古屋大学医学部附属動物実験施設助手。2004年より現所属、助手。2005年より助教授。研究テーマはマウスを用いた寄生虫感染に対する宿主抵抗性遺伝子の解析。マウスと寄生虫が好きな大学院生を募集。

文献

- 1) Tournamille C, et al: Nat Genet (1995) 10: 224-228
- 2) Weatherall DJ, et al: Genes Immun (2002) 3: 331-337
- 3) Fortin A, et al: Hum Mol Genet (2002) 20: 2469-2478
- 4) Hernandez-Valladares M, et al: Trends Parasitol (2005) 8: 352-355
- 5) Nagayasu E, et al: Infect Immun (2002) 70: 512-516
- 6) Bagot S, et al: Proc Natl Acad Sci USA (2002) 99: 9919-9923
- 7) Ohno T, et al: Immunogenetics (2004) 56: 675-678
- 8) Hunt NH, et al: Trends Immunol (2003) 24: 491-499
- 9) Engwerda CR, et al: J Exp Med (2002) 195: 1371-1377
- 10) Sexton AC, et al: J Infect Dis (2004) 189: 1245-1256
- 11) Delahaye NF, et al: J Infect Dis (2006) 193: 312-321