

ジエチルカルバマジン剤のミクロフィラリア殺虫機序

Microfilaricidal mechanism of diethylcarbamazine.

早崎峯夫 (東京農工大学農学部獣医学科)

Mineo Hayasaki

宿主による寄生虫殺虫機序の研究は、この10年間にかかりの発展をみせ、好中球、マクロファージを初めとする種々の細胞と、特異抗体や補体の関与により、寄生虫を殺虫へと追い込んでいくことが明らかになった。すなわち、このような機序は抗体依存性細胞性細胞障害作用Antibody - dependent cell - mediated cytotoxicity(ADCC)と呼ばれ、寄生虫感染時のみならず、腫瘍、細胞感染、移植などにおける生体の免疫学的異物排除機構において重要な役割を果しているとともに自己免疫性疾患でも、この機序が働いている [1, 16, 19]。

この機序に関与する細胞は、マクロファージ、好中球・好酸球などの顆粒球、それに血小板などで、これら免疫担当細胞はその細胞膜表面に種々の抗体のリセプターや補体のリセプターを有しており、標的異物に“取り付く”。このような抗体や補体を介した時の異物への結合力は強く、免疫担当細胞は結合力が強いほど細胞障害作用を強く発揮する。異物(寄生虫)に結合した免疫担当細胞の代謝は活発となり、細胞障害性の酸素代謝物や中性蛋白溶解酵素および殺菌性蛋白などを放出し、虫体体表にダメージを与え、殺虫へと導く [8]。

血液凝固因子の一つとしてしか認識されていなかった血小板が、白血球に類似したいろいろな免疫学的作用を発揮することが判ったのはそれほど古いことではない。さらに、寄生虫殺虫機序において重要な役割を果していることが判ったのは、つい最近のことである。血小板は、粘着・凝集反応を通じて血栓形成による止血作用のほか、セロトニンなどのとり込み・能動輸送、炭素、コラーゲンなどの貪食(真の貪食とは認められていない)、貯蔵顆粒からの成分放出(濃染顆粒:セロトニン、Caイオンなど、 α 顆粒:ライソゾーム酵素、陽イオン因子など)、プロスタグランジン(E₂, F₂ α)の合成などの細胞反応が知られており、炎症反応の場において血管透過性の亢進、白血球走化性の促進、殺菌作用などに関与していること [12, 14, 20] や血小板膜表面上のIgEリセプターの存在も証

連絡先: 早崎 峯夫

〒 183 東京都府中市幸町 3 - 5 - 8

明される [9, 15] にいたって、即時型 (I型) アレルギー反応への関与やIgE依存性の血小板活性化がin vitroで認められ、さらに近年になって、住血吸虫症の研究において寄生虫特異抗原や抗IgE抗体の存在のもとに、寄生虫特異IgE抗体と血小板により幼虫 (シストソミューラ) が殺滅される機序も明らかにされ [10]、しかも、この機序が殺虫機序の主体をなしている可能性さえ示唆されるようになった [19]。

一方、ジェチルカルバマジン (DEC) は、現在、サイポールという商品名で犬糸状虫寄生予防薬として繁用され、またスパトニンという名で緬山羊や馬の腰麻痺における幼虫駆虫剤として用いられている。他方、人医領域では、ヒト糸状虫特にオンコセルカ (回旋) 糸状虫症におけるマイクロフィラリア駆除剤として、今でも用いられている。このように、DECは35年の長きにわたって用いられてきている主要な抗糸状虫剤であるにもかかわらず、その寄生虫殺滅機序は未だ解明されていない。

DECの殺滅機序の解明は、寄生虫学的に極めて興味深いテーマで、いままでも多くの報告が重ねられており、薬剤による直接効果は、最近では否定されているが、特異抗体が重要な役割を果たすとする報告 [11]、リンパ細胞が重要な役割を果たすとする報告 [17]、DECが虫体表面にダメージを加え、ADCCにさらされやすくとする報告 [5] あるいはDECによる抗体非依存性の殺虫機序が存在し、特異抗体の添加で殺虫効果が増加するとする報告 [18] など、枚挙にいとまがない。

DECの生体内での態度をみると、DECの体内動態の特徴は、代謝・排泄がきわめて早いことである。すなわち、血中濃度は1時間でピークを示し、24時間後には検出されず、すべて尿へ排泄され糞便への排泄はみられない。しかも、DEC 5.5mg/kgを210日間連続投与しても組織への蓄積は認められないこと、などがあげられる。

一方、DECのmf殺滅には血小板が必要であるという間接的データがある。すなわち、胸腔などのような血小板フリーの場所では、DECを増加してもmf殺滅作用がみられない [6, 7]。

以上のことをふまえて、血小板に焦点を絞った研究が始まった [2, 3]。まず寄生虫に感染したことの無い健康な正常人にDECを一回投与したうえで3時間後に血小板リッチ血漿を採取し、in vitroにてヒトフィラリアのロア糸状虫loa loaのmfと培養するとmfの死滅がみられ、血小板が重要な役割を果たしていることが示唆され、しかも寄生虫特異抗体や補体の存在を必要としないことが示された。さらに、この場合、DECは2日後には血清中から検出されないにもかかわらず投与後15日に同一人から採取した血小板リッチ血漿を用いてもmfの殺滅がみられ、DECは血小板を活性化することが推測された。一方、この正常人から、血小板を分離した後の顆粒球、白血球を大量に混入している血漿を採取しmfと培養してもmf殺滅はみられず、顆粒球はDECによるmf殺滅機序に関与していないことが示唆された。

これらのことを踏まえて、以後の実験はすべて無処置正常人の血小板を用いて行われている。すなわち、DECによるmf殺滅は、無処置正常人血小板とマレー糸状虫Brugia malayiのmfのみの浮遊液にDECを添加しただけのin vitro実験でも確認することができた。しかも、このmf殺滅能はDEC添加量を増加すると、添加量依存性に上昇する。しかし、この反応系に正常人新鮮血清を加えてもこの

殺滅能が特に増強するという事はなかったことから、補体の関与は再び否定された。次に、オンコセルカ（回旋）糸状虫 *Onchocerca volvulus* の mf を用いた *in vitro* 実験では、DEC と血小板のみの mf 殺滅率よりも、それらに成虫の代謝・排泄（ES）抗原を添加した時の方がさらに殺滅効果が強まる事が明らかになった。しかも、この場合添加量依存性に殺滅率の上昇がみられた。このことから、それまでの実験で mf 殺滅がみられていたのは生きた mf を用いているため培養中に mf から ES 抗原が放出されていたため殺滅機序がはたらいたものと考えられた。

そこで虫体 ES 抗原の存在が不可欠であることを証明するため、オンコセルカ糸状虫 ES 抗原特異モノクロナル抗体（Ab-1）から本 ES 抗原特異抗イディオ型モノクロナル抗体（Ab-2）を作製した。抗イディオ型抗体とは抗体の可変領域のみを認識できるタイプの抗体 [13] で、抗原と抗体（Ab-1）はカギとカギ穴の関係に例えられて説明されるが、逆にこのカギ穴を用いてカギを作ることが出来るように、抗体（Ab-1）の可変領域だけに対する抗体（Ab-2）を作ると、この Ab-2 は抗原と同じ活性を有することができる。つまり抗イディオ型抗体は、元の抗原とは物質的に全く無関係であるにも関わらず、その抗体の免疫学的活性は、抗原物質と同じ働きを示すという興味深い特性を持った抗体型である。この Ab-2 を ES 抗原の代わりに反応系に加えても、ミクロフィラリア殺滅現象が観察され、ES 抗原は重要な役割を果たしていることが証明された。Ab-2 もまた添加量依存性の mf 殺滅効果を示した。しかも、血小板と DEC と Ab-2 と mf の反応系に Ab-1 を添加すると、添加量依存性に殺滅率が減少することから Ab-2 がきわめて特異性の高い抗イディオ型抗体であることも証明された。さらに血小板膜上には ES 抗原リセプターが存在することもアフィニティクロマトグラフィー、SDS-PAGE autoradiography および flow cytometry により証明された。

この一連の研究では、さらにきわめて興味深い新事実も明らかにされた。つまり、血小板と DEC と ES 抗原の反応系に mf のみならず、住血吸虫 (*Schistosoma mansoni*) の幼虫（シストソミューラ schistosomula）を加えても殺滅できることが解った。つまり、血小板が DEC で活性化されるためには ES 抗原が必要であることから DEC による血小板の活性化は ES 抗原特異的であった。ところが、活性化された血小板は異虫種であるシストソミューラも殺滅できることから活性化血小板の寄生虫殺滅機序は虫種非特異的であった。血小板のこのような 2 段階的な細胞反応は、アレルギーの研究でも確認されている。すなわち、前述したように血小板は膜表面にある IgE リセプターを介してアレルギー反応に関係しているが、アレルギー反応において血小板が活性化されるためには、アレルゲン特異 IgE 抗体とアレルゲンの存在が必要であることが証明されている。ところがこのようにして活性化された血小板が、やはり mf やシストソミューラをも殺滅できることが *in vitro* 実験にて明らかにされている。これらのことから、血小板の免疫学的防御反応に果す役割の研究がすすむに連れて、今後ますます興味深い新知見が明らかにされていくことが期待される。

以上のように、DEC の殺虫機序は、フィラリア ES 抗原の存在のもとに、抗体や補体の関与することなく、DEC が血小板を活性化して、活性血小板が、直接、殺虫作用を及ぼすことが明らかとなった [2, 3]。

参考文献

- 1) Capron, A., Dessaint, J.P., Capron, M. : Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity against parasites. *Progr. Allergy*, 31, 234-267, 1982.
- 2) Cesbron, J.Y., Capron, A., Varagaftif, B., Lagarde, M., Pincemail, J., Braquet, P., Taelman, H. and Joseph, M. : Platelets mediate the action of diethylcarbamazine on microfilariae. *Nature*, 325, No.6104, 533-536, 1987.
- 3) Cesbron, J.Y. : Hayasaki, M., Joseph, M., Lutsch, C., Grzych, J.M. and Capron, A. : *Onchocerca volvulus* : Monoclonal anti-idiotypic antibody as antigen signal for the microfilaricidal cytotoxicity of diethylcarbamazine-treated platelets. *J. Immunol.* 141, 279-285, 1988.
- 4) Fleischman, J.B. and Davie, J.M. : Immunoglobulin : Allotypes and idiotypes. In *Fundamental immunology*. edit. by Paul, W.E., 205-219, Raven press, N.Y., 1984.
- 5) Gibson, D.W., Connor, D.H., Brown, H.L., Fuglsang, H., Anderson, J., Duke, B.O.L. and Buck, A.A. : Onchocercal dermatitis : Ultrastructural studies of microfilariae and host tissues, before and after treatment with diethylcarbamazine (hetrazan). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 25, 74-87, 1976.
- 6) Hawking, F. *Adv. Pharmac. Chemother.* 16, 129-194(1979)
- 7) Hawking, F., Sewell, P. and Thurston, J.P. : The mode of action of Hetrazan on filarial worms. *Brit. J. Pharmacol.*, 5, 217-238, 1950.
- 8) 早崎峯夫 : 寄生虫と免疫。比較臨床血液研究会誌、1, 24-28, 1988.
- 9) Joseph, M., Ameisen, J.C., Kusnierz, J.P., Pacre, V., Capron, M. and Capron, A. : Participation de recepteur pour l'IgE à la toxicité des plaquettes sanguines contre les schistosomes. *C.R. Acad. Sci., Paris* 298, 55-60, 1984.
- 10) Joseph, M., Auriault, C., Capron, A., Vorng, H. and Viens, P. : A new function for platelets : IgE-dependent killing of schistosomes. *Nature*, 303, No.5920, 810-812, 1983.
- 11) 小林準三、松田肇、藤田紘一郎、酒井健夫、篠田恵子 : コトナラットフィラリア *Litomosoides carinii* に対する Diethylcarbamazine citrate の作用機構に関する実験。寄生虫誌、18, 563-574, 1969.
- 12) 水島裕 : 炎症における活性酸素とSOD。感染・炎症・免疫、18-2, 89-98, 1988.
- 13) 坂戸信夫 : イディオタイプ・ネットワーク説と免疫応答。代謝、15、臨時増刊号(免疫・78), 1371-1379, 1978.
- 14) 里内清 : 血小板活性化因子 (platelet activating factor, PAF) の発見とその免疫学的意義。

- 感染・炎症・免疫、12, 331-342, 1982.
- 15) Siegelberg, H.L. : Structure and function of Fc receptors for IgE on lymphocytes, monocytes and macrophages. Adv. in Immunol., 35, 61-88, 1984.
 - 16) Slezak, S., Symer, D.S. and Shin, H.S. : Platelet-mediated cytotoxicity. Role of antibody and C₃ and localization of the cytotoxic system in membranes. J. Exp. Med., 166, 489-505, 1987.
 - 17) 田中寛、江下優樹、高岡正敏 : コトンラット糸状虫における抗リンパ球血清のジエチルカルバマジンの効果への作用。寄生虫誌、23 増刊号、36, 1974.
 - 18) 寺島賢二郎、堀井洋一郎、中西弘有、藤田紘一郎 : DECによる抗体非依存性の *Brugia pahangi* ミクロフィラリア排除。第57回日本寄生虫学会大会講演要旨、49, 1988.
 - 19) Wakelin, D. : Immunity to parasites. How animals control parasite. Edward Arnold(Publishers)Ltd, London, 1984.
 20. 山中学 : 炎症における血小板。感染・炎症・免疫、12, 197-204, 1982.