

審査の結果の要旨

氏名 森本 彩子

内臓型リーシュマニア症 (VL) はリーシュマニア原虫の感染によって引き起こされる感染症であり、年間 30 万人の患者と 2 万人の死亡をもたらすと推計されている。VL の主たる症状は発熱、体重減少、肝脾腫ならびに貧血である。VL における貧血は患者のほぼ全てで見られるが、その病態メカニズムについて詳細は分かっていない。申請者は本症状を呈する動物モデルの確立を目指し、そのモデルを用いて貧血の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

1 章では貧血を呈する動物モデルの確立を行った。結果として *Leishmania donovani* 感染 24 週のマウスで貧血の症状を確認することができたが、この成果は世界で初めてマウスで *L. donovani* の感染による貧血を再現したものである。血液学的ならびに生化学的解析などから、この貧血は赤血球産生の低下よりも破壊の亢進に原因があることが示唆された。破壊の亢進について原因をさぐると、感染マウスでは脾臓においてマクロファージ (Mφ) による赤血球の貪食が亢進していることが明らかとなった。血球貪食 Mφ の特徴として原虫に重度に感染した細胞であることや、T 細胞が機能的に欠失したマウスにおいては血球貪食が観察されないことから、Mφ に過度な血球貪食を引き起こすメカニズムとして原虫感染による内側からの刺激と T 細胞等による外側からの刺激による Mφ の過剰な活性化があると考えられた。

2 章では、1 章で見られた血球貪食のより詳細なメカニズムを明らかにするため、in vitro において感染誘導性血球貪食モデルの確立を行った。Mφ 細胞株 Raw264.7 細胞に *L. donovani* を感染させたところ、感染単独で赤血球貪食を誘導することができた。この感染誘導性の貪食亢進は赤血球において見られる一方、ラテックスビーズの取り込みは亢進しないことから、非特異的な貪食亢進ではなく赤血球により選択的なものであることが示唆された。次に、感染 Mφ の RNAseq を行い、赤血球貪食に関わる因子の探索を試みた。これまでに家族性血球貪食症候群に関わると報告のある因子や、貪食に関わる因子などを網羅的に解析したが、顕著な遺伝子群の同定には至らなかった。そのため、赤血球貪食の抑制に関わると近年明らかになってきた SIRPα に着目して発現を解析し

たところ、感染により mRNA の発現に変化がなかった一方、タンパク質の発現が低下することが明らかとなった。この分子の発現を *in vivo* の血球貪食 Mφ においても解析したところ、*in vitro* の結果同様に発現が低下していることがわかった。以上のことから、Mφ は原虫感染により SIRPα のタンパク質発現低下を引き起こされ、結果として血球貪食が亢進することが示唆された。

これらの結果は原虫感染による赤血球貪食亢進の分子メカニズムを明らかにする一方、この現象が原虫の感染に寄与するののかという新たな疑問をもたらす。3 章では感染 Mφ による赤血球貪食が原虫の生存に与える影響について解析を行った。感染マウス脾臓では、Mφ の食胞内に正常な赤血球が観察される一方、変性した赤血球や、赤血球の分解物と見られる黒褐色の色素が確認された。これら色素について解析を行ったところ、マラリア色素に性状が近いものであり、貪食された赤血球のヘモグロビンが代謝されていることが示唆された。次に、*in vitro* において原虫感染 Mφ に対して人工的に赤血球貪食を誘導したところ、赤血球を加えていない Mφ 内での原虫数に比べて有意に高い原虫数を示した。これら赤血球貪食した原虫感染 Mφ ではヘモグロビン分解酵素である *hmox1* の mRNA 発現が上がっており、*in vivo* 同様にヘモグロビン分解が誘導されることを示唆する結果となった。HMOX1 によるヘモグロビンの分解産物としてヘムと一酸化炭素があるが、ヘム合成酵素を欠く原虫にとってヘムは生存に必要であり、また一酸化炭素は Mφ の殺原虫能を抑えることが考えられる。このように、原虫感染が Mφ による赤血球貪食を誘導することは、原虫の生存に有利に働くことが明らかとなった。

以上より、申請者はリーシュマニア原虫感染による血球貪食亢進のメカニズムについて様々な面を明らかにした。本研究のように原虫感染が Mφ による自己認識能力の低下を引き起こし、結果として原虫の生存に有利な状況を作っていることが病態とも関連していることは非常に有意義な発見である。病原体感染による病態発症には、得てして複雑な免疫応答が関与している。本研究の成果は、感染症における免疫病態研究としての重要性を持つだけでなく、未だにメカニズムの理解が不十分である二次性血球貪食症候群の病態にも応用が期待され、学術上応用上寄与するところが少なくない。これらはヒト疾患の動物モデル確立という、農学生命科学・応用動物科学分野ならではの成果であり、よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。