

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 大間知 聡子

内臓型リーシュマニア症 (VL) は *Leishmania donovani* や *L. infantum* によって引き起こされる原虫感染症である。VL の主徴の一つに脾腫が挙げられるが、脾臓は免疫応答を担う細胞が多数存在する二次リンパ器官であるとともに、VL においてはリーシュマニア原虫の主要な増殖の場である。本症における複雑な病態形成機序の一端を明らかにするため、本研究は脾腫形成機序における B 細胞の関与を明らかにすることを目的とした。

第 1 章では、血中免疫グロブリン濃度を指標として、VL 患者において抗体産生細胞（形質細胞）の強い活性化が起きていることを示すため、バングラデシュの VL 患者および健常人の血漿、ブラジルの VL 患者および健常人の血清を用いて、IgG、IgM、IgA の濃度を ELISA 法によって測定した。両地域ともに VL 患者において IgG 濃度が健常人に比べて有意に高く、バングラデシュで 91%、ブラジルで 75%の患者が健常人の平均+3SD 以上の高い値を示した。IgM 濃度については、両地域とも患者と健常人で有意差がなく、IgA 濃度については、両地域とも患者より健常人の方が有意に高かった。VL 患者において血中 IgG 濃度の著しい高値が示されたことから、VL において IgG 産生細胞が強く活性化されることが示唆された。

第 2 章では、実験動物モデルにおいて B 細胞や形質細胞の増加が脾腫形成に寄与することを示すことを目的に解析を行った。*L. donovani* を BALB/cA マウスに尾静脈より 1×10^7 接種し、感染 12 週後と 24 週後に剖検した。血清中の IgM、IgG、IgA 濃度は全てのクラスで増加したが、IgG が最も顕著に増加し、VL 患者で見られた IgG を主成分とする高免疫グロブリン血症がマウスにおいても示された。脾臓重量は顕著に増加した。脾臓切片の HE 染色像から、白脾髄領域・赤脾髄領域ともに顕著な拡大が観察された。白脾髄においてはリンパ球様の細胞の増加が見られ、赤脾髄においては原虫貪食マクロファージの増加が見られた。また、脾臓切片における免疫染色により IgG 産生形質細胞を検出したところ、非感染時にはほとんど見られないのに対し、感染マウスにおいては T 細胞領域に隣接した赤脾髄領域にそれらの細胞の領域が観察された。さらに、フローサイトメトリーによる解析から、感染後に総脾細胞数が増加し、また、B 細胞（CD19 陽性細胞）数が顕著に増加する

ことを示した。以上の結果から、*L. donovani* 感染マウスにおいて B 細胞系列の細胞の増加が脾腫に寄与することが明らかとなった。

第 3 章では、B 細胞の成熟分化に関わる因子として知られる一方で、B 細胞の活性化の異常に起因する疾患との関連が示唆されている BAFF (B-cell activating factor belonging to the TNF family) に着目した。まず、VL 患者血清中における BAFF 濃度の上昇を示し、さらに、BAFF 欠損マウスを作製し、*L. donovani* 感染マウスの脾腫形成における BAFF の関与を示すことを目的とした。バングラデシュとブラジルの VL 患者と健常人における血清あるいは血漿中の BAFF 濃度を ELISA 法により測定したところ、両地域とも VL 患者において健常人と比べて有意に高い値を示したことから、VL への BAFF の関与が示唆された。次に、マウスに感染実験を行い、血清 BAFF 濃度を測定したところ、血清 BAFF 濃度は感染後に顕著に増加した。そこで、BAFF の脾腫への影響を調べるため、BAFF ノックアウトマウス (KO マウス) を作製し、感染実験を行った。感染 24 週後の脾臓重量は野生型マウスに比べて KO マウスで有意に低かった。また、フローサイトメトリーによる解析から、野生型マウスで見られる脾細胞における B 細胞 (CD19 陽性細胞) 数の増加が KO マウスでは見られなかった。また、脾臓切片の免疫染色像からも、B 細胞 (B220 陽性細胞) や形質細胞 (CD138 陽性細胞) の増加は KO マウスでは見られなかった。IgG 濃度の顕著な増加も KO マウスでは見られなかった。以上の結果から、BAFF が VL の脾腫形成における B 細胞系列の細胞の増加を引き起こす主要な因子であることが明らかになった。尚、原虫の主要な増殖の場である脾臓について押捺標本における原虫数の測定を行ったところ、KO マウスでは野生型マウスと比べて同程度の原虫数を示したことから、BAFF は原虫数の増加を介してではなく、B 細胞系列の細胞数増加により脾腫を促進させていると考えられる。

本研究により、VL で見られる高免疫グロブリン血症は高 IgG 血症であること、また血清中に有意な BAFF 濃度の上昇が認められることが明らかになり、実験動物モデルを用いた解析から、B 細胞系列の細胞の増加が脾腫形成の主要な要因であること、また、BAFF がその増加を引き起こす主要な因子であることが明らかになった。同様の機序が VL 患者の脾腫形成においても起きていることが強く示唆された。さらに、本研究の成果から、宿主免疫系の分子を標的にして症状を緩和することが可能であることが示唆された。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。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。