

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 山 越 祥 子

Plasmodium 属原虫は哺乳類、鳥類、爬虫類など多様な脊椎動物を宿主とする寄生原虫であり、宿主にマラリアを発症させる。*Plasmodium* 属原虫の脊椎動物内の発育には肝細胞で増殖する肝内期と赤血球内で増殖する赤内期の2つの発育期がある。マラリア症状が現れるのは赤内期であり、原虫の増殖及び赤血球の破壊に伴う原虫血症や貧血、発熱等が主徴となる。ヒトを固有の宿主とする *Plasmodium* 属原虫は4種類あり、ヒトマラリアを発症させる。特に *P. falciparum* による熱帯熱マラリアはしばしば重症化し、致死性である。しかし、例えば昏睡、意識障害がみられる cerebral malaria は赤内期原虫の増殖に伴う赤血球の破壊だけでは説明困難であり、その発症機序には未だ不明な点が多い。本研究ではネズミマラリア原虫の一種である *P. berghei* 感染によるネズミマラリアの重症化機序の一端を明らかにすることを目的とした。

第1章では *P. berghei* ANKA 株感染赤血球 1×10^6 個を腹腔内接種することにより2系統の近交系(C57BL/6J、BALB/cA)マウスに致死的なマラリアを発症させ、血液検査、血液生化学検査、行動評価及び剖検を行った。感染 C57BL/6J 及び BALB/cA マウスにおいて、これまで報告のある原虫血症や貧血に加え、脾腫、肝臓・胆嚢傷害が共通して認められた。感染3日目より両系統マウス共に末梢血中に感染赤血球が認められ、感染6日目には感染赤血球率は約40%となった。C57BL/6J マウスは感染約7日目に、BALB/cA マウスは感染約8日目に死亡した。しかし、C57BL/6J マウスでのみ体重減少、意識障害や運動障害、さらに呼吸不全及び副腎や皮膚での異常出血など重篤な症状がみられる事を明らかにした。

第2章では *P. berghei* 感染 C57BL/6J マウスにおいて見られた意識障害の発症機序の一端を明らかにするため解析を行った。病理組織学的には C57BL/6J マウスにおいても BALB/cA マウスにおいてと同様、マラリアピグメントの血管内皮細胞への沈着が認められた以外、顕著な所見は認められなかった。感染6日目に Evans blue 溶液を静脈内投与し、1時間後心臓左心室より PBS により血液還流を行ったところ、C57BL/6J マウスにおいてのみ脳実質への色素浸出が示された。IgG に対する抗体を用いた免疫組織化学的解析では、大脳皮質の血管周囲実質に陽性反応が認められ、*P. berghei* 感染末期の大脳皮質領域では血管透過性が亢進し、IgG を含む血漿成分が脳実質へ浸出する事が示された。これらの結果から、感染 C57BL/6J マウスにおいて血液脳関門(Blood-brain barrier; BBB)の破綻が起こり、血漿成分の脳実質への浸出により脳浮腫が起こり、意識障害の一助を担っていることが考えられた。

第3章では *P. berghei* 感染 C57BL/6J マウスにおいて見られた呼吸不全の発症機序の一端を明らかにするため解析を行った。病理組織学的には C57BL/6J、BALB/cA マウスともに感染マウス肺では肺胞壁の肥厚が認められ、肺胞壁毛細血管内皮細胞へのマラリアピグメントの沈着が観察された。また、一部の肺胞腔内に液体成分の浸出像が観察された。感染6日目に Evans blue 溶液を静脈内投与し、1時間後心臓右心室より PBS により血液還流を行ったところ、

C57BL/6J マウスにおいてのみ肺全体が濃青色を呈した。すなわち、肺血管からの顕著な色素浸出が示され、肺胞血管の透過性が亢進している事が示された。これらの結果から、感染末期の C57BL/6J マウスの肺では肺胞中隔及び腔内への血漿成分の浸出により肺浮腫がおき、呼吸不全発症の一助を担っていることが考えられた。

マラリア原虫感染により C57BL/6J マウスの脳および肺において血管透過性が著しく亢進していることが明らかとなったため、第4章では妊娠期に特異的に形成され、胎仔の発育に重要な役割を担う血管集合体である胎盤に着目して解析を行った。C57BL/6J マウスを交配し、交配翌日に膣栓を確認した日を gestation day 1(G1)とした。G13に *P. berghei* ANKA 株感染赤血球 1×10^7 個を腹腔内接種したところ、G18 では胎仔は全頭死亡していた。胎仔への先天感染は認められなかった。病理学組織学的解析では、感染母体の胎盤では junctional zone が labyrinth zone に異常に貫入し、また junctional zone にマラリアピグメントの沈着が認められた。さらに junctional zone では細胞増殖像も多く観察された。母体血液と胎仔血液を隔てる胎盤関門を構成している syncytiotrophoblast cell に特異的に発現する syncytin に対する抗体を用いた免疫組織化学的解析により感染母体胎盤では、syncytiotrophoblast cell の減少が認められ、さらに cytotrophoblast cell の減少、および maternal blood space の拡張が示された。胎盤関門を構成している cytotrophoblast cell 及び syncytiotrophoblast cell の減少は母体マウスの血流の異常を起こし、胎仔死に深く関わると考えられた。

本研究により、ネズミマラリア原虫感染によっておこるいくつかの重症症状が明らかとなり、さらに血管透過性の変化がこれらの病態形成の一助を担っている事が示唆された。本研究はマラリアにおける重症症状の発症機序解明に大きく貢献すると考えられる。従って、審査委員一同は、当論文内容が博士(農学)を授与するに値する内容であると判断した。