

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 イゴーリ カタンバター
Igori Khatanbaatar

リーシュマニア症 (leishmaniasis) は *Leishmania* 属原虫によって引き起こされる昆虫 (サシチョウバエ) 媒介性の人獣共通感染症で、WHO によると現在世界 88 か国に 1200 万人もの患者がいる。リーシュマニア症は臨床症状から皮膚型、皮膚粘膜型、および内臓型に大別される。内臓型リーシュマニア症 (visceral leishmaniasis, VL) は最も重症型で、脾臓、肝臓、および骨髄で原虫が増殖し、肝脾腫、発熱、貧血を引き起こし、適切な治療が施されなければ死に至る重篤な感染症である。インド亜大陸、東アフリカおよびブラジルが高度浸淫地域であり、世界の内臓型リーシュマニア症患者の 90%以上がこの地域に集中する。近年、これら高度浸淫地域に限らずヨーロッパ各国でも Human Immunodeficiency Virus (HIV) の共感染による肝脾腫や発熱を伴わない非定型的 VL 症例が多数報告されている。しかし、免疫不全者あるいは免疫不全動物におけるリーシュマニア症の病態はほとんど明らかにされていない。

BALB/c マウスは VL の原因原虫である *L. donovani* に対して感受性があり、感染により肝臓、脾臓における原虫の増殖を許し、著しい肝脾腫を呈するが、C57BL/6 マウスは抵抗性を示し原虫は一過性の増殖の後排除される。recombination-activating gene 2 (RAG2 遺伝子) は、免疫グロブリン遺伝子および T 細胞レセプター (TCR) 遺伝子の遺伝子再構成に重要な役割を演ずる。このため RAG2 遺伝子ノックアウトマウスは機能的な抗原レセプター、すなわち免疫グロブリンおよび TCR を欠失している。本研究では感受性である BALB/c マウスを遺伝的背景にもつ RAG2 ノックアウト (RAG2 KO) マウスを用い、抗原特異的免疫機構すなわち獲得性免疫が作動しない免疫不全下における VL 病態発生機序の一端を明らかにすることを目的としている。

第一章では BALB/c マウスに対して強い病原性を示す *L. donovani* D10 株 (MHOM/NP/03/D10, 長崎大学熱帯医学研究所より分与) 原虫を用い、BALB/c マウスおよび RAG2KO マウスに感染実験を行った。脾臓、肝臓における感染原虫数を LDU (Leishman Donovan unit; 宿主有核細胞 1,000 個あたりの原虫数) を指標に評価した結果、BALB/c マウスおよび RAG2KO マウス何れも経時的に増加し (感染 12 週では脾臓でそれぞれ 740 ± 245 および $1,034 \pm 126$ 、肝臓で 667 ± 164 および 806 ± 160)、両マウス間で有意な違いは認められなかった。一方、12 週目において BALB/c マウスにおいては顕著な脾腫が認められたが RAG2KO マウスでは顕著な脾腫は認められなかった。これらの結果は感受性マウスである BALB/c マウス

においては機能的な T あるいは B 細胞は原虫の増殖抑制には大きな影響を及ぼさないが、脾腫の形成に重要な役割を演ずることを示唆している。

第二章では BALB/c マウスおよび RAG2KO マウスの肝臓および脾臓を用い、免疫組織学的に免疫担当細胞 (CD3 ϵ ⁺細胞、B220⁺細胞、MRP8⁺細胞、MRP14⁺細胞) の解析を行った。機能的 T および B 細胞を欠く RAG2KO マウスの肝臓、脾臓においても炎症性マクロファージと考えられる MRP8⁺細胞、および MRP14⁺細胞の増加が観察され、機能的な T あるいは B 細胞に非依存的な炎症細胞浸潤が起こることが示された。一方、免疫学的に正常な BALB/c マウス脾臓においては CD3 ϵ ⁺細胞 (T 細胞)、B220⁺細胞 (B 細胞)、MRP8⁺細胞、および MRP14⁺細胞の何れもが著しく増加しており、肝臓においてもこれらの細胞による集簇像が多数観察された。これらの結果は VL の顕著な症状である肝脾腫は主として T あるいは B 細胞依存的な病態であることを示唆している。この所見は HIV-VL 共感染者において脾腫の発症率が低いとの報告と矛盾しない。

第三章では BALB/c マウスおよび RAG2KO マウスの肝臓および脾臓における炎症性サイトカインの発現 (IFN- γ 、TNF- α 、IL4、IL10) を RT-PCR 法により解析した。BALB/c マウスにおいては何れのサイトカインの mRNA の発現も著しく増加し、サイトカインストームが起きていると考えられた。また、特に IL4、IL10 で顕著であり、Th2 タイプの免疫反応が優勢と考えられた。一方 RAG2KO マウスでは何れのサイトカインの増加も検出されなかった。リーシュマニア感染においてはこれらの炎症性サイトカインの産生細胞は T あるいは B 細胞であるか、又は T あるいは B 細胞依存的な産生機序が働いていると考えられた。

以上、本論文は、世界的に猛威を振るう原虫感染症である内臓型リーシュマニア症に関して、機能的 T 細胞および B 細胞を欠く RAG2KO マウスの病態を感受性マウスである Balb/c マウスの病態と比較することにより、1) 原虫の増殖抑制に機能的 T 細胞および B 細胞が関与していないこと、2) 一方で肝脾腫、炎症性細胞の集簇、およびサイトカインストームなどの病態は T 細胞あるいは B 細胞に依存していることを明らかにした。これらの結果は VL の病態が免疫病理学的機序によりもたらされることを示しており、VL の病態形成機序に新たな視点を提供することとどまらず VL の診断・治療法に貢献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) の学位論文として十分に値するものと認めた。