

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 片貝 祐子

---

マラリアは、世界で感染者数は年間約3億人、死者数は約200万人に上ると推定される重要な原虫感染症である。マラリア原虫は赤血球内で発育・増殖し、感染したヒトでは貧血・発熱・脾腫の三主徴が発現する。四種のヒトのマラリアのなかでも熱帯熱マラリアは脳性マラリア等重篤な合併症を併発し致死性を示すことが知られている。しかし、熱帯熱マラリアの病態形成機構については未だ不明な点が多い。熱帯熱マラリア原虫 *Plasmodium falciparum* は宿主特異性が強く、チンパンジーなど高等類人猿を除くとリスザル *Saimiri sciureus* 及びヨザル *Aotus trivirgatus* で実験感染が成立するにすぎない。本研究では、リスザルを用いて熱帯熱マラリア原虫感染による重症マラリアの病態の再現に初めて成功し、さらにそれを用いた薬剤・ワクチン in vivo 評価系を確立した。

### 第一章：熱帯熱マラリア原虫感染リスザルにおけるマラリア病態

リスザルに熱帯熱マラリア原虫を感染させて重症マラリアの病態発現について検討した。感染赤血球のドナーザルを設け、その感染赤血球  $1 \times 10^9$  個を別のリスザルに静脈内接種した。これらのサルでは高原虫血症の他、マラリア三徴である周期的な体温変動、貧血、脾腫、さらに重症マラリアの合併症である脳症状、重度の貧血、肺浮腫、痙攣、血色素尿症等が発現し、同様の方法で感染させた6頭中3頭が死亡した（他の3頭は瀕死と判定し麻酔死させ剖検に供した）。病理組織学的検索の結果、脳性マラリア患者の脳に見られる病理組織像と類似した輪状出血斑 (ring hemorrhage) が全頭の脳組織で確認された。このような出血像は他の臓器組織では認められなかった。一方、観察した全ての組織において感染赤血球の血管内皮細胞への接着像 (sequestration) が確認された。Sequestration は心筋、骨格筋、腎髄質等で高頻度に観察されたが脳では低頻度であった。以上の結果から、リスザルにヒトと同様の重症熱帯熱マラリアを再現できることが明らかとなった。また神経症状を現したサルの脳組織の解析により、sequestration よりもむしろ ring hemorrhage が脳性マラリアの発症に深く関与することが示唆

された。以上、熱帯熱マラリア原虫感染リスザルモデルが重症熱帯熱マラリアの実験動物モデルとなることが初めて示された。

## 第二章：薬剤の抗熱帯熱マラリア原虫効果 *in vivo* 評価系の確立

一章で作出された熱帯熱マラリア原虫感染リスザルを用いて、デキサメタゾン (Dx) の抗マラリア効果を検討した。3頭のリスザルに各々異なる量の Dx を5週にわたり計16回投与し、投与開始後7日目にドナーザルより採取された熱帯熱マラリア原虫感染赤血球を接種した。投与期間中末梢血コルチゾール濃度が低下し、活性化 T 細胞比が減少した。投与量に比例した赤血球感染率の低下、血液学的変化の軽減が認められ、脳症など重篤な症状を現わすことなく治癒した。以上、Dx が抗マラリア薬として有用であることが示され、熱帯熱マラリア原虫感染リスザルを用いることにより薬剤の原虫増殖抑制効果のみならず病態発現に対する効果の評価が可能であることが示された。

## 第三章：抗熱帯熱マラリア原虫ワクチン効果の *in vivo* 評価系の確立

一章で作出された熱帯熱マラリア原虫感染リスザルを用いて、熱帯熱マラリア原虫赤内型抗原 serine-repeat antigen (SERA) のワクチン効果を検定した。リスザルに SERA のリコンビナント蛋白 (SE47') をそれぞれ単独或いはアジュバントに懸濁して免疫し、ドナーザルより採取した感染赤血球を接種した。免疫した全頭で SE47' 特異抗体価の上昇が認められた。アジュバント懸濁免疫群では3頭中2頭が免疫期間中に死亡した。SE47' 単独免疫群では感染後抗体価は速やかに上昇し、対照群に比較して赤血球感染率は低値を示し、臨床症状も軽度のまま治癒した。以上、熱帯熱マラリア原虫感染リスザルを用いることによりワクチン候補物質の免疫原性、免疫方法及び病態抑制効果についての評価が可能であることが示された。

本研究により、熱帯熱マラリア原虫感染リスザルにヒトの重症マラリアと同様の病態が再現されることが明らかとなった。重症マラリアの *in vivo* 実験系はこれまで知られておらず、本実験系は脳性マラリア発症機序の解明に有用であると考えられる。また、熱帯熱マラリア原虫感染リスザルを用いた薬剤及びワクチンの熱帯熱マラリア病態に対する効果評価系が確立された。これは殺原虫効果のみならず病態発現を抑制する新規薬剤の開発に貢献すると期待される。以上、本研究によって確立された熱帯熱マラリア原虫感染リスザルモデルは重症マラリアの病態モデルとして病態発現機構の解明及び治療法の開発に大変有用と考えられる。よって、審査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。