

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 後藤 康之

様々な疾患における治療技術を開発する上で、それら病気の成り立ちを細胞レベル、分子レベルで明らかにしていくことは非常に重要であると考えられる。リーシュマニア症の病態形成には免疫応答が関与していると考えられているが、その免疫応答の詳しいメカニズムについてはいまだ多くの疑問が残されている。本研究では、宿主免疫応答の中でも特に自然免疫に注目し、皮膚型リーシュマニア症の病態形成における自然免疫の関与を明らかにすることを目的とした。このため機能的な T、B 細胞を欠損している recombination activating gene 2 遺伝子欠損マウス (RAG-2^{-/-}マウス) を用いて、皮膚病変形成における T、B 細胞非依存的な免疫応答の関与について検討した。また、マクロファージ走化性因子として知られる migration inhibitory factor-related protein (MRP) 8 および MRP14 に注目して、皮膚病変部に集簇したマクロファージによる MRP の発現について検討した。さらに、MRP と原虫の直接的な関与について明らかにするために、原虫への MRP の接着について検討を行った。

第一章では、皮膚型リーシュマニア症の病態形成に関わる自然免疫について病理組織学的に検討した。*Leishmania major* プロモスティゴートを BALB/c および RAG-2^{-/-}マウスに皮内接種した結果、両マウスともに皮膚病変の形成が観察された。皮膚病変部の長径を接種後毎週測定したところ、両マウスとも同様の病変拡大が確認された (接種4週目: BALB/c 7.2 mm, RAG-2^{-/-} 8.0 mm)。接種4週目の BALB/c および RAG-2^{-/-}マウスにみられた病変部において、細胞の集簇、特にマクロファージの集簇が顕著に観察された。以上の結果から、皮膚病変形成には T、B 細胞非依存的なマクロファージの集簇機構が関与すると示唆された。さらに、感染マウス病変部血管内に単球が観察されたことから、皮膚病変形成におけるマクロファージの集簇に T、B 細胞非依存的なマクロファージ走化性因子が役割を担っていると推察された。

第二章では、病変部マクロファージの性状について、MRP の発現を指標として検討した。ウエスタンブロッティングの結果、マウス病変部に MRP8 および MRP14 の発現が確認された。次に、病変部における MRP の発現を免疫組織化学により検討した結果、病変部に見られるマクロファージの多くが F4/80 陰性、MRP8 陽性、MRP14 陽性であった。これらの結果から、病変部に集簇したマクロファージは、F4/80 陽性の常在性マクロファージとは異なり MRP を産生する細胞群であることが明らかになった。MRP はマクロファージ走化性因子であることから、病変部において MRP が T、B 細胞非依存的なマクロファージの集簇機構に関与していると考えられた。

第三章では、病変部における MRP の原虫への接着について検討した。抗 MRP8 抗体および抗 MRP14 抗体を用いた免疫組織化学の結果、病変部に観察されるアマスティゴートが顕著な陽性反応を示した。病変部から精製したアマスティゴートを抗原としたウエスタンブロッティングの結果、アマスティゴート抗原として調整した試料中に MRP8 および MRP14 が存在することが確認された。以上のことから *in vivo* において MRP8 および MRP14 がアマスティゴートに接着していることが明らかになった。原虫に対する MRP14 の接着能を検討したところ、MRP14 は Zn^{2+} 存在下で両発育期の原虫に接着することが明らかになった。病変部においてマクロファージ走化性因子である MRP が原虫に接着していることから、原虫感染部位への T、B 細胞非依存的なマクロファージの集簇機構に MRP が関与していると考えられた。

本研究により、①皮膚型リーシュマニア症の皮膚病変形成に T、B 細胞非依存的なマクロファージの集簇機構が関与しており、②これら病変部に集簇したマクロファージは MRP8、14 を産生する細胞群であること、③病変部において原虫に MRP8、14 が接着していることが明らかになった。これらのことより、マクロファージ走化性因子を介した自然免疫が皮膚型リーシュマニア症の病態形成に寄与していると考えられた。本研究の知見は、リーシュマニア症の病態形成機序解明の上で重要な発見であるのみならず、自然免疫に関与する分子を標的とした新たな診断法、治療技術の開発に展望を示すものと考えられた。

従って、審査委員一同は、当論文内容が農学博士の資格を有するとの結論に達した。