

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 新垣 奈々

熱帯熱マラリアは熱帯熱マラリア原虫(*Plasmodium falciparum*)の感染により引き起こされ、原虫血症やマラリアの三大徴候である発熱、貧血、脾腫に加え、しばしば脳性マラリアをはじめとする様々な合併症を伴い重症化する。しかし、熱帯熱マラリアに見られる様々な症状および合併症の発症機序はほとんどわかっていない。本研究では、熱帯熱マラリアにおける急性期脾腫及び脳性マラリアの発症機序の一端を明らかにすることを目的とし、マウス、および熱帯熱マラリア原虫感染に感受性を有するリスザルを用いた動物実験を行ない(東京大学農学部動物実験委員会承認番号 1818S0013)、得られた知見につきマラリア患者由来試料を用いて検証した(東京大学農学部ヒトを対象とする研究倫理審査委員会承認番号 18-2、18-3)。

第一章では、急性期マラリア脾腫の形成に赤脾髄における MRP (migration inhibitory factor-related protein)8/14 陽性マクロファージ(MΦ)が深く関与することを明らかにした。まず致死経過を示す *P. berghei* 感染 BALB/cA マウスモデルにおいて、感染 3 日目に既に軽度の脾腫が認められた。病理組織学的解析により、赤脾髄に単核細胞の増加を認めた。これらの細胞は形態学的に MΦ であると考えられたため、様々な MΦ マーカーを標的抗原として免疫組織化学染色を行った。半定量的解析により、特に MRP8 および MRP14 陽性 MΦ に著しい増加が認められた。これらのマウスモデルで得られた知見をもとに、熱帯熱マラリアにおける急性期脾腫の病理像を解析するため、リスザルに対して *P. falciparum* を用い感染実験を行った。感染 5 日目に軽度の脾腫がみられ、病理組織学的にマウスモデルで観察されたと同様赤脾髄で単核系細胞の増加が認められた。抗ヒト MRP8/14 抗体(MAC387)を用いて免疫組織化学染色を行ったところ、陽性細胞が赤脾髄全体に増加していた。以上の動物実験で得られた知見をヒトで実証するため、熱帯熱マラリア患者から得られた脾臓試料を用いて MAC387 による免疫組織化学染色を行った。その結果、赤脾髄の広範囲に多数の陽性細胞が認められた。MRP8/14 は血漿に分泌されることが知られているため、タイ、マヒドン大学熱帯医学部附属病院で診察初日に得られたマラリア患者血漿を用いて血中 MRP8/14 濃度をサンドイッチ ELISA 法により測定した。その結果、熱帯熱マラリア患者の血中 MRP8/14 濃度は、対照群である三日熱マラリア患者や日本人健常者の MRP8/14 濃度と比べ高値を示し、中でも合併症を伴うグループは最も高値を示した。以上の結果から、主に MRP8/14 陽性 MΦ の増加が急性期のマラリア脾腫の形成に関与していることが示唆され、また、血中 MRP8/14 濃度は熱帯熱マラリアの重症度に関連していることが示唆された。

第二章では、脳性マラリアの発症に脳実質における血漿成分の浸出が関係していることを明らかにした。リスザルに *P. falciparum* ICH-1 株原虫新鮮感染赤血球 10^9 個を接種

し、実験的に昏睡を来す脳性マラリアを発症させた。脳の病理組織学的解析の結果、輪状出血像に加え、数個から十数個が漏出した小規模な赤血球漏出像が多くの血管周囲に認められた。輪状出血像では、血管外赤血球に感染赤血球がみられるのに対し、小規模な漏出像ではすべて非感染赤血球であった。赤血球の漏出は血漿成分の浸出を伴うと予想されたため、血漿成分としてフィブリノーゲンおよび IgG を指標に免疫組織化学的解析を行った結果、血管内腔のみならず血管壁や血管周囲に広く拡散した反応像が観察された。また、切片標本上漏出赤血球がみられない血管周囲にも陽性反応が認められた。透過型電子顕微鏡による解析の結果、血管内には感染赤血球が認められるものの漏出赤血球はすべて非感染赤血球であり、漏出した赤血球に隣接した血管の内皮細胞に変性が認められた。以上の、熱帯熱マラリアリスザルモデルで得られた知見をヒトで実証するため、タイ、マヒドン大学熱帯医学部附属病院にて脳性マラリアで死亡した患者より得られた脳を用いて解析を行った。その結果、リスザルと同様の数個から十数個程度の小規模な非感染赤血球の漏出像が認められ、フィブリノーゲンおよび IgG を指標とした免疫組織化学的解析においても、切片標本上赤血球が漏出した血管のみならず漏出赤血球がみられない血管の周囲にも陽性反応が認められた。以上の結果より内皮細胞の変性等、血液脳関門の破綻による血漿成分の脳実質への浸出が脳性マラリアの発症に深くかかわることが示唆された。

本研究により、急性マラリア脾腫や脳性マラリアの病態形成機序の一端が明らかとなり、人類の健康にとって最大の脅威の一つであるマラリアの発症機序の理解に大きく貢献したと考える。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。