

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 麻田 正仁

リーシュマニア症は世界的に分布する人獣共通感染症である。内臓型リーシュマニア症(VL)は kala-azar と呼ばれ、原虫が深部臓器に寄生するため重篤な症状を呈し治療が行われなければ致死性である。中でもアジアでは病原性の高い *L. donovani* による VL が猛威をふるっているが、*L. donovani* の性状及びそれがもたらすリーシュマニア症の病態はよく分かっていない。本論文は *L. donovani* が引き起こす病型に着目し、*L. donovani* によるリーシュマニア症の病態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 VL の病原原虫である *L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi* は遺伝的に近縁であるものの *L. donovani* には遺伝的多様性が存在することを明らかにした。VL の病原原虫 3 種及びその他のヒト病原性リーシュマニア原虫 4 種についてミトコンドリアペルオキシレドキシシン(mPxn)遺伝子の塩基配列(681bp)を決定し系統解析を行うことにより、1) VL の病原原虫 3 種は互いに最大 2 塩基の相違しか見られず同一のクレード内に存在した。2) *L. chagasi* の塩基配列は *L. infantum* と完全に一致した。3) *L. donovani* 内でも 1 塩基の相違が存在した。これらのことから VL の病原原虫 3 種はヨーロッパ、アフリカ、南米に分布するにも関わらず遺伝的には非常に近縁であり、同一のクレード内に存在する一方で *L. donovani* には種内に遺伝的多様性があることを明らかにした。

第二章では VL を引き起こす *L. donovani* が内臓のみならず皮膚にも寄生することを Post kala-azar dermal leishmaniasis (PKDL) の解析より明らかにした。VL の浸淫地域においてはその治療後に皮膚病変を主徴とする PKDL を発症することが知られているがその病態は不明である。バングラデシュにおいて PKDL について解析を行うことにより 1) PKDL 患者は VL の治療後に斑状及び小結節或いは丘疹状の病変を発症した。2) 患者皮膚からの原虫検出により丘疹状の病変からのみ原虫が検出された。3) 患者分離株の mPxn 遺伝子塩基配列解析により塩基配列はインド亜大陸における VL 由来 *L. donovani* の塩基配列と完全に一致した。4) 病理組織学的解析から斑状及び小結節状皮膚病変に炎症像が観察された。5) PKDL 患者血漿は VL 患者血清と同等の高い血清学的反応性を示した。本章から丘疹状の PKDL 患者皮膚病変には *L. donovani* が皮膚寄生する一方斑状及び小結節状皮膚病変には患者の免疫反応が重要な役割を演じ、さらに PKDL 患者の深部臓器に原虫が未だに存在する可能性が示された。

第三章では *L. donovani* 変異種が VL を起こすことなく皮膚型リーシュマニア症(CL)

を引き起こすことを明らかにした。スリランカにおいて CL 患者を対象に調査を行うことにより、1)皮膚生検材料から原虫が検出された。2) 患者に VL の徴候や既往歴は無く、皮膚病変は主に水疱状の丘疹であった。3) 分離株のアクチン遺伝子の解析等より病原種は *L. donovani*であった。4) 分離株の mPxn 遺伝子並びにシステインプロテアーゼ遺伝子の解析より塩基配列は *L. donovani*に近いものの既知のいずれの塩基配列とも異なっていた。5) CL 患者血漿の抗体価は VL 患者に比べはるかに低かった。本章の結果は *L. donovani*がヒトに CL を引き起こしうることを明らかとし、CL の病原体は VL を引き起こす典型的な *L. donovani*とは寄生指向性等において性質が異なることを示唆した。

第四章では *L. donovani* の寄生指向性を決定する因子の探索を行った。リーシュマニア原虫は宿主体内のマクロファージ内に寄生するため抗酸化分子として知られているペルオキシレドキシシンに着目しその発現及び免疫原性を解析することにより、1) mPxn に対する抗体を用いたウェスタンブロット法により *L. donovani*等 5 種全ての粗抗原で約 24 kDa の位置に単一のバンドが観察された。2) 蛍光抗体法による局在の解析で蛍光がミトコンドリアに一致して観察された。3) ELISA 法により VL 及び PKDL 患者血漿は mPxn の配列を持つ合成オリゴペプチド抗原に高い反応性を示した。本章から mPxn は *L. donovani*を始めとするリーシュマニア原虫に広く発現しており、高い免疫原性を持つ分子であることが示唆された。

本論文の結果は *L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi* という既存の分類を改める必要があることを示唆しており、*L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi* 及びその変異株を含め *L. donovani s.l.*とすべきとした。更に *L. donovani*と病態との関係からは *L. donovani*は VL のみを引き起こす病原体という通説に一石を投じ、*L. donovani*には内臓指向性と皮膚指向性の原虫がおり、それらが VL のみならず PKDL,さらには CL という多様な病態を引き起こすことを初めて明らかとした。

従って、審査委員一同は、当論文内容が博士(獣医学)を授与するに値する内容であると判断した。