

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 新倉 保

熱帯熱マラリア原虫は、ヒトに感染すると脳マラリア、急性腎不全、重症貧血及び肝傷害などを引き起こし、宿主に致命的な障害を与えることから悪性のマラリア原虫と呼ばれている。一方で、三日熱マラリア原虫は、その感染によって病態が重症化することは稀であることから、良性のマラリア原虫と呼ばれている。悪性マラリア原虫と良性マラリア原虫が複合感染している場合、病態の重症化が抑制されることが知られている。しかし、その抑制機序や抑制に関わる因子については殆ど解明されていない。

そこで申請者は、まず、悪性マラリア原虫と良性マラリア原虫が複合感染している場合、良性のマラリア原虫は脳マラリアおよび肝傷害の発症に関わる宿主免疫反応を変化させるという仮説をたて、マウスマラリア原虫を用いて複合感染における宿主免疫反応の変化について解析した。

ヒトの脳マラリアは抗炎症性サイトカインである IL-10 によって抑制される。一方、マラリア原虫複合感染による脳マラリアおよび肝傷害の抑制に IL-10 が関与しているかどうかは明らかではない。そこで申請者は、次に、マラリア原虫複合感染による病態重症化の抑制には IL-10 が関与するとの仮説をたて、マウスマラリア原虫を用いて解析した。その結果、下記の結果が示された。

1. 宿主に肝傷害を引き起こす致死性の *Pb* NK65 と、*Pb* NK65 に放射線照射して分離された非致死性の *Pb* XAT を用いて、マウスマラリア原虫複合感染による肝傷害抑制モデルの確立を試みた。*Pb* NK65 単独感染マウスは急激な原虫血症の上昇と体重減少を引き起こし、早期に死亡した。一方、*Pb* NK65 と *Pb* XAT との複合感染マウスでは、*Pb* NK65 単独感染マウスで認められた急激な原虫血症の上昇が抑制され、生存期間が延長することが示された。
2. *Pb* NK65 と *Pb* XAT との複合感染における肝傷害の抑制効果について解析を行った。その結果、*Pb* NK65 単独感染マウスでは肝細胞の壊死と白血球の浸潤が認められ、血清中では肝傷害の指標である AST および ALT が著しい増加が認められた。これに対して、複合感染マウスでは肝組織への白血球の浸潤が認められたが、肝細胞の壊死は抑制されていた。また、複合感染マウスでは *Pb* NK65 単独感染マウスと比較して血清中 ALT の増加は抑制されていた。この結果から、マウスマラリア原虫複合感染によって肝傷害が完全に抑制されることが示され、肝傷害抑制モデルが確立された。

3. これらの複合感染マウスについて肝傷害の発症に関わるサイトカインである IFN- γ について解析したところ、*Pb NK65* 単独感染マウスの血清中で高レベルの IFN- γ の産生が認められたが、複合感染マウスの血清中では IFN- γ の産生が抑制されており、*Pb XAT* 単独感染マウスと同レベルであることが示された。
4. 脾臓中の CD4 陽性 T 細胞について解析した結果、*Pb NK65* 単独感染マウスの脾臓中では CD4 陽性 T 細胞の増加が認められなかった。一方、複合感染マウスの脾臓中では CD4 陽性 T 細胞の増加が認められ、その増加は *Pb XAT* 単独感染マウスとほぼ同程度であることが示された。また、*Pb NK65* 単独感染マウスと比較して、複合感染マウスの脾臓中で炎症抑制性サイトカインである IL-10 が有意に増加しており、*Pb XAT* 単独感染マウスと同レベルであることが示された。これらの結果から、IL-10 は *Pb XAT* が宿主免疫応答を修飾させることによって誘導されることが示唆された。
5. 複合感染させた WT マウスで認められた生存期間の延長効果は、複合感染させた IL-10 KO マウスでは認められなかった。また、複合感染させた WT マウスでは肝傷害が抑制されていたのに対し、複合感染させた IL-10 KO マウスでは肝傷害を引き起こした。これらの結果から、マウスマラリア原虫複合感染による肝傷害抑制効果には IL-10 が関与することが示された。
6. 複合感染させた WT マウスは感染後期に原虫血症の増悪と重症貧血を引き起こし、感染後 24 日以内に全てのマウスが死亡した。一方で、*Pb XAT* 単独感染マウスは自然治癒し、全ての *Pb XAT* 単独感染マウスは生存した。感染後期において、複合感染させた WT マウスの血清中で高レベルの IL-10 の産生が認められたが、*Pb XAT* 単独感染マウスの血清中では IL-10 の増加は認められなかった。複合感染させた IL-10KO マウスは、WT マウスと比較して感染後期の原虫血症が軽快していたことから、感染後期で IL-10 はマラリア原虫の排除に関わる防御免疫を抑制する可能性があることが示された。
7. 宿主に脳マラリアを引き起こす致死性の *Pb ANKA* と、非致死性の *Pb XAT* を用いて、マウスマラリア原虫複合感染による脳マラリア抑制モデルの確立を試みた。*Pb ANKA* 単独感染マウスでは感染初期に原虫血症が増悪し、マウスは早期に死亡した。一方で、*Pb ANKA* と *Pb XAT* との複合感染マウスでは感染初期の原虫血症の増悪が抑制され、生存期間が大幅に延長することが示された。

8. *Pb*ANKA 単独感染マウスでは典型的な脳マラリアの症状である脳出血が認められ、血管内には感染赤血球が観察されたが、複合感染マウスでは脳マラリアの症状は全く認められず、発症することはなかった。この結果から、マウスマラリア原虫複合感染によって完全に脳マラリアが抑制されることが示され、脳マラリア抑制モデルが確立された。
9. 脳マラリアの発症に関わるサイトカインである IFN- γ について解析したところ、*Pb*ANKA 単独感染マウスの血清中で高レベルの IFN- γ の産生が認められた。一方、複合感染マウスの血清中では IFN- γ の産生が抑制されており、*Pb*XAT 単独感染マウスと同レベルであることが示された。
10. 複合感染させた WT マウスで認められる生存期間延長効果は、複合感染させた IL-10KO マウスで消失し、マウスは早期に死亡した。これらの複合感染させたマウスについて脳の病理解析を行ったところ、複合感染させた IL-10KO マウスで、典型的な脳マラリアの症状である脳出血が認められ、血管内には感染赤血球が観察された。また、血清中の TNF- α 、IFN- γ の産生は WT マウスと比較して高レベルであることが示された。これらのことからマラリア原虫複合感染による脳マラリアの抑制に IL-10 が重要な役割を果たしていることが示された。

以上、本論文は、マウスマラリア原虫複合感染による脳マラリアおよび肝傷害抑制モデルを用いることによって、マラリア原虫複合感染による脳マラリアおよび肝傷害の抑制効果には抗炎症性サイトカインである IL-10 が非常に重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、IL-10 は良性のマラリア原虫が宿主免疫応答を変化させることによって誘導されることが示唆された。一方で、本論文は IL-10 がマラリア原虫の排除に関わる防御免疫も抑制することを示唆している。これらの成果は、マラリア原虫防御免疫における抗炎症性サイトカインの意義と役割の理解に寄与すると考えられる。

マラリア原虫複合感染による脳マラリアおよび肝傷害抑制効果に関与する因子は、これまで特定されていない。マラリア原虫複合感染による脳マラリアおよび肝傷害抑制効果に IL-10 が関与することを明確に示したのは本論文が初めてであり、本研究の成果は学位の授与に値するものと考えられる。