

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 片山 進亮

---

マウスのバベシア症の原因原虫である *Babesia microti* ならびに *Babesia rodhaini* は、各種哺乳動物のバベシア症の感染モデルの原虫として広く世界中で用いられているが、*B. microti* はバベシア科ではなくタイレリア科に属する原虫であるとする研究者も多い。実際、*B. microti* 感染マウスの宿主の免疫防御反応、虫体の糖代謝特性、糖取り込み機構など様々な点で *B. rodhaini* とは異なっている。本論文は、両原虫の生物学的特性を明らかにすることで、*B. microti* がバベシア科に属するか、あるいはタイレリア科に属するかを検討したもので、緒論と総括を除き、4章から構成されている。

第一章では *B. microti* ならびにその感染赤血球の微細形態ならびに糖輸送担体である GLUT 1 について検討し、*B. rodhaini* のそれと比較した。*B. microti* は宿主赤血球膜に隣接した位置に認められ、原虫内には小型の偽食胞が認められた。また感染赤血球膜には虫体側に赤血球膜を引き寄せたように陥凹部位が観察され、嵌凹部には小胞の凝集が認められた。一方、*B. rodhaini* は *B. microti* と同様に赤血球膜に隣接した位置に認められ、また偽食胞も観察され、コイル状の膜構造物が認められた。さらに、*B. microti* では GLUT 1 の著しい減少が認められたが、その減少は *B. rodhaini* と同様であった。したがって、*B. microti* の微細構造ならびに糖輸送担体に *B. rodhaini* のそれと相違は認められず、*B. microti* はバベシア科に属する原虫と考えられた。

第二章では *B. microti* 感染マウスの脾臓内樹状細胞の活性化、ならびに *in vitro* における樹状細胞の反応性と TRL の阻害について検討し、*B. rodhaini* のそれと比較している。*B. microti* 感染マウスの脾臓内樹状細胞は、いずれも樹状細胞成熟化のマーカである CD40 発現細胞数、共刺激分子である CD80 ならびに CD86 発現細胞数、抗原提示分子である MHC class I ならびに MHC class II 発現細胞数が増加し、活性化していたが、*B. rodhaini* でも同様の活性化が認められた。また、骨髄細胞から分化誘導した樹状細胞と、*B. microti* 感染赤血球とを 24 時間共培養した培養上清中の IL-12p40 の濃度は非感染赤血球と共培養したものと差はなかった。一方、*B. rodhaini* 感染赤血球と共培養した樹状細胞培養上清では、培養上清中の IL-12p40 濃度は他と比較して有意な高値を示した。また、TLR の阻害を示す IRS を添加すると、TLR7 を阻害する IRS661、TLR9 を阻害する IRS869、TLR7 と TLR9 を阻害する IRS954 を添加した場合に有意な減少が認められた。したがって、*B. rodhaini* の樹状細胞活性化には少なくとも TLR7 ならびに TLR9 が関与していることが明らかとなったが、*B. microti* における樹状細胞の活性化に関与する TRL を明らかにすることは出来なかった。したがって、*B. microti* はタイレリア科に属する可能性があるものと考えられた。

第三章では *B. microti* について 18S rRNA hyper variable region V4 の遺伝子解析を行ない、*B. rodhaini* のそれと比較した。*B. microti* Munich 株の塩基数は 445 塩基で、バベ

シア科の原虫の特徴とされる 30 塩基の欠失部位は観察されなかった。*B. microti* AJ 株と GI 株の塩基数は 441 塩基で、Munich 株とは 13 塩基に相違が認められたが、いずれも 30 塩基の欠失は観察されなかった。一方、*B. rodhaini* の塩基数は 436 塩基で、*B. microti* Munich 株とは 40 塩基の相違が認められたが、30 塩基の欠失部位は認められなかった。したがって、バベシア科の原虫の特徴とする約 30 塩基の欠失は原虫の種によって異なるものと考えられ、18S rRNA hyper variable region V4 の塩基配列の相違からは、*B. microti* はバベシア科に属する原虫と考えられた。

第四章では *B. microti* のダニ体内における発育を、実験感染させたフタトゲチマダニの卵巣、卵、幼ダニ、若ダニの 18S rRNA hyper variable region V4 遺伝子について検討し、*B. rodhaini* 感染と比較した。*B. microti* 感染赤血球接種後 30 日目のフタトゲチマダニ（成ダニ）、接種後 3 日目の卵巣、孵化直後の幼ダニ、孵化後 7 日間飼育した若ダニからは約 450 bp の泳動位置に 18S rRNA hyper variable region HVR-V4 の遺伝子が検出されたが、接種後産卵開始 3 日目の卵からは検出できなかった。一方、*B. rodhaini* 感染赤血球を接種したフタトゲチマダニにおいても 18S rRNA hyper variable region V4 の遺伝子の検出は *B. microti* と同様の結果であった。したがって、*B. microti* は *B. rodhaini* と同様、卵巣、幼ダニ、若ダニに感染が成立しており、介卵感染しており、ダニにおける発育形態からは、*B. microti* はバベシア科に属する原虫であることが明らかとなった。

以上の結果、*B. microti* はその微細構造、18S rRNA hyper variable region V4 の塩基配列、ダニ体内における発育の結果からバベシア科に属する原虫であることが明らかとなった。

このように、本論文は現在論議の的となっている *B. microti* の生物学的特性を *B. rodhaini* のそれと比較検討した結果、*B. microei* はバベシア科に属する原虫であることを明らかにしたものである。その内容は、獣医学の学術上貢献するものであり、よって、審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。