

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 サンブー ガントゥーヤ

リーシュマニア症は熱帯から温帯地方にかけて世界的に分布する人獣共通感染症である。*Leishmania major* は旧世界の皮膚型リーシュマニア症の主要な病原原虫種の一つであり、スナネズミを主な保虫宿主とする。スナネズミの 1 種であるオオスナネズミ、*Rhombomys opimus*、は中央ユーラシアに棲息し、*L. major* のみならず *L. turanica* および *L. gerbilli* の自然宿主でもある。*L. turanica* による実験的ヒト感染例は報告されているが、自然界における *L. turanica* および *L. gerbilli* による皮膚型リーシュマニア症は報告されていない。モンゴルではすでに、オオスナネズミ寄生の *L. turanica* および *L. gerbilli* が報告されているが、*L. major* によるヒト皮膚型リーシュマニア症の報告はない。本研究では、モンゴルに棲息するオオスナネズミにおける *Leishmania* 感染の実態を明らかにし、*L. major*、*L. turanica* および *L. gerbilli* 3 種のリーシュマニア原虫の寄生虫学的、免疫学的、分子生物学的特徴付けを行い、さらに実験動物に対する感受性の検討を行った。

第一章では、*L. major* によるヒト皮膚型リーシュマニア症の浸淫地域である中国およびカザフスタンに隣接するモンゴルの南ゴビ沙漠において、オオスナネズミ 62 頭を捕獲し、リーシュマニア原虫感染の有無の検索、および血清学的検索を行った結果を報告している。捕獲オオスナネズミ耳介部試料の培養により、8 頭 (12.9%) から原虫を分離し、うち 2 株 (MRHO/MN/08/BZ18、MRHO/MN/08/BBU23) が培養株として樹立された。脾臓 DNA を抽出し、リーシュマニア原虫 N-acetylglucosamine-1-phosphate transferase (*NAGT*) 遺伝子を標的とした PCR 法による検索では、57 頭中 20 頭 (35.08%) で、予想される塩基長 468 bp の PCR 産物が検出された。さらに、*L. major* 粗抗原に対する ELISA 法による血清学的な解析を行った結果、62 頭中 50 頭が (80.6%) 陽性反応を示した。これらの結果は、モンゴルでは、オオスナネズミにリーシュマニア原虫が高度に浸淫していることを示している。また、病理組織学的解析により、これらリーシュマニア原虫はオオスナネズミに強い病原性を示すことなく潜在感染しており、安定した宿主・寄生体関係を有していることが示唆された。

第二章では、樹立された分離株 (BZ18、BBU23) の原虫種の同定を行うため、*actin* 遺伝子および *NAGT* 遺伝子の一部塩基配列を決定し、ヒトに対する病原種である *L. major*、

L. tropica、*L. donovani*、さらにげっ歯類感染種である *L. turanica*、*L. gerbilli* との比較解析を行った。その結果、*L. turanica* とのみ塩基配列が完全に一致し、分離株 2 株を何れも *L. turanica* と同定した。さらに、これら塩基配列を用い系統樹解析を行った結果、*L. major*、*L. turanica*、*L. gerbilli* は遺伝的に非常に近縁であることが示された。また、*L. turanica* には種内に遺伝的多様性が存在することを明らかにした。次に、オオスナネズミ寄生リーシュマニア原虫 3 種間の免疫学的交差反応性を検討した。実験的に *L. major* を感染させた近交系スナネズミ *Meriones unguiculatus* (MGS/sea) 血清の *L. major*、*L. turanica*、*L. gerbilli* 粗抗原に対する反応性を ELISA 法により検討したところ、強い交差反応性を示した。これらの結果、3 種の原虫の抗原性が類似しており、粗抗原を用いた ELISA 法ではこれら 3 種を分類することは困難であると考えられた。観察された高い免疫学的交差反応性は自然界において免疫学的な干渉が起きていることを示唆し、3 種原虫の分布および伝播サイクルに大きな影響を与えていることが推察された。

第三章では、*L. turanica* の実験動物に対する感受性を検討するため、近交系スナネズミ *Meriones unguiculatus* (MGS/sea) および BALB/cA マウスに対する感染実験を行った。BZ18 感染 MGS/sea は、接種部位に一過性の皮膚病変を呈したが、自然消退した。一方 BALB/cA マウスでは、皮膚病変は増悪し、潰瘍を形成し、52 週までに死亡した。すなわち、MGS/sea は自然宿主と同様感受性が低く、一過性の皮膚病変を示すのに対し、BALB/cA マウスは感受性が高く、致死的事であることを明らかにした。近交系スナネズミ MGS/sea は自然宿主における宿主-寄生体関係を明らかにする上で、有用な実験動物モデルとなると考えられた。また、BALB/cA マウスの感受性が高く、致死的事であったことから、ヒトを含めた他種動物への病原性が危惧される。

中央ユーラシアのオオスナネズミに寄生する *L. major*、*L. turanica* および、*L. gerbilli* 3 種の中で *L. major* のみがヒト皮膚型リーシュマニア症の病原種として知られている。分布、宿主特異性が類似していることに加え、本研究によりこれら 3 種原虫の遺伝子の相同性は高く、免疫学的交差反応性も高く、系統発生的にも近縁であることが示された。本研究はヒトに対する病原種である *L. major* の分布および伝播サイクルに *L. turanica* および *L. gerbilli* が影響を与えていることを示唆し、また、enzootic parasite として知られる *L. turanica* および *L. gerbilli* がヒトに対する病原種である可能性、あるいは新興感染症となる可能性を指摘している。これらの研究結果より、著者は *L. major*、*L. turanica* および *L. gerbilli* を *L. major sensu lato* の構成種として理解し、これら原虫の生態あるいは伝播サイクルにおける相互関係を明らかにする必要があることを論述している。

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