

氏名	竹島 絹子		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博甲第 7594 号		
学位授与年月	平成 28 年 1 月 31 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	トキソプラズマ原虫感染におけるマウス胎盤に存在する免疫細胞の解析		
主査	筑波大学教授	博士 (医学)	人見 重美
副査	筑波大学准教授	博士 (医学)	長谷川 雄一
副査	筑波大学准教授	博士 (医学)	斉藤 慎二
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	宮園 弥生

論文の内容の要旨

(目的)

トキソプラズマは、偏性細胞内寄生性原虫で、免疫能が正常な宿主に感染しても、ほとんど症状を呈することはなく不顕性感染として経過する。しかし、エイズ、臓器移植、妊娠など宿主の免疫能が抑制される状態では、さまざまな症状を引き起こす。特に、妊婦がトキソプラズマに初感染すると、流産や死産の原因になることに加え、胎児に重篤な脳障害、眼病変を引き起こす先天性トキソプラズマ症をおこす。このため、トキソプラズマの胎盤感染の予防は、産科領域において重要なテーマであり、今までさまざまな研究が行われてきた。しかし、トキソプラズマに対する免疫応答が、胎盤でどのように起こっているのか、分子レベルで検討した報告はまだ少ない。このため、この免疫応答の機序を解明することの一環として、胎盤でトキソプラズマ感染に対する感染防御に関わっている免疫細胞を解析し、どのような免疫細胞が病原体排除に関わっているかを検討することを目的とした。

(対象と方法)

本研究で使用する病原体サンプルを調製するために①トキソプラズマ急増虫体の培養 (*in vitro*) ②トキソプラズマ組織内嚢子の継代 (マウス) を行った。次に、妊娠マウスでのトキソプラズマ経口感染モデルを、過去の文献を参考に確立した。最後に、トキソプラズマ感染妊娠マウスの胎盤に存在する免疫細胞の表現型を同定するために、フローサイトメトリ解析の手法を確立し、感染マウスと非感染マウスの胎盤から免疫細胞を採取して比較検討した。

(結果)

トキソプラズマ組織内嚢子は、FITC-conjugated dolichos lectin (Vector) で蛍光染色することによって、検出できることを確認した。この嚢子数を計測し、適宜希釈して妊娠 BALB/c マウスに経口接種し、9 日目 (妊娠 day16) に子宮を摘出した。トキソプラズマが胎盤に感染しているかどうかは、トキソプラズマ急増虫体の表面抗原である SAG1 遺伝子を PCR 法で検出することで確認した。胎盤組織から細胞を回収し、CD45.2⁺ 細胞のうち、CD11b⁺ Gr-1⁺ 細胞、CD11b⁺ Gr-1⁻ 細胞、CD11b⁻ Gr-1⁻ 細胞の割合について、フローサイトメトリで解析した。CD45.2 は、BALB/c や C57BL/6 などのマウス白血球共通抗原で、赤血球系と血小板系を除いた全ての造血系由来の細胞に発現している。また、CD11b⁺ Gr-1⁺ 細胞には好中球や炎症性単球が、CD11b⁺ Gr-1⁻ 細胞には単球やマクロファージが、CD11b⁻ Gr-1⁻ 細胞にはリンパ球が主に含まれる。CD45.2⁺ 細胞のうちの CD11b⁺ Gr-1⁺ 細胞分画の割合は、感染マウス群では 23.3±8.2%、非感染マウス群では 5.73±3.4%と、感染マウス群で有意に増加していた。これに対し、CD11b⁻ Gr-1⁻ 細胞分画は、感染マウス群で 36.5±8.0%、非感染マウス群で 60.1±13.1%と、感染マウス群で有意に減少していた。CD11b⁺ Gr-1⁻ の細胞分画は、感染マウス群と非感染マウス群で同程度 (32.3±10.8% vs 37.0±9.2%) だった。CD45.2⁺ 細胞におけるリンパ球ゲートのリンパ球分画についても解析したところ、CD4⁺ T 細胞、CD8⁺ T 細胞、ナチュラルキラー細胞、B 細胞の分画の割合は、両群間で同程度だった。

(考察)

CD11b⁺ Gr-1⁺ 細胞は、トキソプラズマ感染に対して防御的に働く前炎症性サイトカインやケモカイン、一酸化窒素、活性酸素を分泌することがわかっている。本研究で、トキソプラズマ感染マウス群で CD11b⁺ Gr-1⁺ 細胞分画の割合が高率だったことは、CD11b⁺ Gr-1⁺ 細胞が感染防御に関与していることを示唆する。CD11b と Gr-1 は、Ly6G⁺ 好中球と Ly6C⁺ 炎症性単球に発現している。他の臓器では、好中球や炎症性単球がトキソプラズマ感染の感染防御に関与していることが報告されている。本研究で、胎盤でも自然免疫応答が重要で、CD11b⁺ Gr-1⁺ 細胞で示される好中球や炎症性単球が特に関与していることがわかった。ただし、胎盤で割合が増加している細胞が好中球か炎症性単球かあるいは両方なのかは、今回の研究では同定できず、今後更なる検討が必要である。

審査の結果の要旨

(批評)

産科領域においてトキソプラズマ症は、未解決問題の多い重要な疾患である。本疾患は新生児に重篤な障害を生じうるが、今のところ妊婦が感染源に曝露することを避けること以外に、有効な予防策はない。本研究で著者は、トキソプラズマの培養・継代系を確立し、妊娠マウスの胎盤でトキソプラズマ感染時に起こる免疫細胞の割合の変化を明らかにした。この知見は、トキソプラズマ胎盤感染の予防策を確立するための嚆矢になると考える。また、胎盤感染により新生児に障害を起こす病原体は、トキソプラズマ以外にもたくさんあり、これらの予防策にも応用できる可能性がある。

平成 27 年 12 月 1 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。