

氏名	松原 立真
学位の種類	博士 (生物科学)
学位記番号	博 甲 第 7740 号
学位授与年月日	平成 28年 3月 25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	生命環境科学研究科
学位論文題目	Detection and Functional Analyses of Plant Hormones in Apicomplexan Parasite  (アピコンプレクサ類が持つ植物ホルモンの網羅的検出と機能解析)

主査	筑波大学准教授	博士 (理学)	稲垣 祐司
副査	筑波大学准教授 (連携大学院)	博士 (医学)	永宗 喜三郎
副査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学教授 (連携大学院)	博士 (医学)	野崎 智義

## 論 文 の 要 旨

アピコンプレクサ生物群には、年間 2 億人の感染者 60 万人以上の死者を出すマラリア原虫 (*Plasmodium* spp.)、世界人口の 3 分の 1 以上が感染しているとされるトキソプラズマ (*Toxoplasma gondii*) など、多くの重要な病原体が含まれる。アピコンプレクサ生物の祖先は色素体をもっていたと考えられ、代謝の一部に植物的特徴をもつ。たとえば *T. gondii* が植物ホルモンの一種であるアブシジン酸を産生し細胞分化シグナルとして利用することが報告されている。アピコンプレクサ生物の植物ホルモンに関する研究は基礎生物学的に極めて興味深いだけでなく、原虫の病原性の解明、マラリアに対する新たな治療薬の創出へと繋がる可能性がある。これまでの研究では *T. gondii* の 1 系統のみからアブシジン酸とサイトカイニンだけが報告されたのみであったが、松原氏は *T. gondii* の 3 系統に加えネズミマラリア原虫である *P. berghei* を対象に植物ホルモンを網羅的に探索し、代表的なホルモンの生理機能の解明を目指した。

*P. berghei* を対象とした植物ホルモンの網羅的定量解析では、アブシジン酸、サイトカイニン [主に isopentenyl adenine (iP) が優占していた]、オーキシシン、サリチル酸 (SA)、ジャスモン酸が同定され、特に SA は全ホルモン物質量の 90% 以上を占めていることが明らかとなった。病原性の異なる *T. gondii* の 3 系統から植物ホルモンを定量したところ、強毒株ほどサイトカイニンのうち *trans*-zeatin (tZ) の存在比が高いことが判明した。*T. gondii* は tZ により増殖速度が速まるため、サイトカイニンの構成比と病原性との関連が示唆された。

最も存在量が多かった SA に着目し、*in vitro* で培養されたマラリア原虫 (*P. falciparum*) に SA を添加したが、原虫の増殖や細胞周期に明らかな影響は検出できなかった。そこで松原氏は、バクテリア由来 SA 分解遺伝子 (*nahG*) を導入し、SA 欠乏原虫を作出した。*nahG* 導入原虫は

SA の濃度が半分程度まで減少していたが、親株と比較して産生するプロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 量が有意に低下していた。マラリア原虫は自ら PGE<sub>2</sub> を合成して宿主免疫系を攪乱することから、SA による原虫 PGE<sub>2</sub> の産生調節を介した病原性への関与が示唆された。

マラリア原虫の PGE<sub>2</sub> が宿主免疫へ干渉し、病原性の発現に寄与している可能性が考えられたため、松原氏は、*P. berghei* ANKA 株に *nahG* を導入した。この *nahG* 導入原虫を C57BL/6 マウスに感染させたところ、対照群と比較して *nahG* 導入原虫感染マウスでは血中 PGE<sub>2</sub> 量の低下が認められ、炎症性サイトカイン (IFN- $\gamma$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-2) が *nahG* 導入原虫感染により有意に上昇し、IL-12 も上昇する傾向を示した。一方、炎症性ケモカイン MCP-1 は *nahG* 導入原虫感染で有意に低下した。これらは PGE<sub>2</sub> が減少した際に想定される免疫反応と一致し、SA 欠乏原虫で低下した PGE<sub>2</sub> 産生が免疫反応に影響を与えたことが示唆された。

*P. berghei* ANKA 株の感染は C57BL/6 マウスに対し致死的な脳マラリア症を引き起こす。脳マラリアの発症には、IFN- $\gamma$  など炎症性サイトカインの上昇が関与する。*nahG* 導入原虫感染により有意に上昇した炎症性サイトカイン発現量が脳マラリア発症に与える影響を検証したところ、*nahG* 導入原虫感染マウスでは脳マラリアの発症が亢進すること、対照群と比べて発症開始時期が早まることが判明した。以上の結果を総合し、松原氏は SA が脳マラリアの重症化に関わる病原因子の一つであると結論付けた。

## 審 査 の 要 旨

著者の松原氏は、本研究以前に *T. gondii* においてのみ存在が確認されていた各種植物ホルモンを網羅的に探索し、系統的に異なる複数のアピコンプレクサ生物種中での植物ホルモンの種類と存在比を解明した。また、サルチル酸産生量をコントロールするための *P. falciparum* と *P. berghei* への *nahG* 導入、*nahG* 導入 *P. berghei* のネズミへの感染とネズミの免疫系への影響の検証、脳マラリアの病態観察、感染マウスの生存率解析等を精力的に行った。これらの実験から得た多角的なデータを総合し、*P. berghei* ANKA 株の産生するサルチル酸の脳マラリア重症化への関与を突き止めたことは高く評価できる。

平成28年1月27日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のものに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査員全員によって合格と判定された。

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