

氏名	荒木 球沙		
学位の種類	博 士 (理学)		
学位記番号	博 甲 第 9 4 4 4 号		
学位授与年月日	令和 2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	Three-dimensional Electron Microscopy Analysis Reveals Endopolygeny-like Nuclear Architecture Segregation in <i>Plasmodium</i> Oocyst Development (マラリア原虫のオーシスト期はエンドポリジェニー様の核分裂様式を示す)		
主査	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)	永宗 喜三郎
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	稲垣 祐司
副査	筑波大学准教授 (連携大学院)	博士 (理学)	守屋 繁春

論 文 の 要 旨

アピコンプレクサ門に属すマラリア原虫 (*Plasmodium*属) には、ヒト体内で増殖する肝内期と赤内期の2つの発育ステージと、ハマダラカ体内で増殖するオーシスト期の発育ステージがある。これらのステージにおける分裂は、1細胞内に多核体を形成する閉鎖型有糸分裂であると考えられている。これまでの赤内期における研究から、この多核体による増殖は、核だけが2分裂を繰り返すシゾゴニー様式であることが明らかとなっている。しかし、肝内期とオーシスト期における核の制御機構の研究は、原虫の調製が困難であるなどの理由からほとんど進展していなかった。とくに、オーシスト期は、有性生殖後に第一世代のハプロイド原虫であるスポロゾイトを生じるステージで、その増殖機構には興味もたれていたが、詳細は不明であった。そこで本論文の著者は、オーシスト期における原虫の増殖様式、とくに増殖時のオルガネラ構造・核分裂を電子顕微鏡による3次元構造解析を実施することによって明らかにし、本論文としてまとめた。

著者は、2種のネズミマラリア原虫 *Plasmodium berghei* (Pb)、*Plasmodium yoelii* (Py) と1種のサルマラリア原虫 *Plasmodium cynomolgi* (Pcy) をそれぞれハマダラカに感染させ、蚊中腸内のオーシストの超微形態構造を電子顕微鏡により観察した。さらに、原虫の内部オルガネラ構造や分配様式を詳細に解析するため、集束イオンビーム/走査型電子顕微鏡 (FIB-SEM) を用いてオーシストの内部構造の連続断層画像を取得し、オルガネラなどの3次元再構築を行った。その結果、発達時におけるオーシストの形態について原虫種間での大きな違いはなく、原虫は蚊の中腸組織に覆われた形で寄生していた。しかし、オーシストのサイズは原虫種間で明確に異なり、Pcyのオーシストの直径及び表面積はPb・Pyと比較して非常に大きく、蚊中腸からの突出度が極めて顕著であった。さらに著者は、スポロゴニー (スポロゾイトの前駆体) の形成中心 (Residue core body : Rb) の存在を確認し、スポロゾイトへと形成・発達する様子を観察した。

この結果に基づき著者は、オーシストのサイズが最も大きく、増殖が緩やかなPcyを用いて、オルガネラの分配が最も盛んな増殖中期の未成熟オーシストの構造解析を行った。準超薄切片の画像の観察から、未成熟なオーシストを選択し、FIB-SEMにより連続断層を200-500枚取得し、

得られた画像群から原虫の核の分裂構造を3次元再構築した。その結果、オーシストの中期の原虫核は1核が伸長したまま複数核を形成しており、その核の先端部に中心体があることを明らかにした。このことから著者は、この増殖様式が、赤内期のシゾゴニー様式の増殖機構とは明確に異なるものであり、アピコンプレクサ門の他の寄生原虫であるサルコシステイスなどの分裂様式で認められるエンドポリジェニーに類似のものであるとの結論に至った。

さらに著者は、成熟Pcyオーシストを用いて同様の実験を行った。FIB-SEMを用いてオーシストの断面を観察すると、核の分裂は既に完了しており、個々のスポロゾイト内に核が1つずつ分配されていることが明らかとなった。また、ロプトリー (rhoptry) も成熟形態に発達していた。一方、未成熟オーシストでは観察できなかったAOR (Alternative organelles distinguishable from rhoptry) の存在を成熟オーシスト内に認めた。また、それぞれのオルガネラが、スポロゴニー内で統制のとれた局在性を示したことから、著者は、オルガネラの分配とスポロゾイトの形成が完了していると考えた。

審 査 の 要 旨

本論文の著者は、マラリア原虫のハマダラカ体内の増殖期であるオーシスト期の形態を解析し、核の分裂様式が赤内期におけるシゾゴニーとは異なり、エンドポリジェニーに類似したものであることを示した。これは、サンプルの調製が困難であるためにこれまで試みられなかった難題に挑戦し、世界で初めて成功することによって得た新知見であり、独創性の高い成果として高く評価できる。また、マラリア原虫のみならず、閉鎖型有糸分裂を行う真核生物の核制御の多様な分子機構を解明するための端緒を与える成果でもあり、その生物学的意義は大きい。

令和2年1月28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、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（理学）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。