

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：三日熱マラリアの重症化における TLR の役割と重症化を予知する早期診断技術の開発
2. 研究開発代表者： 小林 富美恵 (杏林大学医学部 教授)
3. 相手国研究代表者： Rakesh Sehgal (Professor & Head; Department of Medical Parasitology, Postgraduate Institute of Medical Education & Research (India))

## 4. 研究開発の成果

マラリアの重症化は一般に熱帯熱マラリアで起こる。しかし最近、三日熱マラリアによる重症化例がインドで増加している。三日熱マラリアの病態重症化機構は未だに解明されていない。三日熱マラリアの病態重症化機構を明らかにするために、まず、三日熱マラリアの流行地であるインドの Postgraduate Institute of Medical Education & Research (PGIMER) にて三日熱マラリア患者の臨床データを収集した。臨床データ（既往歴や血液）は患者の同意を得てから収集された。臨床データは WHO が定める重症マラリアの基準に準じて解析された。解析の結果、90 人の三日熱マラリア患者のうち、48%が重症マラリアの臨床症状と合致した。PGIMER における重症三日熱マラリア患者で認められた臨床症状は、重症貧血、血小板減少症、腎不全、黄疸、呼吸困難、低血糖、多臓器不全であった。血小板減少症は、重症三日熱マラリア患者の 75%で認められたことから、血小板減少症は三日熱マラリアの病態重症化に関わると推測された。

三日熱マラリアの病態重症化には、マラリア原虫側の因子や宿主側の因子および環境要因が関わりと考えられる。本研究で、我々は宿主側の因子に着目し、まず、様々な病原体を感知して宿主免疫を作動させる機能がある Toll like receptor (TLR) の遺伝子変異について解析した。三日熱マラリア患者の TLR 4 および TLR9 の遺伝子変異を解析した結果、80 検体中 19 検体で TLR 4 遺伝子に変異が検出された。また、35 検体中 8 検体で TLR9 遺伝子に変異が検出された。TLR 4 および TLR9 で検出された変異は、三日熱マラリアの病態重症化に関与する可能性が示唆された。

マラリア重症化研究に最適なマウスマラリアモデルを作出し、三日熱マラリアの病態重症化に関わる因子について解析した。マラリア原虫はプリンヌクレオチドの新生経路を欠損していることから、原虫膜上の核酸輸送体を介して宿主から大量のプリンヌクレオチドを原虫内に取り込み、プリンサルベージ経路に依存してプリンヌクレオチドの生合成を行っていると考えられている。そこで、マウスマラリア原虫のプリンヌクレオチド生合成系を減弱させることにより、マウスマラリア原虫の弱毒株を作出した。作出した弱毒株をマウスに感染させたところ、強毒株を感染させたマウスと比較して血小板減少症の進行が遅延した。作出した弱毒株の細胞内 ATP 量は、強毒株と比較して著しく低下していることを見出した。これらの結果から、マウスマラリア原虫の ATP 量はマラリアの病態重症化に関連し、マラリア原虫の ATP 量を測定することで三日熱マラリアの病態重症化を予測できる可能性が示された。また、TLR2/4/9 や  $\gamma\delta$ T 細胞などの免疫関連因子を欠損させたマウスに弱毒株を感染させたところ、野生型マウスと比較して病態が重症化した。これらの結果から、TLR などの免疫関連因子の遺伝子変異はマラリア重症化に関わることが示唆された。

今後、PGIMER での臨床データやマウスモデルの解析をさらに推し進めていくことで、良性マラリア重症化における TLR など免疫関連因子の役割の一端が明らかとなるほか、新たな診断・予防戦略の開発に役立つものと期待される。