

受理年月日	受理番号

## 帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

平成25年 5月30日

新規・継続		※新規か継続か、該当する方を記載	
研究分野	ゲノム機能学分野	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	鈴木 宏志 教授
研究課題名	マラリア原虫感染赤血球がマウス妊娠機構に及ぼす影響		
研究代表者	(ふりがな) 氏名	所属部局等・職名	
	しらすな こうめい 白砂 孔明	自治医科大学分子病態治療研究センター・助教	
研究分担者	しみず たかし 清水 隆	帯広畜産大学畜産衛生学研究部門・准教授	
研究期間	平成24年 4月 1日 ~ 平成24年度 3月31日		
目的・趣旨	<p>マラリアは世界の3大感染症の一つに挙げられ、妊婦がマラリアに罹患した場合は症状が重篤化する。妊婦がマラリアに罹患した場合、通常の感染に比べて重度の発熱や貧血が起きることに加え、胎児の子宮内死亡・低体重・未熟児出産などが誘発され、その要因として胎盤にマラリア感染赤血球が集積することが考えられている。しかし、マラリア原虫がどのような機構で母体および胎児に悪影響を及ぼすのか、妊娠時特異的に重篤化する機構は分かっていない。本研究では、胎盤の構造が霊長類よりもヒトと類似しているマウスを用いて実験解析モデルを確立し、妊婦のマラリア罹患症状を克服することを最終目標とし、マラリア原虫感染による妊娠母体・胎仔への影響を生体レベルで理解することを目指す。</p>		
研究経過の概要	<p>本研究では、「妊娠時にマラリア原虫感染した場合、妊娠と原虫の相乗的な免疫抑制により母体の症状が悪化し、妊娠維持が不可能になる」という仮説を立て、妊娠時マラリア原虫感染が病態に及ぼす影響を調べた。</p> <p>①ICRマウスを交配させることで妊娠マウスを作製し、マラリア原虫を感染させ、妊娠時への影響を検証した。時間依存的に母体の原虫感染赤血球の増加が確認できたことから、「妊娠時におけるマラリア原虫感染実験」は可能であると判断した。</p> <p>②上記のモデルを使用し、マラリア原虫感染後の各時期からサンプル採取を行い、妊娠時におけるマラリア原虫感染が妊娠機構に及ぼす影響を検証した。</p> <p>③妊娠時にマラリア原虫感染赤血球を投与した場合、非妊娠時に投与した場合よりも病態が重篤化する現象がみられたことから、適切な時期における免疫細胞動態をフローサイトメーターを用いて解析した。</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究成果の概要</p>	<p>【材料と方法】ICR 雌マウス(8-10 週齢)を, 妊娠感染区(PI), 感染区(I), 妊娠区(P)及び対照区(C)の 4 つの実験区に分けた。交配後の膈プラグ確認日を Day0(D0)とし, PI(D0)及び I に 25 個/匹の <i>Plasmodium chabaudi</i> AS 感染赤血球を投与した。感染後 2 日毎に原虫感染率と血液成分値(赤血球数, ヘモグロビン値), 体重を測定した。また D4-18 の 2 日毎に採取した胸腺, 脾臓, 胎仔, 胎盤の重量測定後, 組織学的, 遺伝子発現及び T 細胞分布割合の解析に用いた。</p> <p>【結果】原虫感染率増加のピークは PI と I のいずれも D12 であったが, PI の生存率は I より低い傾向が見られた(PI 39.4%, I 53.6%)。血液成分値は D10 から減少した I に対し, PI では D6 から減少した。PI の体重は D10 までは P と同様に増加したが, D12 から P と比べ有意に減少した。PI の脾臓重量は, I 及び P と比べて早い時期(D4 以降)から増加した。脾臓における制御性 T 細胞(CD4+CD25+/CD4+)の割合は, I と比較して D10 の PI で有意に増加した。胸腺における未分化 T 細胞(CD4+CD8+)の割合が I と比較して D12 で著しく減少し(PI 19.8%, I 62.5%), D18 において I の CD4+CD8+T 細胞は増加した一方で, PI では低い割合を維持した。D18 における PI と P の胎盤重量に差は無かったが, 胎仔重量は PI において有意に低かった。また, 着床率(胎仔数/黄体数)に差が無かった一方で, PI の胚吸収率は D12 で P と比較して上昇し(PI 26.7%, P 5.2%), D18 でさらに上昇した(PI 81.9%, P 3.6%)。さらに D12 における PI の胎盤で原虫の存在が確認され, 胎盤での単球走化性因子(MCP1) mRNA 発現は P と比べ D18 の PI で著しく増加した。</p> <p>【ディスカッション】原虫感染率の増加は PI と I で同時期である一方, PI の脾臓が I より早期から肥大したことから, 妊娠時は原虫の影響を通常より早く受容すると考えられる。脾臓内では原虫感染により制御性 T 細胞増加が促進され, 母体は強い免疫抑制状態になると考えられる。続いて胸腺内で T 細胞分化の崩壊が起き, 母体の原虫排除機構は減退したと考えられる。これら継時的な免疫機構の変化により, 通常の感染より貧血症状が早期に出現し, 母体症状の重篤化・死亡率上昇に繋がった可能性が示唆された。原虫感染は着床数に影響しなかったが, 感染ピーク時に胎盤へ原虫が集積することで, MCP1 といった炎症サイトカイン産生が異物排除のために増加し, 胚吸収が誘導されたと考えられる。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>(学術論文) なし</p> <p>(学会発表) 新田あかね, 白砂孔明, 松本 茜, 鈴木宏志. マラリア原虫感染が妊娠特異的に重篤化する免疫学的メカニズムの解明 第 105 回日本繁殖生物学会(筑波) 平成 24 年 9 月</p> <p>新田あかね, 白砂孔明, 松本 茜, 鈴木宏志. マラリア原虫感染が妊娠特異的に重篤化する免疫学的メカニズムの解明 第 82 回日本寄生虫学会(東京) 平成 25 年 3 月</p>