

## マラリア原虫特異的代謝と妊娠中のマラリア病態重症化との関連を探る

新 倉 保

杏林大学医学部感染症学教室寄生虫学部門

妊娠中にマラリアに罹患すると、非妊娠時より症状が増悪することが知られている。妊娠中のマラリア病態重症化は、妊娠による免疫抑制が主な原因であると考えられている。一方、妊娠中には、妊娠関連ホルモンの作用によって循環血液量の増加や代謝動態の変化などの様々な生理的变化が起こることが知られている。これらの生理的变化は妊娠中のマラリア病態重症化に関わると推測されるが、その関係は明らかにされていない。そこで本研究では、マラリアのマウスモデルを用いて、妊娠中の生理的变化とマラリア病態重症化との関係を明らかにすることを目的とした。

### (1) 妊娠中の赤血球造血の亢進とマラリア病態重症化との関係

これまでの研究成果によって、妊娠中のマラリアのマウスモデルが確立されている<sup>1)</sup> (Fig. 1A)。交配後12日目の妊娠マウスにマウスマラリア原虫 *Plasmodium berghei* ANKA を感染させると、非妊娠マウスと比較して有意に

原虫血症が増悪することが明らかになっている<sup>1)</sup> (Fig. 1B)。

妊娠中は脾臓での造血が亢進し、末梢血中の網状赤血球数が増加することが知られている<sup>2)</sup>。そこで、交配後12日目の妊娠マウスの網状赤血球数を解析した。その結果、交配後12日目の妊娠マウスの網状赤血球数は、非妊娠マウスと比較して約3倍に増加することが示された (Fig. 1C)。次に、妊娠マウスと非妊娠マウスの脾臓からそれぞれタンパク質を抽出し、比較プロテオーム解析を行った。その結果、交配後12日目の妊娠マウスの脾臓において、赤芽球に特異的に発現する Glutaredoxin-related protein 5 やヘモグロビン合成関連分子群 (Delta-aminolevulinic acid dehydratase など) が有意に増加することが明らかになった (data not shown)。また、脾臓の組織切片を作製し、H&E染色したところ、妊娠マウスの脾臓の赤脾髄に多数の赤芽球が観察された (data not shown)。

網状赤血球数の増加と原虫血症の増悪の関係を明らかに

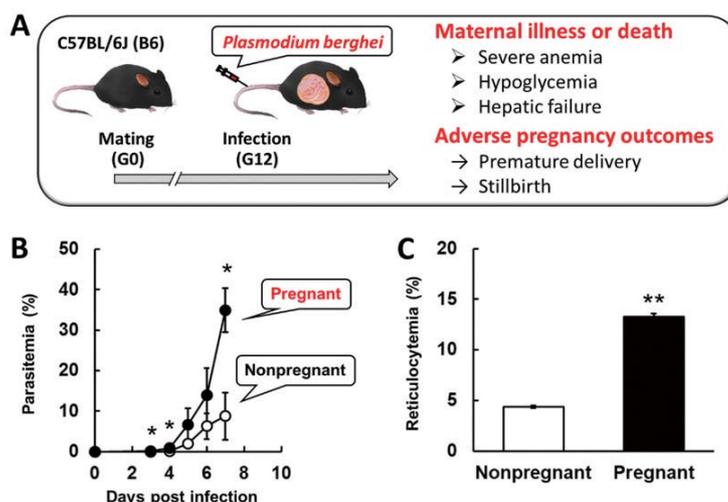


Figure 1 A mouse model of malaria during pregnancy

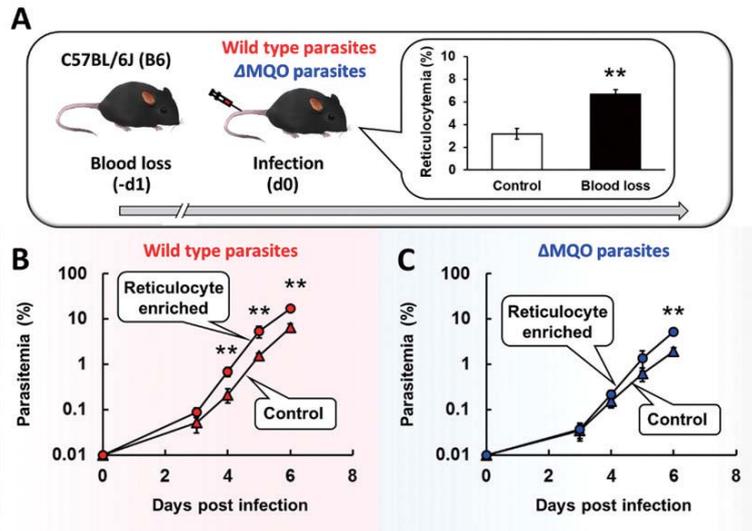


Figure 2 Effect of reticulocyte enrichment on the outcome of infection

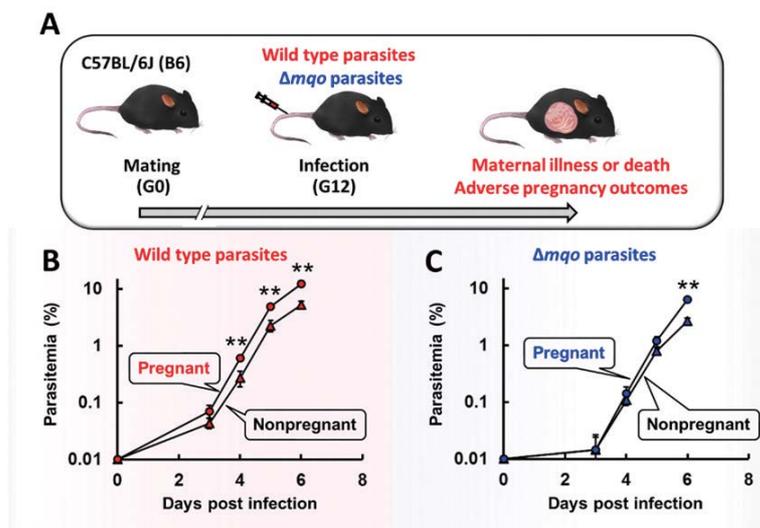


Figure 3 The effect of MQO-deficiency on the outcome of infection

するために、まず、脱血による赤血球造血亢進モデルの作出を試みた。脱血後1日目に末梢血中の網状赤血球数を解析したところ、網状赤血球数は脱血していないマウスと比較して約2倍に増加した (Fig. 2A)。これらの結果から、脱血により赤血球造血を誘導できることが明らかとなった。この赤血球造血亢進マウスにマウスマラリア原虫 (wild type parasites) を感染させたところ、脱血していないマウスと比較して、感染後4日目から有意に原虫血症が増悪した (Fig. 2B)。これらの結果から、赤血球造血の亢進が原虫血症の増悪に関わることが示された。

網状赤血球は、成熟赤血球と比較して、マラリア原虫の栄養源となる物質 (リンゴ酸など) が多く含まれていることが報告されている<sup>3)</sup>。これらの物質はマラリア原虫に特異的なフマル酸回路を介して代謝される<sup>4)</sup>。これらの知見

から、赤血球造血の亢進によるマラリア病態重症化には、マラリア原虫のフマル酸回路が関わることを推測される。そこで、フマル酸回路のKey moleculeである malate:quinone-oxidoreductase (MQO) を欠損させたマラリア原虫 ( $\Delta mqo$  parasites)<sup>4)</sup> を用いて、赤血球造血の亢進による原虫血症の増悪とフマル酸回路との関係を解析した。解析の結果、 $\Delta mqo$  parasites を感染させた赤血球造血亢進マウスは、感染後5日目まで有意な原虫血症の増悪が認められなかった (Fig. 2C)。これらの結果から、赤血球造血の亢進による原虫血症の増悪にはマラリア原虫のフマル酸回路が関わることを示唆された。

次に、wild type parasites と  $\Delta mqo$  parasites をそれぞれ妊娠マウスに感染させ、原虫血症の推移を解析した (Fig. 3A)。その結果、wild type parasites を感染させた

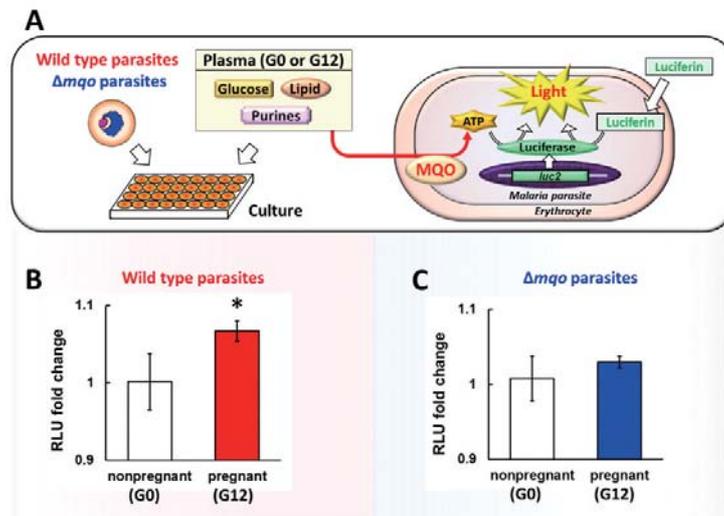


Figure 4 The effect of MQO-deficiency on the parasite viability

妊娠マウスの原虫血症は、非妊娠マウスと比較して、感染後4日目から有意に増悪した (Fig. 3B)。一方、 $\Delta mqo$  parasites を感染させた妊娠マウスの原虫血症は、感染後5日目まで有意な増悪が認められなかった (Fig. 3C)。これらの結果から、妊娠中のマラリアの病態の重症化にはマラリア原虫のフマル酸回路が関与することが示唆された。

## (2) 妊娠中の血漿成分の変化とマラリア原虫の代謝活性との関係

妊娠中は、胎児に十分な栄養を供給するために母体の血中グルコース循環量や脂質成分が変化することから、血漿成分の変化がマラリア原虫の代謝活性を増加させると推測される。そこで、妊娠中の血漿成分の変化とマラリア原虫の代謝活性との関係を明らかにするために、マウスマラリア原虫を非妊娠マウスの血漿と交配後12日目および19日目の妊娠マウスの血漿それぞれと共培養した (Fig. 4A)。培養後3時間目におけるマラリア原虫内のATP量の変化を、ルシフェラーゼ・ルシフェリン反応により測定した (Fig. 4A)。測定の結果、交配後12日目の妊娠マウスの血漿と共培養したマラリア原虫内のATP量は、非妊娠マウスの血漿と共培養したマラリア原虫内のATP量と比較して有意に増加した (Fig. 4B)。一方、交配後19日目の妊娠マウスの血漿と共培養したマラリア原虫内のATP量は、非妊娠マウスと比較して有意な増加は認められなかった (data not shown)。これらの結果から、妊娠中の血漿成分の変化によってマラリア原虫の代謝活性が増加することが示された。

妊娠マウスの血漿におけるマラリア原虫のエネルギー産生量の増加とフマル酸回路との関係を明らかにするために、 $\Delta mqo$  parasites を非妊娠マウスの血漿と交配後12日

目の妊娠マウスの血漿それぞれと共培養し、細胞内ATP量の変化を解析した。その結果、交配後12日目の妊娠マウスの血漿と共培養した $\Delta mqo$  parasites 内のATP量は、非妊娠マウスの血漿と比較して有意な増加は認められなかった (Fig. 4C)。これらの結果から、交配後12日目の妊娠マウスの血漿におけるマラリア原虫内のATP量の増加には、フマル酸回路が関与することが示された。

妊娠中のマラリアの病態の重症化は、妊娠による免疫抑制が主な原因であると考えられてきた。一方、本研究によって、マラリア原虫のフマル酸回路が関与する新たな病態重症化機構の存在が示唆された。今後、マラリア原虫のフマル酸回路が関与する病態重症化を詳細に研究することで、妊娠中のマラリアの早期診断法や治療法の開発のための新たな知見が得られると期待される。

## 引用文献

- 1) Niikura M, Inoue SI, Mineo S, Asahi H, Kobayashi F. 2017. IFNGR1 signaling is associated with adverse pregnancy outcomes during infection with malaria parasites. *PLoS One* 12: e0185392.
- 2) Nakada D, Oguro H, Levi BP, Ryan N, Kitano A, Saitoh Y, et al. 2014. Oestrogen increases haematopoietic stem-cell self-renewal in females and during pregnancy. *Nature* 505: 555-558.
- 3) Srivastava A, Creek DJ, Evans KJ, De Souza D, Schofield L, Muller S, et al. 2015. Host reticulocytes provide metabolic reservoirs that can be exploited by malaria parasites. *PLoS Pathog* 11: e1004882.
- 4) Niikura M, Komatsuya K, Inoue SI, Matsuda R, Asahi H, Inaoka DK, et al. 2017. Suppression of experimental cerebral malaria by disruption of malate: quinone oxidoreductase. *Malar J* 16: 247.