

博士（獣医学） モハメド アルムギル フセイン

学位論文題名

The role of erythrocyte 5'-nucleotidase in the multiplication
of *Babesia gibsoni* in canine reticulocytes

(*Babesia gibsoni* の犬網状赤血球内増殖における
赤血球 5'ヌクレオチダーゼの役割)

学位論文内容の要旨

Babesia gibsoni は犬科の動物に感染し、溶血性貧血を主症状とするバベシア症を引き起こすが、本疾患の複雑な病態を惹起する様々な要因については、いまだ完全には解明されていない。本研究では、網状赤血球の成熟に関与すると考えられる赤血球 5'-ヌクレオチダーゼについて、*in vitro* での *B. gibsoni* 原虫増殖と本酵素との関係を明らかにするとともに、犬バベシア症における本酵素の役割について考察した。

初めに、犬および各種哺乳動物の赤血球 5'-ヌクレオチダーゼの特徴をヒトの酵素と比較して調べた。ヒトのピリミジン 5'-ヌクレオチダーゼアイソザイム I (P5N-I) の特異的基質であるシチジン 5'-モノリン酸 (5'-CMP) およびウリジン 5'-モノリン酸を用いて、犬の赤血球 5'-ヌクレオチダーゼを測定したこと、犬の酵素もヒト酵素と同様にこれらの基質をよく水解した。また、犬の赤血球 5'-ヌクレオチダーゼは、ヒト P5N-II の特異基質であるチミジン 3'-モノリン酸もよく水解した。したがって、犬赤血球はヒトの P5N-I および P5N-II に類似したアイソザイムを有していることが示唆された。さらに、犬赤血球はイノシン 5'-モノリン酸 (5'-IMP) などのプリンヌクレオチドを触媒する活性も有していたため、ヒトのプリン特異性 5'-ヌクレオチダーゼに相当する酵素も有していることが示唆された。一方、犬および各種動物の網状赤血球数はそれぞれの赤血球 P5N-I 活性と比例関係にあったため、哺乳動物の網状赤血球の成熟には P5N-I 活性が重要な役割を果たしていると考えられた。

次に、上記の実験により明らかにされた犬の赤血球 5'-ヌクレオチダーゼの特徴を基にして、本酵素と *B. gibsoni* 原虫増殖との関係を調べた。*B. gibsoni* 慢性感染犬血清は、網状赤血球の成熟ならびに P5N-I およびプリン特異性 5'-ヌクレオチダーゼ活性を同時に阻害する効果を有していた。また、*in vitro* での *B. gibsoni* 原虫の増殖はこれらの酵素活性を有意に低下させた。P5N-I の特異的阻害物質であり網状赤血球の成熟も遅延させる鉛を用いて前処理した赤血球では、*B. gibsoni* の増殖が有意に阻害された。さらに、5'-CMP などのピリミジンヌクレオチドは網状赤血球の成熟を遅延させると同時に、原虫増殖も有意に阻害した。5'-IMP などのプリンヌクレオチドも原虫増殖を阻害した。これらの成績から、*B. gibsoni* 感染によって赤血球 5'-ヌクレオチダーゼ活性が低下し、5'-CMP や 5'-IMP などのヌクレオチドが赤血球や血清に蓄積し、その結果として原虫増殖が阻害され、同時に網状赤血球の成熟が遅延するものと推測された。

本研究で得られた成績は、犬バベシア症における原虫低寄生率と網状赤血球症との関連を解明する上においても重要な知見と考えられた。

学位論文審査の要旨

主　查　教　授　前　出　吉　光
副　查　教　授　小　沼　操
副　查　教　授　稻　葉　陸
副　查　講　師　大　和　修

学　位　論　文　題　名

The role of erythrocyte 5'-nucleotidase in the multiplication
of *Babesia gibsoni* in canine reticulocytes

(*Babesia gibsoni* の犬網状赤血球内増殖における
赤血球 5' ヌクレオチダーゼの役割)

標記博士論文は、網状赤血球の成熟に関与すると考えられる赤血球 5'-ヌクレオチダーゼについて、*in vitro* での *Babesia gibsoni* 原虫増殖と本酵素との関係を明らかにするとともに、犬バベシア症の貧血発生における本酵素の役割を検討したものである。

最初に、犬および各種哺乳動物の赤血球 5'-ヌクレオチダーゼの特徴がヒトの酵素と比較して調べられた。その結果、犬赤血球はヒトのピリミジン 5'-ヌクレオチダーゼアイソザイム I (P5N-I) および同 II (P5N-II) に類似したアイソザイムを有していることが示唆された。さらに、犬赤血球はイノシン 5'-モノリン酸 (5'-IMP) などのプリンヌクレオチドを触媒する活性も有していたため、ヒトのプリン特異性 5'-ヌクレオチダーゼに相当する酵素も有していることが示唆された。一方、犬および各種動物の網状赤血球数はそれぞれの赤血球 P5N-I 活性と比例関係にあったため、哺乳動物の網状赤血球の成熟には P5N-I 活性が重要な役割を果たしていると考えられた。

ついで、上記の実験により明らかにされた犬の赤血球 5'-ヌクレオチダーゼについて、同酵素と *B. gibsoni* 原虫増殖との関係が調べられた。*B. gibsoni* 慢性感染犬血清は、網状赤血球の成熟ならびに P5N-I およびプリン特異性 5'-ヌクレオチダーゼ活性を同時に阻害する作用を有していた。また、*in vitro* での *B. gibsoni* 原虫の増殖はこれらの酵素活性を有意に低下させた。P5N-I の特異的阻害物質であり網状赤血球の成熟も遅延させる鉛を用いて前処理した赤血球では、*B. gibsoni* の増殖が有意に阻害された。さらに、シチジン 5'-モノリン酸 (5'-CMP) などのピリミジンヌクレオチドは網状赤血球の成熟を遅延させると同時に、原虫増殖も有意に阻害した。5'-IMP などのプリンヌクレオチドも原虫増殖を阻害した。以上の成績から、*B. gibsoni* 感染によって赤血球 5'-ヌクレオチダーゼ活性が低下し、5'-CMP や 5'-IMP などのヌクレオチドが赤血球や血清に蓄積し、その結果として原虫増殖が阻害され、同時に網状赤血球の成熟が遅延するものと推測された。

以上のように本論文は、*Babesia gibsoni* 増殖および網状赤血球成熟に及ぼす赤血球 5'-

ヌクレオチダーゼの役割の一端を明らかにしたものであり、犬のバベシア感染症の病態解明に大きく寄与するものと考えられる。よって審査員一同はモハメド・アルムギル・フセイン氏が提出した上記博士論文は本学大学院獣医学研究科が規定する本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。