

Title	Platelet Apoptosis and Apoptotic Platelet Clearance by Macrophages in Secondary Dengue Virus Infections
Author(s)	Maria, Terrese Galvez Alonzo
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58962">https://hdl.handle.net/11094/58962</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【39】

氏名	マリア テリセ ガルベズ アロンゾ Maria Terrese Galvez Alonzo
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 25085 号
学位授与年月日	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学位論文名	Platelet Apoptosis and Apoptotic Platelet Clearance by Macrophages in Secondary Dengue Virus Infections (デング二次感染における血小板アポトーシスとその貪食クリアランス)
論文審査委員	(主査) 教授 大石 和徳 (副査) 教授 生田 和良 教授 朝野 和典

## 論文内容の要旨

## 〔 目 的 〕

Dengue virus (DV) is a mosquito-borne human viral pathogen with 4 distinct serotypes, DV1-4. Secondary DV infections are characterized by patients who had previous infection with another DV serotype in the past, and these are commonly observed in DV-endemic areas. Transient thrombocytopenia associated with acute febrile illness and hemorrhagic manifestations is the hallmark of DV infections. Although DV-induced bone marrow suppression decreases platelet synthesis, the precise immune

mechanisms underlying thrombocytopenia remain unclear. The objective of our study is to determine the association of platelet apoptosis with increased platelet phagocytosis, to examine whether accelerated platelet phagocytosis is mediated through a phosphatidylserine (PS)-recognition pathway and to investigate the role of apoptotic platelet clearance in patients with secondary DV infections.

## 〔 方法ならびに成績 〕

A prospective hospital-based study was conducted to examine the relationships between platelet counts, serum thrombopoietin (TPO) levels, platelet apoptosis and platelet phagocytosis in 81 patients with secondary DV infections and 38 healthy volunteers (HVs). Apoptosis and phagocytosis of cultured platelets after exposure to DV were also examined.

Platelet apoptosis, platelet phagocytosis and serum TPO levels were increased significantly in patients during the acute and early convalescence phases compared with those observed in patients during the convalescence phase and in HVs. A significant correlation between platelet apoptosis and platelet phagocytosis was also observed in these patients. Moreover, platelet phagocytosis was inhibited significantly by the D89E mutant of milk fat globule-epidermal growth factor 8 (MFG-E8), a PS-recognizing bridge molecule. These DV-induced platelet apoptosis and apoptotic platelet clearance was confirmed using in vitro assays.

## 〔 総 括 〕

Our data suggest an increased phagocytosis of DV-induced apoptotic platelets by macrophages via PS-recognizing pathway in secondary DV infection. Our in vitro data confirmed that platelet apoptosis and clearance can be specifically induced by DV exposure. The accelerated platelet clearance however, was overcome by the TPO-induced enhanced thrombopoiesis in these patients.

## 論文審査の結果の要旨

デングは熱帯・亜熱帯地域における重大な公衆衛生上の問題である。1960年代に重症例の骨髓巨核球低形成の報告があるが、本症における血小板減少機序は十分に解明されていない。また、我々はこれまでに本症における血小板貪食クリアランスが亢進していることを報告した。

フィリピン、サンラザロ病院において2009-2010年の期間に10歳以上の81例のデング二次感染症例を登録し、デングショック症候群は除外した。末梢血小板数、血中thrombopoietin (TPO)、フローサイトメトリー法による血小板アポトーシス、*ex vivo*の系によるマクロファージによる血小板貪食を急性期(発症から4日)、回復早期(発症から8日)、回復期(発症から12-15日)に測定した。また、38例の年齢をマッチした健常者を登録し、同様の検査を実施した。血小板貪食阻害実験にはフォスファチジルセリン(PS)を認識する架橋分子であるMFG-E8の変異蛋白質D89Eを用いた。

血小板アポトーシス(%)、血小板貪食率、血中TPOは急性期、回復早期に回復期や健常者より有意に増加した。末梢血アポトーシス血小板数は、急性期ではなく、回復早期や回復期に、健常者に比較して有意に増加した。急性期と回復期早期の血小板アポトーシス(%)と血小板貪食率は有意に相関した。また、血小板貪食はD89Eにより有意に低下した。In vitroの系でもDVによる血小板アポトーシスが認められたが、日本脳炎ウイルスでは認められなかった。本症において、末梢血アポトーシス血小板が生体内ではPS認識機構を介して貪食クリアランスされることが示唆され、回復期においてはTPOによる血小板産生がこのアポトーシス血小板の貪食

クリアランスを凌駕し、末梢血小板数の正常化に向かうと考えられた。