

(第6号様式)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	KANOI BERNARD NG'ANG'A
審査委員	主査 坪井 敬文 副査 林 秀則 副査 澤崎 達也

論文名

Naturally acquired immunity to *Plasmodium falciparum* malaria: profiling antibody responses for novel vaccine antigen discovery

審査結果の要旨

マラリアは、ハマダラカによって媒介され、マラリア原虫によって引き起こされる感染症であり、熱帯・亜熱帯地域に分布し、2016年現在で毎年2億人以上が罹患し約43万人が死亡している。世界保健機関は、1950年代からマラリア治療薬および殺虫剤を用いて世界規模でマラリア対策を進めてきた。しかし、治療薬耐性のマラリア原虫や、殺虫剤耐性のハマダラカが蔓延したためマラリア対策は困難に直面していた。そこで、新たな対策としてマラリアワクチンの開発が国際的に進められてきたが、未だ実用化に至っていない。その理由として、これまでマラリアワクチン候補として研究されてきた原虫タンパク質の数が限られていた事があげられる。2002年にマラリアゲノム情報が公開され、新たなワクチン候補の同定が期待された。しかし、大腸菌等の従前の技術ではマラリア原虫の組換えタンパク質合成が困難であったため、研究は進んでいなかった。近年、愛媛大学で開発されたコムギ胚芽無細胞タンパク質合成技術を用いることにより、マラリア組換えタンパク質合成の効率ならびにその品質が飛躍的に向上することが判明した。

そこで申請者は、新規マラリアワクチン候補タンパク質の探索を行うため、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成法を用いて、熱帯熱マラリア原虫ゲノムの30%以上をカバーする1827種の組換えタンパク質を合成した。このタンパク質ライブラリーと、ウガンダのマラリア流行地住民66名から得られた血清との反応性を、ハイスループットタンパク質間相互作用解析技術であるAlphaScreenを用いてスクリーニングし、各タンパク質に対する抗体価と当該住民のマラリアに対する抵抗性が相関するマラリア原虫タンパク質を探索した。

まず、1827種の組換えタンパク質中938種(51%)が66名のウガンダ人血清と反応し、それらのヒトに対する抗原性が確認された。この結果は、大腸菌で合成した熱帯熱マラリア原虫タンパク質を用いた先行研究で報告された約20%の抗原性よりもはるかに高く、コムギ胚芽無細胞系で合成した組換えタンパク質の品質の高さを実証するものであった。次に、これら938種類のタンパク質からマラリアワクチン候補抗原を探索するために、抗体価がマラリアに対する抵抗性と相関するタンパク質を解析した。その結果、128種の熱帯熱マラリア原虫タンパク質に対して抗

体価が高ければ、マラリアに罹患しにくいことが明らかとなった。また、その内 53 種類のタンパク質にはシグナル配列もしくは膜貫通領域が予測されており、マラリア原虫から分泌されるか原虫表面に局在するタンパク質であり、マラリアワクチン候補と考えられた。その 53 種類の中には、赤血球侵入ステージ原虫であるメロゾイトの表面に局在するタンパク質 MSP8、MSRP5、メロゾイトが赤血球侵入する際に用いるタンパク質を貯蔵している小器官ロプトリーに存在するタンパク質 RON4、等が含まれていた。また、肝臓侵入ステージ原虫であるスポロゾイトに発現する SIAP-2、TRAP、CelTOS と呼ばれているタンパク質も同定された。これらは、いずれも先行研究ではマラリアの発病を予防するワクチン候補抗原としては着目されておらず、本研究によって世界で初めて同定されたものである。さらに、これまでワクチン候補としては着目されていなかった新規の原虫タンパク質が 8 種も同定された。次に、現在マラリアワクチン開発においては、単一の抗原よりも複数の抗原の組合せがより有効と予想されているが、その実証研究は行われていない。そこで申請者は、何種類の抗原に対する抗体価を組み合わせると防御効果が高くなるのかデータ解析を実施した。その結果、1つの抗原よりは2つの抗原を組み合わせの方が、予測される防御効果が76%から83%に上昇し、この傾向は30種類の組合せで100%にまで上昇することが示唆された。以上より、愛媛大学で開発されたコムギ胚芽無細胞タンパク質合成技術及びAlphaScreenを応用したハイスループット免疫スクリーニング技術は、ポストゲノムの新規マラリアワクチン候補探索に有用と考えられた。

新規のマラリアワクチン候補タンパク質を多数同定した本研究は、マラリア制圧に向けワクチンが切望されている現在、時宜を得たものと言える。また本研究成果は、大腸菌等これまでの技術では組換えタンパク質の作製が困難を極めており、新規候補タンパク質探索に関する研究がほとんどなされていなかったマラリアワクチン研究に、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成技術の優位性を示した実施例としても国際的に注目されている。

以上のように、本研究は分子生物学、生命科学において高い学術的価値があると考えられる。従って、本論文は博士（工学）の学位論文として十分価値があると判定した。