

学位論文審査結果の要旨

氏名	Niwat Kangwanrangsarn
審査委員	主査 山下 政克 副査 日浅 陽一 副査 小笠原 正人 副査 丹司 望 副査 加納 誠

論文名

マラリア原虫オオキネート表面に発現する新規 CPW-WPC ファミリータンパク質の同定
審査結果の要旨 (2,000 字以内)

【背景と目的】

マラリアコントロールの為の様々な政策にも関わらず、現在でも世界では年間70万人がマラリア感染によって死亡している。抗マラリア薬は複数開発されているものの、薬剤耐性原虫の出現などによりその効果は限定的である。一方で、赤血球感染ステージ原虫の複数の抗原を標的にしたワクチン開発が進められているが、感染流行地において十分な効果が認められるものは未だ見いだされていない。このような現状を踏まえて、近年、媒介蚊によるマラリア原虫の伝播を阻止しようとする「伝播阻止法」の開発とそれによるマラリア撲滅の可能性に大きな期待が寄せられている。伝播阻止ワクチン開発の為には、複数の候補抗原を見いだすことが必須であるが、これまでマラリア原虫の有性生殖期や蚊の体内での生物学的解析は大きく立ち後れていた。本論文は、侵入型原虫であるオオキネート表面に発現する分子を同定することで、新規伝播阻止ワクチン候補抗原を探索しようとするものである。

【結果及び考察】

申請者らは、オオキネート表面に発現する分子を同定するため、DOZI (development of zygote inhibited) や CITH (homoog of worm CAR-I and fly Trailer Hitch) と呼ばれるリボ核タンパク質により発現調節を受けている分子群に着目して検索を行い、分泌シグナルと CPW-WPC と呼ばれる機能未知の繰り返しドメインを有すファミリー遺伝子の存在を見いだした。ファミリーは7遺伝子からなり、このうちの1つを PyCPW-WPC-1 と命名し、続く解析を行った。

RT-PCR による遺伝子発現時期の解析の結果、PyCPW-WPC-1 を含む CPW-WPC ファミリー分子は生殖母体・生殖体で強い mRNA 発現が認められたが、その後は虫体の発育に伴って発現

は低下し、成熟オーキネートではほとんど検出されなくなった。コムギ胚芽無細胞タンパク質合成法を用いてネズミマラリア原虫 (*Plasmodium yoelii* XNL) の組換え PyCPW-WPC-1 を合成し、これを抗原としてマウスを免疫して特異抗体を作製した。特異抗体を用いたウエスタンブロット法により、PyCPW-WPC-1 は融合体・オーキネートにおいてタンパク質の発現上昇が検出されたことから、翻訳調節を受けていることが示された。また、蛍光抗体法によって、PyCPW-WPC-1 が接合体やオオキネートの表面に局在することが明らかとなった。以上のことから、PyCPW-WPC-1 は接合体・オオキネートの表面に特異的に発現するタンパク質であることが示された。

次に、PyCPW-WPC-1 の機能解析を行うために、相同組換え法により PyCPW-WPC-1 遺伝子欠損マラリア原虫を作出した。しかしながら、PyCPW-WPC-1 遺伝子欠損マラリア原虫においてオオキネートの形成、蚊の消化管壁の侵入および通過、さらにオオシスト形成に影響は認められなかった。他の CPW-WPC ファミリー分子が機能を相補している可能性が考えられるため、今後は、他のメンバー分子の発現解析、およびダブルノックアウト原虫の作成などによって、CPW-WPC ファミリーの機能を明らかにしていくとともに、抗 CPW-WPC-1 抗体が伝播を阻止できるか否かの解析を行う。

【結語】

本研究により、媒介蚊の体内においてマラリア原虫の接合体およびオオキネートの表面に局在する新規マラリア原虫分子を見いだした。今後、伝播阻止ワクチン開発のための抗原候補となりうることを期待できる。

申請者は、マラリアの生活環、伝播阻止ワクチンの概要、今回の方法と結果について説明した後、今後の課題について考察した。審査員からは、将来的に伝播阻止ワクチンの開発につながりうる基礎研究成果であるとの評価があった。質疑応答では、IgG クラスの抗体の誘導で伝播阻止が十分おこなえるのか [これまでの P25 を標的とした先行しているワクチン開発の結果から、IgG で十分だと考える]、PyCPW-WPC-1 タンパク質の細胞膜表面局在のメカニズム [分泌蛋白であるが細胞表面に局在が見られるのは、分泌後、細胞表面にとどまる何らかのメカニズムがあると想像されるので、現在、解析を進めている]、PyCPW-WPC-1 mRNA 発現とタンパク質発現の違いが本当に Post-transcriptional regulation による制御なのか [DOZI 依存的なタンパク質発現が確認できたので、そう考えている]、実験方法やメカニズムの詳細について解説してほしい等の質問に対し、申請者はこれからの展望を含めて明確に応答した。 [カッコ内が応答の内容]。

審査委員は本論文を高く評価し、全員一致して博士 (医学) の学位に値すると判断した。