

学 位 論 文 要 旨

氏 名 橘 真由美

論 文 名 マラリア原虫の雄性生殖体表面に発現する新規伝搬阻止ワクチン候補抗原 (PyMiGS) の同定と機能解析

学位論文要旨

【背景と目的】

マラリア制圧をめざした様々な政策が施行されているが、現在でも年間 45 万人がマラリアによって死亡している。既に有効な抗マラリア薬が臨床応用されているが、マラリア制圧を加速し、薬剤耐性原虫の出現に対応する手段として、マラリアワクチンの開発が進められてきた。これまで肝細胞期や赤血球期のマラリア原虫を標的とするワクチン開発が行われてきたが、未だ十分な効果を認めるものは見いだされていない。近年、媒介蚊による伝搬を阻害することによるマラリア制圧が有望視され、マラリア伝搬阻止ワクチンへの期待が高まっているが、有効なワクチン抗原は見いだされていない。哺乳類宿主の赤血球に寄生するマラリア原虫は、吸血によって媒介蚊の消化管に取り込まれると、雌雄の生殖母体が赤血球から脱出して、直ちに雌雄の生殖体に分化し、有性生殖の後にオオキネートと呼ばれる侵入型原虫へ発育、消化管壁の外側に出て哺乳類宿主への感染型に分化・増殖する。申請者は、ネズミマラリア (*Plasmodium yoelii*) をモデルとして研究を行い、雄の生殖母体および生殖体に特異的に発現する新規の分子 PyMiGS を見出した。本論文は、PyMiGS の遺伝子欠損原虫を作出し、その表現型の変化を観察することで PyMiGS の詳細な機能解析を行い、さらに PyMiGS のマラリア伝搬阻止ワクチン抗原としての可能性を検定することを目的として実施した。

【結果及び考察】

1) PyMiGS はマラリア原虫の雄性生殖母体と雄性生殖体に特異的に発現する

PyMiGSのC末端側の膜貫通ドメインとN末端側の分泌シグナルを除いたほぼ全長のcDNAを鋳型として、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成法を用いて組換えタンパク質を合成した。組換えPyMiGSを用いてウサギを免疫して作製した特異抗体を用い、原虫におけるPyMiGSの発現様式の解析をおこなった。間接蛍光抗体法およびWestern-blot法により、PyMiGSは赤血球内で

増殖する原虫には発現せず、吸血した媒介蚊の中腸内で発育する雄性生殖母体と雄性生殖体において特異的に発現することを見いだした。また、免疫電子顕微鏡法による詳細な局在解析から、PyMiGSは雄性生殖母体ではosmiophilic body (mOB) とよばれる分泌顆粒内に局在し、更に発育した雄性生殖体では虫体表面に局在することを明らかにした。

2) PyMiGSは雄性生殖母体のmOBの形成に重要であり、雄性生殖体の放出に関与する

PyMiGS分子の機能解析を行うため、PyMiGS遺伝子欠損原虫を作出して、野生株との表現型の変化を詳細に検討した。その結果、PyMiGS遺伝子欠損原虫においては、雌性生殖母体のosmiophilic body (fOB) が野生株と同様に形成されるのに対し、雄性生殖母体ではmOBの形成が野生株に比較して著しく減少する所見が認められ、PyMiGS がmOBの形成に重要であることが明らかになった。また、蚊の中腸内の発育条件を模した培地を添加して活性化した雄性生殖母体から精子様の生殖体が放出される現象 (exflagellation) を観察すると、PyMiGS遺伝子欠損原虫では野生株に比較してexflagellation centerの数が有意に減少することが判明した。この結果は、活性化した雄性生殖母体から生殖体が放出される際に、PyMiGSが何らかの機能を果たすことを示している。

3) 抗PyMiGS抗体は蚊体内における原虫の発育を阻害する

マラリア原虫 (*P. yoelii*) に感染させたマウスを、抗PyMiGS抗体またはコントロール抗体で受動免疫させる前と後に、それぞれ約30匹の媒介蚊に吸血させ、その4日後に蚊を解剖して蚊の消化管外壁で発育する原虫数を計測した。コントロール抗体を用いた実験では、受動免疫の前と後で吸血させた蚊の消化管外壁で発育する原虫数はそれぞれ1匹あたり400~500個で有意な差は認められなかった。他方、抗PyMiGS抗体を用いた実験では、受動免疫の前に吸血させた蚊の体内の原虫数はコントロール抗体とほぼ同等の感染であったのに対し、受動免疫後に吸血させた蚊では原虫数が著しく減少し、99%以上の発育阻害効果が認められた。この結果は、PyMiGSが有望な新規マラリア伝搬阻止ワクチン候補抗原である可能性を示している。

【結語】

本論文において、申請者はマラリア媒介蚊の体内で発育する雄性生殖体の虫体表面に局在する新規分子 (PyMiGS) の詳細な性状解析を行うと共に、抗 PyMiGS 抗体が媒介蚊の体内で強いマラリア伝搬阻止活性を有することを明らかにし、本分子がマラリアの新規伝搬阻止ワクチン候補抗原となりうることを示した。

キーワード (3~5)

マラリア、伝搬阻止ワクチン、生殖体、遺伝子欠損原虫