

学位論文審査結果の要旨

氏名	橘 真由美
審査委員	主査 日浅 陽一 副査 東山 繁樹 副査 長谷川 均 副査 田内 久道 副査 武森 信暁

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

審査結果の要旨

【背景と目的】

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。橘氏は、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。同氏は、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 の詳細な機能を解析した。また PyMiGS のマラリア伝搬阻止ワクチン抗原としての可能性について検討することを研究の目的とした。

【結果及び考察】

コムギ胚芽無細胞タンパク質合成法を用いて 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 を鋳型として組換えタンパク質を合成した。この組換え PyMiGS を用いてウサギを免疫して特異抗体を作成し、原虫における PyMiGS の発現様式を解析した。その結果、間接蛍光抗体法および Western-blot 法より、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し、免疫電子顕微鏡法による局在解析より雄性生殖母体で osmiophilic body (mOB) とよばれる分泌顆粒内に局在し、発育した雄性生殖体では虫体表面に局在することを同定した。

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検討した結果、PyMiGS 遺伝子欠損原虫において雄性生殖母体の 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) の観察により、PyMiGS 遺伝子欠損原虫では野生株に比較して exflagellation center の数が有意に減少した。これらの結果より、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していることが明らかになった。

また、マラリア伝播阻止ワクチンとしての可能性について検討するため、マウスにマラリア原虫 (*P. yoelii*) を感染させ、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で媒介蚊に吸血させ、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。その結果、抗 PyMiGS 抗体の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。さらに、PyMiGS 抗原を投与し免疫したマウスに *P. yoelii* を感染させそのマウスを蚊に吸血させたところ、蚊の体内においてきわめて強い原虫数の抑制効果がみられた。これらの結果より、PyMiGS が将来的に有望な新規マラリア伝播阻止ワクチン候補抗原となりうる可能性が示唆された。

【結語】

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) を同定し、マラリア生活環の中で、雄性生殖体での虫体表面に局在することを明らかにするとともに、抗 PyMiGS 抗体が媒介蚊の体内で強いマラリア伝播阻止活性をもち、さらに PyMiGS 抗原をマウスに投与して免疫することでマラリア伝播を阻止しうることを明らかにした。これらの結果より、本分子がマラリアの新規伝播阻止ワクチン候補抗原となりうることを示した。

本論文の公開審査会は平成30年7月18日に開催された。申請者は研究内容を明確に英語で発表し、以下の内容を含む多くの質疑に対する確に応答した。主な質疑の内容として、1) ワクチン候補抗原として PyMiGS を選択した理由およびそのストラテジー。2) PyMiGS が雄のみの生殖母体で発現する意義。3) PyMiGS の SDS-PAGE における泳動パターンと免疫電子顕微鏡写真の解釈。4) PyMiGS がヒトにおいて感染伝播阻止ワクチンとして作用する、その作用機序。5) マラリア感染蚊の体内で効果を示すのに必要な抗体濃度、想定される投与抗原量。6) マラリア種および動物種における免疫効果の交叉反応について。7) 将来的にどのような臨床試験を想定しているのか。8) ワクチンとして接種されたヒトにおける直接的なメリット、接種の社会的有効性を得るための方策、などであった。

マラリアの伝播阻止ワクチンの候補蛋白として PyMiGS を同定し、実際に感染モデルにおいてその有効性を証明した本研究は評価される。PyMiGS は、マラリアの感染予防の標的として臨床応用される可能性があり、今後の実用化が期待される。審査委員は、申請者が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力を有することを全員一致で確認し、本論文が博士(医学)の学位論文に値するものと結論した。