

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

令和2年5月18日

採択番号	2019-共同-6		
研究部門	感染免疫研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	福本 晋也
研究課題名	マラリア原虫の媒介蚊体内ステージにおけるオーシスト形成機構の解明		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	いかだい ひろみ 筏井 宏実	北里大学獣医学部・准教授・研究総括	
研究分担者			
	ふくもと しんや 福本 晋也	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	2019年4月1日 ～ 2020年3月31日		
目的・趣旨	<p>マラリア原虫において媒介蚊体内ステージ、特にオーカイネートからオーシスト形成期は、生活環において宿主環境が変化する事にもない原虫の形態を劇的に変化させる。さらに、生存する原虫数が最も減少する時期であることから、原虫の生き残りにとって非常に重要なステージであると推察される。そのオーシスト形成時において、原虫は媒介蚊との相互作用により、オーシスト壁(殻)という特殊な構造物を形成するが、その詳細については不明な点が多い。</p> <p>本共同研究では、オーカイネートからオーシスト形成期への分化、特にマラリア原虫のオーシスト壁形成に着目して、壁に関する新たな生物学的特徴を明らかにするため、オーシスト形成機構の解明を目的とした。</p>		
研究経過の概要	<p>本研究手順は、オーシスト形成期における、①オーシスト壁構成蛋白質の探索、②オーシスト壁構成蛋白質の発現局在や動態および機能解析、③遺伝子組み換え技術を用いた遺伝子欠損(KO)原虫作製などを行い、それら表現型の解析、④原虫オーシスト形成期と媒介蚊中腸細胞の相互因子の解析を行なう事によって実施された。</p> <p>その結果、候補遺伝子の一つがコードする蛋白質(PbCap184)は、オーシスト内部においてスポロゾイトが形成されてから蚊の唾液腺へ移行するまでに機能する蛋白質であると推察された。もう一つの蛋白質(PbCap494)は、オーカイネートの細胞膜表面にも存在し、オーシスト壁構成蛋白質としての機能と、中腸腔内から中腸細胞基底膜下へのオーカイネートの移動に関わる運動性機能をもっていることが示唆された。</p>		

<p>研究成果の概要</p>	<p>候補遺伝子 PbCap184 について KO 原虫作製を試みたが、赤内型において lethal な遺伝子であることが明らかとなった。そこで、スポロゾイト期において発現しないとされる msp-9 プロモーターに置き換えた conditional KO 原虫 (以下 cdKO) を作製し、リアルタイム PCR を用いて各ステージでの mRNA の発現解析を行った。スポロゾイト期では、cdKO 原虫は野生型 (WT) 原虫の半分の発現であった。吸血後 28~30 日目に蚊の唾液腺を摘出し、蚊 1 匹の唾液腺あたりのスポロゾイト形成数を測定したところ、cdKO 原虫のスポロゾイト数は、WT 原虫の 27% となり明らかに減少していた。またスポロゾイト有している蚊を未感染マウスに吸血させたところ、cdKO 原虫のスポロゾイトはマウスに感染しなかった。以上、本遺伝子がコードする蛋白質は、オーシスト内部においてスポロゾイトが形成されてから蚊の唾液腺へ移行するまでに機能する蛋白質であると推察された。</p> <p>もう一つの候補遺伝子 PbCap494 については、KO 原虫と WT 原虫のオーカイネートを培養し、その運動性について比較検討を行ったところ、明らかに移動速度が低下した。次に、その候補蛋白質に対する抗体を作製し、オーカイネートと反応させたところ、抗体によってオーカイネートの運動性が明らかに抑制された。以上、本蛋白質はオーカイネートの細胞膜表面にも存在し、オーシスト壁構成蛋白質としての機能と、蚊の中腸腔内から中腸細胞基底膜下へのオーカイネートの移動に関わる運動性機能をもっていることが示唆された。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>(2019 年学会発表) 中山和彦、北原優、木村勇太、箱崎純、福本晋也、筏井宏実 <i>Plasmodium berghei</i> の PbCap494 タンパク質は ookinete の移動運動に関与する 第 162 回 日本獣医学会学術集会</p> <p>大場裕輔、曾賀 晃、福本晋也、筏井宏実 <i>Plasmodium berghei</i> Cap184 は蚊体内における唾液腺スポロゾイトの数に影響する 第 65 回 日本寄生虫学会・日本衛生動物学会 北日本支部合同大会</p> <p>中山和彦、北原優、木村勇太、箱崎純、曾我晃、福本晋也、筏井宏実 ネズミマラリア原虫 PbCap494 はオーカイネートの運動性およびオーシスト壁形成に関与する 第 42 回 日本分子生物学会</p>