

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2024年5月21日

採択番号	2023-共同-15		
研究部門	国際連携協力部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	河津 信一郎
研究課題名	ヒストン修飾酵素阻害剤によるマラリア原虫増殖阻害とその分子基盤の解明		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	あらか たまさ 荒木 球沙	国立感染症研究所寄生動物部・任期付研究員	
研究分担者	あんのうら たけし 案浦 健	国立感染症研究所寄生動物部・室長	
	かわい さとる 川合 覚	獨協医科大学熱帯病寄生虫病学・教授	
	かわず しんいちろう 河津 信一郎	帯広畜産大学原虫病研究センター・教授	
研究期間	2023年4月1日 ～ 2024年3月31日		
目的・趣旨	<p>本研究では、マラリア原虫の増殖メカニズムを明らかにするために、原虫のヒストンへの化学修飾に着目し、研究を展開している。具体的には、ヒストンの化学修飾を行う酵素を阻害する化合物ライブラリーを独自に調整し、それらを用いてマラリア原虫のすべてのライフステージ(赤内期・肝内期・昆虫体内期)における増殖阻害評価を行う。そして、各発育ステージ間における感受性の差異を明確にし、マラリア原虫のライフサイクル間における、ヒストン化学修飾に関連した増殖制御メカニズムの全貌を明らかにすることを試みる。</p>		
研究経過の概要	<p>申請者の所属する研究室では、すでに独自に調整した、マラリア原虫ヒストン修飾阻害酵素阻害化合物全 200 種類のライブラリーを用いた実験を開始している。赤内型原虫では、ネズミマラリア原虫 (<i>Plasmodium berghei</i> : Pb)、熱帯熱マラリア原虫 (<i>P. falciparum</i>)、サルマラリア原虫 (<i>P. cynomolgi</i>) の増殖阻害効果を確認しており、前年度の共同研究報告書にて報告している。また、熱帯熱マラリア原虫を用いて、ガメトサイト(生殖母体)のみをターゲットとした殺原虫効果の解析も行っている。その結果、ガメトサイト特異的に効果を示す化合物の存在を明らかにしており、赤内型内でもステージ特異的なヒストン修飾酵素の役割の違いが示唆された。そこで、本研究ではガメトサイト期の次のステージである「昆虫体内型」における増殖阻害効果を検討した。昆虫体内型原虫の薬物評価実験系は、化合物を加えたスクロースを事前に給餌させたハマダラカに、Pb 感染血液を吸血させ、14 日後にハマダラカ中腸内のオーシスト数や形態観察を行うことで阻害効果を評価する。</p>		

<p>研究成果の概要</p>	<p>また、感染させる Pb は Luciferase を発現する株を用いることで、Luciferase アッセイにより、オーシストの増殖阻害効果を Luciferase のシグナルとして数値化することが可能である(図1)。</p> <p>本研究の薬剤評価に使用した化合物は、ガメトサイトへ殺滅効果が非常に高かった化合物 SE1・SE2・SE3 を選定した。ネガティブコントロールとしては、DMSO を摂取させた群と感染血を吸血させない 2 群を設定した。結果、大変驚いたことに、ガメトサイトでは非常に強い殺原虫効果を示した 3 化合物であったが、Pb の昆虫体内型では全く効果を示さないことが明らかとなった(図2)。SE1・SE2 は、先の実験にて Pb の赤内型にも非常に強い増殖阻害効果を示していることが明らかとなっている。以上の結果を踏まえると、本結果は、原虫種によるヒストン修飾酵素の違いによるものではなく、マラリア原虫は増殖ステージ特異的にヒストンの修飾を制御していると示唆された。</p> <p>現在、赤内型で増殖阻害効果のあった化合物に関しても、昆虫体内型での検討を行っている。また、肝内型への効果も順次解析を開始しており、本研究の遂行により各発育ステージ間における感受性の差異を明確にし、マラリア原虫のライフサイクルにおける、ヒストン修飾に関連した増殖制御メカニズムの全貌を明らかにすることを試みる。</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="368 860 959 1205"> <p>図1 ヒストン化学修飾酵素阻害剤を用いた昆虫体内型マラリア原虫の評価系の確立</p> </div> <div data-bbox="970 860 1417 1205"> <p>図2 ヒストン化学修飾酵素阻害剤を用いた昆虫体内型マラリア原虫の評価</p> </div> </div>
<p>研究成果の発表</p>	<p>論文発表</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Araki T, Koyama A, Yoshimura H, Arai A, Kawai S, Sekizawa S, Umeki Y, Saito-Nakano Y, Imai T, Okamoto M, Sato M, Thabthimthong W, Kemthong T, Hisaeda H, Malaivijitnond S, Annoura T*. Ultrasensitive malaria detection system for Anopheles mosquito field surveillance using droplet digital PCR. <i>Parasitol Int.</i> 2024 Mar 26;101:102891. doi: 10.1016/j.parint.2024.102891. 2. Tateishi YS, Araki T, Kawai S, Koide S, Umeki Y, Imai T, Saito-Nakano Y, Kikuchi M, Iwama A, Hisaeda H, Coban C, Annoura T*. Histone H3.3 variant plays a critical role on zygote-to-ocyst development in malaria parasites. <i>Parasitol Int.</i> 2024 Jun;100:102856. doi: 10.1016/j.parint.2024.102856.