

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2025 年 5 月 30 日

採択番号	2024 共同-5		
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	マラリア原虫に対するヒストン化学修飾化合物の薬剤評価系の確立		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	あらき たまさ 荒木 球沙	国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 安全管理研究センター/寄生動物・主任研究員	
研究分担者	あんのうら たけし 案浦 健	国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 寄生動物・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	2024 年 4 月 1 日 ～ 2025 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	マラリア原虫の増殖は、ハマダラカ体内、ヒト肝臓細胞内(肝内型)、赤血球内(赤内型)の 3 ステージに分かれ、各段階で異なる増殖制御機構が働くと考えられるが、その分子基盤は未解明な点が多い。申請者らはヒストンの制御機構に着目し、マラリア原虫特有のエピジェネティック制御の特徴を解析してきた。既存の報告では、ヒストン修飾酵素阻害剤によって各ステージで異なる応答が見られるが、その詳細は不明である。昨年度、申請者は独自の阻害化合物ライブラリーを用いて赤内型と肝内型への <i>in vitro</i> 増殖阻害試験を行い、有効な化合物を得た。本申請では、それらを用いた <i>in vivo</i> ライブイメージング解析により、ヒストン修飾を介した原虫増殖制御の解明を目指す。		
研究経過の概要	本申請研究では、申請者らが <i>in vitro</i> 試験により選定したヒストン修飾酵素阻害化合物を用いて、マラリア原虫の肝内型および赤内型に対する増殖阻害効果を <i>in vivo</i> および <i>ex vivo</i> で検証し、ライフサイクル各段階におけるヒストン制御機構と原虫の増殖との関連を明らかにすることを目的とする。具体的には、Luciferase(以下 Luc)発現ネズミマラリア原虫(Pb-GFP;Luc)を用い、マウスへの感染モデルにおいて薬剤投与後の臓器内 Luc シグナルをライブイメージング機器(NEWTON7.0)で測定し、赤内型および肝内型における阻害効果を評価する。また、効果の認められた化合物については、Luc 発現サルマラリア原虫(Pcy-GFP;Luc)を用いたアカゲザル肝臓での <i>ex vivo</i> 評価を実施する。これらの結果をもとに、ヒストン修飾による原虫のステージ特異的な増殖制御メカニズムの解明を目指す。		

研究成果の概要	①Pb-GFP;Lucを用いた NEWTON7.0 によるライブイメージング解析 Pb-GFP;Luc スポロゾイトをマウスに感染させ、感染前日と当日にヒストン修飾酵素阻害剤 sh102 を経口投与し、肝内型原虫に対する効果を検証した。sh102 は、<i>in vitro</i> 肝内型にのみ増殖阻害効果を示し、宿主細胞への毒性が低い化合物である。感染後 48 時間のマウス肝では、Luc シグナルにコントロールとの差は見られず、投与濃度 (3 mg/kg、0.3 mg/kg) にも依存しなかった。しかし、72 時間後、肝内型から赤血球内型への移行時には、Luc シグナルがコントロールと比べて顕著に低下した。このことから、sh102 は肝内型原虫の後期において効果を示す可能性があるが、詳細な作用時期や機序の解析が必要である。赤血球内型で効果を示した他の化合物は細胞毒性が高く、<i>in vivo</i> 評価には不向きであったため、本研究ではまず肝内型を対象とした。今後は、さらに多くの化合物の評価を進め、赤内型でも同様の検討を行い、ヒストン制御因子のマルチステージにおける解析を目指す。 ②Pcy-GFP;Luc 感染アカゲザル肝臓を用いたライブイメージング解析 ヒストン修飾酵素阻害剤の評価に先立ち、既存の抗マalaria薬によるアカゲザル感染モデルでの検証を行った。Pcy-GFP;Luc スポロゾイト感染 6 日後、肝臓で Luc シグナルが確認された。一方、抗マalaria薬を投与した群では、肝臓・血中ともにシグナルは検出されなかった。この結果から、NEWTON 7.0 を用いた薬剤評価系は、サルマalariaでも有効であり、ヒストン修飾酵素阻害剤の評価にも適用可能と考えられる。 図1 Pb-GFP;Lucスポロゾイト感染マウスのライブイメージング解析: <i>in vivo</i> 図2 Pcy-GFP;Luc感染アカゲザル肝臓を用いたライブイメージング解析: <i>ex vivo</i>
研究成果の発表	1 荒木球沙, 小山哲秀, 吉村比呂, 荒井絢子, 川合寛, 関澤秀斗, 梅木優子, 中野由美子, 今井孝, 岡本宗裕, サトウ恵, Wipaporn Thabthimthong, Taratorn Kemthong, 久枝一, Suchinda Malaivijitnond, 案浦健「Droplet Digital PCR を用いたサルマalaria流行地におけるハマダラカの疫学調査」第 94 回 日本寄生虫学会大会, 2025 年 3 月 吹田市. 2 荒木球沙, 角田宗一郎, 川合寛, 小林宏尚, 関澤秀斗, 中野由美子, 久枝一, 案浦健, 「マalaria原虫のユニークな増殖機構とオルガネラ制御メカニズムの解明」第 47 回 日本分子生物学会, 2024 年 12 月 福岡市. 3 荒木球沙, 角田宗一郎, 川合寛, 小林宏尚, 梅木優子, 立石祐樹, 関澤秀斗, 中野由美子, 岡本宗裕, 保富康宏, 久枝一, 案浦健. 「マalaria原虫における増殖メカニズムの解明」第 57 回日本原生生物学会大会, 2024 年 11 月 山口市. 4 荒木球沙, 川合寛, 小林宏尚, 梅木優子, 立石祐樹, 中野由美子, 岡本宗裕, 保富康宏, 久枝一, 案浦健. 「マalaria原虫における <i>ex vivo</i> ライブイメージングシステムを用いた肝内型発育期の解析」日本共生生物学会 第 8 回大会, 2024 年 10 月 筑波大学 つくば市. 5 荒木球沙, 小山哲秀, 吉村比呂, 荒井絢子, 川合寛, 関澤秀斗, 梅木優子, 中野由美子, 今井孝, 岡本宗裕, サトウ恵, Wipaporn Thabthimthong, Taratorn Kemthong, 久枝一, Suchinda Malaivijitnond, 案浦健. 「droplet digital PCR

	を用いた高度サルマラリア流行地域における <i>Anopheles</i> からのマラリア DNA 検出」 第 83 回日本寄生虫学会東日本支部大会/第 75 回日本衛生動物学会東日本支部 大会合同大会, 2024 年 10 月 東京大学 文京区.
--	---