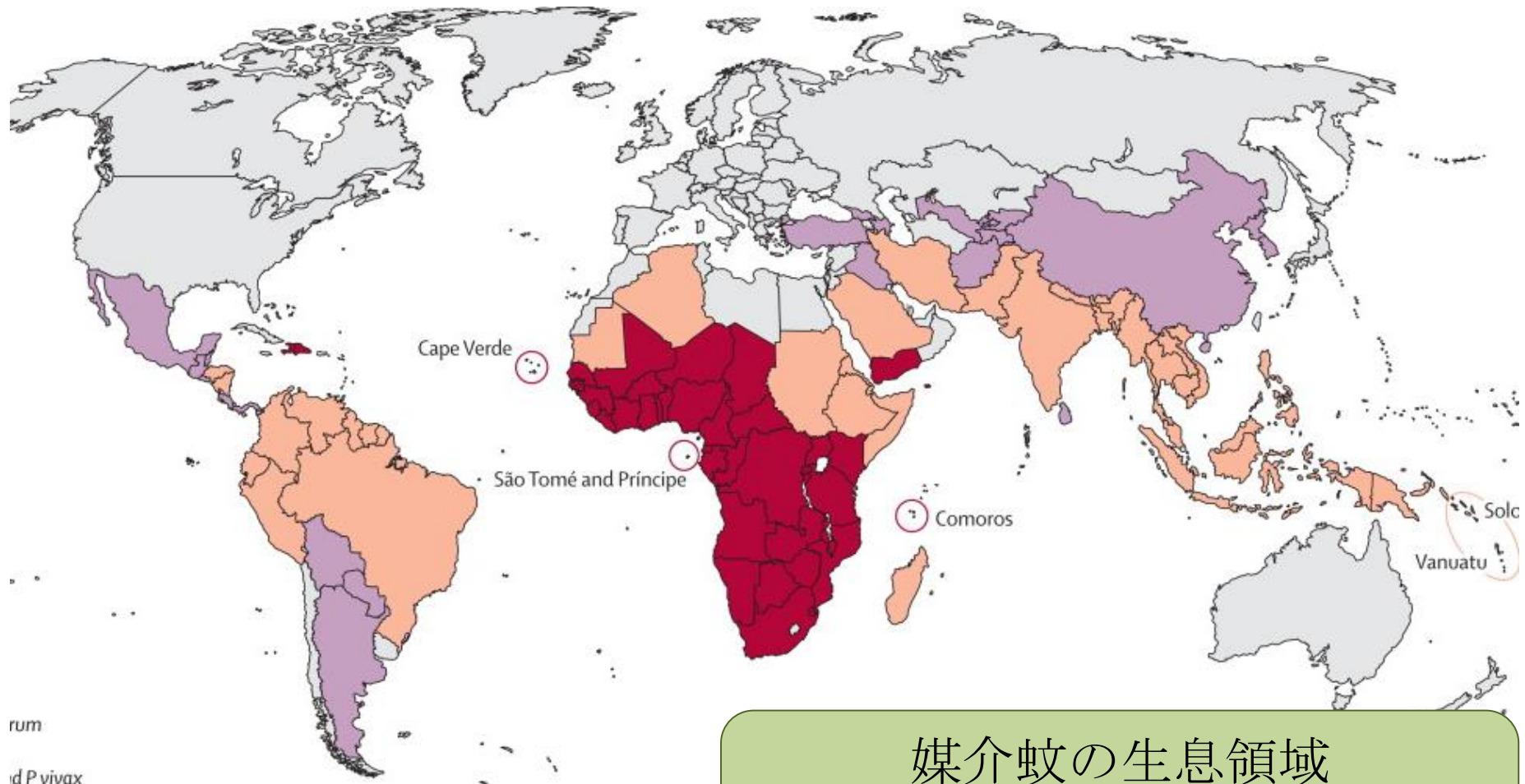


目次

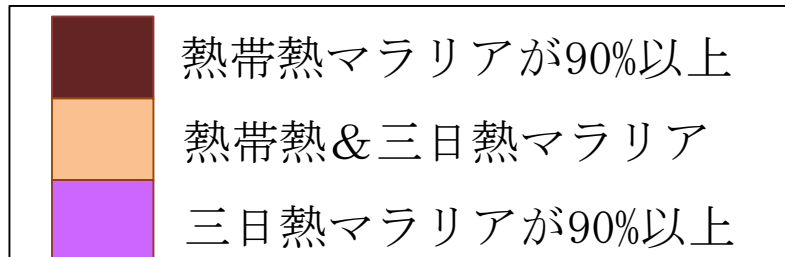
- ・ マラリア原虫の赤血球侵入。免疫回避の方策
1. マラリア原虫の赤血球侵入、そのメカニズム
 2. 人類とマラリアはともに進化してきたのか？
 3. 赤血球侵入を阻止するワクチンは開発できるか？

マラリア原虫種による感染流行地の違い



rum

id *P. vivax*



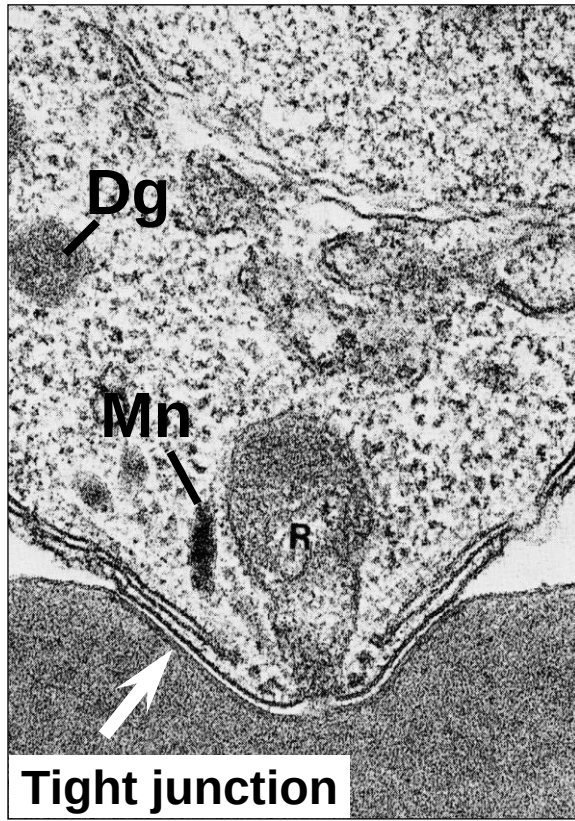
媒介蚊の生息領域

ヒト赤血球上のレセプター

ヒトの赤血球の異常

赤血球膜表面のレセプター分子が、メロゾイト侵入の前のtight junction形成に必須である

Duffy antigen
Positive RBC



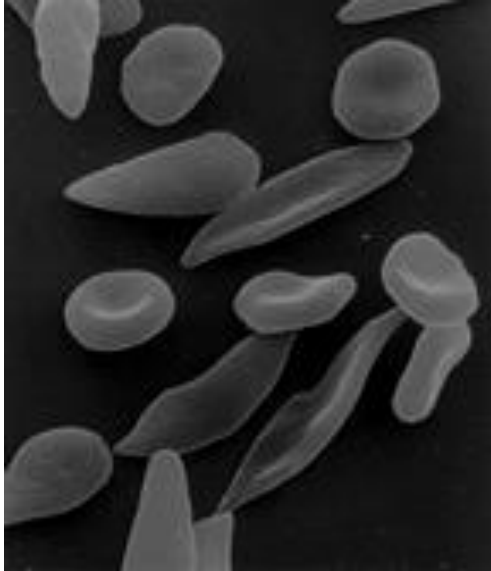
Form the tight junction and
start to invade into RBC

Duffy antigen
Negative RBC



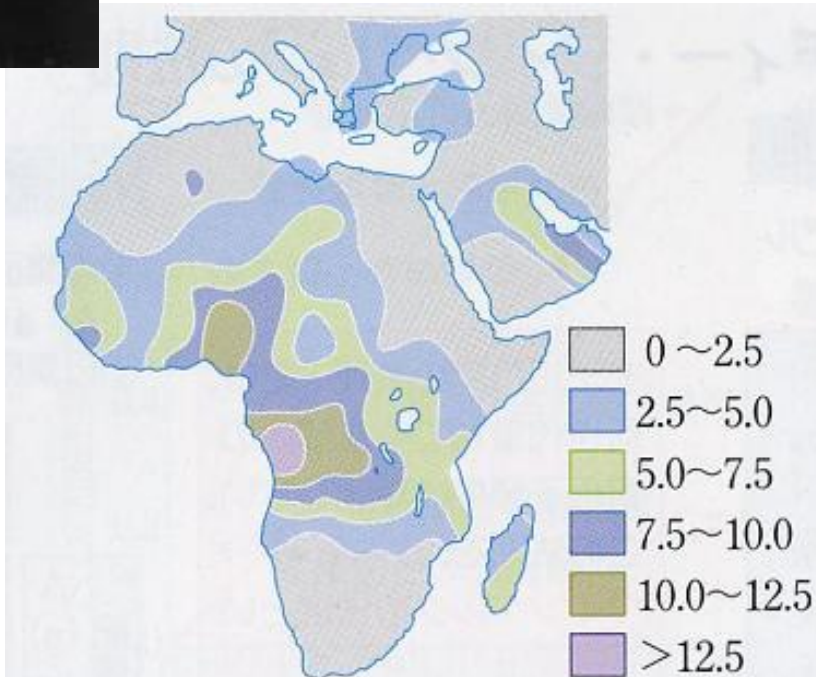
Form only fine fibril but
fail to invade into RBC

鎌状赤血球症について

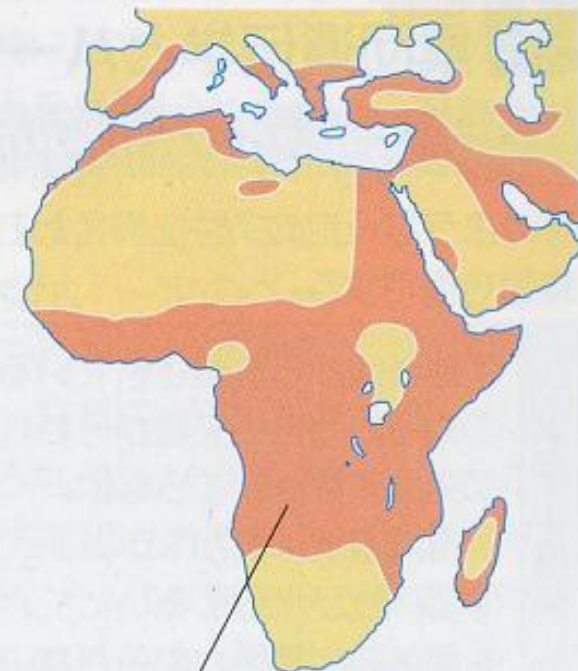


鎌状赤血球症は遺伝性の貧血病で、赤血球の形状が鎌状になり酸素運搬機能が低下して起こる貧血症。

マラリア原虫に感染すると赤血球のpHが低下することにより、赤血球の鎌状化が進む。鎌状化した赤血球は脾臓で除去され、また、鎌状化した赤血球によりマラリア原虫は機械的に壊される。

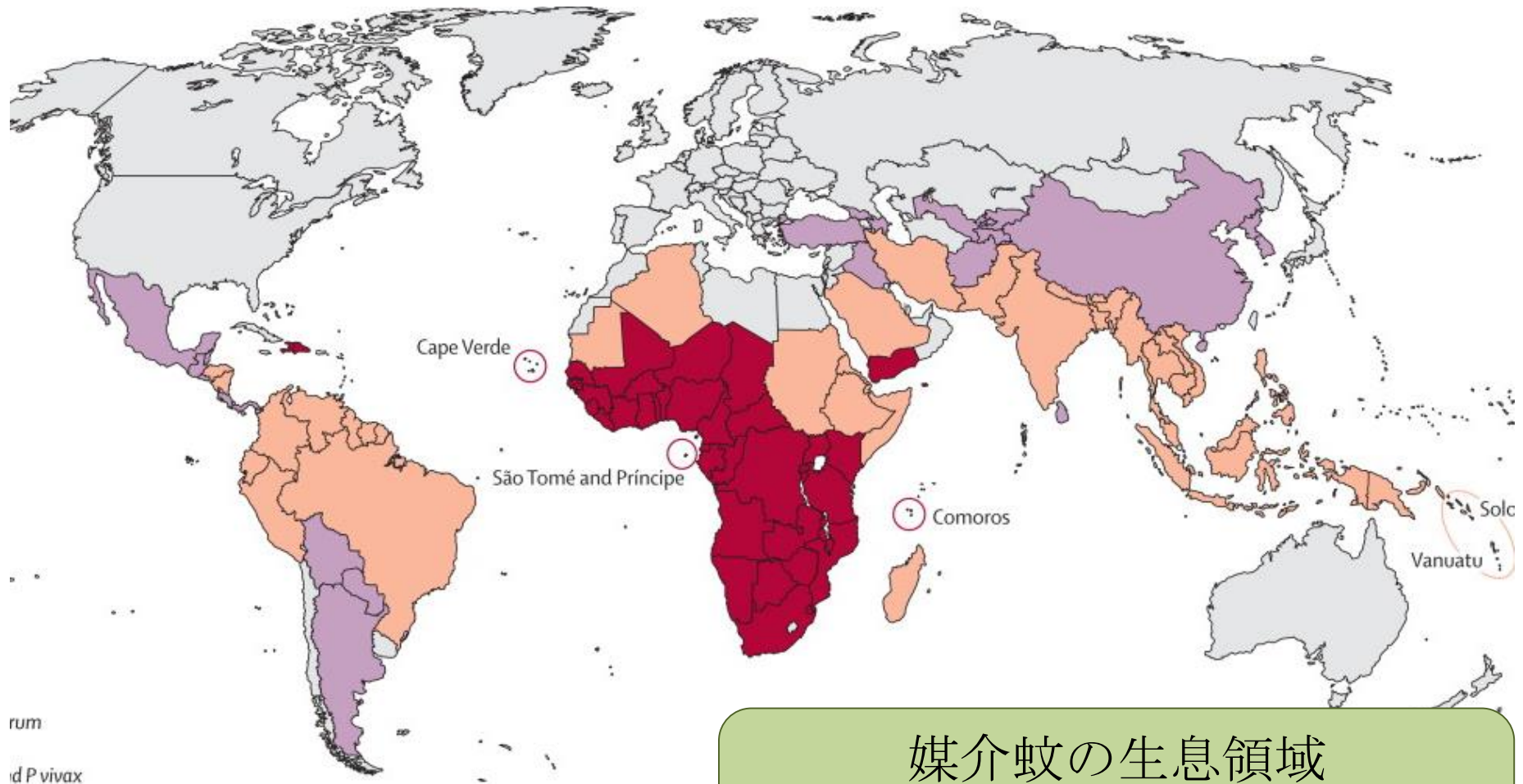


かま状赤血球のヘモグロビンの遺伝子頻度



マラリアの発生地域

マラリア原虫種による感染流行地の違い



熱帯熱マラリアが90%以上
熱帯熱&三日熱マラリア
三日熱マラリアが90%以上

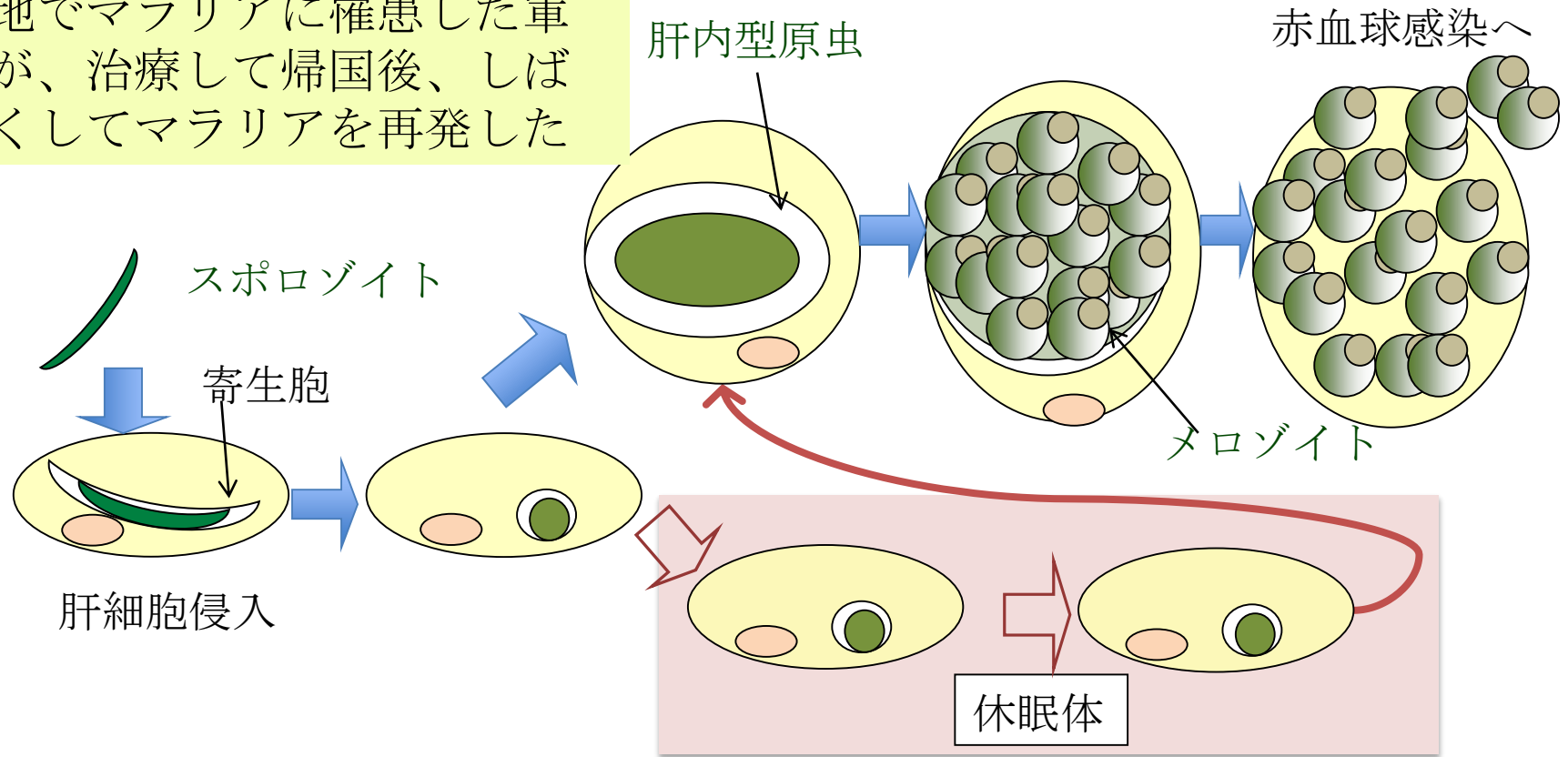
媒介蚊の生息領域

ヒト赤血球上のレセプター

ヒトの赤血球の異常

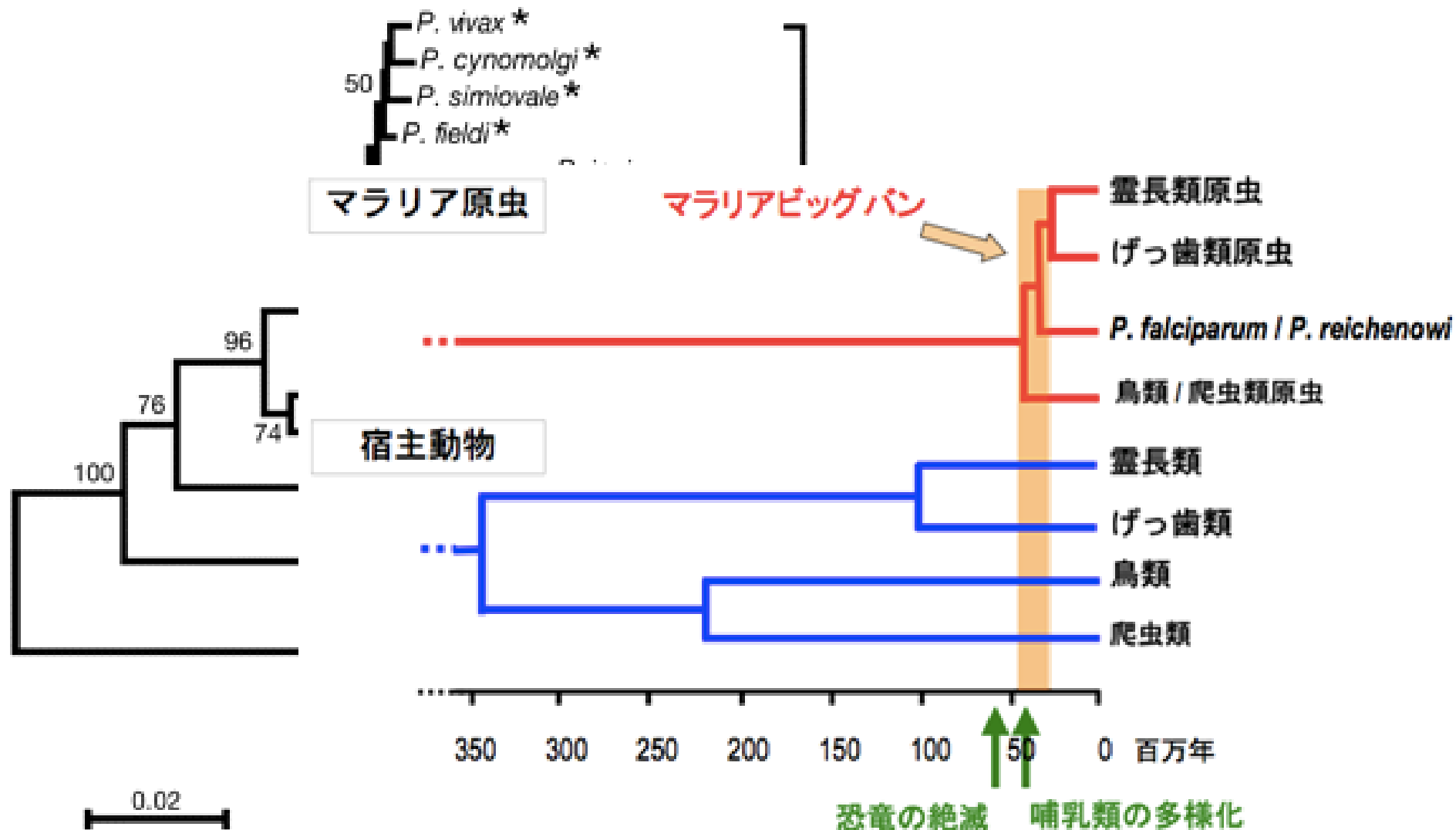
三日熱マラリア原虫は肝細胞内で冬を越す？

戦地でマラリアに罹患した軍人が、治療して帰国後、しばらくしてマラリアを再発した

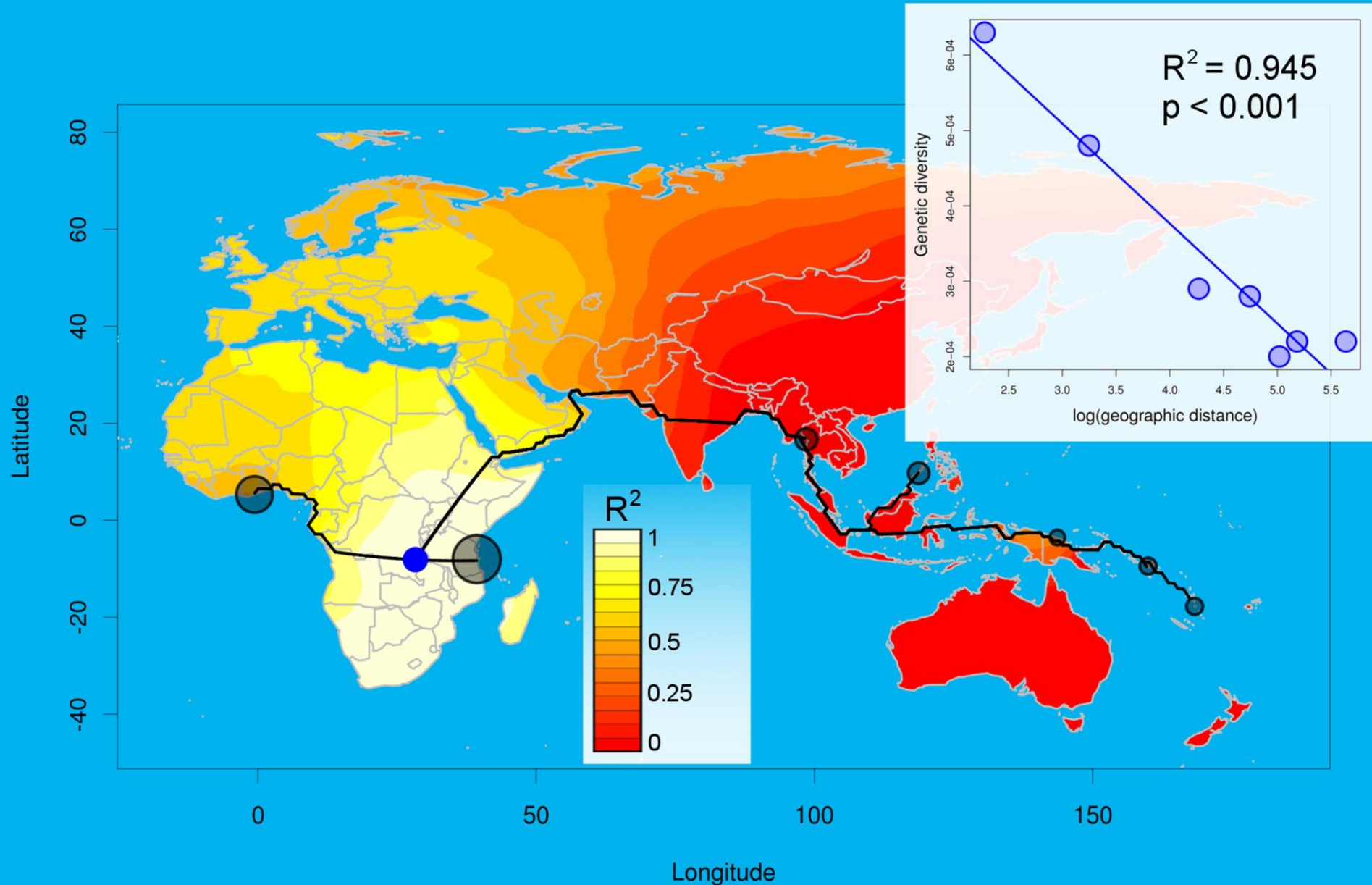


長期型（韓国など）と短期型（タイなど）の存在が知られている。休眠に入る機構も、眠りから覚める機構も全くわかっていない。このため、三日熱マラリア原虫の対策は困難である。

マラリア原虫の進化



マラリア原虫は人類とともにアフリカ大陸から移動した？



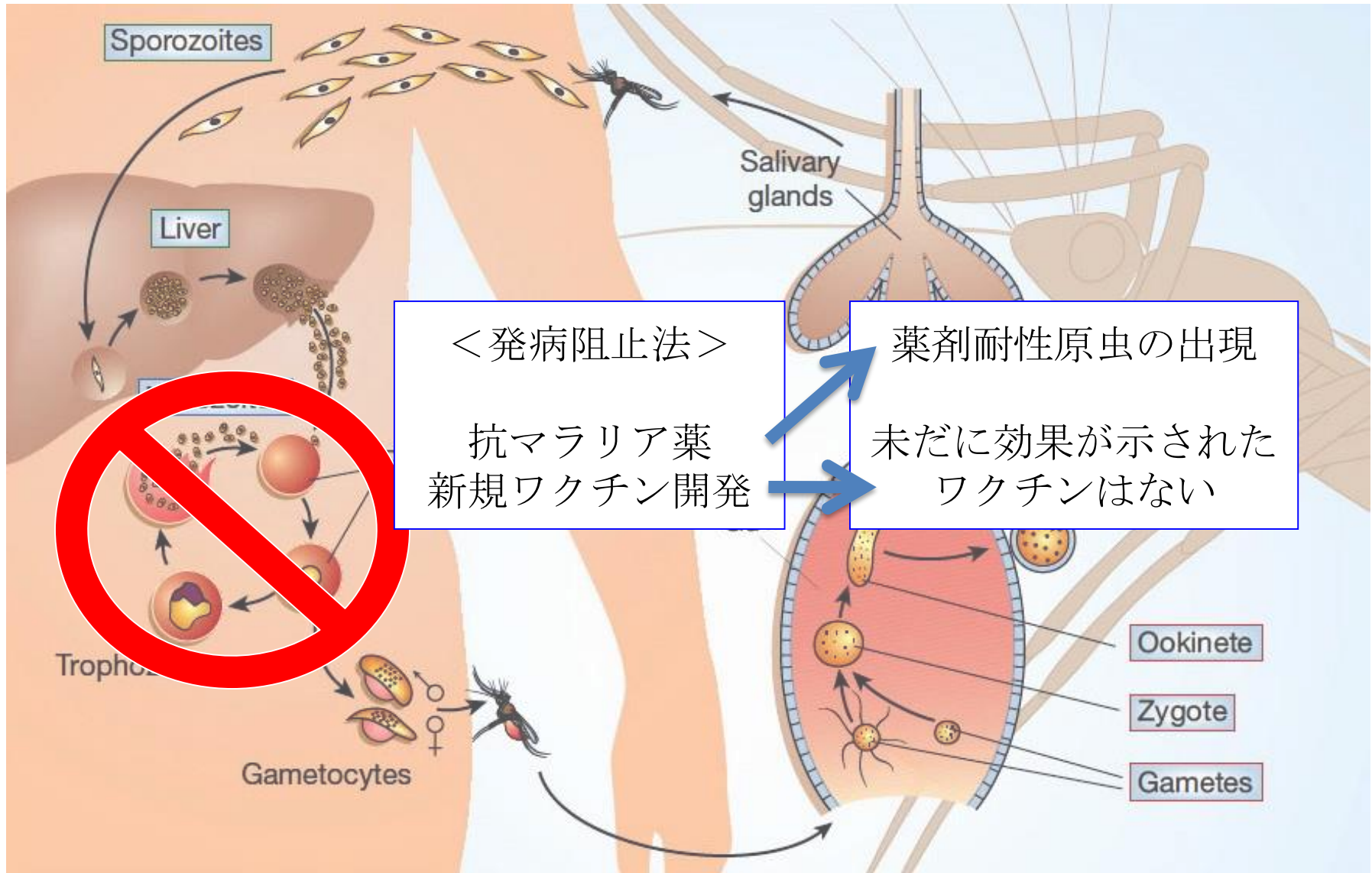
■現代型サビエンス化石の主な発掘・発見地と拡散の奇跡



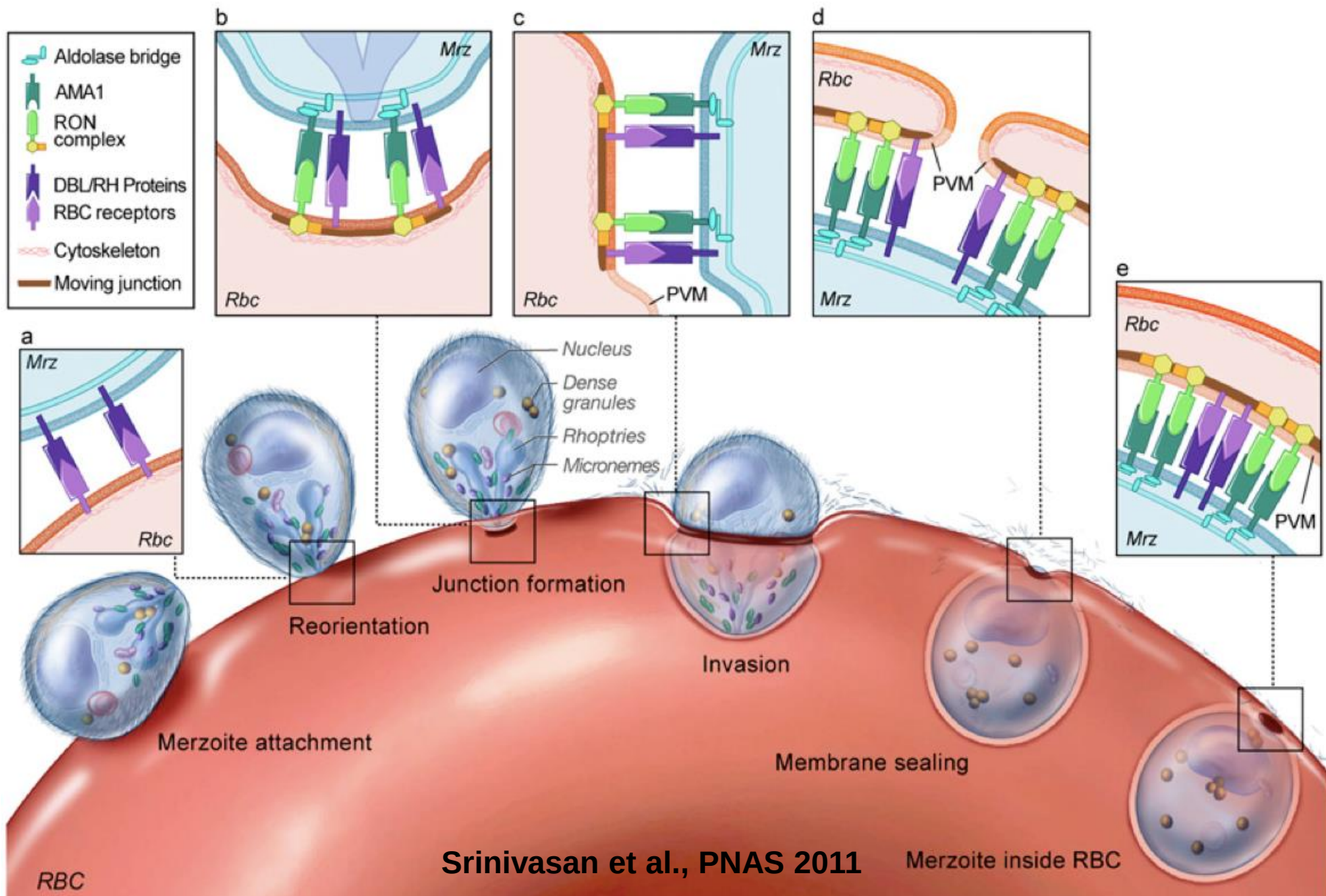
目次

- ・ マラリア原虫の赤血球侵入。免疫回避の方策
1. マラリア原虫の赤血球侵入、そのメカニズム
 2. 人類とマラリアはともに進化してきたのか？
 3. 赤血球侵入を阻止するワクチンは開発できるか？

抗マラリア戦略

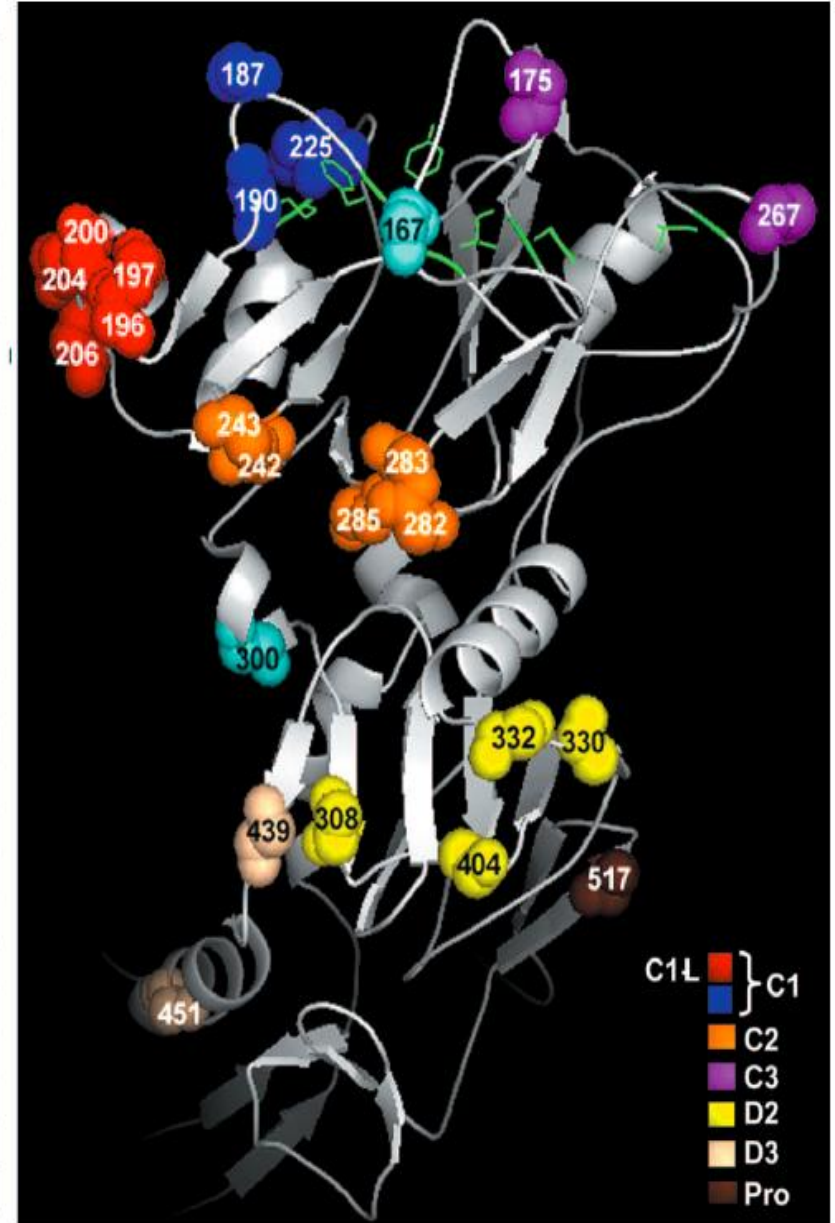


メロゾイトの赤血球侵入にはAMA1という分泌タンパク質が重要な役割を担う

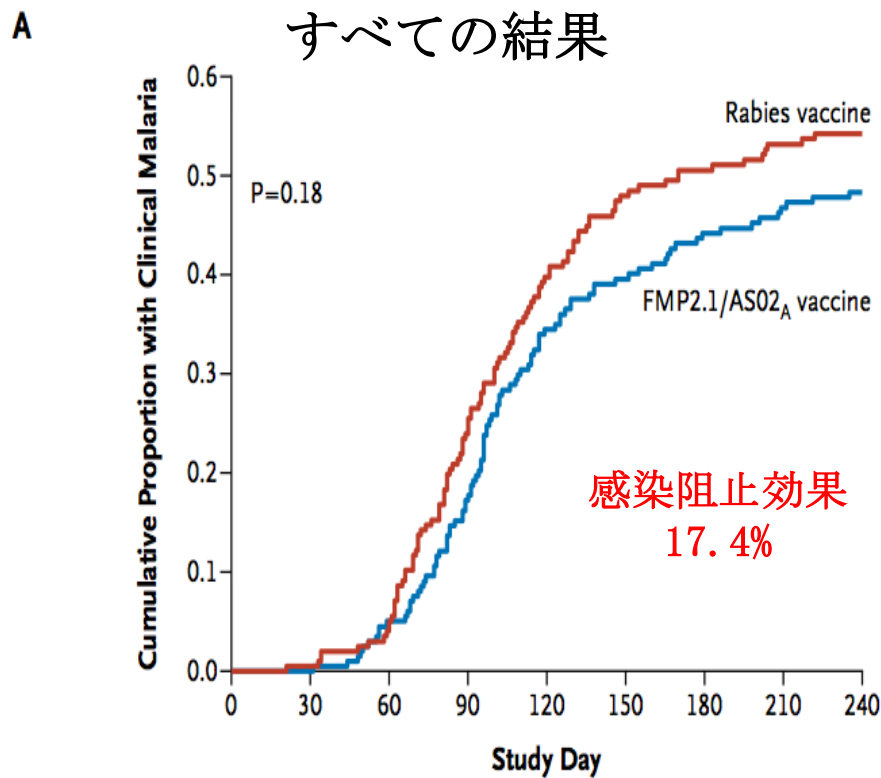


AMA1の結晶構造と、株間のバリエーション

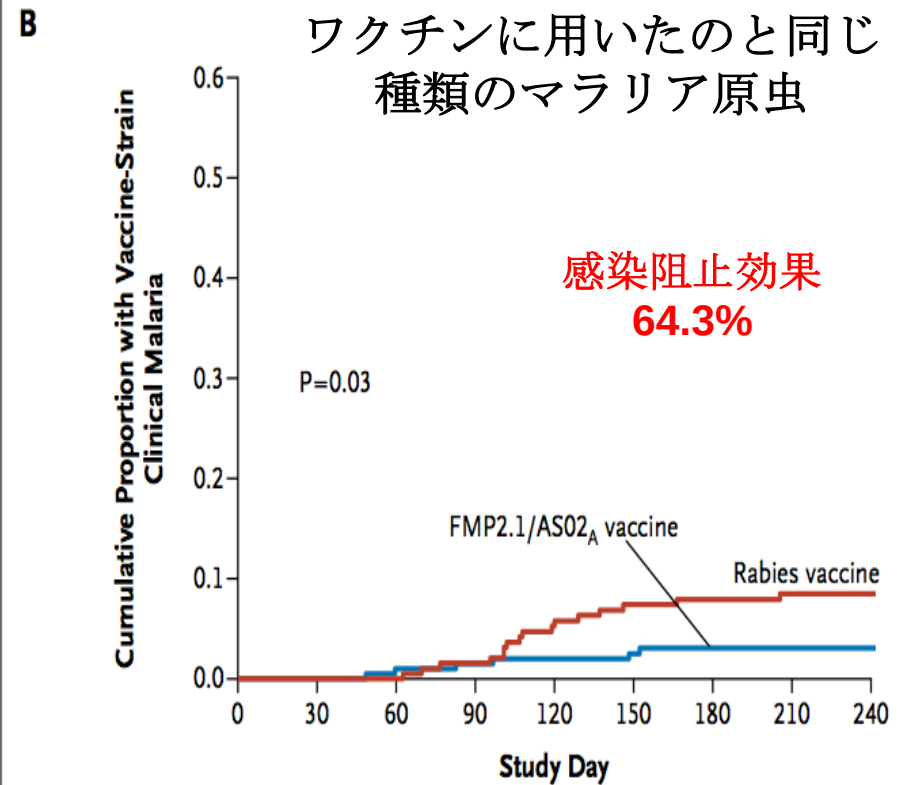
A.A	3D7	FVO
95	S	P
167	T	K
175	Y	D
187	E	N
190	M	I
196	D	N
197	E	G
200	H	D
204	D	N
206	K	E
225	I	N
242	D	Y
243	K	N
267	E	Q
282	I	K
283	S	L
285	Q	E
300	K	E
308	Q	E
330	P	S
332	I	N
404	T	R
439	N	H
451	M	K



AMA1 ワクチン効果の臨床試験結果



No. at Risk									
FMP2.1/AS02 _A vaccine	199	198	188	163	129	119	108	103	100
Rabies vaccine	201	198	188	149	118	101	94	89	86



No. at Risk									
FMP2.1/AS02 _A vaccine	199	198	196	192	189	188	184	184	184
Rabies vaccine	201	199	195	188	177	173	169	165	163

400 Malian children with either the malaria vaccine or a control (rabies) vaccine administered on D0, D30, D60 and followed them for 6 months. The primary end point was clinical malaria, defined as fever and at least 2500 Pf asexual parasitemia / μ l.

マラリアワクチン臨床試験 (Burkina Faso, 2011)

Transportation



Registration



マラリアワクチン臨床試験 (Burkina Faso, 2011)

Health check



Physicians



マラリアワクチン臨床試験 (Burkina Faso, 2011)

Double blind test



Freezer (present)



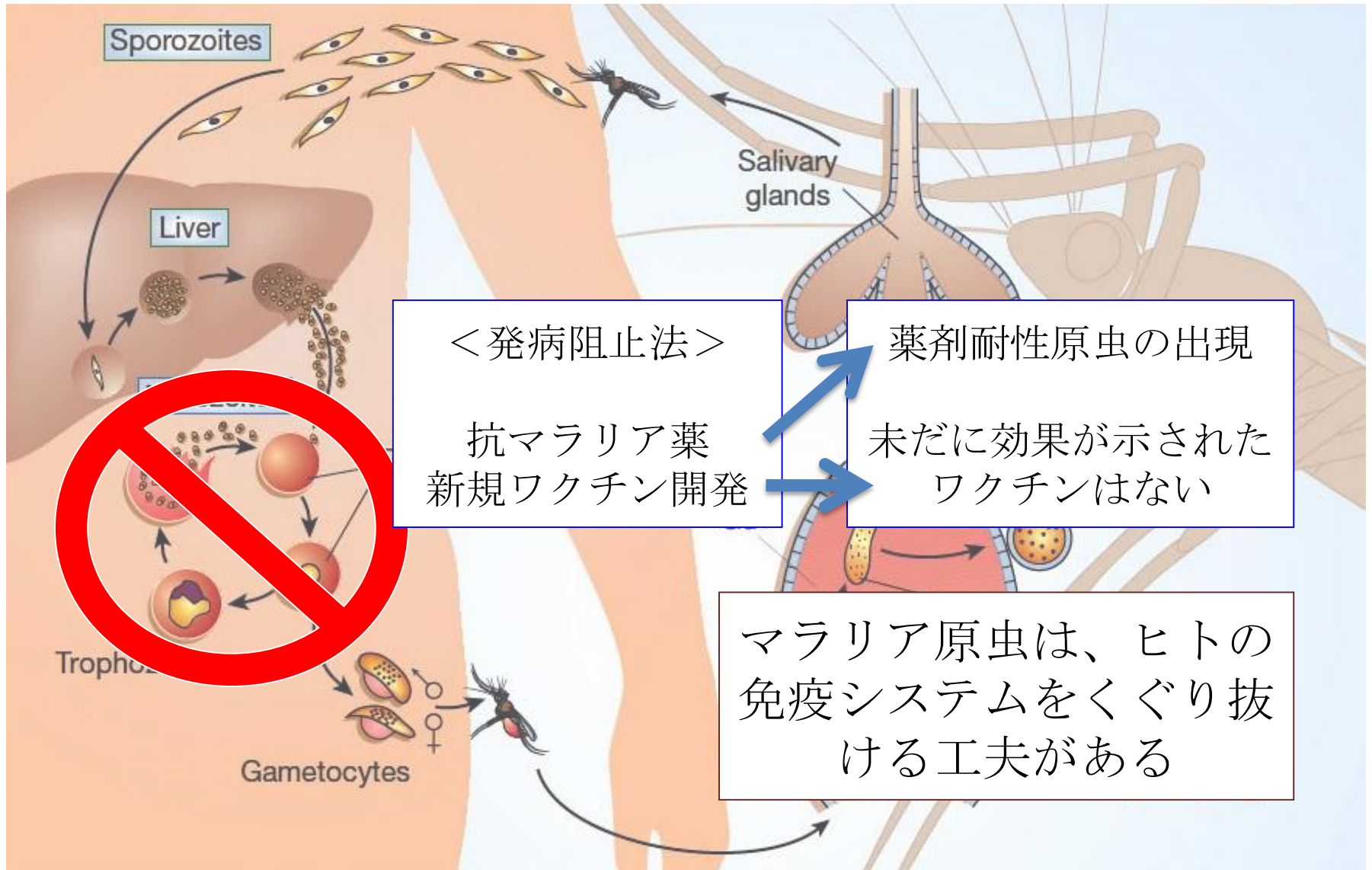
Past



Vaccine shipment



抗マラリア戦略



参考文献

- Boyle MJ, Wilson DW, Beeson JG, Int J Parasitol, 43 (1) : 1 – 10. 2013
- Richards & Beeson. Immuno Cell Biol (2009) 87:377-390
- Kappe et al. Science (2010) 328:862-866
- Trends in Parasitology 24(12):557-563, 2008
- Marti M et al. J Cell Biol (2005) 171:587-592
- Maier et al. Nature Rev Microbiol. (2009) 7:341-354
- Miller LH et al., Nature Med, 19(2):156-167, 2013
- Tanabe et al., Curr Biol. 2010 Jul 27;20(14):1283-9.
- Hayakawa et al., Mol Biol Evol (2008) 25 (10): 2233-2239.
- Srinivasan et al., PNAS 2011
- Thera et al., NEJM 2011; 365: 1004-13
- Dutta et al., PNAS 2007; 104: 12488-93
- Sirima et al., NEJM 2011; 365: 1062-4

参考文献

大阪大学微生物病研究所

http://www.biken.osaka-u.ac.jp/act/act_tanabe.php

Wikipedia 鎌状赤血球症

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/92/Sicklecells.jpg>

FN の高校物理 -鎌状赤血球貧血症とマラリアの分布-

http://fnorio.com/0080evolution_theory1/sickle_cell_anemia1/sickle_cell_anemia1.htm

九州大学総合研究室博物館

<http://www.museum.kyushu-u.ac.jp/bulletin/index.html>

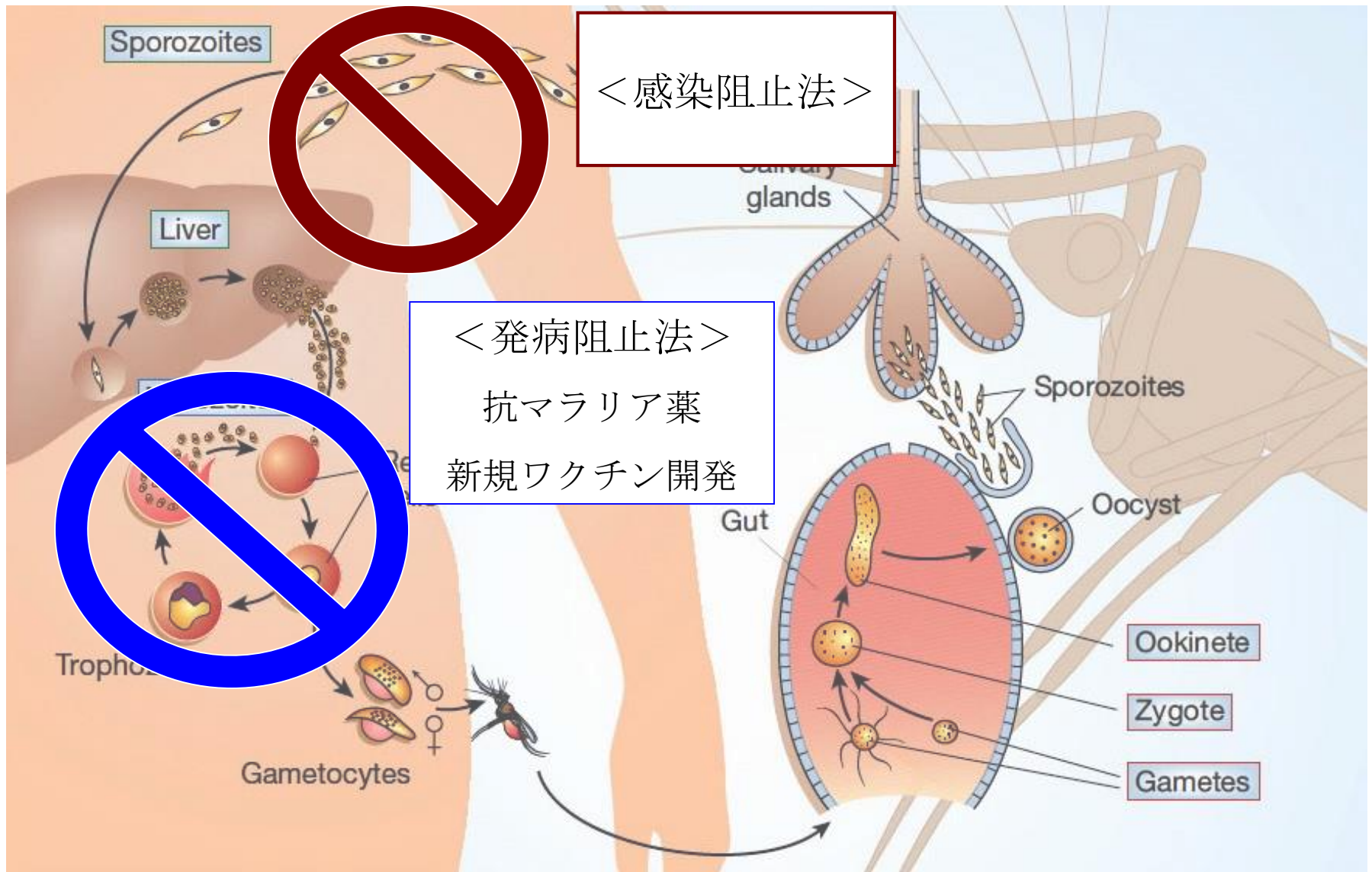
Mosquito production mooted as fast track to malaria vaccine

<http://www.nature.com/nature/journal/v425/n6957/full/425437a.html>

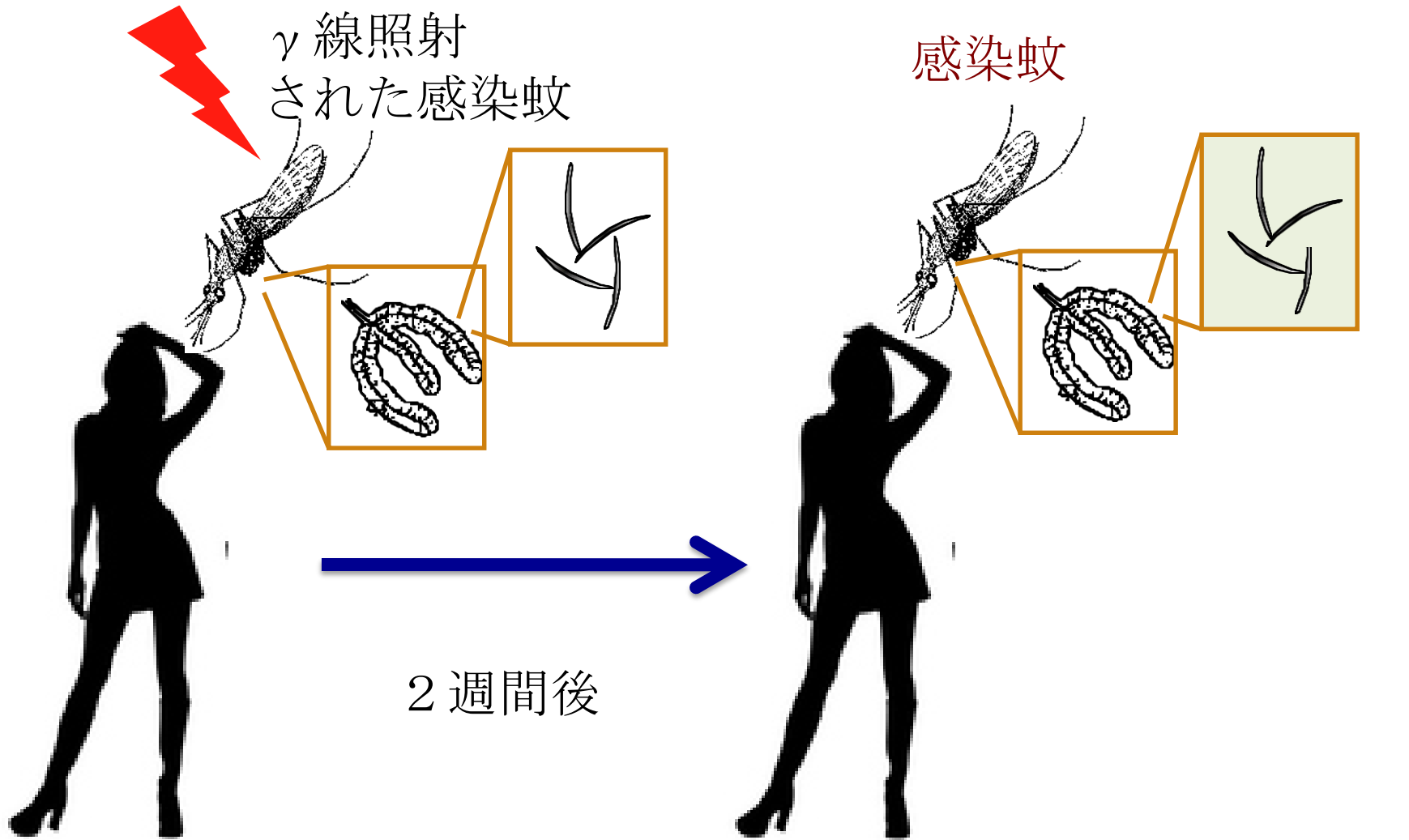
目次

- ・ マラリアとは？マラリアの発見。マラリア対策の現状。
- ・ マラリア原虫の赤血球侵入。免疫回避の方策
- ・ 分子生物学のメスでマラリア原虫を切り開く
- ・ 感染流行地におけるマラリアワクチン開発研究

マラリア攻略の鍵はどこにあるのか？



感染阻止ワクチンの可能性



感染が防御された！

弱毒化スポロゾイトによるワクチン効果試験

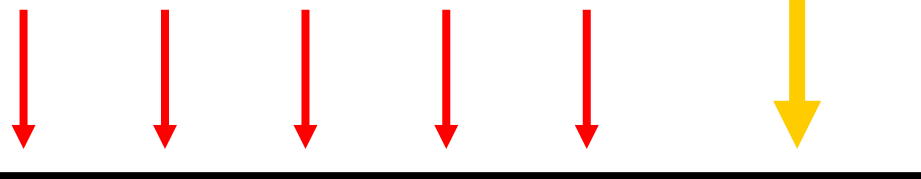


放射線照射した弱毒化原虫

**Radiation Attenuated
Sporozoite (RAS)
Vaccine**

免疫

Challenge



**>1000 irradiated infected
Mosquito bites, total**

**5 infected
mosquitoes**

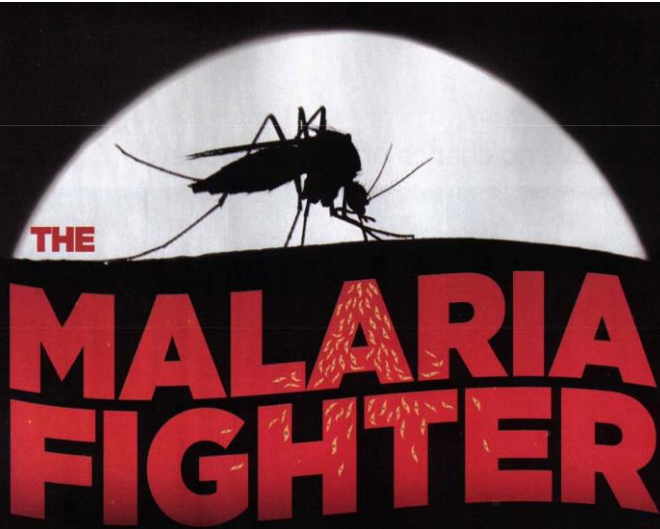
- 95% 有効 (24/26人 : 10ヶ月)

- メカニズム:

-CD8+ T cells

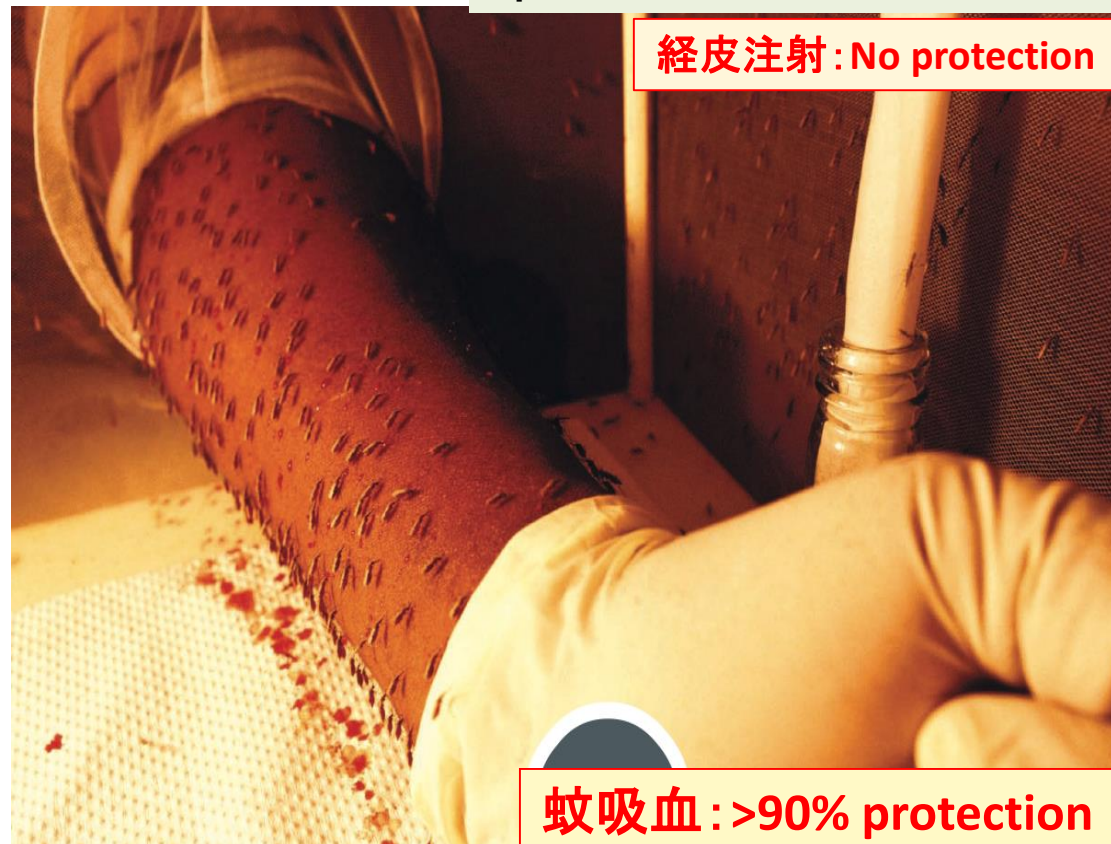
-Antibodies

Hoffman, 2002, JID 185:1155

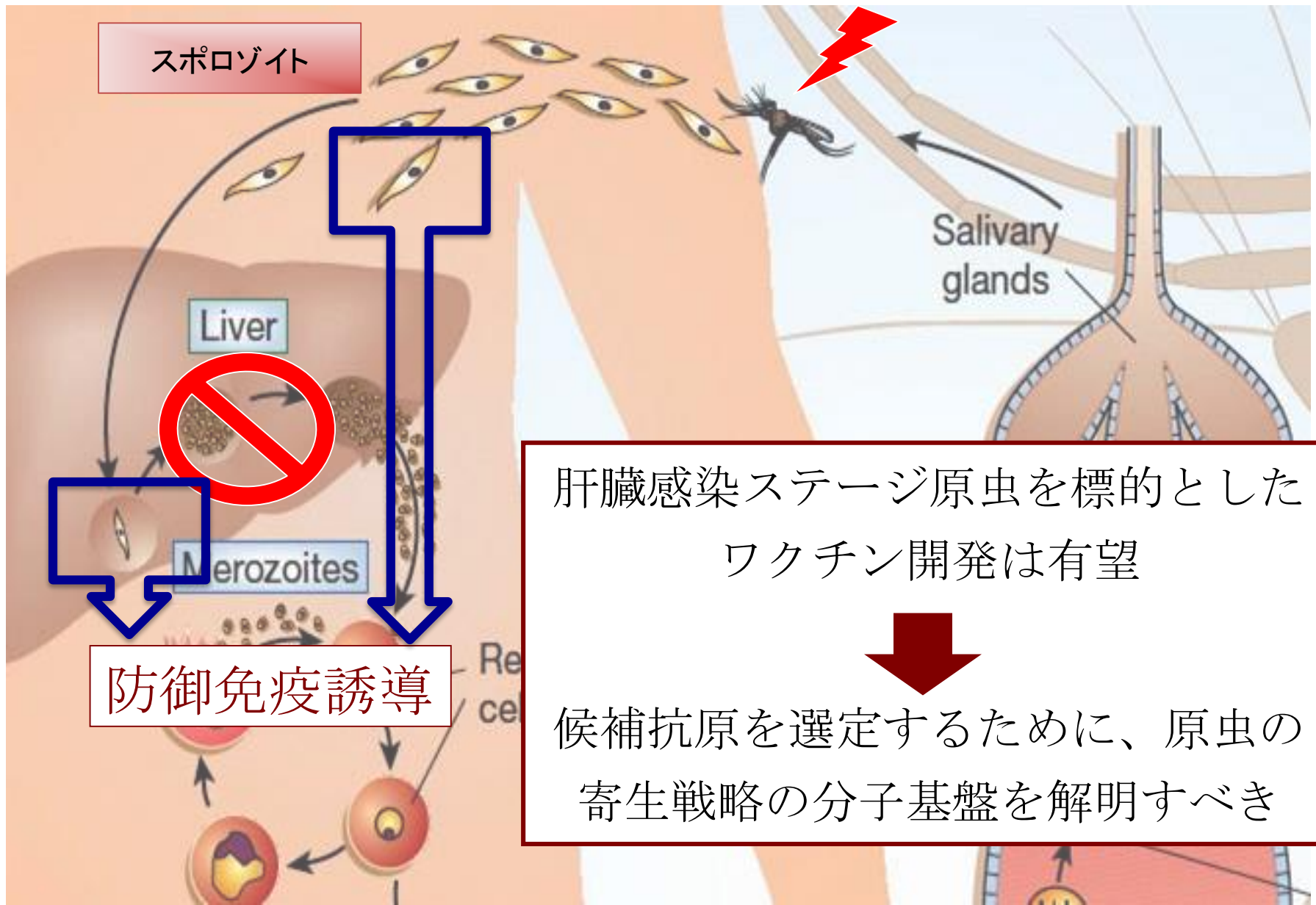


Stephen Hoffman博士 (58) は、毎年100万人が命を落とすマラリアを防ぐワクチンの開発のために、バイオ企業の**Sanaria** 社を創設。2007年10月26日にメリーランド州ロックビル (Rockville) に製造工場をオープンした。サハラ以南のアフリカ地域の毎年2500万人の新生児が摂取できるように毎年7500万から1億本のワクチンの製造を目指すという。この開発によって「蚊をワクチンの製造工場に変えることができる」と胸を張った。1匹の蚊からは2本のワクチンが製造できるという。

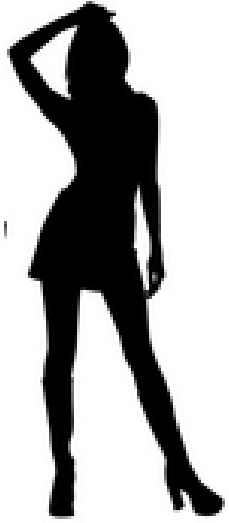
Epstein, 2011, Science 334:475-80



考えられる防御免疫誘導のしくみ



どうやってマラリアの研究をすればいいのか？



熱帯熱マラリア
三日熱マラリア
四日熱マラリア
卵形マラリア



宿主特異性の高い複数のマラリア原虫種が存在する



ねずみマラリア

ほとんどのマラリア原虫の
ゲノムが解読されている

例) 熱帯熱マラリア原虫
23Mbp, 14 染色体,
5300 遺伝子

マラリア研究の歴史

- 1880年 マラリアの原因が原虫であることが見出される
(ラヴラン、1907年にノーベル賞)
- 1898年 原虫がハマダラカにより媒介されることが証明された
(ロナルド・ロス、1902年にノーベル賞)
- 1997年 ネズミマラリアにおける相同組み替え法の確立
- 2002年 熱帯熱マラリア原虫の

全ゲノム読了

Nature. 2002 Oct 3;419(6906)

マラリア原虫類の遺伝子データベースの構築

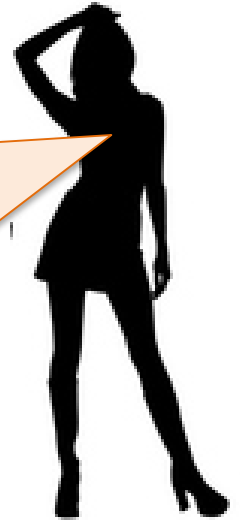
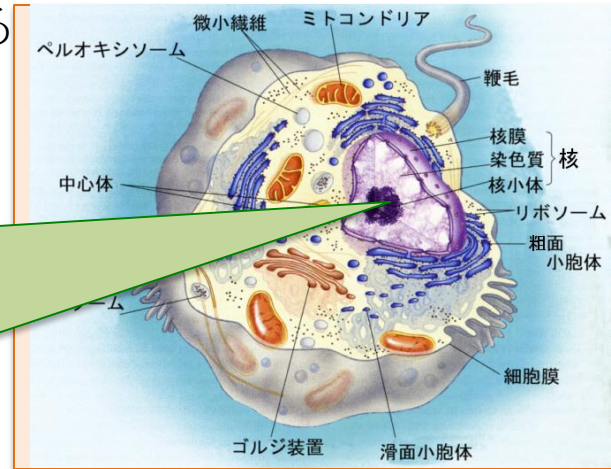
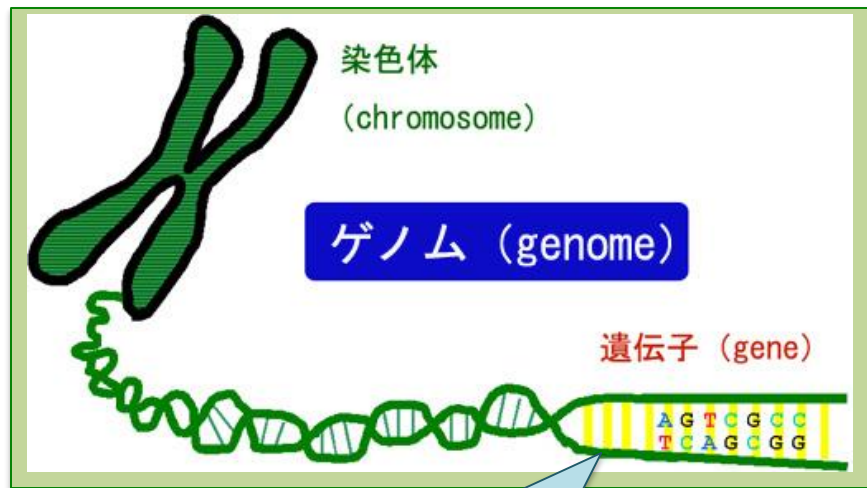
EST データベース・DNAマイクロアレイ解析・MS

解析

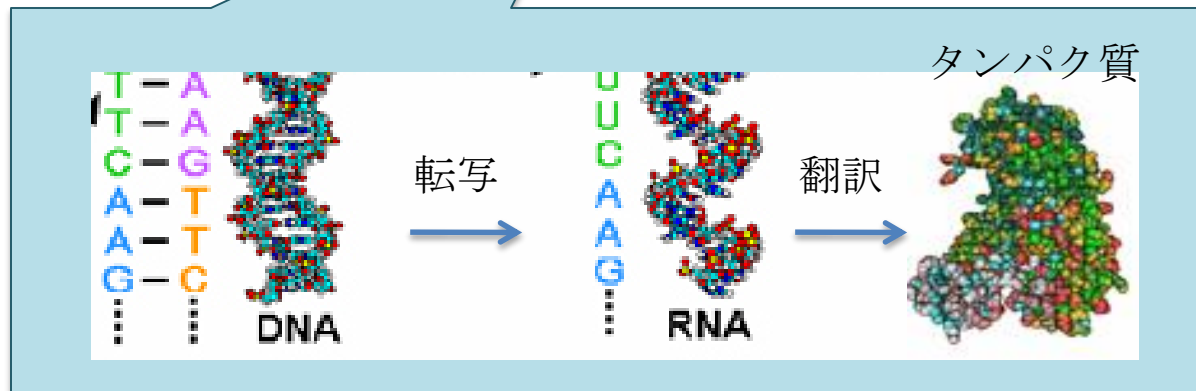


遺伝子とは？

人の場合、核の中には46本の染色体がある
染色体にはDNAが折り畳まれている



人間の体は約60兆個の細胞でできている

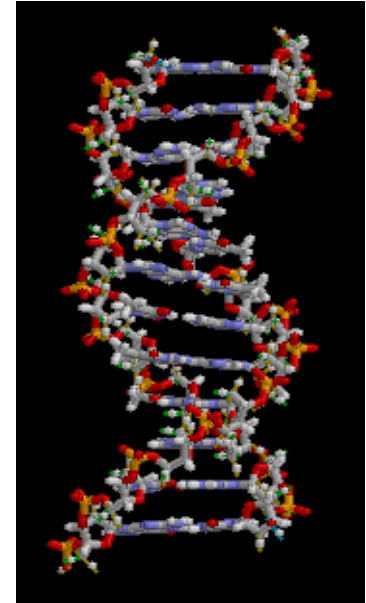
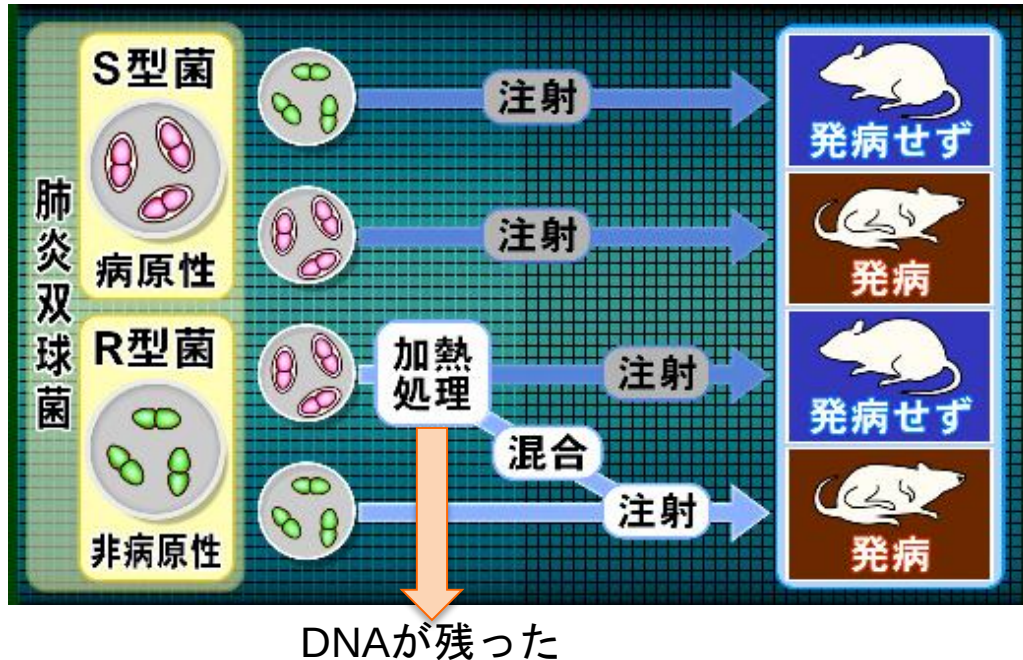


マラリア原虫の場合、
14本の染色体を持ち、
約5000の遺伝子を
コードする。

医学研究における遺伝子工学の歩み

DNAには形質を転換させる働きがある：1944年

DNAは二重らせんである：1953年

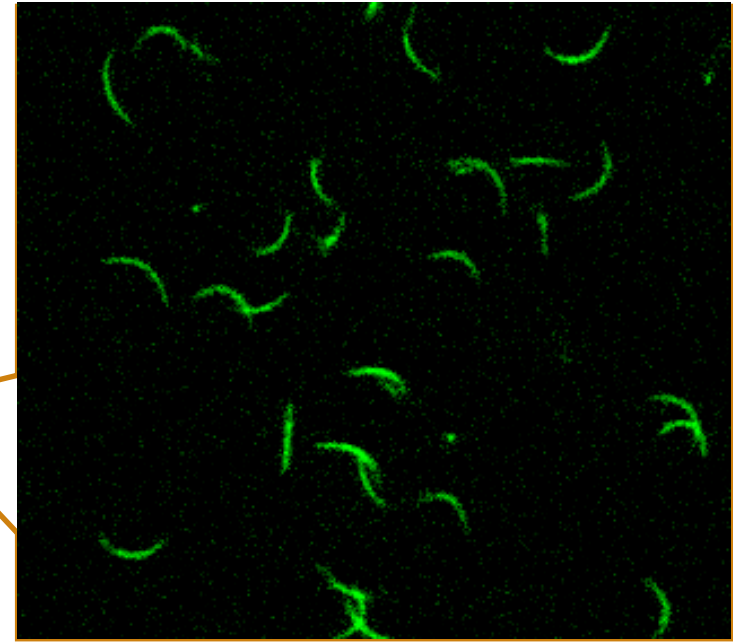
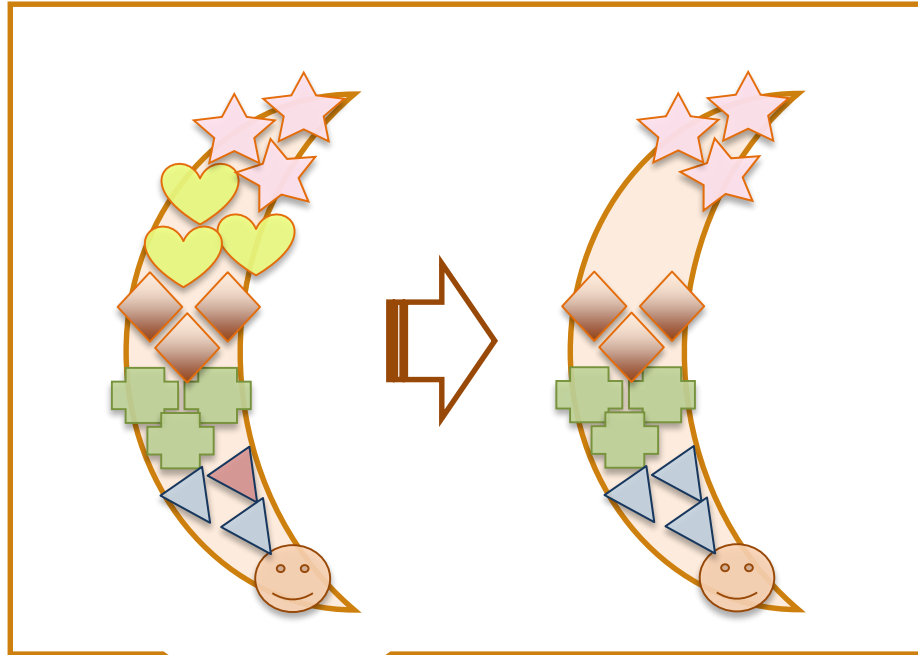


塩基配列決定法の開発:1977年

PCR法の開発：1985年

ヒトゲノムプロジェクト：1990-2003年

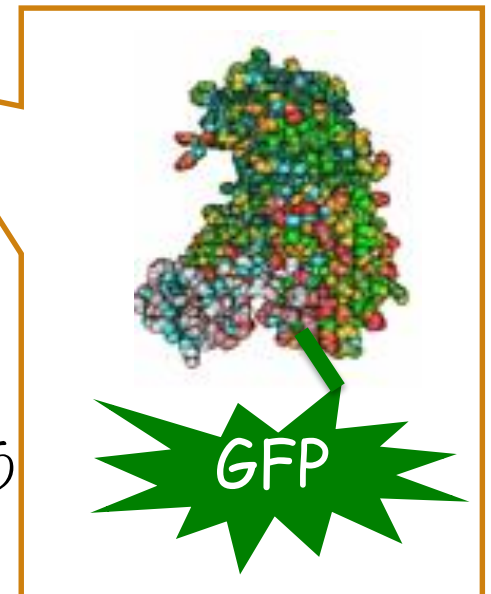
遺伝子組み換え原虫を作ると何ができる？



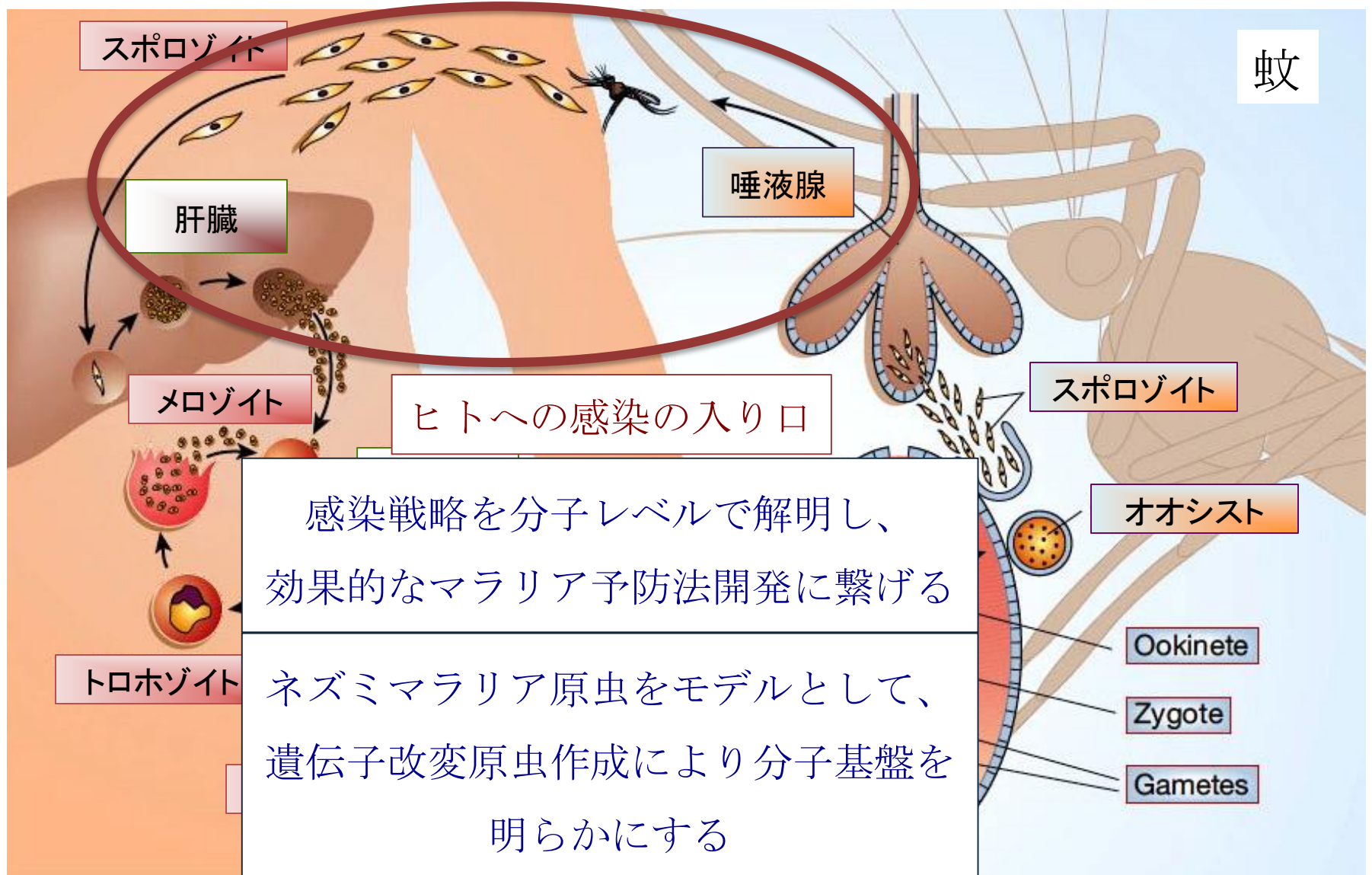
させよう

標的蛋白機能を欠損させたい！

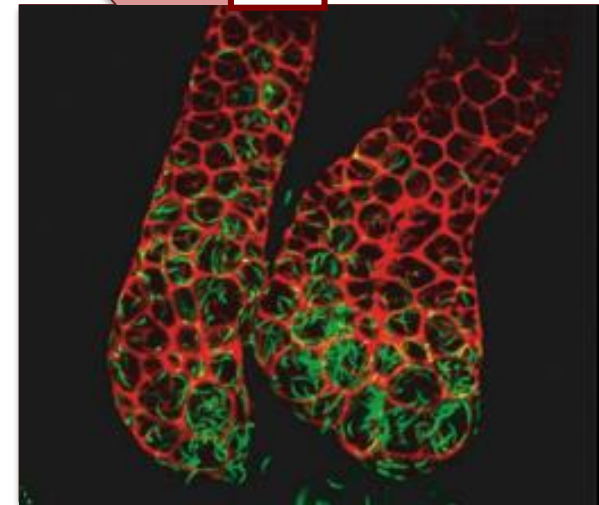
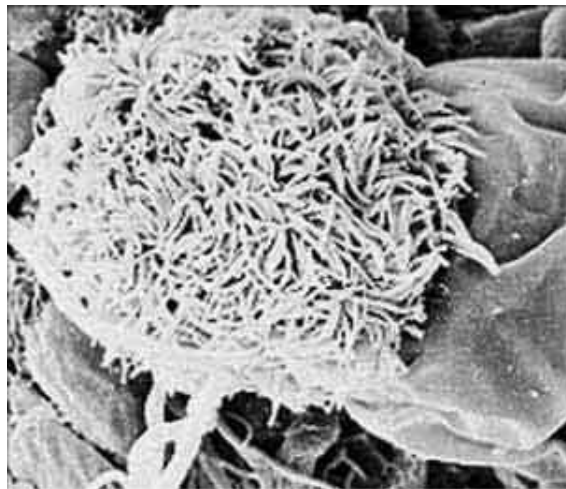
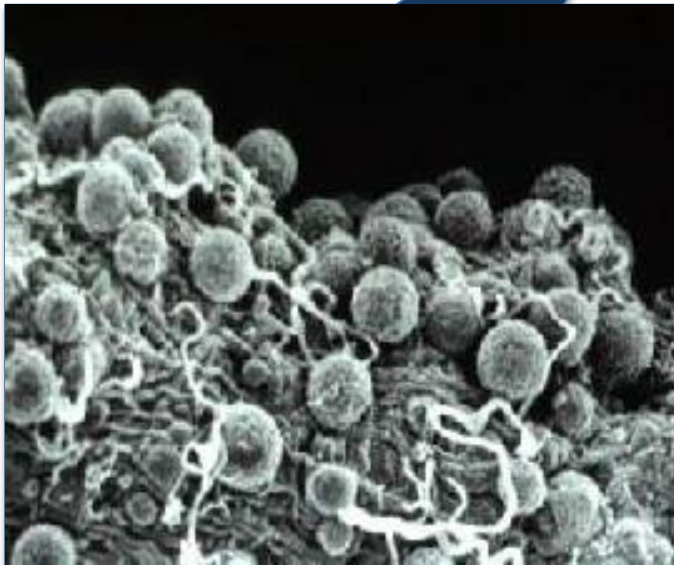
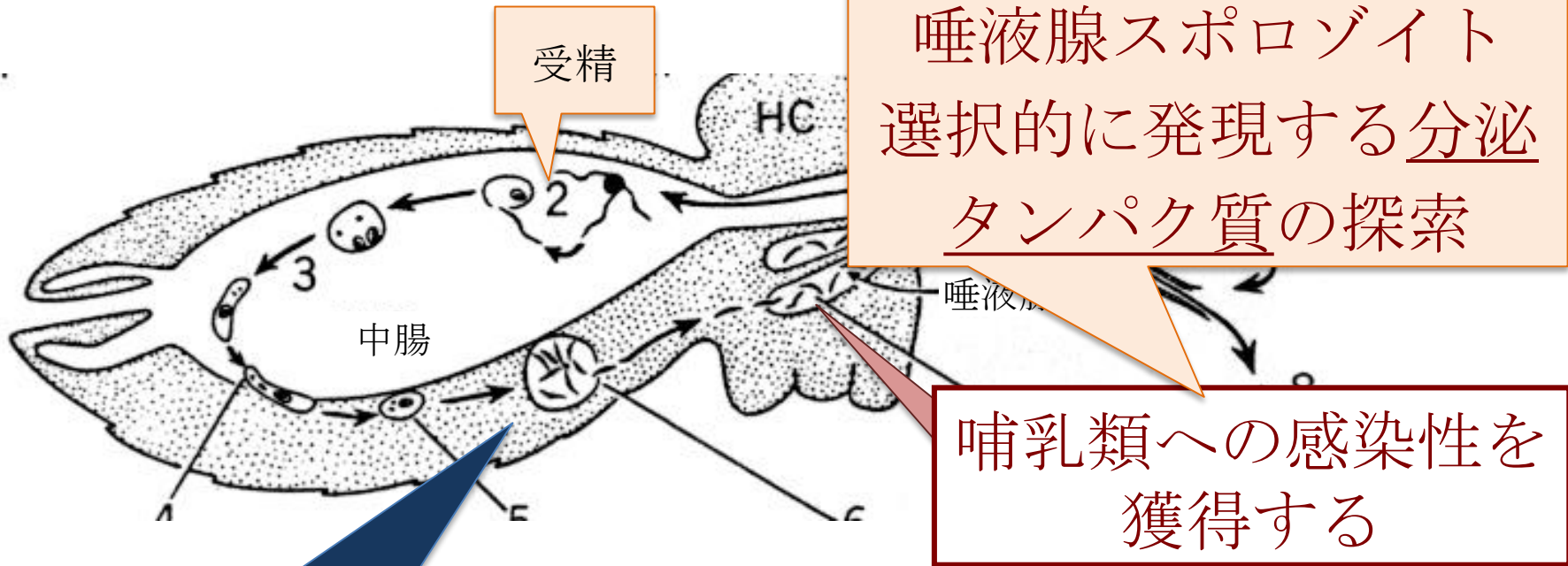
→ 標的遺伝子を欠損させた原虫を作成しよう



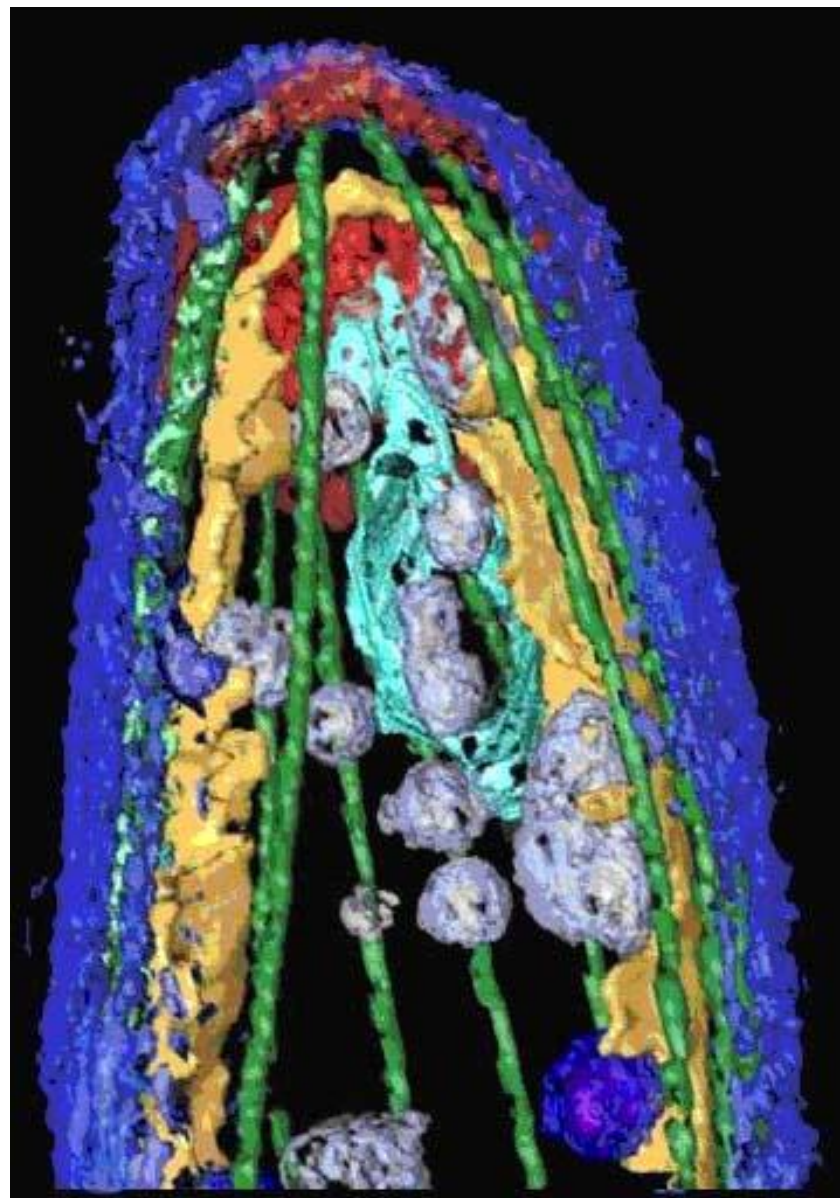
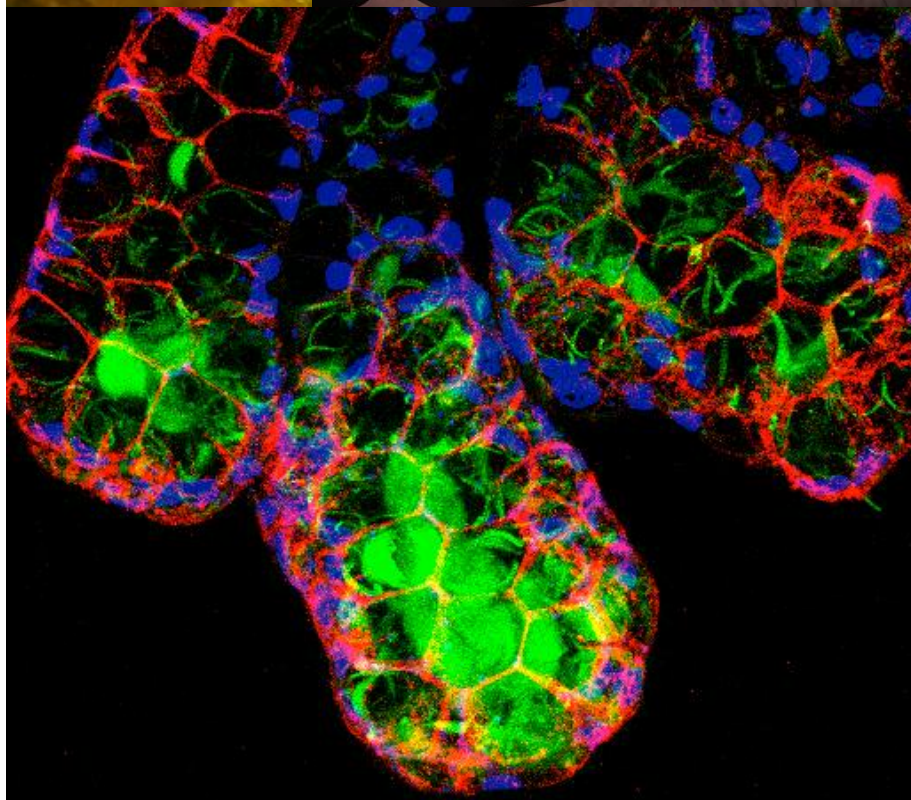
マラリア原虫の生活環と研究戦略



マラリア原虫のヒトへの感染準備段階

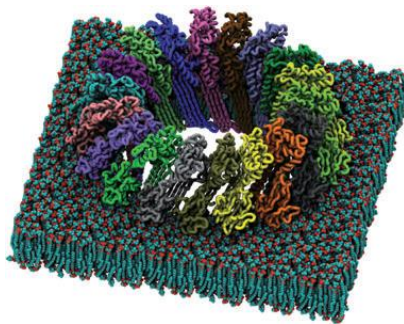


唾液腺に侵入したスポロゾイトとその内部構造

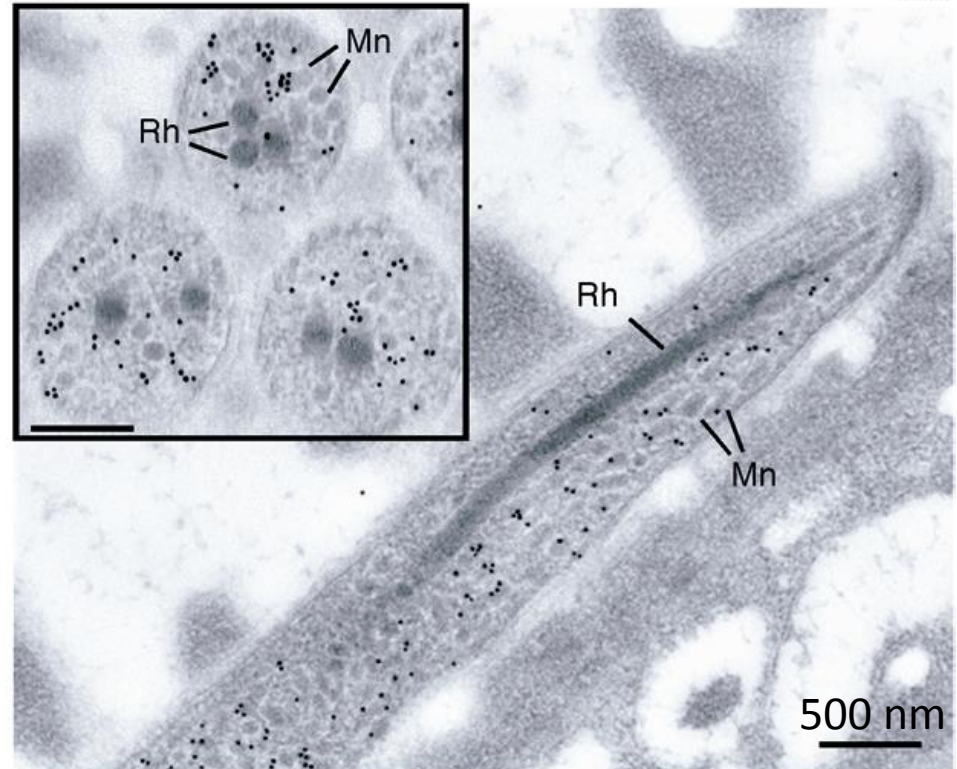
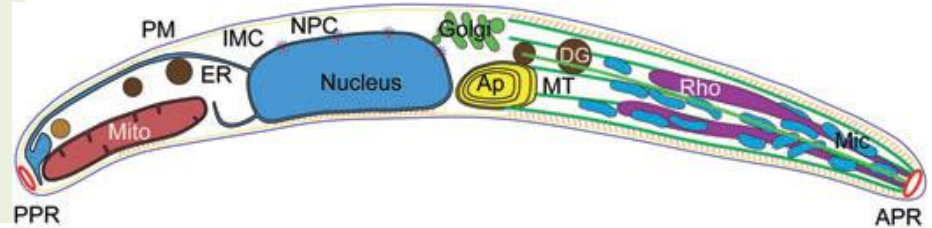


唾液腺スποロゾイトに特異的に発現する 分泌型タンパク質: SPECT2

- 唾液腺スποロゾイトに選択的に発現
- シグナルペプチド
- 膜障害に関与するドメイン
- 分泌小器官のひとつ、
マイクロネームに局在

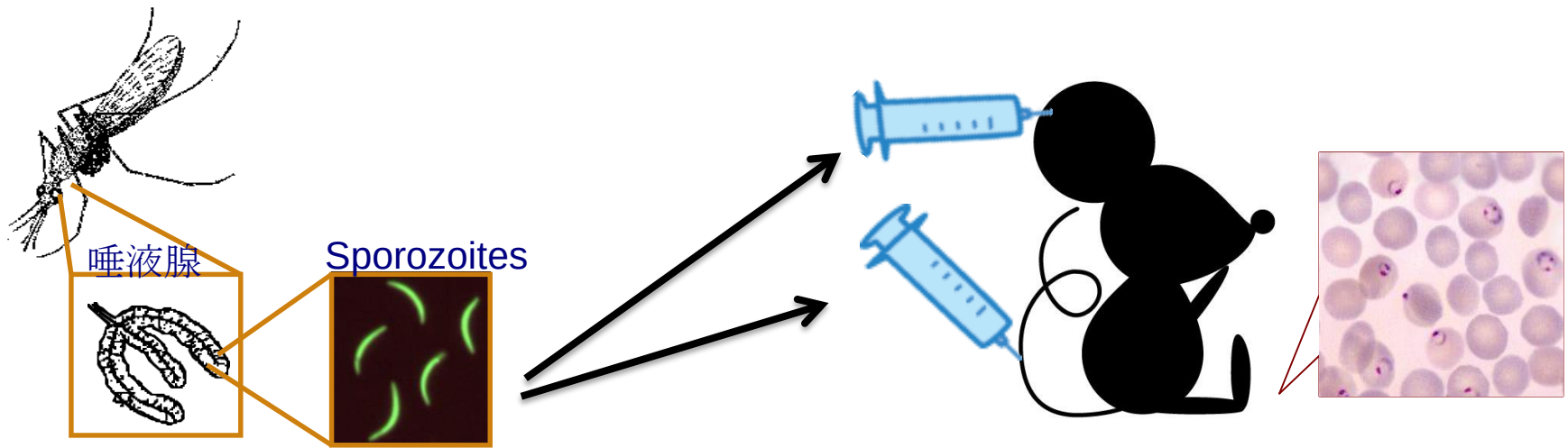


MACPF (membrane
attach complex/
perforin related)
domain



ほ乳類への感染に関与する？

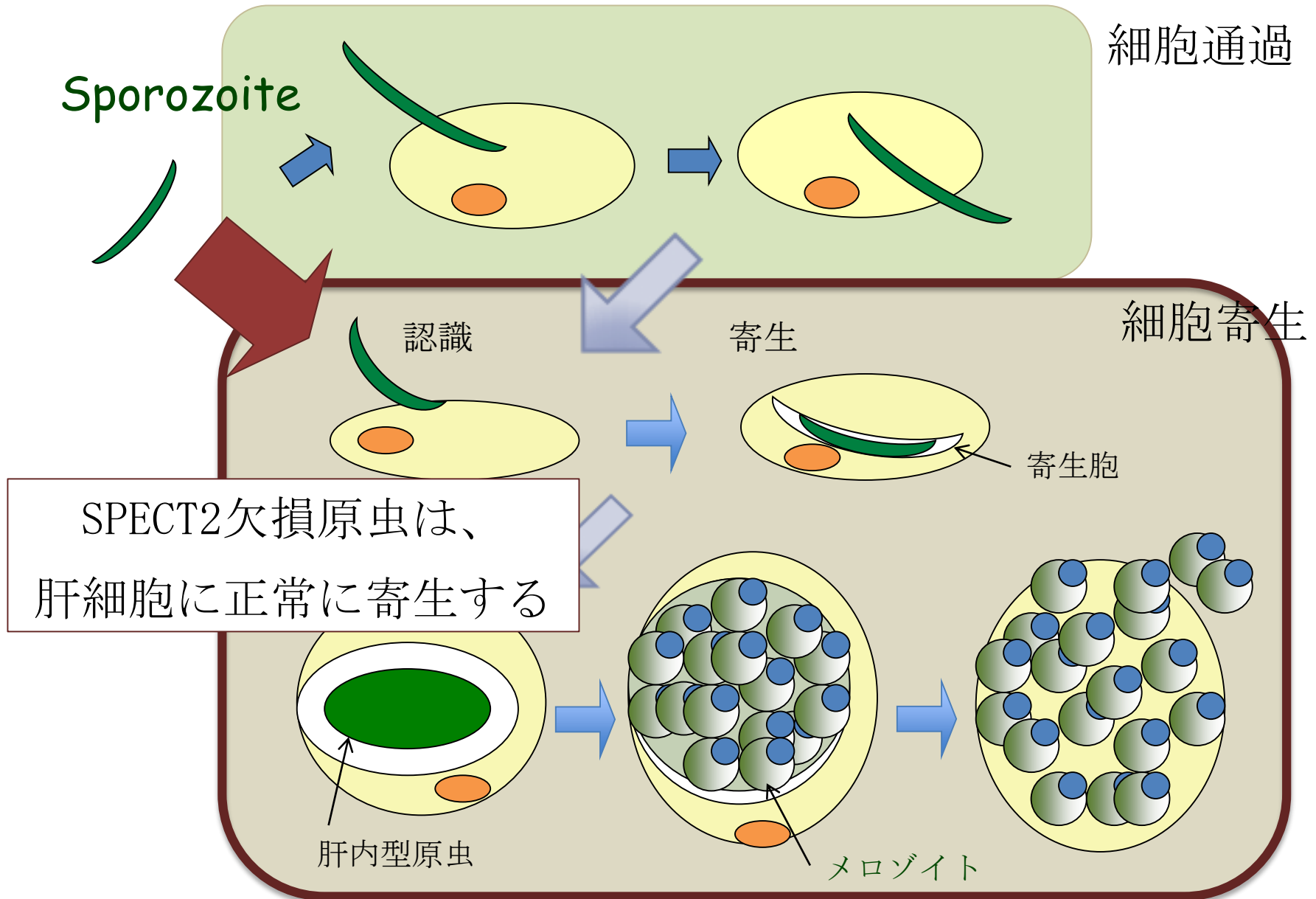
SPECT2欠損原虫は哺乳類に感染できるのか？



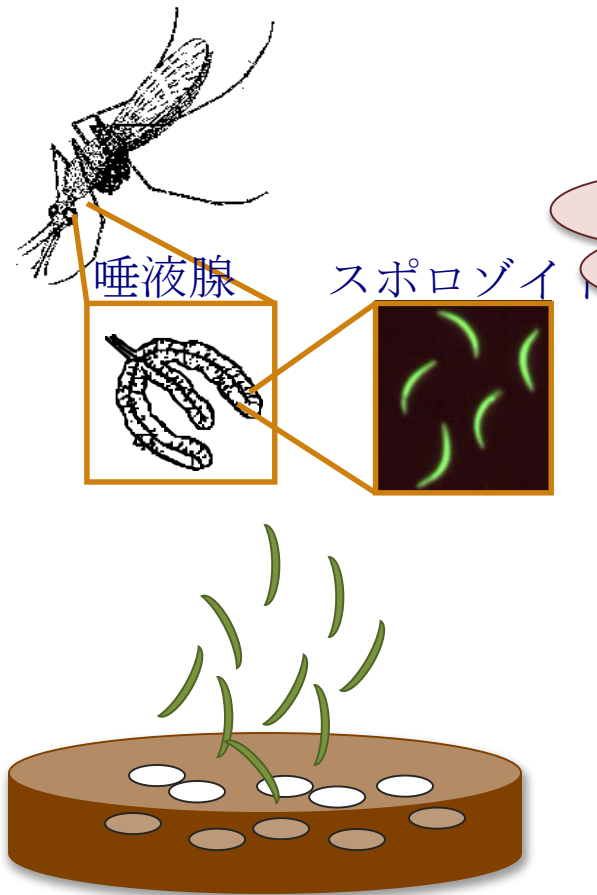
SPECT2欠損原虫は、げっ歯類への感染性が野生型に比べて、静脈投与で1/20程度、皮内投与で1/100程度まで減少した。

SPECT2は、肝臓感染に関わる分子である！！！！

スポロゾイトは肝細胞に寄生する



SPECT2欠損原虫は細胞を通り抜けることができない



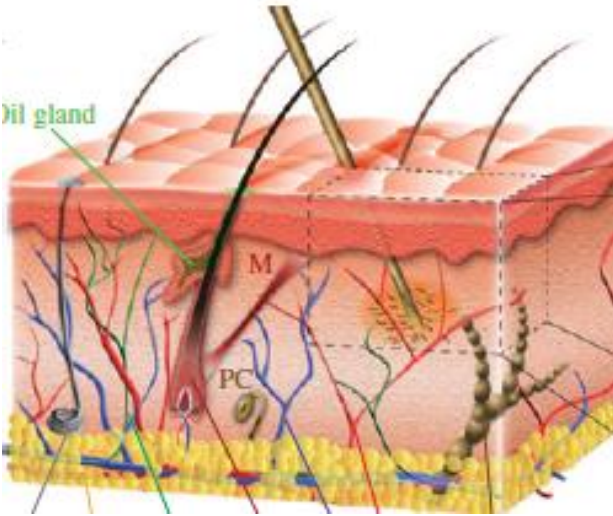
マラリア伝播において
どんな意味があるのだろ
う？



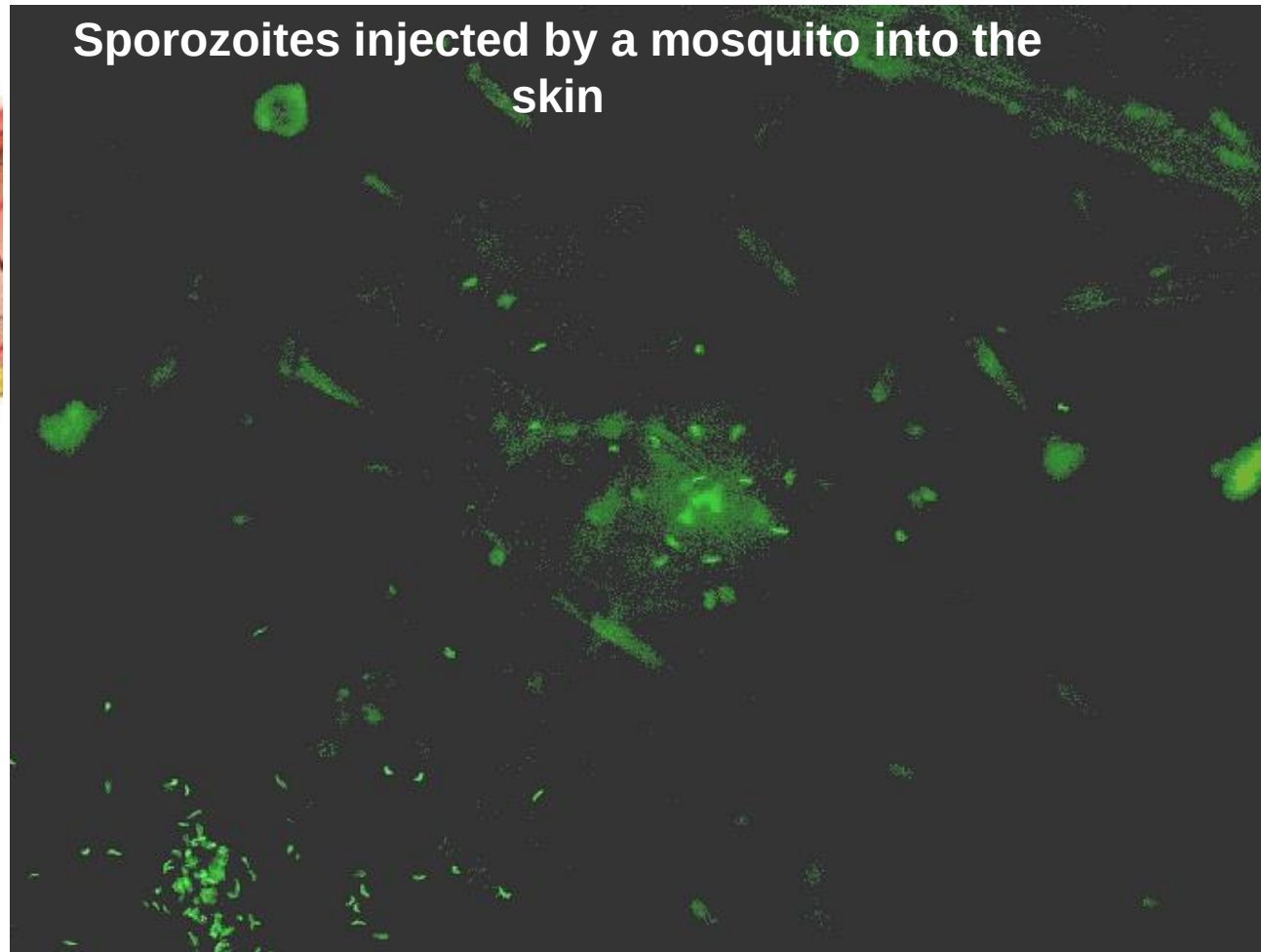
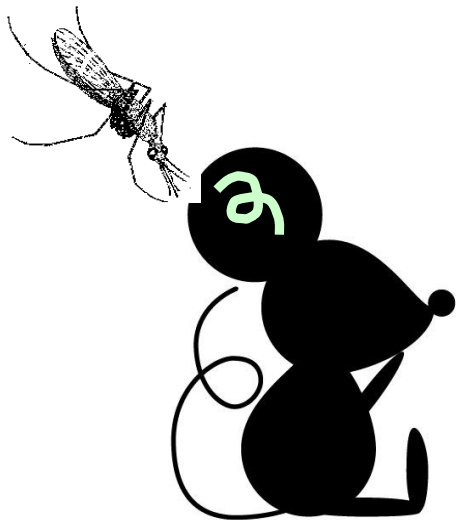
Amino R et al. *Cell Host & Microbe*. **3**, 88 - 96 (2008)

SPECT = Sporozoite Micronemal Protein Essential for Cell Traversal

蚊の吸血に伴い皮膚に注入されたスポロゾイト



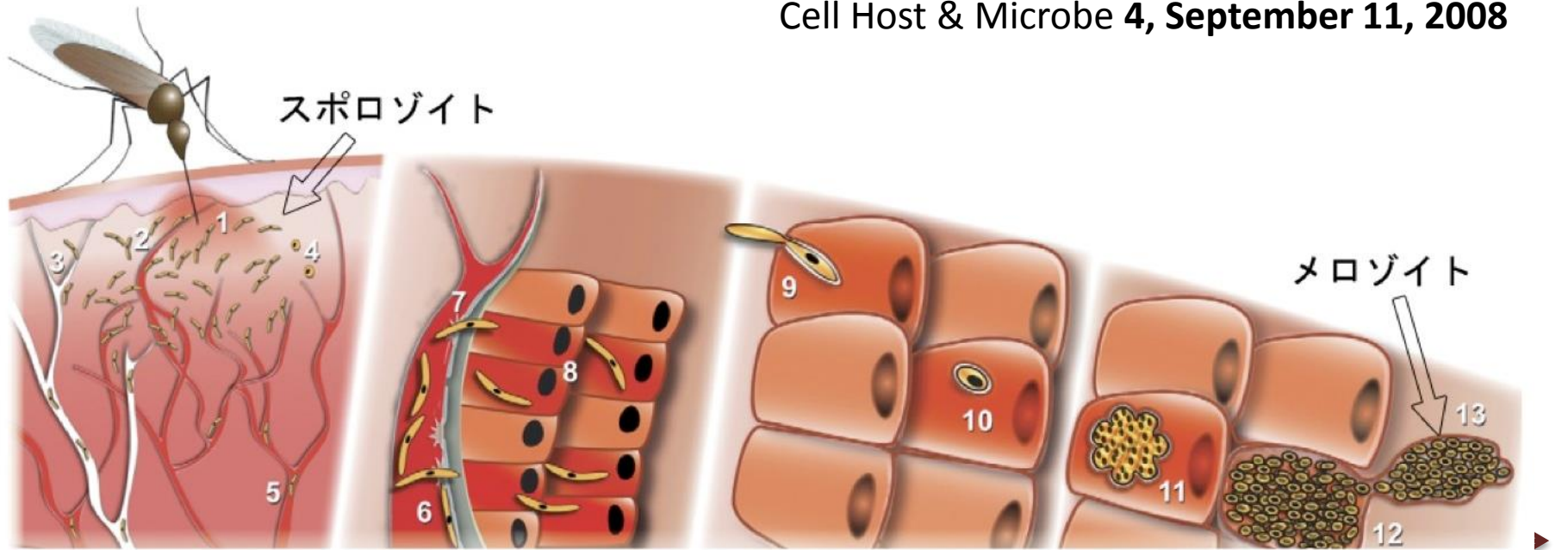
Frischknecht F. *Cell. Microbiol.*
9: 1630-1640 (2007).



Vanderberg JP & Frevert U. *Int. J. Parasitol.* 34: 991-6 (2004).

スポロゾイトがほ乳類に感染を成立させるまで

Cell Host & Microbe 4, September 11, 2008



移動

細胞認識/
侵入

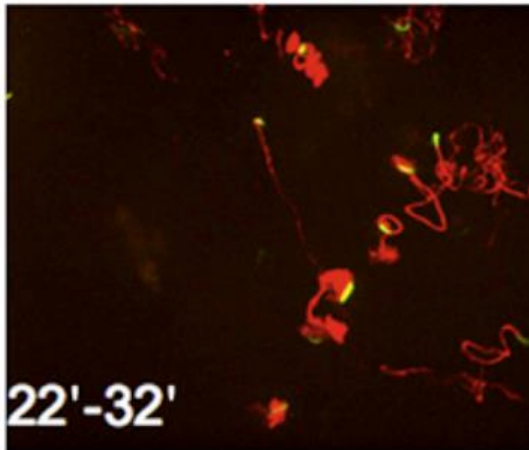
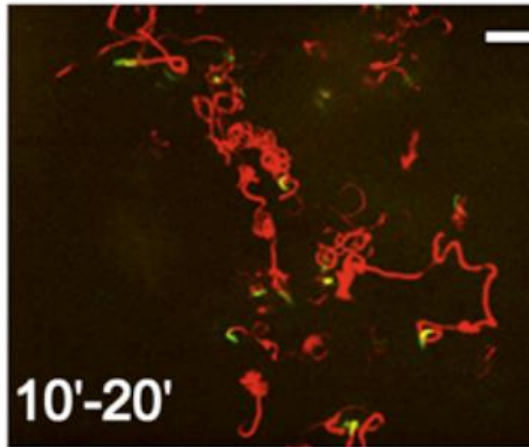
肝臓ステージ
原虫の発育

寄生胞崩壊/
メロゾイト放出

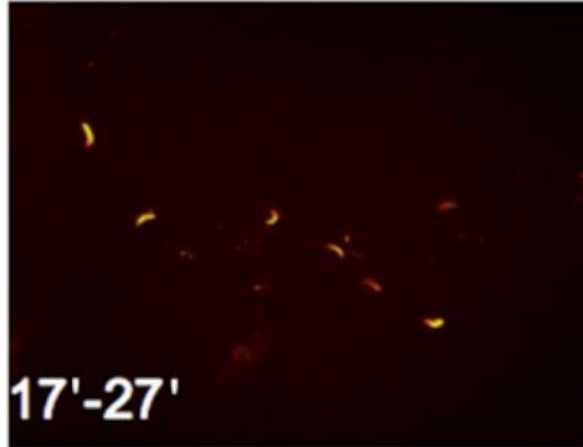
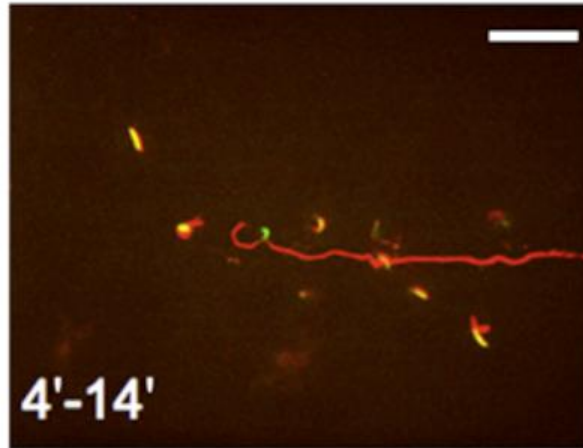
細胞通過 ???

細胞通過能は皮膚内での移動に必須である

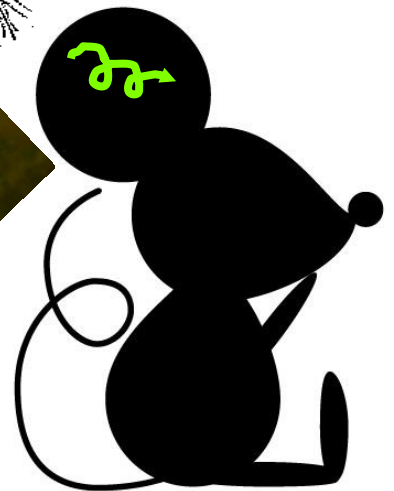
野生型原虫



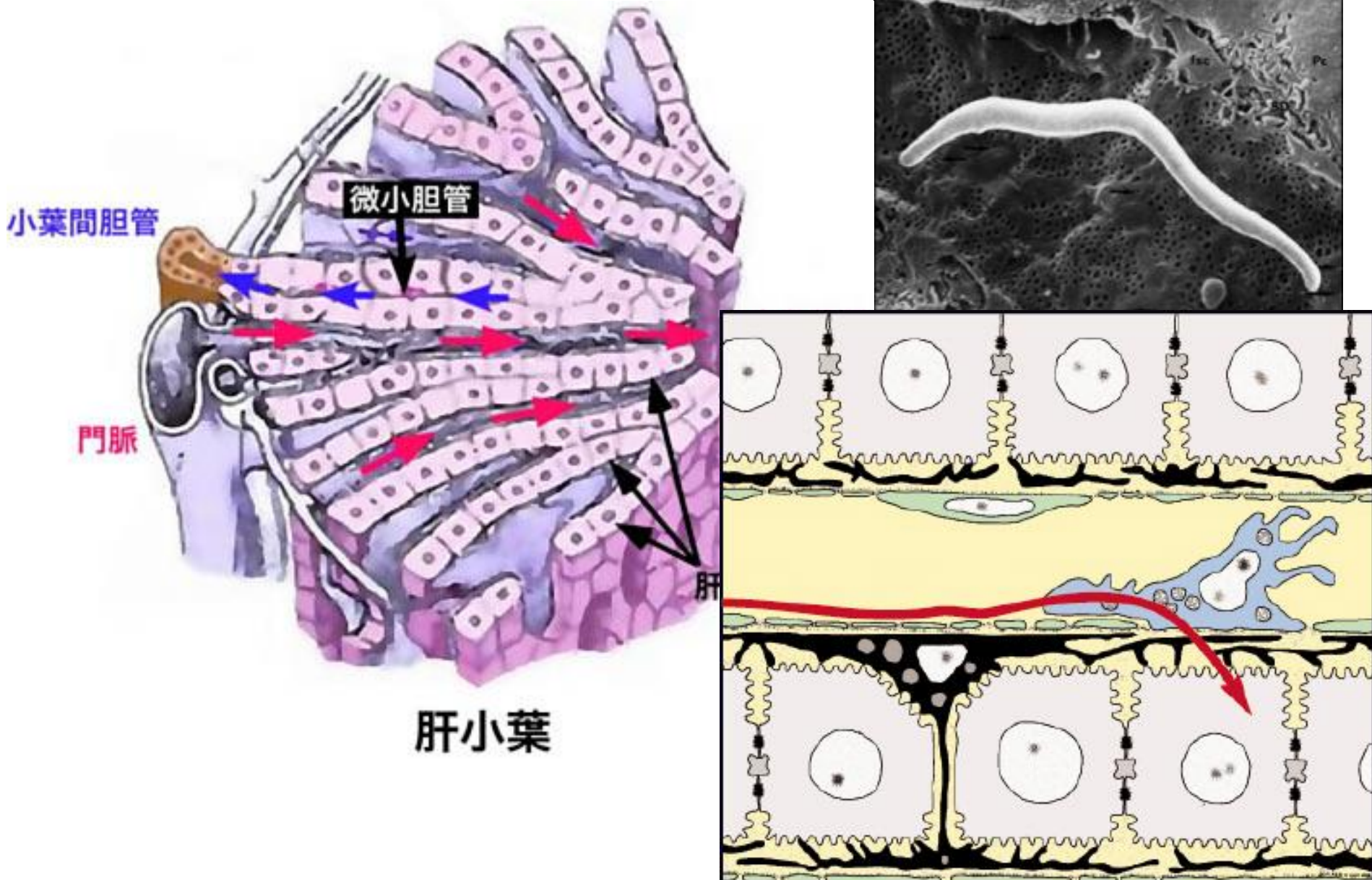
SPECT2欠損原虫



遺伝子欠損原虫
を感染させた蚊

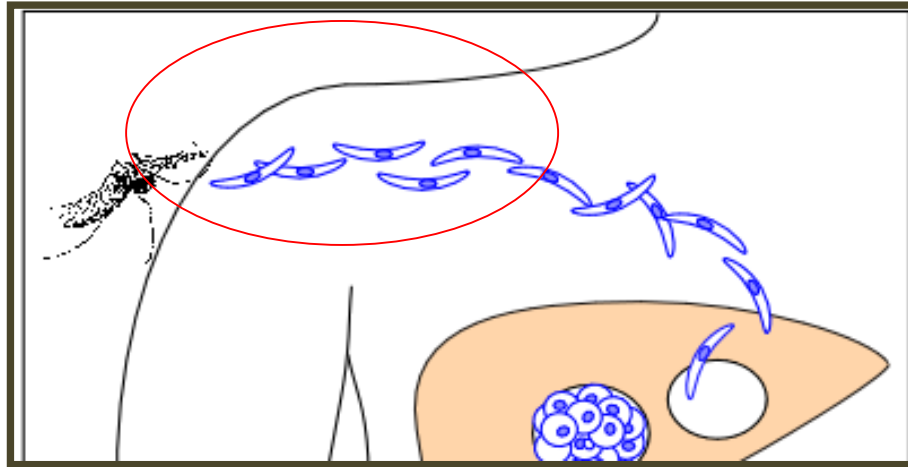


スポロゾイトはどうやって肝細胞に到達するのか？

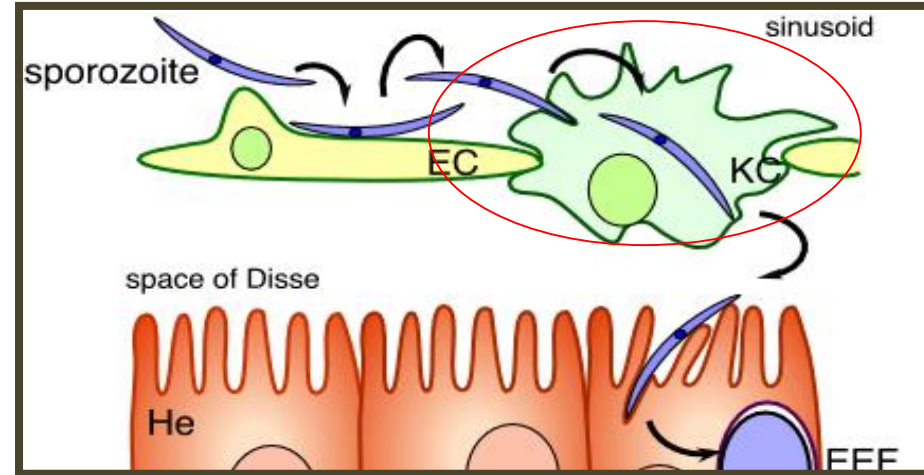


スポロゾイトが肝細胞に到達するのに細胞通過能が必要

a) 皮内で血管内へと侵入する際

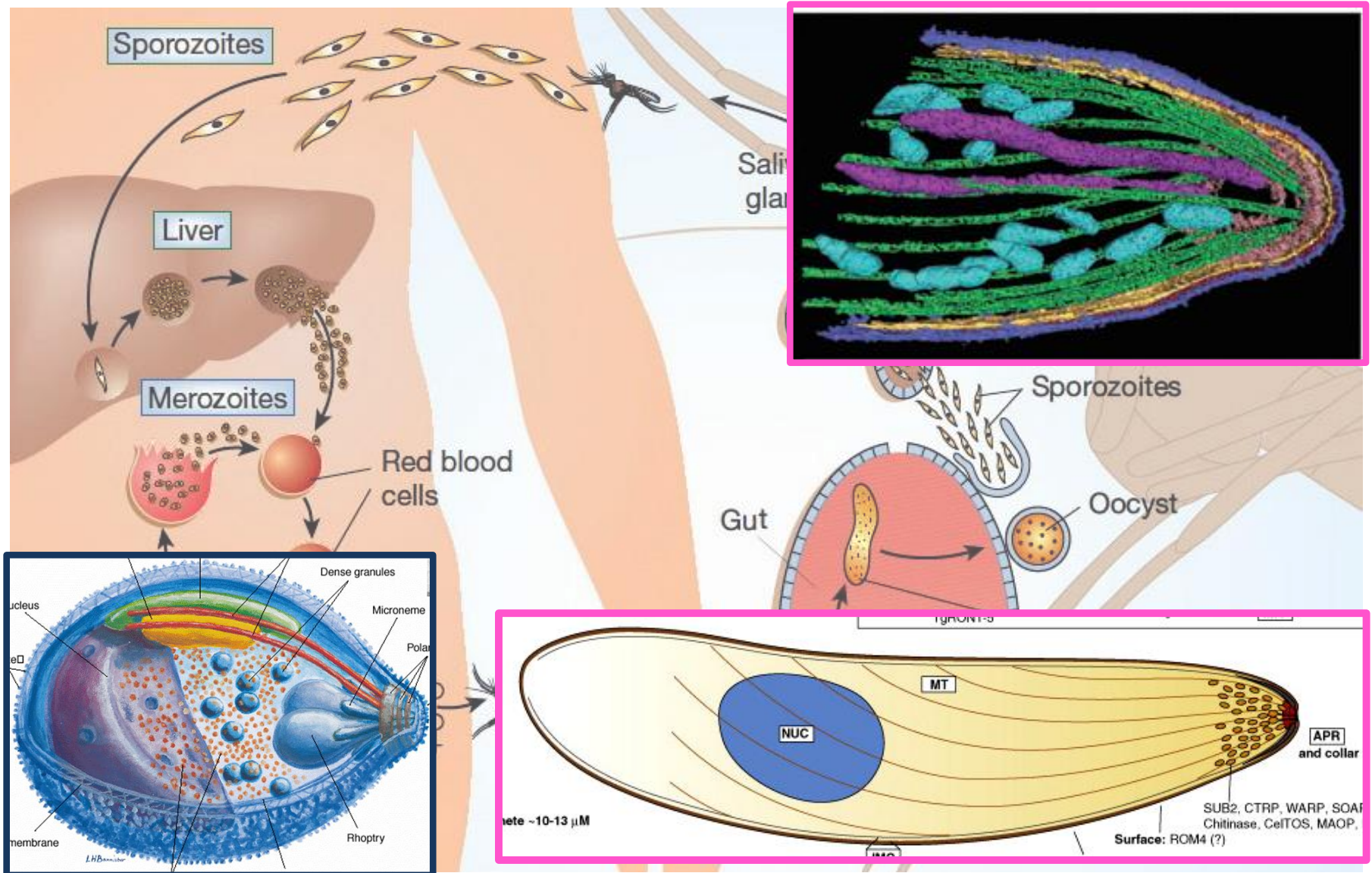


b) 肝臓内で肝細胞へと到達する際



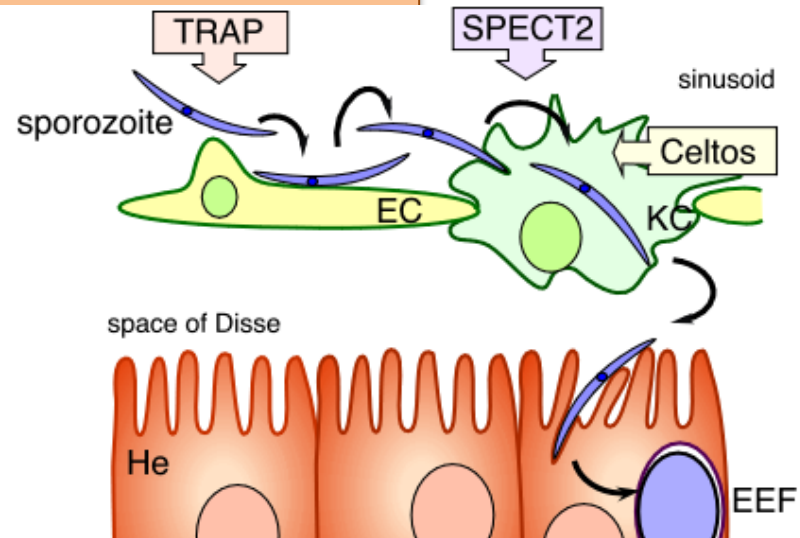
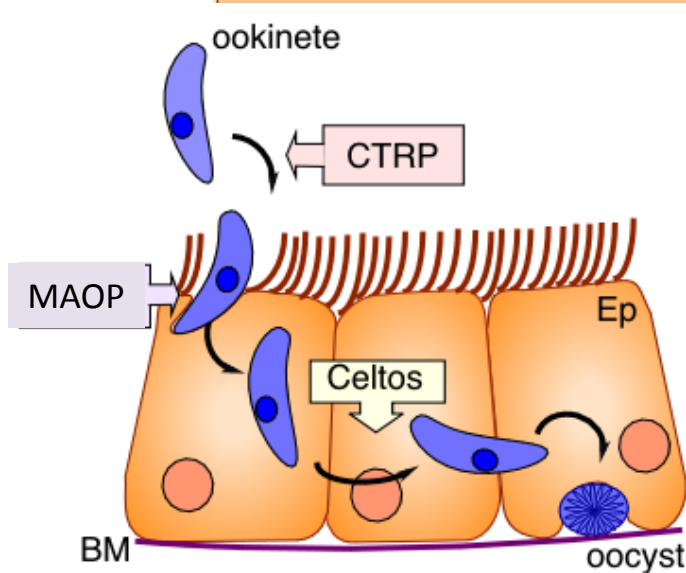
マラリア原虫スポロゾイトは、肝細胞に到達する為に、障害となる細胞層を通り抜ける、あるいは貪食細胞から逃れる為に、標的細胞膜に障害を与えながら当該細胞を通り抜ける機構を持つ

マラリア原虫はシステムの再利用を行う？

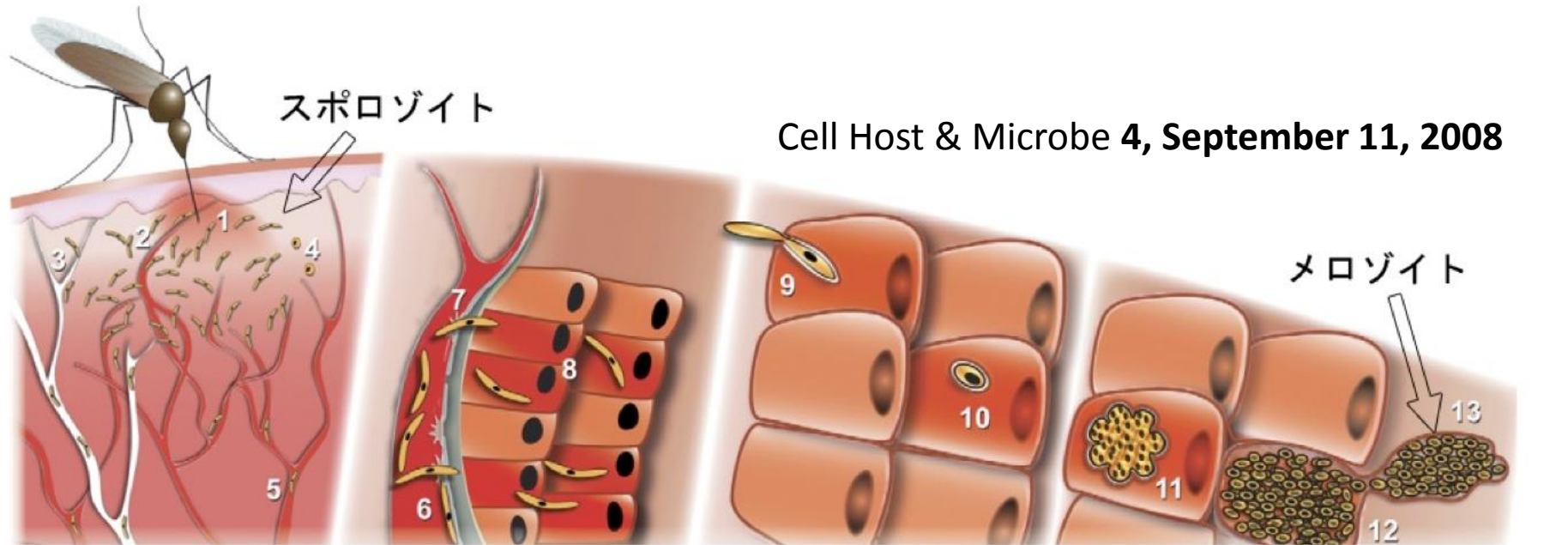


スポロゾイトとオオキネートに共通基盤が存在？

細胞侵入型	オオキネート	スポロゾイ		メロゾイト
滑走運動能	○	○		—
標的細胞	中腸上皮細胞	皮膚／肝類洞壁細胞	肝細胞	赤血球
細胞侵入様式	通過	通過	寄生	寄生
先端部小器官	マイクロネーム	マイクロネーム・ロプトリー		マイクロネーム・ロプトリー



マラリア原虫が哺乳類に感染成立させるまで



Cell Host & Microbe 4, September 11, 2008

移動／細胞通過

細胞認識／
侵入

肝臓ステージ
原虫の発育

寄生胞崩壊／
メロゾイト放出

SKIN TRAVERSAL

PARASITE:

CSP
TRAP
SPECT1
SPECT2
TLP
PL
CelTOS

LIVER SINUSOID &

HEPATOCYTE TRAVERSAL

PARASITE:

CSP
TRAP
SPECT1
SPECT2
CelTOS

HEPATOCYTE

INVASION

PARASITE:

CSP
TRAP
P36
P52/P36p
AC α
AMA1?

LIVER STAGE

DEVELOPMENT

PARASITE:

UIS3
UIS4
SAP1/SLARP

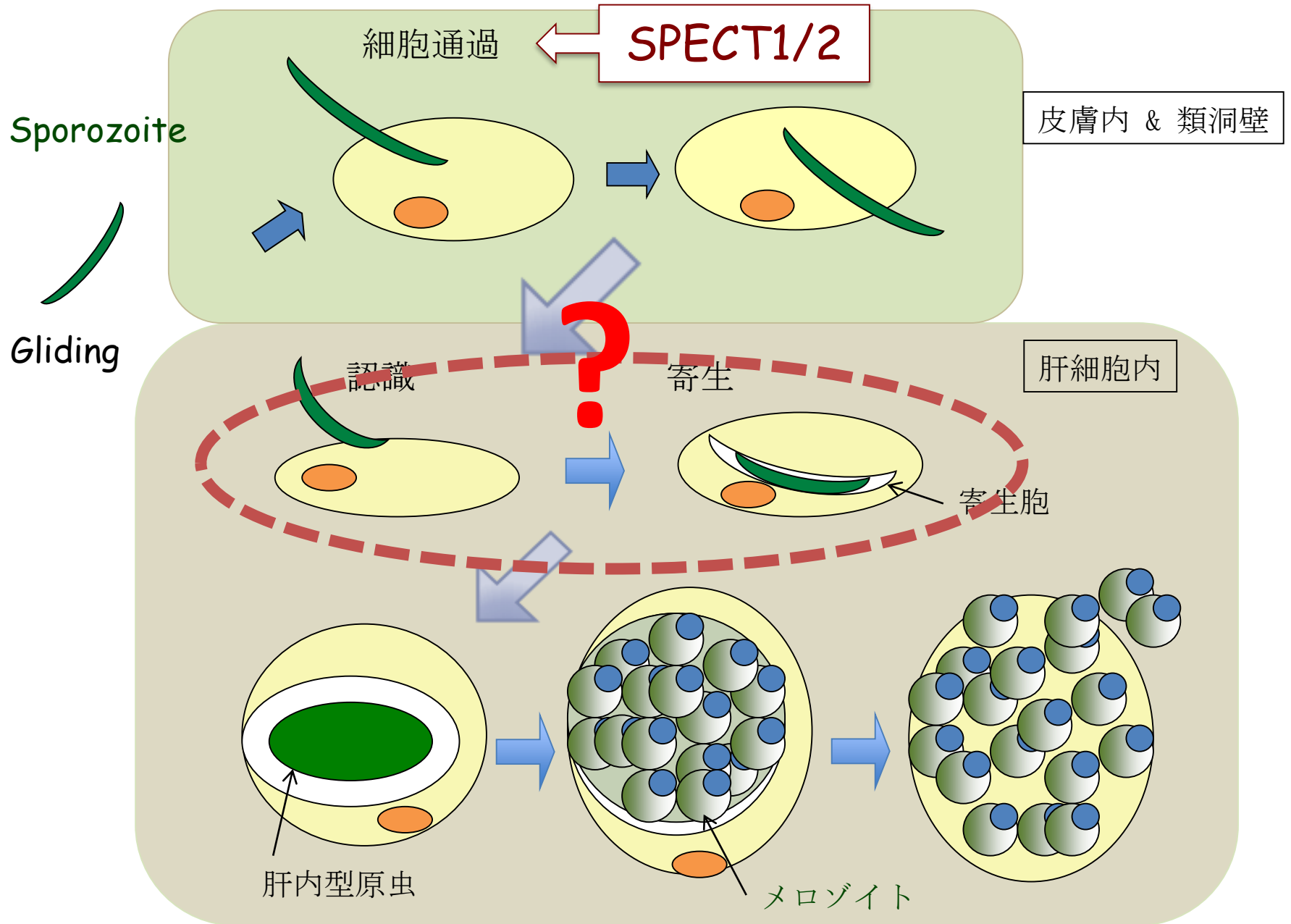
LATE LIVER STAGE

DEVELOPMENT & MEROZOITE EGRESS

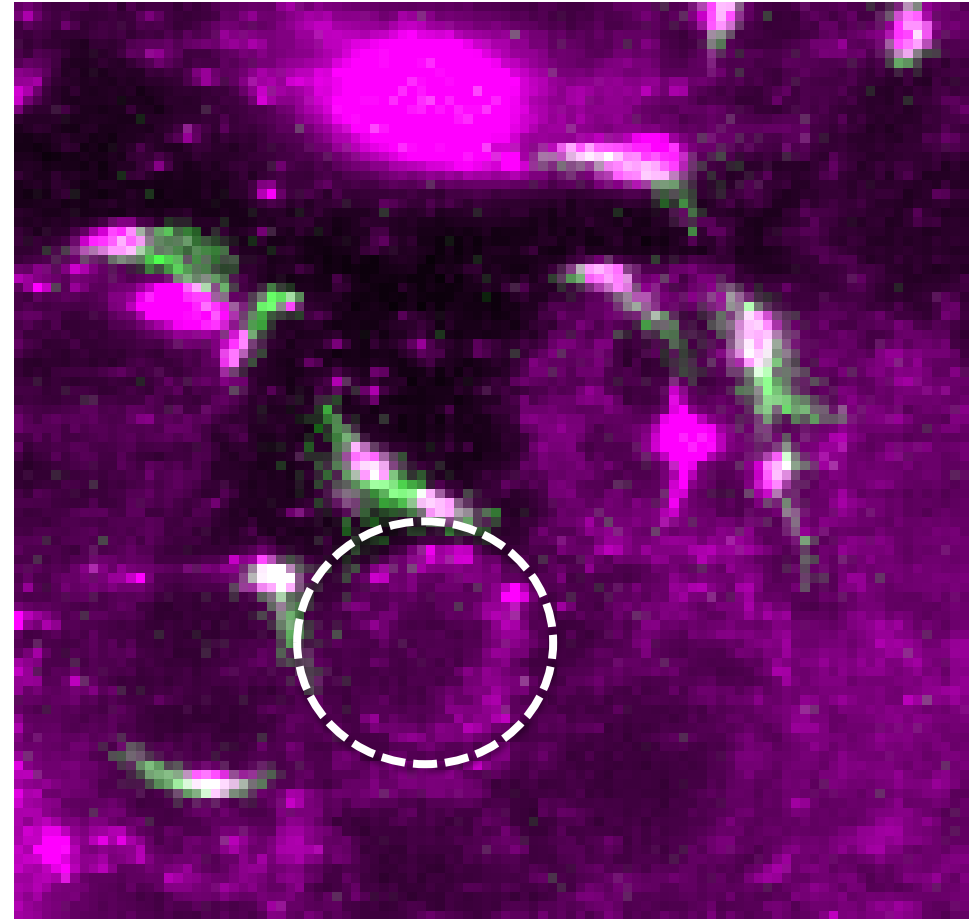
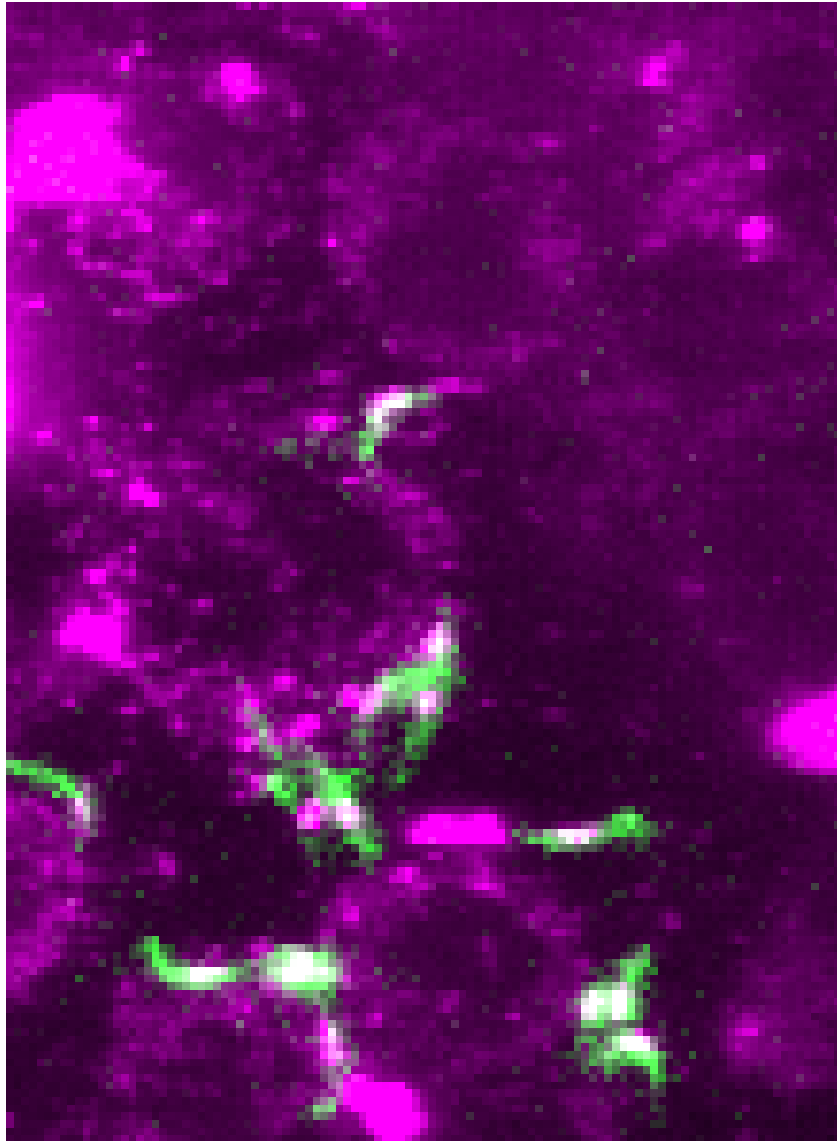
PARASITE:

? LISP1, LISP2

スポロゾイトの細胞侵入&寄生機構



細胞に寄生するスポロゾイトのライブイメージング



Sporozoite

HepG2 cells

17 min:

11 Z-sections

参考文献

Hoffman, 2002, JID 185:1155

Epstein, 2011, Science 334:475-80

Nature. 2002 Oct 3;419(6906):498-511.

Nature. 2002 Oct 3;419(6906):512-9

Nature. 2002 Oct 3;419(6906):520-6.

Nature. 2002 Oct 3;419(6906):527-31.

Nature. 2002 Oct 3;419(6906):531-4.

Nature. 2002 Oct 3;419(6906):534-7.

Nature. 2002 Oct 3;419(6906):537-42.

Ishino et al, PLoS Biol. 2004 Jan;2(1):E4.

Ishino et al, Cellular Microbiology 7(2), 199–208, 2005

参考文献

- Amino R et al. *Cell Host & Microbe*. 3, 88 - 96 (2008)**
- Vanderberg JP& Frevert U. *Int. J. Parasitol.* 34: 991-6 (2004).**
- Frischknecht F. *Cell. Microbiol.* 9: 1630-1640 (2007).**
- Thiberge et al., NATURE PROTOCOLS 2(7), 2007, 1811**
- Kadota et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2004, 101(46):16310-5**
- Ishino et al, Mol Microbiol. 2006 Mar;59(5):1369-79.**
- Yuda & Ishino, Cell Microbiol. 2004 Dec;6(12):1119-25.**
- Ishino et al, Mol Microbiol. 2005 Dec;58(5):1264-75.**
- Kariu et al., Cell Microbiol. 2009 Sep;11(9):1329-39.**
- Ishino et al, Mol Microbiol. 2013 Jan;87(1):66-79.**
- Stephen Hoffman, Scientific American. 2008 Mar.**
- Baum et al, Trends in Parasitology. 2008 Dec;24(12):557-563.**

参考文献

Photolibrary

http://www.photolibrary.jp/img74/4286_222442.html

誰でもわかる遺伝子検査辞典 - ヒトの遺伝子検査とは? -

<http://dna.kokoronogohan.com/040qgiaqih/genome.html>

もりの小学校 - がんと細胞 -

<http://www.morinogakko.com/classroom/sansu/tanni/gensiryoku/yasai/gan.html>

DNA 超らせん

<http://ja.wikipedia.org/wiki/DNA%E8%B6%85%E3%82%89%E3%81%9B%E3%82%93>

イラストレーター Okasanta

http://fitmugen1130.web.fc2.com/site/sozai/popular/popular_21.html

The Quest for a Malaria Vaccine and the Man Who Risked Everything to Find It

<http://mentalfloss.com/article/27056/quest-malaria-vaccine-and-man-who-risked-everything-find-it>

By Michael Myser Business 2.0: The Malaria

参考文献

Malaria in Southern Africa, General Malaria Information.

http://www.malaria.org.za/Malaria_Risk/General_Information/general_information.html

肝細胞の極性

http://g-transfer.hustle.ne.jp/a-site/introduce/research_2/hepato/

E-module d' enseignement sur le paludisme - 1.9.1 Merozoite invasion erythrocyte -

http://fr.impact-malaria.com/web/formation_paludisme/parasites_merozoite_

TAGCyx 技術情報

<http://www.tagcyx.com/technical.html>

理科ねっとわーく : 肺炎双球菌の形質転換のイラスト

<http://rikanet2.jst.go.jp/contents/cp0400/movies/03.swf>

Web な野鳥の道草写真館 -ツバメ-

http://nina-kaz.com/photos/birds/barn_swallow.html

Self-Experimenters: Malaria Vaccine Maven Baited Irradiated Mosquitoes with His Own Arm