

地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業）

「寄生虫疾患の病態解明及びその予防・治療をめざした研究」

研究協力者 報告書

遺伝子導入マラリア原虫による有用蛋白質供給の研究

研究協力者： 自治医科大学・医動物学部門・松岡裕之

研究要旨

マラリア原虫は旺盛な増殖能と蛋白質産生能をもつため、何らかの蛋白質を産生させて寄生宿主の血液に供給させることができるはずである。ヒトの凝固因子（第 IX 因子）をモデルとし、これをマラリア原虫に作らせ血友病モデルマウスに感染させたところ、止血時間の短縮が得られた。人類の敵として扱われてきたマラリア原虫を、人類のために有用なタンパク分子を産生する道具として利用できるかもしれない。

A. 研究目的

マラリアは発熱や貧血を引き起こし、宿主をついには死に追いやるため、人類の敵として永らく扱われて来た。一方でマラリア原虫は旺盛な増殖能と蛋白質産生能をもつため、何らかの蛋白質を産生させて寄生宿主の血液に供給させることもできるはずである。我々のラボではマラリア原虫に任意の遺伝子を導入することができるので、ヒトの凝固因子（第 IX 因子）をモデルとし、これをマラリア原虫に作らせ、血友病モデルマウスに感染させて止血時間の短縮を期待した。

B. 研究方法

野生型のネズミマラリア原虫(*Plasmodium berghei*) にエレクトロポレーション法によりヒトの第 IX 血液凝固因子遺伝子を組込んだ。組換え原虫をマウスに注射してマラリア原虫を増やし、血液中で増殖した原虫からヒトの第 IX 血液凝固因子が産生されることを観察した。また第 IX 血液凝固因子遺伝子を破壊したマウスを入手し、このマウスに組換え原虫を感染させ、血液の止血時間あるいは凝固時間の短縮が起きるかどうかが観察した。
（倫理面への配慮）本研究は自治医科大学遺伝子組換え実験安全委員会および動物実験委員会に事前に計画書を提出し、審査を受け、承認を得たうえで実施した。

C. 結果

ヒトの第 IX 血液凝固因子遺伝子を組込んだ組換えマラリア原虫の作成に成功した。この原虫はヒトの第 IX 血液凝固因子を産生していることを確認した。第 IX 遺伝子の破壊されたマウスに感染させると、止血時間が短縮された。しかし凝固時間の短縮は認めなかった。

D. 考察

止血能力が向上するのは、原虫濃度が 15% 以上になってからである。もっと少数の原虫により凝固を向上させるため、さらに質の高い凝固因子を産生させる必要がある。

E. 結論

マラリア原虫を利用して、ヒトにとって必要なタンパク分子を産生させられることを、血友病マウスを利用して示した。

G. 研究発表

1. 論文発表

Matsuoka H, Sano G, Hattori R, Tomita H, Yamamoto DS, Hirai M: One injection of DsRed followed by bites from transgenic mosquitoes producing DsRed in the saliva elicits a high titer of antibody in mice. Trop Med Health 40(2): 47-53, 2012

Yamamoto DS, Sumitani M, Nagumo H, Yoshida S, Matsuoka H: Induction of anti-sporozoite antibodies by biting of transgenic *Anopheles stephensi* delivering malarial antigen via blood feeding. *Insect Mol Biol* 21(2): 223-233, 2012

Hayashi H, Kyushiki H, Nagano K, Sudo T, Matsuoka H, Yoshida S: Effects of recombinant anopheline anti-platelet protein from a malaria vector mosquito has anti-thrombotic effects *in vivo* without compromising hemostasis. *Thrombosis Res* 129(1): 169-175, 2012

Reza M, Yamamoto DS, Matsuoka H.: Low-concentration copper solution jeopardizes larval movement and ability to survive predation: new insight into malaria eradication via vector control. *Med Entomol Zool* 63(3): 217-222, 2012

2. 学会発表

Sugo T, Hirai M, Stafford DW, Monohan T, Matsuoka H: Expression of recombinant human factor IX protein in mouse erythrocytes by using a transgenic rodent malaria parasite, *Plasmodium berghei* as an expression vector. XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 24-28, 2011

山本大介, 横峰隆志, 八木馨太, 松岡裕之, 吉田栄人: 分泌型ルシフェラーゼ融合 AAPP タンパク質を発現する遺伝子組換えハマダラカ 第 81 回日本寄生虫学会大会、西宮市、2012 年 3 月 23 24 日

早川枝季, 徳榎富由樹, 臼倉治郎, 坪井敬文, Wellem Thomas, 松岡裕之: 熱帯熱マラリア感染赤血球の内部に構築される 3 次元構造の観察 第 81 回日本寄生虫学会大会、西宮市、2012 年 3 月 23 24 日

Reza M, Yamamoto D, Matsuoka H: Low concentration of copper jeopardizes larval movement and survival ability to predator: new insight in malaria eradication via vector control. The 15th Japan-Korea Parasitologists' Seminar, Miyazaki, May23-25, 2012

Reza M, Yamamoto D, Matsuoka H: Utilizing a domestic larvivorous fish “Medaka” with low concentrations of copper: An alternative method for biological control of mosquito larvae. 第 72 回

日本寄生虫学会東日本支部大会 第 10 回分子寄生虫・マラリアフォーラム合同大会、前橋市、2012 年 10 月 12-13 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし