

Title	マラリア原虫 <i>Plasmodium falciparum</i> のスポロゾイト表皮ペプチドの免疫学的並びに構造化学的研究
Author(s)	George, Enyimah Armah
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/29162">http://hdl.handle.net/11094/29162</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 【 1 】

氏名・(本籍)	ジョージ エニマ アーマー GEORGE ENYIMAH ARMAH
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 9321 号
学位授与の日付	平成 2 年 9 月 15 日
学位授与の要件	薬学研究科薬品化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	マラリア原虫 <i>Plasmodium falciparum</i> のスポロゾイト表皮ペプチドの免疫学的並びに構造化学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 富田 研一 (副査) 教授 今西 武 教授 岩田 宙造 教授 北川 勲

## 論文内容の要旨

マラリアを撲滅するためのたゆまぬ努力にもかかわらず、マラリアは、熱帯、亜熱帯地方において、主要な病因であり、今日でも、多くの子供達が死亡している。

マラリアは蚊が媒介する寄生虫性の病気で、*Plasmodium falciparum*、*Plasmodium vivax*、*Plasmodium ovale*、*Plasmodium malariae* の四種の寄生虫が、ヒトのマラリアを発病させる。この内 *P. falciparum* が、最も致死率が高い。

殺虫剤による蚊の駆除及び、薬剤による治療が、マラリアの伝統的な治療法であった。しかしながら、殺虫剤耐性を持つ蚊の出現や薬剤耐性を持つ寄生虫の出現によって、マラリア治療を困難にしている。そこで、寄生虫の生活サイクルに基づいたワクチンの開発が現在世界各国で試みられている。

X線で弱毒化したスポロゾイトで免疫すると、幾らか感染を防げることから、寄生虫の生活サイクルでのこの時期が、ワクチンのターゲットとして有効であることがわかった。

スポロゾイト表皮蛋白中のペプチド CSP1 [NANP (NVDP) NANP (NVDP) (NANP)<sub>6</sub>] をコードするオリゴヌクレオチドを化学的に合成した。ヒト成長ホルモン (hGH) の N 末の 136 残基との融合蛋白質として、大腸菌で発現させ、分子量は 21.7 kd である。この融合蛋白質と CSP1 ペプチドはともに表皮蛋白中の繰り返し部位に対する種々のモノクローナル抗体によって認識された。中でも、融合蛋白質のほうが、免疫性が高く、種々のモノクローナル抗体に対して高い力価を示した。遺伝子制限 I-A を持つマウス (テトラペプチド (NANP) に応答する) を用いて、融合蛋白質に対するモノクローナル抗体を作成したところ、免疫蛍光法 (IFA) においては、CSP1 ペプチドより乾燥させた原虫スポロゾイトに対して高い力価を示した。

CD測定の結果、(1)CSP1は、ランダムコイル構造をとること、(2)融合蛋白質はhGH部分に固有な三次構造を持つために、CSP1部分に新たに2次構造が誘起されたと考えられる構造を持つことが観察された。(3)このhGH部分の固有構造が、融合蛋白質の免疫性を高める要因と考えられる。

抗原、抗体、そして、抗原・抗体の分子複合体のX線構造解析を研究するために、マウスから融合蛋白質に対するモノクローナル抗体を作成した。このモノクローナル抗体はnativeな原虫スポロゾイト、融合蛋白質及び、CSP1ペプチドに応答を示した。

パパインによるイムノグロブリン(IgG)の酵素分解で得られたFab断片を精製し、結晶化を行なった。沈澱剤として、ポリエチレングリコール6000(PEG6000)とLiClを用いたところ角柱結晶が得られた。しかし、これらの結晶は、結晶解析のサンプルとしては小さすぎるものであった。

### 論文審査の結果の要旨

マラリアは熱帯、亜熱帯地方の主要な病因の一つであるが、近年、化学療法剤に耐性をもつマラリア原虫が出現し、新しい治療法、すなわちマラリアワクチンの開発が待たれている。

本研究では、このマラリアワクチンの開発を目的として、マラリア原虫スポロゾイト表皮蛋白質中の繰返し配列を含むペプチドを遺伝子組換えの手法を用いて、大腸菌内で発現させ、その構造と抗原性を円二色性法およびイムノアッセイ法によって検討するとともに、このペプチドに対するモノクローナル抗体を作成し、Fab断片と抗原との複合体の分子構造をX線解析法で明らかにするための結晶化を行なった。

以上の成果は、薬学博士の学位論文として充分価値あるものと認める。