The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	plasmodium falciparum : 33kDa可溶性抗原の性状について
Author(s)	Maria, Isabel A. Ramos
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36039
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【28】

氏名・(本籍)	MARIA ISABEL A. RAMOS（マリア イザベル ラモス）
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　8598　号
学位授与の日付	平成元年3月24日
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	*plasmodium falciparum*：33kDa可溶性抗原の性状について
論文審査委員	(主査) 教授 中林 敏夫 (副査) 教授 藤尾 啓　教授 三輪谷俊夫

論文内容の要旨

〔目的〕

熱帯熱マラリア *P. fal.* は熱帯地方に広く蔓延し，重篤な症状を呈する感染病である。マラリアワクチンの開発，診断への応用を目的としたマラリア抗原に関する研究において異株間共通の抗原物質の同定が必要である。マラリア培養上清中の可溶性抗原の解析についていくつかの報告がある。本研究は従来の報告とは異なる *P. fal.* 可溶性抗原を同定，分離し，その免疫化学的性状および免疫学的重要性と診断的意義について検討を試みた。

〔方法〕

1. 可溶性抗原の同定

P. fal.，Vietnam-Oak-Knoll（FVO）株を無血清培地で培養後，培養上清を採取し，CM-affigel Blue によるAffinity Chromatographyにより，可溶性抗原を分離した。

2. 抗可溶性抗原特異抗体の作製と抗原の分離

培養上清より得られた抗原，あるいは *P. fal.* 虫体抽出抗原で免疫したマウス脾細胞を細胞融合し，得られたモノクロナール抗体（mAb）を用いてAffinity Chromatographyにて抗原の分離を行なった。

得られた抗原でウサギを免疫し，特異抗体（pAb）を得た。また，同精製抗原によるELISAにてマラリア患者血清中の特異抗体の存否を検索し，抗原を吸着させたAffinity Chromatography により，患者血清中の抗可溶性抗原特異抗体を分離した。

3. 抗原の諸性状

本抗原の共通抗原性を検べる目的で，地理上分布の異なる*P. fal.* 10株の各虫体培養上清，および虫体抽出物を材料に，Affinity Chromatography ならびに immunoblot 法にて本抗原の検出を試みた。他種マラリア（*P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. gallinaceum*, *P. berghei*）との交又反応性を検討した。マラリア虫体における抗原局在部位の検討を間接蛍光抗体法，および免疫電顕法にて行なった。本抗原の生成および培養上清中への産生機序については，^{35}S-Methionine，および ^{3}H-Histidine を用い，Pulse-Labellingにて標識した抗原を，特異抗体，あるいは患者血清で免疫沈降させた後，SDS－PAGE を行ない，fluorography にて検出し，解析を行なった。精製抗原を用いて，その生化学的性状を検討した。

4. 特異抗体による *in vitro* でのマラリア虫体感染阻害試験

Ring form期と，Schizont 期虫体を各々，mAb, pAb 存在下でヒト赤血球と共に48時間培養し，24時間毎にGiemsa 染色塗抹標本を作製し，Ring form 期虫体の形成率，ならびに赤血球内増殖性を観察した。

〔成績〕

1. 無血清培地で培養した*P. fal.* 培養上清中にSDS－PAGEで 33 kD に位置する明瞭な１本のバンドが観察された。

2. 地理上分布の異なる*P. fal.* 分離株10株と，*P. gallinaceum* では，上記の33kD抗原が，mAb，pAb，ならびに*P. fal.* 患者血清によって検出されたが，*P. bcrghei* では検出されなかった。同精製抗原は*P. ovale* 患者や，*P. malariae*, *P. vivax* 患者血清によっても検出された。

3. 同抗原は，Ring form期，Trophozoite期，Schizont 期虫体に存在するが，成熟に従い量的増加を示した。また，感染血球内部，および膜表面にも検出され，同物質が虫体より放出されると考えられた。そして，非感染血球に対し，非特異的吸着能を示した。同抗原物質は２次元電気泳動では等電点 pH 6.8 に位置し，糖蛋白の性質を有し，抗原性はトリプシン，キモトリプシンおよび65℃の熱処理によって失活した。

4. 同抗原に対する抗体は，*P. fal.* 虫体に対し，細胞内増殖阻害能を示した。阻害効果は，1 ㎎／ml 濃度で46％であった。しかし，Merozoite の血球内侵入に対しては阻止し得なかった。

〔総括〕

1. 33kD抗原物質は，*P. fal.* の赤血球内寄生時に産生される糖蛋白の一種であり，生理的代謝の一環として感染血球の外部へ搬出される。抗原性は，各種の蛋白分解酵素，および65℃の熱処理によって失活する。

2. 本抗原物質は，地理上分布の異なる*P. fal.* 分離株中に見出され，他種のマラリアに対する抗血清によっても検出された。このような交叉反応性は，DNA－Probe によるマラリアの診断や疫学調査に有効な材料となり得ると考えられる。

3. 本物質に対する抗血清は，*in vitro* での血球内増殖阻害効果があり，また，本物質は非感染血球吸着性を示した。これらの知見はマラリアの病原性を解明する手がかりのひとつと考えられる。

論文の審査結果の要旨

マラリアの早期診断，ワクチン開発の研究では抗原物質の異株間特異性等が問題となる。本研究は熱帯熱原虫の培養上清液中から分離した抗原の同定と特性を明かにしたものである。

Affinity chromatographyにより分離精製した抗原はWestern blottingで分子量33kDであり，易熱性，糖蛋白性物質であった。本抗原は原虫抽出液中にも存在し，蛍光抗体法，免疫電顕法で原虫体内，赤血球内にも検出された。本物質は原虫の分裂期に産生が多く上清液に移行するものである。この抗原は分布地が異なる原虫株にも検出され，他種マラリア寒者血清によっても認識された。本抗原に対する特異単クローン抗体は原虫の赤血球内増殖阻害効果を示した。

本抗原物質に関する以上の新知見はマラリアの診断および病態解析に役立つものとして高く評価され，学位に値するものと考えられる。