The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Complement-mediated killing of Plasmodium falciparum erythrocytic schizont with antibodies to the recombinant Serine Repeat Antigen (SERA)
Author(s)	龐, 昕黎
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40734
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

【36】

氏　　名	龐　　昕　黎（ぱん しん り）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　13709　号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科病理系専攻
学　位　論　文　名	Complement-mediated killing of *plasmodium falciparum* erythrocytic schizont with antibodies to the recombinant Serine Repeat Antigen (SERA) （抗SERA抗体と補体による熱帯熱マラリア原虫の殺滅）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　上田　重晴 （副査） 教　授　木下タロウ　　教　授　本田　武司

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

マラリアは最も大きな被害を及ぼしている寄生虫病であり，現在，全世界人口の四割の人々がマラリアの流行地域に暮らしている。薬剤耐性マラリア原虫株が蔓延しているため，有効なマラリアワクチンの開発は緊急の課題である。SERA蛋白質は赤内ステージのマラリア原虫が，トロフォゾイト，シャイゾント期に大量に発現する蛋白質であり，成熟した原虫が感染赤血球を壊裂し，メロゾイトを放出する際，47kDa，50kDaと18kDaの三つの断片にプロセスされる。SERA人工合成遺伝子を大腸菌において発現させたレコンビナントSE47'蛋白質（SERA-N末端）を用いて誘導したラット，マウスおよびリスザルの抗血清は*in vitro*で強くマラリア原虫の増殖阻害を示し，この原虫増殖阻害は血清中の抗SE47'抗体価と関与していることが明らかとなった。しかし，抗SE47'抗体によるマラリア原虫の増殖阻害機序については，解明されていなかった。私は，マラリア原虫増殖抑制における抗SE47'IgG抗体と補体の関与メカニズムを明らかにするために以下に示す実験を行った。

【方法】

大腸菌から精製したレコンビナントSE47'蛋白質を用いてマウスを免疫し，得られた抗血清，および，抗血清よりprotein Aカラムと SE47'蛋白質を用いたアフィニティーカラムによって精製した抗体を用いて，増殖阻害実験を行うとともに，間接蛍光抗体法（FITC）によりSERA蛋白質と複合体を形成した抗SE47'IgGの局在を調べ，また，補体存在下と非存在下で*in vitro*においてマラリア原虫の増殖への影響を検討し，増殖阻害のメカニズムを解析した。また，ギムザ染色により抗SE47'IgGと補体によるシゾントの形態的の変化を調べた。

【結果】

抗SE47'マウス抗血清，および，protein Aカラムとアフィニティーカラムにて精製したtotal IgGとSE47'特異的IgGは培養マラリア原虫の増殖を強く阻害した。阻害効果は10-100 μg ml^{-1}の範囲において濃度依存的で，100 μl ml^{-1}の濃度において十分な阻害効果が見られた。また，マラリア原虫の発育が，シゾント期からリング期への段階で阻害されることが明らかとなった。特異的抗体による増殖阻害のメカニズムを解析するため，精製したマラリア原虫細胞（シゾント）をSE47'特異的IgGの存在下で培養し，間接蛍光抗体法によりSERA蛋白質の局在の観察を

行った。その結果，シゾントおよびメロゾイトは抗SE47'IgGにより凝集され，この凝集されたシゾントおよびメロゾイトの塊に強い蛍光シグナルが観察された。以上の結果より，SE47'特異的IgGは，赤血球膜を持たないシゾントとメロゾイトを凝集し，新しい赤血球への侵入を阻害することを明らかとした。

次に，原虫増殖阻害とSE47'特異的IgGのサブクラスの関係を検討した。その結果，IgG1より補体結合性であるIgG2a, 2b, 3の方が強い増殖阻害効果を示し，また，IgG2a, 2b, 3の増殖抑制効果は補体によって増強されることが明らかとなった。さらに，補体結合性のIgGと補体による原虫の形態的な変化を検討した結果，シゾントをSE47'特異的IgGと補体の存在下で24時間培養すると，核に著しい形態的変化が見られた。

【総括】

1，SE47'特異的IgGはシゾントおよびメロゾイト表面に存在するSERA蛋白質と結合し，これらを凝集することによりマラリア原虫の増殖を阻害することを示した。

2，補体結合性のIgGサブクラスは補体非結合性のIgGサブクラスよりマラリア原虫の増殖阻害効果が強く，また，補体による阻害の増強が見られた。

3，補体によるマラリア原虫の増殖阻害はマラリア原虫の形態的な変化をともない，古典的経路による補体の活性化が示唆された。

論文審査の結果の要旨

これまでに様々な抗原蛋白質や合成ペプチドを用いた数多くのマラリアワクチン試験が行われてきたが，これらワクチン候補抗原に対して誘導された免疫による原虫殺滅のメカニズムについては不明な点が多く，また，有効なマラリアワクチンの開発にも至っていない。本研究ではマラリアの有望なワクチン候補とされているSERA蛋白質をもとに，組換え遺伝子によって生産したレコンビナントSE47'蛋白質に対する抗体が原虫を殺滅するメカニズムを明らかにした。まず，SE47'特異的なマウスIgG分子を精製し，抗体分子のみによってマラリア原虫の増殖が阻害されることを示した。さらに，SE47'特異的なIgGがマラリア原虫のシゾントおよびメロゾイト表面に存在するSERA蛋白質と結合し，これらを凝集することを明らかにした。また，SE47'特異的な補体結合性のIgGサブクラスにおいては，補体の添加によりマラリア原虫の形態的な変化をともなう増殖阻害を観察した。これらの結果から，古典的経路による補体の活性化が示唆された。本研究は，有効なマラリアワクチンの開発において最も研究が遅れている抗体による原虫殺滅メカニズムを明確に示し，マラリアワクチン開発の実用化に向けて大きく貢献した。よって，この論文は学位論文として十分に価値のあるものと考えられる。