



Title	Serine Repeat Antigen (SERA5) Is Predominantly Expressed among the SERA Multigene Family of Plasmodium falciparum, and the Acquired Antibody Titers Correlate with Serum Inhibition of the Parasite Growth
Author(s)	青木, 彩佳
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45471
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について 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

氏名	青木彩佳
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 19303 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Serine Repeat Antigen (SERA5) Is Predominantly Expressed among the SERA Multigene Family of <i>Plasmodium falciparum</i> , and the Acquired Antibody Titers Correlate with Serum Inhibition of the Parasite Growth (熱帯熱マラリア原虫 SERA 遺伝子ファミリーの発現解析から見た SERA ワクチン耐性株の出現の可能性について)
論文審査委員	(主査) 教授 堀井 俊宏 (副査) 教授 木下タロウ 教授 本田 武司

論文内容の要旨

〔目的〕

熱帯熱マラリアは世界で年間に 200-300 万人が死亡する最も深刻な感染症の一つであるが、効果的なワクチンはいまだ開発されていない。SERA (Serine Repeat Antigen, 120 kD) は、赤血球期マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) の栄養体から分裂体の時期に産生され、寄生胞に蓄積する蛋白質である。この SERA の N-末端ドメインは、最も有望なワクチン候補抗原と考えられているが、マラリアゲノムプロジェクトにより、9 個の SERA ホモログが存在することが示され、遺伝子ファミリーを形成していることが明らかになった。第 2 染色体上に連続する遺伝子が 8 個、セントロメア側より SERA1-8 と名付けられ、第 9 染色体上に SERA9 が存在する。ワクチン候補である遺伝子は SERA5 に相当する。

マラリア原虫において遺伝子ファミリーを形成する抗原は、発現する遺伝子を次々と変更し抗原性を変換することによって宿主免疫防御を回避することが知られ、SERA ファミリーにおいてもその可能性がある。もし、抗原性を変換させるのであれば、SERA5 はワクチン候補として適さない可能性がある。私は、SERA ファミリーにおける遺伝子発現の変換の可能性を追及するため、各 SERA ファミリー遺伝子の転写活性および、タンパクの発現を検討した。

〔方法ならびに成績〕

代表的な原虫株である、FCR3、Hondurus-1、K1 等を用いてそれぞれの SERA 遺伝子の転写活性をリアルタイム PCR によって測定した結果、すべての SERA ファミリー遺伝子が常に同等の比率で発現されていた。いずれの株でも SERA5 が最も強く転写されており、SERA5>SERA4>SERA3>SERA6>SERA7>SERA1, 2>SERA8 の順で、他の SERA ファミリー遺伝子の転写量は SERA5 に対して、約 0.01%-20%であった。実際の蛋白質の発現を見るために、転写量の多い SERA3, 4, 6 の N 末端についてレコンビナント蛋白質を作成し、ウサギに免役し、抗血清から抗体を精製した。トロフォゾイト/シゾント期のマラリア原虫に対し、それらの抗体を用いてウエスタンブロットを行っ

た結果、推定される蛋白質全長のシングルバンドが検出された。この結果から、得られた抗体は遺伝子ファミリーにおいても相互反応することのない抗体であることも証明できた。また、半定量的なウエスタンブロットを行った結果、蛋白質の発現量は、転写比率とほぼ同じ結果が得られ、SERA5 蛋白質はどの SERA よりも多く発現しており、マラリア原虫の総蛋白質のうち約 1% が SERA5 であることが明らかになった。

ここで蛋白質の発現は確認できたが、個々の細胞において異なる蛋白質を発現している可能性は否定できないので、シゾント期の細胞に対して、SERA3, 4, 5, 6, の抗体を用いて間接蛍光抗体法を行ったところ、個々の細胞ですべての蛋白質が発現していることが確認された。また、寄生胞に存在することが明らかとなっている SERA5 と SERA3, 4, 6 の 2 重染色により、局在はほぼ同じであることが明らかになった。この結果は、SERA 多重遺伝子群が細胞ごとに異なる遺伝子を発現することによる、抗原性変換は生じないことを示しており、SERA マラリアワクチンに対する耐性株出現の可能性が低いことを示唆する。さらに 40 人分のウガンダ人成人血清を用いて、SERA3, 4, 5, 6 レコンビナント蛋白、及び、MSP-1 (C-terminal 19 kD) に対する抗体価を測定するとともに、これらの血清を用いて原虫増殖阻害実験を行なったところ、抗体価と阻害効果に正の相関が観察されたのは SERA5 のみであった。

〔総括〕

SERA5 はマラリア原虫細胞において、RNA レベルにおいても蛋白質レベルにおいても最も強く発現している抗原の一つであるにもかかわらず、流行地においては SERA5 に対する抗体陽性者は他の SERA 蛋白質や MSP-1 蛋白質に比べて最も低かった。これらはマラリア自然感染において SERA5 に対するヒトの免疫応答がなんらかの機構によって抑制されていることを示唆すると同時に、SERA5 が熱帯熱マラリア原虫のアキレス腱となる標的抗原であることを強く示唆する。

このことから、SERA 遺伝子ファミリーは、抗原性変換を行うことによる免疫回避機構には関与していないということが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

熱帯熱マラリアは、世界で最も深刻な感染症の一つであるが、ワクチンはいまだ実用化されていない。マラリア原虫において遺伝子ファミリーを形成する抗原遺伝子では、発現する遺伝子を変更し抗原性を変換することによって宿主防御免疫を回避する機構が知られている。熱帯熱マラリア原虫のワクチン候補抗原である SERA5 (Serine repeat antigen, SERA5) では、その homologue が 9 つあることがゲノムプロジェクトにより明らかにされた。もし、抗原性を変換させるのであれば、SERA5 はワクチン候補として適さない。

本研究では、SERA 遺伝子ファミリーに属する全ての遺伝子の発現解析を行い、一定の転写比率が維持されていることが示された。また、個々の細胞においても、それぞれの SERA 蛋白質は SERA5 と共発現しているとともに、SERA5 蛋白質が最も多く発現していることを示した。以上の結果から、SERA 遺伝子ファミリーは遺伝子発現スイッチングによる抗原性変換には関与していないと結論した。また、ウガンダ人成人血清を用いて、主要な SERA ファミリー組換え蛋白質に対する ELISA と原虫阻害実験を行ったところ、抗体価と阻害効果に相関があったのは SERA5 のみであった。これらの結果より、SERA5 蛋白質はマラリアワクチン候補として極めて有望であることを示唆した。

以上の結果より本論文は学位の授与に値するものと認める。