

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 地球規模保健課題解決推進のための研究事業 日米医学協力計画
(英語) Research Program on the Challenges of Global Health Issues: U.S.-Japan
Cooperative Medical Sciences Program

研究開発課題名：(日本語) 日米医学協力計画を基軸にしたアジア地域にまん延している細菌・寄生虫
感染症に関する研究
(英語) Research on the control of bacterial and parasitic infectious diseases in Asia through
U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program

研究開発担当者 (日本語) 熱帯医学研究所 免疫遺伝学分野 教授 平山 謙二
所属 役職 氏名：(英語) Department of Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN),
Nagasaki University, Professor, Kenji Hirayama

実施期間：平成28年 4月 1日 ～ 平成29年 3月31日

分担研究 (日本語)
開発課題名：(英語)

研究開発分担者 (日本語)
所属 役職 氏名：(英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

アジアとりわけ東南アジア地域に蔓延する寄生虫疾患のうち、特に保健衛生上重要と考えられるマラリア、赤痢アメーバ症、に焦点を絞り、各分担研究者の専門性を生かした基礎研究を推進し、研究成果を利用した感染症制御のための医薬品ワクチン診断薬の開発を提案することを目的として研究開発を進めた。

1. 医薬品開発に関する基礎研究

1) 阻害薬の標的となる寄生虫に特異的な代謝経路の同定

赤痢アメーバにおけるユニークな中心代謝を特に解糖経路と脂質代謝をつなぐ複数の酵素についての性状解析を試みた。その結果、解糖経路のジヒドロキシアセトンリン酸 (DHAP) からグリセロール 3 リン酸 (G3P) を作るグリセロール 3 リン酸デヒドロゲナーゼ (G3PDH) を大腸菌組換えタンパク質として発現・精製することができた。

2) 薬剤耐性メカニズムの解明

クロロキン服用時の生体内と同等の濃度によって原虫 DNA に有為にダメージが誘導されることを実験的に示し、クロロキン服用が原虫 DNA への変異導入につながる可能性が示唆された。

2. ワクチン開発に関する基礎研究

1) ワクチン候補となる寄生虫抗原の解析

コムギ無細胞法を用いて作製した熱帯熱マラリア原虫 1827 種の組換えタンパク質ライブラリーを、ウガンダのマラリア流行地住民 66 名から得られた血清を用いてスクリーニングした。そのデータから、各タンパク質に対する抗体価がマラリアに対する抵抗性と相関するものを同定した。その結果、128 種の熱帯熱マラリア原虫タンパク質がマラリアワクチン候補抗原と考えられた。

2) 寄生虫感染防御を強く惹起できるワクチン技術の開発研究

Plasmodium yoelii-B6 マウスモデル (6-7 日完全致死性) を対象として、DNA ワクチン技術により開発した組み換え TAM (transaminase like) タンパクワクチンをベースに、アジュバントとして CpG 核酸を用い、細胞性免疫の増強効果を期待した。しかし、顕著な防御効果はみられず、原虫血症のピークが 1 日遅れる効果しか見られなかった。

英文

Our group focused on drug and vaccine development for the control of malaria and Amebiasis which are endemic in south East Asian countries.

I. Drug development

1) Drug target identification

Glycolysis related enzymes, Glycerol 3 phosphate dehydrogenase (G3PDH) is unique in *Entameba histolytica*. So that we cloned the coding gene and let it expressed in the E.coli to obtain the purified recombinant proteins.

2) Drug resistance

Chloroquine administration in vitro malaria culture provoked DNA damage. This finding indicated a direct influence of anti-malaria on higher frequency of mutation in the malaria parasite.

II. Vaccine development

1) Malaria vaccine candidate

1827 recombinant malarial proteins were produced by the cell free system and screened using 66 patients' plasma samples from Uganda where falciparum malaria is holo-endemic. 128 proteins were identified as protective which are only reactive to resistant individuals.

2) Novel adjuvant for malaria vaccine

recombinant TAM (transaminase like) based vaccine was coupled with new type of CpG adjuvant against challenge infection with *P. Yoelii* for C57BL/6 mouse. The enhancing effect was not observed just one day delay of onset of parasitemia.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 件、国際誌 件)
なし。

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 題目 : Mass drug administration to eliminate malaria on islands, 口頭発表, 金子明, 日米寄生虫 EID 会議, 2017/02/08, 国外
2. 題目 : Identification of an AIGI gene as a novel virulence-associated gene by comparative genomics of *Entamoeba histolytica* clinical isolates, 口頭発表, 津久井久美子, 日米寄生虫 EID 会議, 2017/02/09, 国外.
3. 題目 : Impact of material praziquantel treatment during pregnancy on offspring immune responses to schistosome antigens at six years of age, 口頭発表, Mario Jiz, 日米寄生虫 EID 会議, 2017/02/09, 国外
4. 題目 : Naturally acquired immunity to *Plasmodium falciparum* malaria: Profiling antibody responses for novel vaccine antigen discovery, 口頭発表, 高島英造, 日米寄生虫 EID 会議, 2017/02/09, 国外
5. 題目 : Plasmodium falciparum CSP vaccine based on a heterologous adenovirus-prime and baculovirus-boost immunization regimen confers sterile protection against transgenic *P.berghei* sporozoite challenge, 口頭発表, 吉田邦嵩, 日米寄生虫 EID 会議, 2017/02/09, 国外.
6. 題目 : Transmission blocking in mutant malaria parasites resistance to antimalarial drug Atovaquone, 口頭発表, Josephine E. Siregar, 日米寄生虫 EID 会議, 2017/02/09, 国外.
7. 題目 : Biomedical analysis of *Plasmodium falciparum* FJ180, a PHIST protein secreted into infected red blood cells, 口頭発表, 中田貴敬, 日米寄生虫 EID 会議, 2017/02/09, 国外.
8. 題目 : IFN- γ controls amebic liver abscess and the function of type 2 innate lymphoid cells in mice intraperitoneally inoculated with *Entamoeba histolytica*, 口頭発表, 濱野真二郎, 日米寄生虫 EID 会議, 2017/02/09, 国外.
9. 題目 : High throughput screening and combinatorial chemistry for the discovery of novel anti-malarials, 口頭発表, Farhana Mosadeque, 日米寄生虫 EID 会議, 2017/02/09, 国外.
10. 題目 : Activation and exhaustion of antigen-specific CD8⁺T cells occur in different splenic compartments during infection with Plasmodium berghei, 口頭, Ganchimeg Bayarsaikhan, 日米寄生虫 EID 会議, 2017/02/09, 国外.
11. 題目 : Characterization of the protein-protein interactions between PfRipr, Rh5 and CyRPA for logical design of blood-stage malaria vaccine, 口頭発表, 長岡ひかる, 日米寄生虫 EID 会議, 2017/02/09, 国外.
12. 題目 : Discovery of lineage-specific mitochondrial membrane proteins in *Entamoeba histolytica*,

口頭発表, Santos Herbert Jimenez, 2017/02/09, 国外.

13. 題目 : Application of antimalarial drugs for malaria biology, 口頭発表, 東岸任弘, 日米寄生虫 EID 会議, 2017/02/09, 国外
14. 題目 : Plasmodium Knowlesi Skeleton-Binding Protein 1 Localizes to the “Sinton and Mulligan” Stippling in the Cytoplasm of Monkey and Human Erythrocytes, 口頭発表, Lucky Amuza, 日米寄生虫 EID 会議, 2017/02/09, 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. Ethical issues in pharmacogenomics research, 平山謙二, 長崎大学, The 15th Nagasaki International Course on Reserch Ethics, Pompe Hall in Sakamoto Campus, 2016/05/16-18, 国内

(4) 特許出願

なし。