

医療・健康

薬剤耐性マラリア対策の画期的研究ツールを開発 ～ミューテーターでマラリアの変異を追う～

概要

順天堂大学医学部・熱帯医学・寄生虫病学講座の平井誠准教授、美田敏宏教授らの研究グループは、東京女子医大、杏林大学、大阪大学との共同研究により、マラリア生物学の新しい研究ツールを開発しました。高頻度に突然変異が蓄積するネズミマラリア原虫(ミューテーター*¹)を研究ツールとして進化研究を行った結果、ゲノムワイドに多様な変異が蓄積することを確認しました。さらに、マラリア原虫が蚊の中で増殖するために必須の因子に高頻度に変異が入ることを発見しました。この成果は、マラリア撲滅の最大の障害である薬剤耐性マラリアへの対策において、画期的な研究ツールになる可能性を示しています。本研究は、英科学雑誌 *Scientific Reports* 電子版で2016年11月15日(日本時間)に発表されました。

本研究成果のポイント

- ・研究ツールとして高頻度突然変異率を持つマラリアミューテーターを開発
- ・原虫ゲノムの多様な変異の蓄積と配偶子分化誘導因子の高頻度な変異挿入を発見
- ・薬剤耐性マラリア対策に向けた迅速な研究が可能に

背景

マラリアは、マラリア原虫がハマダラカによって媒介される感染症で年間数十万人の死者を出し、未だ人類にとって最大の敵です。マラリア原虫は、突然変異によりマラリア治療薬に対して速やかに薬剤耐性を獲得するため、マラリア撲滅において大きな障壁になっています。このマラリア原虫の薬剤耐性獲得機構を解明するための新しい研究ツールが世界的に切望されていました。そこで、私たちの研究グループは新たな研究ツールとして、通常の約80倍の突然変異率をもつ「高頻度突然変異発生型ネズミマラリア原虫(マラリアミューテーター)」を開発し、進化実験*²を行うことでミューテーターの突然変異の特徴を解析しました。

内容

私たち研究グループは、まずDNA複製時のエラーを修復する機能を欠損させたマラリアミューテーターを作成しました(図1)。変異の影響を調べるため、このミューテーター原虫をマウスに接種し、1週間後に感染赤血球を新しいマウスへ接種する継代感染、いわゆる進化実験を行いました。この実験で蓄積された遺伝子変異をゲノムワイドに調査した結果、狙い通りミューテーターは多様な変異を蓄積したことを確認しました。詳細に解析したところ、4種類の塩基(ATGC)の組み合わせで構成されているDNAのうち、ミューテーターに起こった変異のほとんどはC/GからA/Tへの塩基置換であり、その結果ゲノム全体がATリッチヘシフトすることを見出しました。

マラリア原虫は、マウス体内で無性生殖世代と有性生殖世代の2種類の形で存在します。蚊の体内で増殖できるのは有性生殖世代のみです。マラリア原虫の有性世代への分化決定因子として転写因子のAP2-Gがあります。今回の実験により、興味深いことにそのAP2-Gに変異が入りやすいことを発見しました。AP2-Gに変異が入るとマラリア原虫は有性生殖世代を形成出来ないことから、蚊の中に入っても増殖することができません。本研究では、ミューテーターは蚊を宿主とせず、マウスのみで維持しました。そのためAP2-Gに変異を入れることでその機能を停止し、マウス体内で寄生するための適応度を上げたと推察されます。このことは、AP2-G欠損変異体はマウス体内での増殖率が上昇する結果からも裏付けられます。

以上の結果は、本研究ツールがマラリア原虫の宿主適応進化などマラリア生物学の解明において非常に有効であることを示します。

今後の展開

本研究で開発したミューテーターをマウスに接種することでマラリア原虫の多様な変異体が生まれます。この変異体ライブラリーを用いることで、現在のマラリア治療で使用されている薬剤だけでなく、開発中の新薬に対する耐性を獲得する原虫を簡単に単離することが可能になります(図2)。事実、私たちの研究グループは、通常では一つの薬剤耐性原虫を見つけるのに数か月以上掛かるところ、すでに複数のマラリア治療薬に対する耐性原虫をわずか3週間以内で単離することに成功しています。今後、これら変異体の遺伝子変異を解析することで、薬剤耐性に関わる重要な遺伝子変異を見つけ、薬剤耐性獲得機構の解明に迫っていきます。また、本成果を人に感染するマラリア原虫に応用することで、流行地で迅速に薬剤耐性原虫を検出するための分子マーカー開発を進めています。同時にミューテーターをマラリア生物学の研究ツールとして活用することで、マラリア原虫の宿主体内で生き抜く戦略と弱点を解明していきます。

80倍速く変異するマラリア原虫（ミューテーター）の作成

DNA複製酵素のエラー修復機能を欠損：変異する速さが上昇

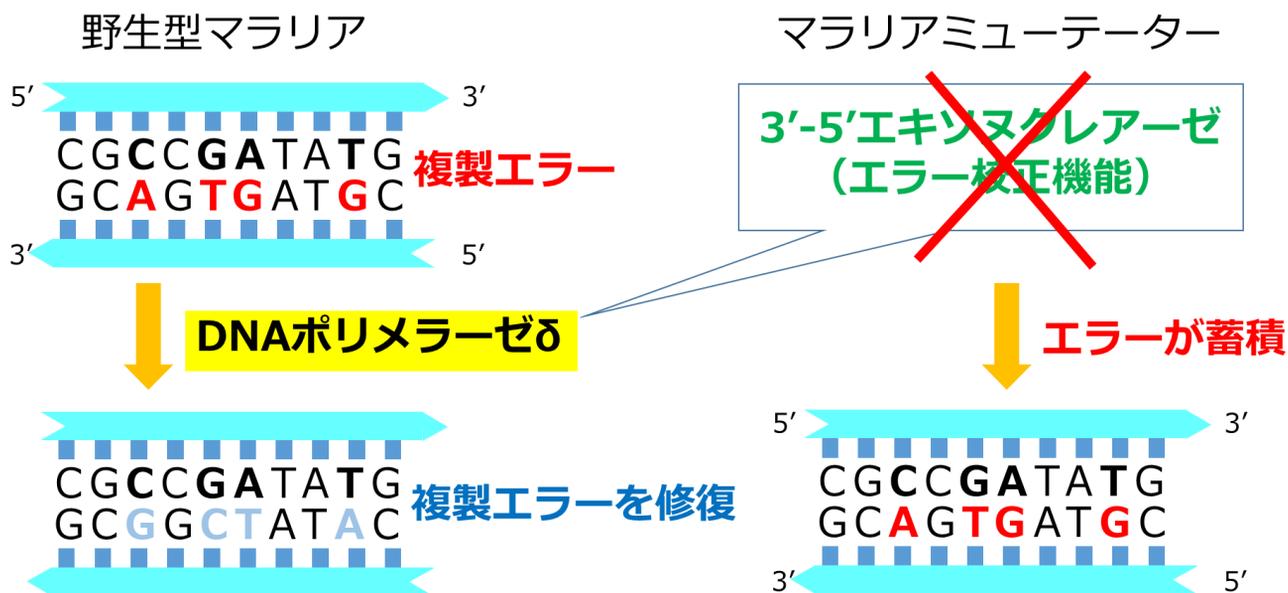


図1. 本研究で開発したマラリアミューテーター

ネズミマラリア原虫DNA複製酵素δの校正機能を欠損させることにより、本来修復されるはずの遺伝子変異がゲノムワイドに蓄積する。ミューテーターは通常の80倍も速く突然変異するため、薬剤耐性獲得機能の解析に有効な研究ツールとなる。

今後の展望：薬剤耐性の出現を実験室で予測！

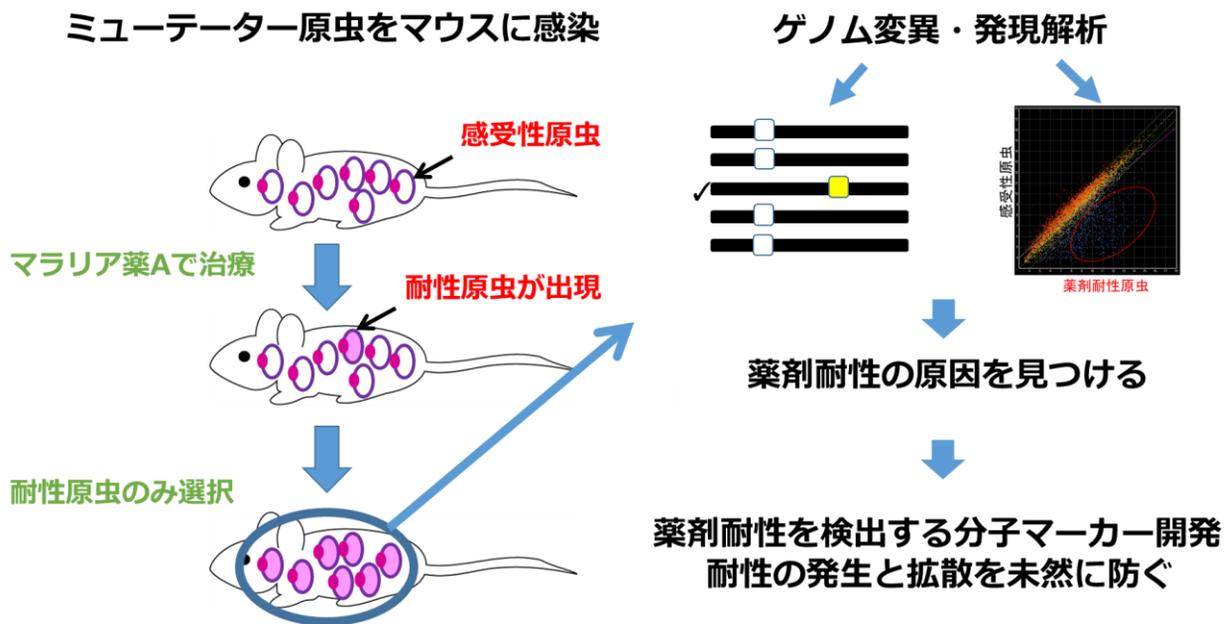


図2. ミューテーターを基盤とした今後の研究展開

マラリア治療薬をミューテーターに与えることにより薬剤耐性原虫を迅速に単離できるため、耐性の出やすさを実験室でシミュレートすることが可能になる。今後は、遺伝子変異・発現解析により薬剤耐性獲得の原因を明らかにすることで、マラリア流行地で薬剤耐性が発生する前に対策を講じたい。

用語解説

*1 ミューテーター

DNA複製酵素 δ の2箇所のアミノ酸をアラニンに置換することでエラー修復機能を低下させたマラリア原虫。通常の約80倍の突然変異率を持つ。

*2 進化実験

ミューテーターを一定期間増殖させることで、様々な突然変異と新しい形質(生物学的な特徴)を持つ変異体が生まれる。どのような遺伝子変異と形質を持った変異体が生じたかを調べる実験。

原著論文

本研究は、Nature Publishing Groupの電子版雑誌「Scientific Reports」(<http://www.nature.com/srep/>)で2016年11月15日(日本時間)に公開されました。
DOI: 10.1038/srep36971.

英文タイトル: Mutation tendency of mutator *Plasmodium berghei* with proofreading-deficient DNA polymerase δ

日本語訳: DNAポリメラーゼ δ の校正機能を欠損したネズミマラリア原虫の変異傾向について

著者: Hajime Honma, Mamoru Niikura, Fumie Kobayashi, Toshihiro Horii, Toshihiro Mita, Hiroyoshi Endo and Makoto Hirai

研究助成先

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)感染症実用化研究事業「新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業」(研究開発分担者 平井誠)、新学術領域研究「マトリョーシカ型進化原理」(研究代表 平井誠)(226117706)、などの助成を受け実施されました。

研究内容に関する
お問い合わせ先

順天堂大学 医学部
熱帯医学・寄生虫病学講座

准教授 平井 誠
(ひらい まこと)

TEL: 03-5802-1043

FAX: 03-5800-0476

E-mail: m-hirai@juntendo.ac.jp

[https://www.juntendo.ac.jp/graduate/
laboratory/labo/kiseityu/](https://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/kiseityu/)

取材に関する
お問い合わせ先

順天堂大学 総務局 総務部
文書・広報課

担当: 植村 剛士
(うえむら つよし)

TEL: 03-5802-1006

FAX: 03-3814-9100

E-mail: pr@juntendo.ac.jp

<http://www.juntendo.ac.jp>

AMED事業に関する
お問い合わせ先

国立研究開発法人
日本医療研究開発機構

戦略推進部
感染症研究課

TEL: 03-6870-2225

E-mail: shinkou-saikou@amed.go.jp

<http://www.amed.go.jp/>