

2023 年度
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	福田 直到
研究機関名	順天堂大学
所属部署名	医学部 熱帯医学・寄生虫病学講座
役職名	助教
研究課題名	改変マラリア原虫による赤血球の多機能化を利用した新規治療開発
研究実施期間	2023 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日

研究成果の概要

熱帯熱マラリア原虫を赤血球多機能化のためのベクターとして用いることを目的に、2023 年度は CRISPR/Cas9 による組み換え原虫の作製を中心に研究を進めた。

まず原虫感染赤血球に病変集積能を付与するため、赤血球表面に原虫由来の接着分子 A を強制発現させる系を作製した。A をコードする遺伝子の周辺領域を置換して発現量を最適化するとともに、発現効率と赤血球内の局在を確認するため A の C 末端に融合する形で蛍光タンパクを導入した。また、RNA-seq により目的遺伝子および非特異的結合の原因となる遺伝子群の発現を解析した。作製した組み換え原虫を感染させた赤血球はヒト細胞との共培養モデルにより病変集積能を評価している。また、非特異的結合の抑制、結合対象の拡大を図るため、分子 A の構造最適化や、外来遺伝子による一部置換を試みている。

次に、治療応用する際の安全性を高めるため、増殖を制御可能な熱帯熱マラリア原虫を開発した。遺伝子 B のコンディショナルノックダウンと遺伝子 C のノックアウトを行うことで、自然状態における原虫の生活環を遮断した。これにより意図しない感染の持続や他個体への伝播を防ぎつつ、組み換え原虫の系統維持は培養系を用いて効率的に行うことが可能となると考えられる。今後は増殖制御に用いる薬剤の至適濃度をより詳細に検討する。

さらに抗腫瘍分子産生能を付与することを目指し、候補となる外来分子のスクリーニングを行った。既知の分子からバイオインフォマティクスの候補を挙げ、無細胞系合成等により目的の物質を得た。これらを培地に加えて熱帯熱マラリア原虫の増殖を阻害する濃度を決定し、候補分子の更なる絞り込みを行った。続いて原虫による発現系を作製し、発現効率を評価するための準備を整えた。

以上のとおり、本研究が目指す赤血球多機能化技術の核となる組み換えマラリア原虫の開発を着実に進めている。