

マラリア原虫の酸化ストレス応答メカニズム解明へのアプローチ

研究課題名：マラリア原虫の酸化ストレス応答メカニズムの解明と新規治療戦略

帯広畜産大学原虫病研究センター 応用研究部門 教授
河津 信一郎

はじめに

熱帯熱マラリアは、ヒトの4種類のマラリアのうち最も重篤な感染症で、ヒトはハマダラカの吸血によって熱帯熱マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) に感染する。世界人口の約半数がマラリアのリスクの下に生活しており、年間200-300万人がこの感染症によって命を落としている。赤血球内に寄生し、活発なDNA合成、ヘム代謝の過程で多量の過酸化物を産生するマラリア原虫にとって、細胞内レドックス (酸化・還元) バランスの制御は、宿主内適応、発育および増殖の成否を左右する重要なメカニズムで、その解明はマラリアの新しい制御法開発の起点になると考える。このような観点から、私達の研究グループでは、マラリア原虫細胞で過酸化物の還元に関与する抗酸化タンパク質、ペルオキシレドキシシン (Prx) の原虫細胞内レドックス制御における役割を、熱帯熱マラリア原虫ならびにローデント (ネズミ) マラリア原虫 (*P. berghei*) を用いて解析してきた。本課題では、Prx subfamily を対象に、マラリア原虫の酸化ストレス応答メカニズムを解明し、マラリア原虫寄生適応の生物学に新たな知見を提示するとともに、この機構に係わる分子群を同定し、それらを標的とする新規マラリア治療法の開発につながる基礎的研究を展開することを目的とした。

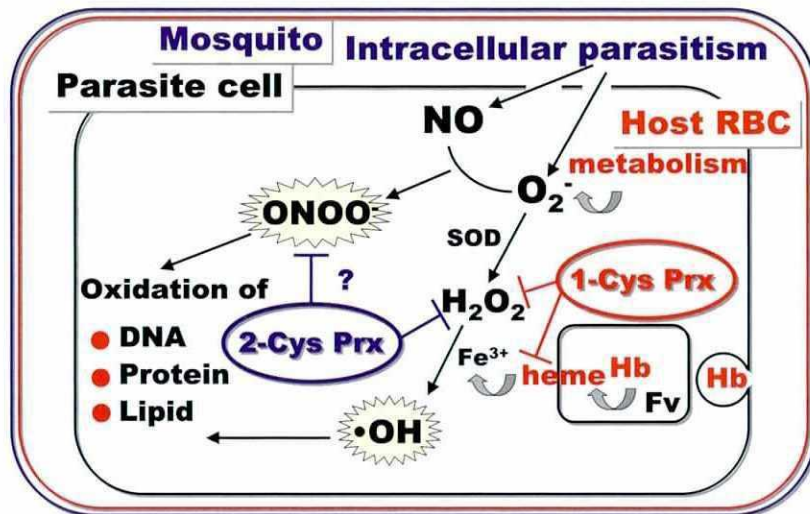
研究成果と考察

(1) マラリア原虫 Prx の発現プロファイル

マラリア原虫の細胞質には、1-Cys 型と 2-Cys 型の 2 種類の Prx が局在し、1-Cys 型が赤内期のトロホゾイトで特異的に発現するのに対し、2-Cys 型は蚊体内での発育型を含めた全発育環を通じてほぼ構成的に発現した。これら Prx の発現は、mRNA とタンパク質の発現プロファイルが完全に一致することから、遺伝子の転写段階で調節されていると考える。一方、マラリア原虫のゲノムに見出されたもう一つの 2-Cys 型 Prx、チオレドキシシンペルオキシダーゼ-2 (TPx-2) がミトコンドリアに局在することも確認したが、これは、マラリア原虫においても他の生物種同様にミトコンドリア独自のチオレドキシシン抗酸化システムが存在することを示唆している。

(2) マラリア原虫 Prx の機能解析

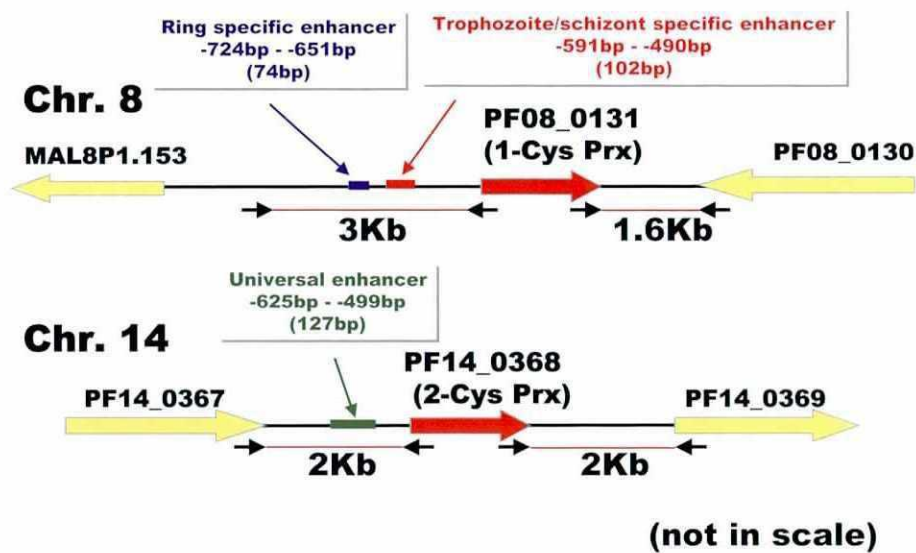
細胞質に局在する 1-Cys 型、2-Cys 型 Prx について、リバースジェネティクス的手法を用いて、原虫細胞の発育・増殖に関連した機能を推定した。1-Cys 型 Prx を過剰発現した熱帯熱マラリア原虫では、クロロキン (ヘム代謝阻害薬) に対する感受性が低下した。組換え体タンパク質を用いた生化学的検討から、1-Cys 型 Prx は、哺乳動物の赤血球内で無性的に増殖するマラリア原虫のヘム代謝に関連して機能する抗酸化タンパク質であることが示唆された。1-Cys 型 Prx は、細胞質での還元型グタチオン (GSH) によるヘム分解反応を GSH と結合して調節し、同反応からの遊離鉄の産生を抑制し、この遊離鉄に由来する過酸化物から生体分子を保護し、ヘムの細胞膜への移行を阻害することで、原虫が宿主ヘモグロビンの利用 (ヘム代謝) から被るストレスを複数の作用点で緩和していると考えられる。一方、2-Cys 型 Prx を欠損するローデントマラリア原虫では、ガメトサイト (生殖母体) 形成、スポロゾイト (感染型原虫) 形成、ならびにその哺乳類宿主への感染性に関連した表現型が観察され、同分子がマラリア原虫の有性生殖から蚊体内での発育、哺乳動物への伝播にかけてのステージで機能する抗酸化タンパク質であることが示唆された。これらの成績から、マラリア原虫は細胞質に局在する 2 種類の Prx subfamily を、それぞれ異なる目的で細胞内でのレドックスバランスの制御に利用し、宿主への寄生適応に役立っていると考える。



マラリア原虫ペルオキシレドキシシン (Prx) の生理機能

(3) マラリア原虫 Prx 遺伝子転写調節メカニズムの解析

Prx 遺伝子5' にプロモーター (enhancer) 領域を同定した。1-Cys型 Prx 遺伝子の発育期特異的な転写調節に、(1) プロモーター領域上の *cis*-element (enhancer) および、その配列特異的に結合する転写因子 (*trans*-acting factor) が関与すること、また (2) トロホゾイト期特異的な転写活性化には、プロモーター領域周囲のヒストンアセチル化 (epigenetic な制御機構) が関与することが示唆された。マラリア原虫のライフサイクルで異なる機能と発現プロファイルを示す2種類の Prx subfamily について、その遺伝子転写調節に関連したプロモーター (enhancer) 領域を同定し、epigenetic な制御機構の関与を証明した成績は、マラリア原虫での遺伝子発現メカニズム、またその酸化ストレス応答メカニズムの解明に一定の知見を与えるものと考えられる。



Prx 遺伝子5' および3' の構造

● 今後の展望

マラリア原虫では、熱帯熱マラリア原虫、ローデントマラリア原虫と幾つかのゲノムプロジェクトが終了しているが、遺伝子の転写制御メカニズム、抗酸化システム（レドックス制御メカニズム）等の、全ての細胞に備わる極めて基盤的メカニズムの解明が他生物種と比較して著しく遅れている。私たちは、マラリア原虫の細胞内レドックス制御（酸化ストレス応答）とそれに付随した遺伝子発現メカニズムを詳細に調べることで、このような生命現象の根幹に係わる機構のうち、何が他生物種と同じで何がマラリア原虫にユニークなのかを明らかにし、ゲノム情報に立脚した新規マラリア制御法の開発研究に貢献したいと考えている。

主要論文リスト

1. Yano K., Komaki-Yasuda K., Tsuboi T., Torii M, Kano S. and Kawazu S. 2-Cys peroxiredoxin TPx-1 is involved in gametocyte development in *Plasmodium berghei*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 148:44-51,2006
2. Kawazu S., Ikenoue N., Takemae H., Komaki-Yasuda K. and Kano S. Roles of 1-Cys peroxiredoxin in heme detoxification in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *FEBS J.* 272:1784-1791, 2005
3. Yano K., Komaki-Yasuda K., Kobayashi T., Takemae T., Kita K., Kano S. and Kawazu S. Expression of mRNAs and proteins for peroxiredoxins of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in the blood stage. *Parasitol. Int.* 54:35-41, 2005