

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	マラリア原虫人工染色体を用いた革新的耐性遺伝子同定法の確立と応用
研究機関・部局・職名	国立大学法人三重大学・医学系研究科・准教授
氏名	岩永 史朗

【研究目的】

現在、薬剤耐性熱帯熱マラリア原虫 (*P. falciparum*) が地球規模で蔓延し、ほとんどの抗マラリア薬の治療効果が急激に低下している。しかし対策に必須な耐性遺伝子を同定するための実用的な手法は未だ無く、その開発が希求されている。そこで本プロジェクトでは薬剤耐性原虫由来のゲノム DNA からマラリア原虫人工染色体を用い、遺伝子ライブラリーを野生型原虫内に構築後、これをスクリーニングすることで迅速且つ正確に耐性遺伝子を同定する方法を確立することを目的とする (図1)。具体的には期間内に遺伝子ライブラリー作製に必須な技術である熱帯熱マラリア原虫への直性遺伝子導入法の開発、熱帯熱マラリア原虫人工染色体を用いた遺伝子ライブラリーの構築、耐性遺伝子をスクリーニングする手法の確立を目標とする。更にフィールド由来の耐性原虫株を取得し、これより未知の耐性遺伝子を同定する。将来的に同定した耐性遺伝子はこれを分子マーカーとした簡便な診断技術の開発や疫学調査に貢献し、効果的な薬剤耐性原虫対策の策定に資すると期待される。

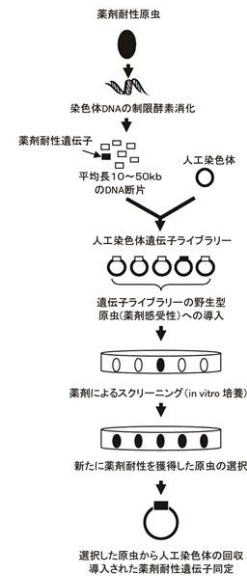


図1: 薬剤耐性遺伝子同定法概略

【総合評価】

○	特に優れた成果が得られている
	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

ウイルス、細菌、寄生虫による感染症の治療において最も重要な問題は薬剤耐性である。新規の薬剤開発とこれに対する耐性株の出現は化学療法が開始されて以来の重

要課題であるが、特に寄生虫感染では宿主と同じく真核生物であるため、その耐性機構の解明は困難を極める。その原因の一つは、薬剤の作用機構自身が明確ではない場合が多いことにある。このような場合、逆に耐性遺伝子の同定からその薬剤の作用機構が明らかになる可能性がある。本研究課題では、次世代の遺伝子研究をリードする新たな技術の開発に成功しており、その点が高く評価される。この技術は現在最も危惧されているアルテミシニン耐性のメカニズムの解明にも応用可能であり、具体的な成果も期待できる。したがって、この様な観点から本研究の意義は大きい。

メフロキン耐性マラリア株を対象に、その耐性遺伝子の同定が試みられ、ABC トランスポーターを同定している。これはマラリア原虫の新規薬剤耐性遺伝子である可能性が高く、その候補遺伝子を同定したという成果は高く評価できる。実験室で短時間の高効率の遺伝子導入法を確立することに加えて、流行地の研究者と共同で耐性株を実際に入手し、マラリア原虫の薬剤耐性機構に迫るといふ本研究の今後の展開に大いに期待したい。

② 目的の達成状況

・ 所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

マラリアは結核、エイズとともに最も重要な感染症である。抗マラリア薬の開発、その薬剤耐性出現の機構を明確にすることは極めて重要である。本研究は薬剤耐性関連遺伝子を同定するためのアプローチとして、人工染色体による安定的かつ効率的な遺伝子導入により薬剤耐性獲得をチェイスするという手法を用いているが、この点ではユニークで独創的である。当該研究者は人工染色体によるマラリア原虫への遺伝子導入の系を確立し、これまでにマラリア原虫の全ゲノムをカバーすると思われる出発材料を整備し、それを原虫に導入することによる薬剤感受性の変動（具体的には薬剤耐性の獲得）を指標として観察を進めている。

研究は主に2つのコンポーネントからなっており、実験室内の研究では人工染色体の遺伝子導入へのプロトコールを検討し、予備的研究から蓄積してきた経験も含めて、ほぼ円滑な実験系を確立して順調に進捗していると評価できる。一方、薬剤耐性原虫株を、既に実験室内で確立されている原虫株ではなく、野外分離原虫株の薬剤耐性を評価して、耐性原虫株から耐性遺伝子を同定するアプローチを試みている。後半のコンポーネントは新規の耐性遺伝子に関する情報を得ることであり、メフロキン耐性遺伝子の同定が試みられている。その結果、真核生物及び原核生物の多剤耐性遺伝子として知られる ABC トランスポーターであることが判明した。これはマラリア原虫の新規薬剤耐性遺伝子である可能性が高く、その候補遺伝子を同定したという成果は高く評価できる。なお、メフロキンは治療に汎用される抗マラリア薬であり、臨床的に重要である。

次に問題となるのは、現在その出現が報告されつつあるアルテミシニン耐性株に関し、確実な耐性株の入手である。その点で、本研究ではタイ・ミャンマー国境のフィールドを設定し実際にサンプルの入手を開始しており、その対応は明確かつ適切である。

③ 研究の成果
<ul style="list-style-type: none"> ・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が (<input checked="" type="checkbox"/>ある ・ <input type="checkbox"/>ない)
<ul style="list-style-type: none"> ・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が (<input checked="" type="checkbox"/>創出された ・ <input type="checkbox"/>創出されなかった)
<ul style="list-style-type: none"> ・当初の目的の他に得られた成果が (<input type="checkbox"/>ある ・ <input checked="" type="checkbox"/>ない)
<p>熱帯熱マラリア原虫というヒトの病原体の研究に対し、これまで遺伝子操作技術の導入、その方法の確立が与えた影響は計り知れない。しかし、それらの遺伝子導入の効率は低く、しかも長時間を要した。研究代表者が今回開発した直接遺伝子導入法は、人工染色体の応用という点で画期的であり、導入効率および操作時間とも大きく改善されている。人工染色体の応用は、マラリア研究の中では先進性があると認められ、さらにこれまでの人工染色体に関する基礎的研究の蓄積を併せると、この研究者にはこの課題に関する限り世界的にも優位性を持つことは間違いないと思われる。</p> <p>使用されている人工染色体は研究代表者が独自に開発したものであり、世界中の多くの研究者が MTA を結び、その使用を開始している。これらの系により、最終的にこれまでの 500～1000 倍高い効率で遺伝子導入が可能となり、マラリア研究が加速するものと期待する。この様に研究代表者の研究成果は他を圧倒する先進性・優位性を持ったものである。</p> <p>この研究は野外分離原虫株から薬剤耐性遺伝子を見いだすことが目的に含まれているが、世界におけるマラリア原虫の薬剤耐性獲得のホットスポットであるタイ・ミャンマー国境地区から 46 株の薬剤耐性原虫株を実験室内培養の株化していることは、この研究にとどまらず、今後の重要な研究材料となるものである。原虫株個々の遺伝的背景を明らかにすることで、マラリア研究のためにも貢献が期待される。メフロキン耐性株を対象に、その耐性遺伝子の同定が試みられ、ABC トランスポーターを同定している。これはマラリア原虫の新規薬剤耐性遺伝子である可能性が高く、その候補遺伝子を同定したという成果は高く評価できる。</p> <p>その他、特許出願自体は研究の目的ではないが、特許出願についてもこの研究代表者は積極的である。</p>

④ 研究成果の効果
<ul style="list-style-type: none"> ・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が (<input checked="" type="checkbox"/>見込まれる ・ <input type="checkbox"/>見込まれない)
<ul style="list-style-type: none"> ・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が (<input checked="" type="checkbox"/>見込まれる ・ <input type="checkbox"/>見込まれない)
<p>人工染色体と直接遺伝子導入法による短時間で効率の良いマラリア原虫への遺伝子導入の重要性は上述したが、それに加え本研究により種々の薬剤耐性遺伝子が見出されれば、マラリア原虫における薬剤耐性出現の分子機構が明らかになり、薬剤耐性克服に直結する情報を得ることが可能となる。薬剤耐性は寄生虫に限らず、ウイルスや細菌に関しても感染症に関わる問題の中で最も重要な位置を占めるものであり、病</p>

原体の薬剤耐性の戦略を知る事による波及効果は多大なものである。

薬剤耐性は細菌と抗生物質、ウイルスと化学療法剤の例を見るまでもなく、宿主と病原体、そして治療の観点から永遠の問題である。特にマラリアは特効薬であったクロロキンに対する耐性株が世界中に蔓延し、さらに新規抗マラリア薬に対してもメフロキン、アトバコン、そしてアルテミシニンと次々に出現して来ている。本研究でとられているアプローチは「網羅的探索」ではあっても、原虫のゲノム情報に照らせば直ちに原虫遺伝子として同定が可能であり、データとしての価値が高いものである。実際、メフロキン耐性株を対象に、ABC トランスポーターをその耐性遺伝子として同定している。マラリアが与えている流行地における大きなヘルスイパクトを考えると、この研究で得られた成果は公衆衛生学的にも貢献が大きいであろう。経済的課題の解決までは直接的に結びつかないが、マラリア原虫の薬剤耐性の獲得は地域の社会生産性にネガティブに寄与することを考えれば、一定レベルの貢献が期待される。

なお、本研究課題でとられた薬剤耐性遺伝子の解析方法は、それ自体に相当高い応用性が認められるので、マラリア原虫の機能に関する研究法として広範な応用が考えられる。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

研究計画は緻密に立案され、実行されており、耐性株入手のためのタイの研究者との共同研究も含め、マネジメントも着実である。指摘事項に対しても、耐性遺伝子の具体的な同定の方略について考察されており、正しく対応されている。研究実施体制は研究の規模から考えるともう少しマンパワーがあっても良いのではないかと考えられるが、研究代表者は長年の研究経験をもち、また研究室の他のグループの支援も充分あるので、問題はなかったと考えられる。

論文に関しては査読のある専門誌に約 10 件公表しており、会議発表も多く、十分な努力を行っている。また特許も PCT 申請も含めて 1 件申請しており、知的財産に関する意識も高い。また、新聞報道を通しての研究の広報活動も積極的に進めている。NEXT プログラムにおける寄生虫関連の 3 課題（本研究課題に加え、他の研究課題（LS002、LS003）と連携し、毎年高校生に体験授業と実習を行っている点は非常に優れた試みである。

Web ページを公開していることは有効であるが、更新履歴を見ると、最新の情報が掲載されているとは考えられない。この点は改善が望まれる。ちなみに、三重大学医動物学のホームページから NEXT の Web ページには入れないようであるので、この点も考慮すべきである。