

令和2年5月12日
愛媛大学
株式会社 セルフリーサイエンス

三日熱マラリアの肝内休眠型血清診断マーカーの開発に成功 —マラリア撲滅を加速—

このたび、愛媛大学プロテオサイエンスセンター高島英造准教授、森田将之講師、坪井敬文教授、株式会社セルフリーサイエンス マティアス・ハーベス次長らを含む国際研究グループは、三日熱マラリア再発の原因となっている肝内休眠型原虫感染者を見つけることのできる血清診断マーカーの開発に成功しました。

この成果は、愛媛大学プロテオサイエンスセンター、株式会社セルフリーサイエンス、The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research (WEHI)、パスツール研究所、Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND)を主要なメンバーとする国際共同研究プロジェクトによるものです。またこのプロジェクトは、2015年10月から2017年3月まで公益社団法人グローバルヘルス技術振興基金(以下「GHIT Fund」)の助成を受けて開始しました。

今回の研究成果は、マラリア撲滅の難敵である三日熱マラリア肝内休眠型原虫の診断を世界で初めて可能とするもので、その治療を安全かつ有効に推進できる重要な成果と位置づけられます。

この研究成果に関する論文は、日本時間の2020年5月12日(火)付けでNature Medicine誌に「Development and validation of serological markers for detecting recent *Plasmodium vivax* infection」というタイトルで掲載されました。

Nature Medicine 誌のHP <https://www.nature.com/articles/s41591-020-0841-4>

つきましては、是非取材くださいますようお願いいたします。研究の概要等は、別添資料をご参照ください。

本件に関する問い合わせ先

愛媛大学プロテオサイエンスセンター
准教授 高島英造

Email: takashima.eizo.mz@ehime-u.ac.jp

※送付資料 8 枚 (本紙を含む)

各位

愛媛大学プロテオサイエンスセンター
株式会社セルフリーサイエンス

三日熱マラリアの肝内休眠型血清診断マーカーの開発に成功 —マラリア撲滅を加速—

1. 背景

マラリアは、蚊によって媒介される世界規模の寄生虫感染症です。2018年には依然として世界で2億人以上がマラリアに罹っており、アフリカを中心に流行している熱帯熱マラリアによる死亡者数は年間40万人以上に及んでいます。流行地では、治療薬や蚊を殺す殺虫剤がマラリア対策として普及し2005年頃からやっと減少傾向に転じました。しかし、現在どちらも薬剤耐性が顕在化し、死亡者数の減少に陰りが見えています(出典「World Malaria Report 2019」)。

一方、三日熱マラリアは、アジア太平洋地域や中南米で広く流行しているマラリアです。熱帯熱マラリアとは異なり、蚊の吸血によって感染したマラリア原虫の一部が、肝内休眠型と呼ばれる原虫となって肝臓内で生きたまま発育を停止することが特徴です。通常の治療薬は肝内休眠型には効果がありません。そのため治療後も、何ヶ月間も症状を起こさずに肝臓に潜んでいます。そして何らかのきっかけで眠りから覚めると、再びマラリアの症状を引き起こし、蚊に刺されていないのに何度も再発を繰り返します。しかし肝内休眠型原虫の感染の有無は、現在の技術では診断できません。そのため無症状肝内休眠型キャリアが見逃され、三日熱マラリアの撲滅を阻んでいます。肝内休眠型を殺すことのできる薬剤はありますが、副作用のため集団投薬して肝内休眠型キャリアを一掃することはできません。したがって、マラリア撲滅のためには、三日熱マラリア肝内休眠型キャリアを見つけることのできる診断法の開発が最重要課題となっていました。

2. 研究成果

これまでの研究から、三日熱マラリア発症者はその後9ヶ月間は肝内休眠型キャリアである確率が非常に高いことが知られていました。そこで本研究では、過去9ヶ月間の三日熱マラリア原虫の感染を予測する血清診断法の開発のため、1)予測に適した抗体を誘導する三日熱マラリア抗原を探索すること(図1)、2)選択された個別抗原の感染予測能を検証し、さらに予測精度を上げるためにはどの抗原の組合せが適切なかの解析すること、を目的に実施しました。

1)まず、探索用血清サンプルとして、タイ(32名)及びブラジル(33名)において、三日熱マラリア患者を治療後にフォローアップし、治療前及び3、6、9ヶ月目に採取した血清を用いました。愛媛大学発のコムギ無細胞タンパク質合成技術を用いて342種類の三日熱マラリア原虫タンパク質を作製し、これらに対する血清サンプル中の抗体量をアルファスクリーンによって測定しました(図2)。得られたビッグデータから、各抗体の治療後9ヶ月間の半減期を計算し、三日熱マラリア感染9ヶ月目の判定に適した半減期を示す抗原を60種類選択しました。

2)次に、検証用血清サンプルとして、タイ(829名)、ブラジル(928名)、ソロモン諸島(754名)の流行地で三日熱マラリアの感染状況を1年間追跡し観察終了時に採取した血清、及び陰性対照として健常者(274名)の血清を用いました。上記で選択された60種類の抗原に対する血清サンプル中の抗体量を測定し、過去9ヶ月の三日熱マラリア感染の診断予測精度を解析しました。その結果、60種類の抗原それぞれの予測精度をランク付けしました(図3A)。次に、予測精度がベストとなるのは8種類の抗原を組み合わせた場合であり、その予測精度は感度80%かつ特異度80%となりました(図3B)。この組合せを用いて無症状肝内休眠型キャリアを診断し、治療すれば三

日熱マラリアの流行を7割減少させることが判りました。

3. 波及効果

この研究成果により、これまで対策が困難を極めた三日熱マラリアの無症状肝内休眠型キャリアの診断キットの開発を推進でき、マラリア撲滅を加速できます。また、コムギ無細胞タンパク質合成法という愛媛大学発の革新的技術が、グローバルヘルスの最重要課題の一つであるマラリアの撲滅に貢献できることとなります。

4. 研究体制と支援について

本研究は、愛媛大学プロテオサイエンスセンター、株式会社セルフリーサイエンス、The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research (WEHI)、パスツール研究所、Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND)を主要なメンバーとする国際共同研究としておこなわれました。また、研究の実施にあたっては、公益社団法人グローバルヘルス技術振興基金(GHIT Fund)、日本学術振興会科学研究費、WEHI Innovation Fund、等の支援を受けました。

5. 論文タイトルと著者

タイトル: Development and validation of serological markers for detecting recent *Plasmodium vivax* infection

(和訳) 三日熱マラリアの肝内休眠型血清診断マーカーの開発と検証

著者: Rhea J. Longley, Michael T. White, Eizo Takashima, Jessica Brewster, Masayuki Morita, Matthias Harbers, Thomas Obadia⁴, Leanne J. Robinson, Fumie Matsuura, Zoe SJ Liu, Connie S. N. Li-Wai-Suen, Wai-Hong Tham, Julie Healer, Christele Huon, Chetan E. Chitnis, Wang Nguitrageol, Wuelton Monteiro, Carla Proietti, Denise L. Doolan, Andre M. Siqueira, Xavier C. Ding, Iveth J. Gonzalez, James Kazura, Marcus Lacerda, Jetsumon Sattabongkot, Takafumi Tsuboi, Ivo Mueller

掲載誌: Nature Medicine

Journal link: <https://www.nature.com/articles/s41591-020-0841-4>

掲載日: 2020年5月12日(火)0:00(日本時間)

本件に対する問い合わせ先

愛媛大学プロテオサイエンスセンター

准教授 高島英造

Email: takashima.eizo.mz@ehime-u.ac.jp

【用語説明】

○コムギ無細胞タンパク質合成法

愛媛大学の遠藤弥重太特別栄養教授らによって開発されたコムギ胚芽抽出液を用いた in vitro タンパク質合成システム。タンパク質合成阻害物質を除去したコムギ胚芽抽出液に、アミノ酸などの基質と目的 mRNA を加えるだけで、微生物から高等生物、さらに人工タンパク質に至るまで安定して高効率にタンパク質を合成する技術。マラリア原虫由来の組換えタンパク質の合成効率は特に優れている。

○マラリア撲滅を加速するための流行地サーベイランス用バイオマーカーの開発プロジェクト

愛媛大学プロテオサイエンスセンター、株式会社セルフリーサイエンス、オーストラリア WEHI (The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research)、スイス FIND (Foundation for Innovative New Diagnostics) と共同で、2015 年 10 月から 2017 年 3 月まで公益社団法人グローバルヘルス技術振興基金(以下「GHIT Fund」)の助成を受けて実施したプロジェクトです。このプロジェクトの詳細については、

<https://www.ghitfund.org/investment/portfoliodetail/detail/66/jp> を御覧ください。

○公益社団法人グローバルヘルス技術振興基金 (GHIT Fund: ジーヒット・ファンド)

GHIT Fund は、日本で初めての日本政府、複数の製薬会社、ビル&メリンダ・ゲイツ財団、ウェルカム、国連開発計画(UNDP)が参画する国際的な官民ファンドです。世界の最貧困層の健康を脅かすマラリア、結核、顧みられない熱帯病(NTDs)などの感染症と闘うための新薬開発への投資、ならびにポートフォリオ・マネジメントを行っています。治療薬、ワクチン、診断薬を開発するために、GHIT Fund は日本の製薬企業、大学、研究機関の製品開発への参画と、海外の機関との連携を促進しています。詳細については、<https://www.ghitfund.org> をご覧ください。

○株式会社セルフリーサイエンス(CFS)

CFS 社は愛媛大学遠藤弥重太特別栄養教授の発明した「コムギ無細胞タンパク質合成技術」の事業化並びに技術の普及を目的に 2002 年に設立された愛媛大学発のバイオベンチャー企業です。CFS 社はこの新世代バイオプラットフォーム技術をグローバルに普及させ、生命現象の理解を助け、医薬品開発を含むバイオ産業の発展に広く貢献することを使命としています。

コムギ無細胞タンパク質合成試薬(ブランド名 Wepro®)、タンパク質自動合成装置(ブランド名 Protemist®)等の製造販売に加え、タンパク質の受託合成(特に合成難度の高い膜タンパク質等)、疾病関連標的タンパク質の探索、化合物アッセイ系構築などの研究受託サービスを国内外に展開しています。さらに、ヒト2万種のタンパク質ライブラリーを開発、またそれらを未変性状態で搭載したプロテインアレイを開発し、抗体の特異性評価、タンパク質間相互作用評価サービスを提供しています。詳細については、<http://www.cfsciences.com/jp> をご覧ください。

○WEHI

オーストラリアの WEHI (The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research)は、オーストラリアで最も古い医学研究所で、感染症、がん、免疫疾患の研究で世界的に有名です。中でも本論文の責任著者である Ivo Muller 博士は、マラリア流行地のフィールド研究の第一人者で、高島准教授と坪井教授は、2013 年以來 Ivo Muller 博士とマラリアバイオマーカー探索の共同研究を重ね、今回の成果に至る基盤を作り上げました。詳細については、<http://www.wehi.edu.au/> をご覧ください。

○FIND について

スイスの FIND (Foundation for Innovative New Diagnostics) は、ビル・メリンダゲイツ財団から助成

を受けて 2003 年に設立された NPO 団体で、HIV/AIDS、結核、マラリアおよび NTD の診断薬の開発、普及を目的に活動しています。詳細については、<http://www.finddiagnostics.org/>をご覧ください。

図 1

肝内休眠型診断抗原に対する抗体は9ヶ月で低下

- ・三日熱マラリア既往者はその後9ヶ月間は肝内休眠型キャリア
- ・したがって、休眠型診断用抗原を抗体価の減衰で探索可

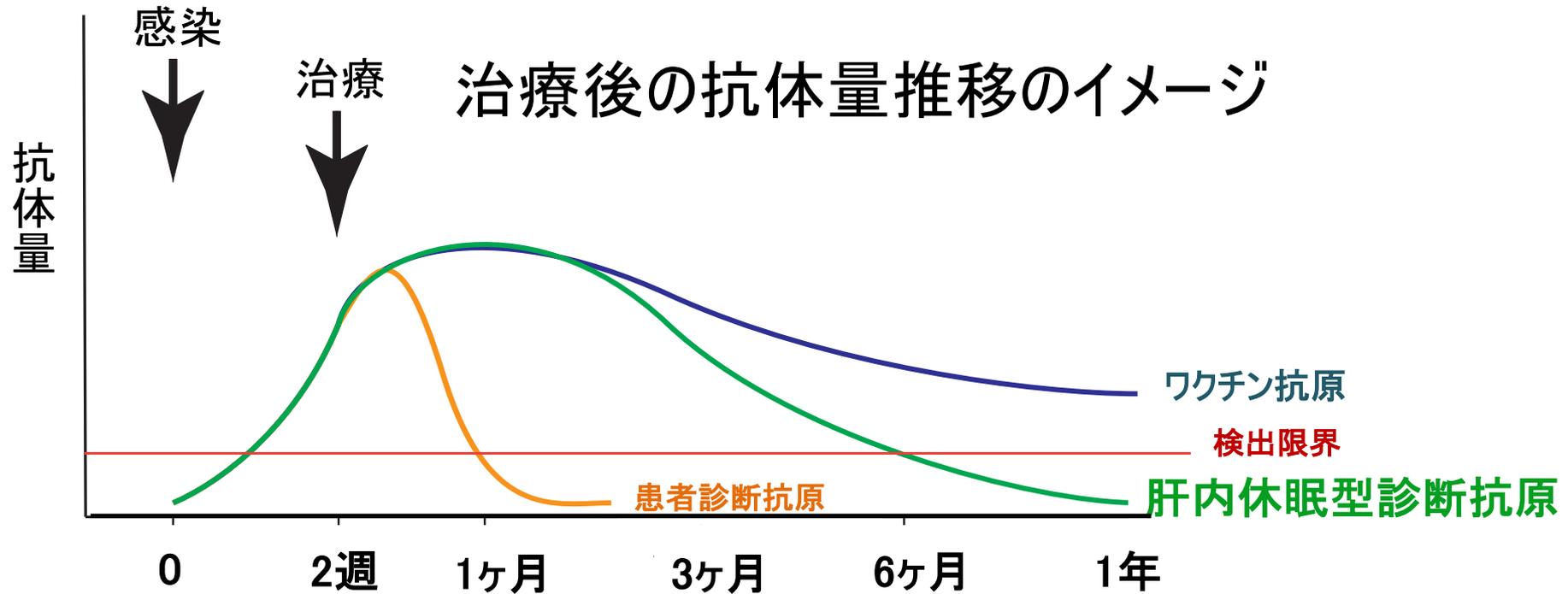


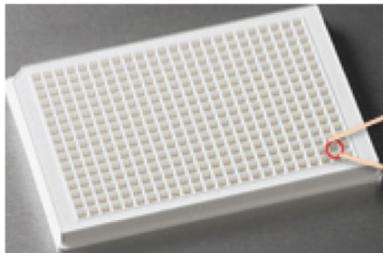
図 2

アルファスクリーン抗体測定システム

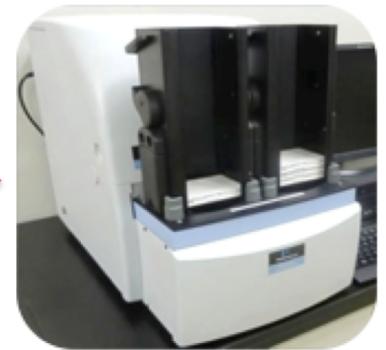
血清試料(n=260)
三日熱マラリアタンパク質(n = 342)
Total 88,920 反応を測定



コムギ無細胞全自動
タンパク質合成ロボット
(384 タンパク質/日)



全自動分注装置



高速AlphaScreen
プレートリーダー

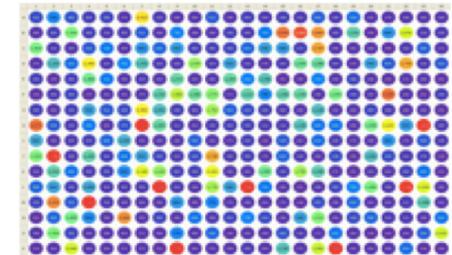
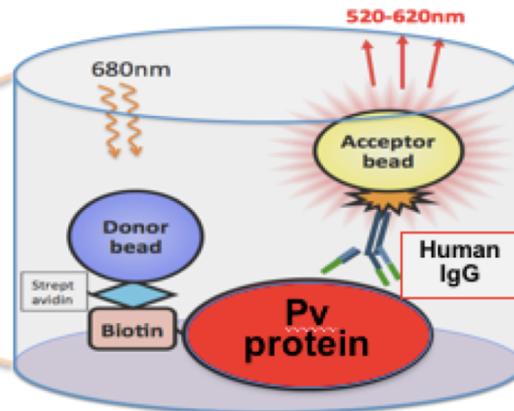
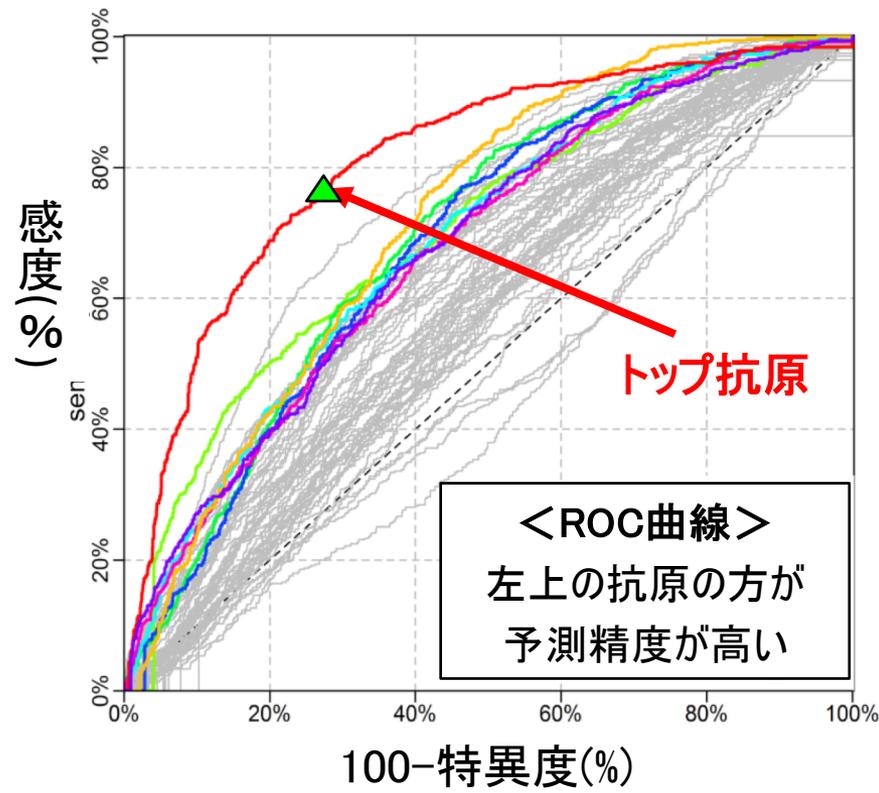


図3 8種類の抗原組合せで診断予測精度向上

A: 単一抗原による9ヶ月間の予測精度



B: ベスト8抗原を組合せた予測精度

