

令和元年6月19日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H05274

研究課題名(和文) ウガンダにおけるマラリア病態と腸内環境の相互作用の解析

研究課題名(英文) Analyses of interaction between malaria and intestinal microbiota in patients in Uganda

研究代表者

久枝 一 (Hisaeda, Hajime)

国立感染症研究所・寄生動物部・部長

研究者番号：50243689

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：平成27、28年度に計4回、ウガンダに行き、約300名のマラリア患者からサンプルを採取した。糞便サンプルの腸内細菌叢の網羅的解析を行ったところ、マラリア患者では、腸内細菌にエンテロタイプの変化など大きな変調がみられ、特に重症患者で顕著であった。治療後の糞便中の腸内細菌は健康者に近づくことから、マラリア患者では腸内細菌に変調がみられ、重症患者ではその程度も大きくなることが示唆された。さらに、血液中のサイトカイン等の炎症性蛋白質をビーズアッセイで網羅的に解析したところ、患者で増加あるいは減少する蛋白質を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで知られていなかったマラリアと腸内細菌の相互作用によるマラリアの病態形成の一端を明らかにできた。プロバイオティクスによる腸内環境の整備が新たな抗マラリア戦略の基盤となることが期待される。また、腸内細菌叢の変化とそれともなう免疫応答の変調の解明、細菌叢の是正による免疫の正常化手段の確立も考えられ、炎症性疾患の新たな治療法、予防法の確立の確実な足がかりなることも期待できる。

研究成果の概要(英文)： We collected more than 300 blood and fecal samples from malaria patients in Uganda from 2015 to 2016 and comprehensively analyzed fecal microbiota. Malaria patients have altered microbiota including change in enterotype compared with non-malarial healthy volunteers, and the degree in alteration was much higher in patients with severe malaria. The microbiota in those patients after treatment became closer to healthy controls. These results indicate that malaria, especially severe malaria affects intestinal microbiota. We also analyzed inflammatory proteins such as cytokines in plasma samples and found some proteins remarkably increased or decreased in severe malaria patients.

研究分野：寄生虫学、免疫学

キーワード：マラリア ウガンダ 腸内細菌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

マラリアは年間3億人が感染し、80万人もの死者を出す世界最大規模の寄生性原虫による感染症である。その根絶のため新たな治療法・有効なワクチンの開発が急務となっている。そのためにはマラリアの病態を詳細に理解する必要がある。マラリアの症状として腹痛、下痢、嘔吐といった消化器症状が高頻度に見られる、マウスモデルでの生体内イメージングで示されたように多くのマラリア原虫が腸管に存在するにも関わらず、マラリアの腸管への影響はほとんど研究されていない。一方で、マラリア患者でのサルモネラや蠕虫の腸管感染がマラリアを重症化させることが報告されて来た。また、近年、腸内環境、とくに腸内細菌の変調が全身の免疫系の調節に関わっていることが報告されてきたこともあり、腸管でのイベントが免疫系に作用しマラリアの病態に影響を与えることが想定される。以上の疫学的報告と先行研究から、「マラリア原虫と腸内細菌が相互作用することにより免疫系の変調や病態形成に関わる」という仮説に至った。

2. 研究の目的

上記仮説を証明すべくマウスを用いた予備実験で、ネズミマラリア原虫 *Plasmodium berghei* ANKA (PbA)感染において腸内細菌叢が劇的に変化していることを見出した。そこで本研究では、申請者らが見出した「マラリアによる腸内細菌の変調」がヒトでも再現できるのかをマラリアの重度流行地であるウガンダで検討することを第一目的とし、マラリアと腸管の関連性を、腸管寄生蠕虫、免疫応答も交え網羅的に解析する。

3. 研究の方法

本研究は、ウガンダ北部に位置するグル大学、ラチョー病院と連携して行う。現地ではマラリア、腸管寄生蠕虫の診断、血液・糞便の採取を行う。日本では採取したサンプルを用いて、これら寄生虫感染症と腸内細菌および免疫応答の関連性を詳細に解析する。

4. 研究成果

平成27年度には2回、ウガンダ国の北部、グル市において、ウガンダ第二の規模を持つグル大学の医学部、北部ウガンダの基幹病院であるラチョー病院と連携して約150名からのマラリア患者からのサンプルを採取した。マラリア患者での軽症例と重症例の比率、重症例における消化管症状の発症率、蠕虫の感染率等の基礎的なデータを得ることができた。得られた糞からDNAを抽出しそれをテンプレートし全ての細菌の16S rRNAをコードする遺伝子を増幅する。増幅された遺伝子の配列を全て読み込み、その配列の違いによって菌種を同定、半定量をおこなった。マラリアに感染していない対照患者との比較で、外来を訪れたマラリア患者の糞便中の細菌叢に大きな変化は認められなかった。

平成28年にもウガンダに赴きマラリア患者からサンプリングを行った。これまでの結果に基づき、新たに重症のマラリア患者、健常ボランティアも対象とした。得られた160ほどの糞便サンプルの腸内細菌叢の網羅的解析を行った。マラリア患者では、健常人と比較して、腸内細菌にエンテロタイプの変化など大きな変調がみられ、特に重症患者で顕著であった。治療後2週間後の回復期の糞便中の腸内細菌は健常者に近づいていた。これらのことから、ウガンダのマラリア患者においても腸内細菌に変調がみられること、重症度に応じてその程度も大きくなることが示唆された。さらに、免疫応答との関連性を検討するために、血液中のサイトカイン等の炎症性蛋白質をビーズアッセイで網羅的に解析した。腸内細菌の変調に伴って、増加あるいは減少する蛋白質を同定することができた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件)

1. Imai T, Ishida H, Suzue K, Taniguchi T, Okada H, Shimokawa C, and Hisaeda H: Cytotoxic activities of CD8⁺ T cells collaborate with macrophages to protect against blood-stage murine malaria. *Elife* 4, doi: 10.7554/eLife.04232, 2015.
2. Okada H, Suzue K, Imai T, Taniguchi T, Shimokawa C, Onishi R, Hirata J, and Hisaeda H: A transient resistance to blood-stage malaria in interferon- γ -deficient mice through impaired production of host cells preferred by malaria parasites. *Frontiers Microbiol.* 6:600. doi: 10.3389/fmicb.2015.006600. eCollection 2015.
3. Taniguchi T, Miyauchi E, Nakamura S, Hirai M, Suzue K, Imai T, Nomura T, Handa T, Okada H, Shimokawa C, Onishi R, Ochiai A, Hirata J, Tomita H, Ohno H, Horii T, and Hisaeda H: *Plasmodium berghei* ANKA causes intestinal malaria associated with dysbiosis. *Sci Rep* 5: 15699, doi: 10.1038/srep15699, 2015.
4. Shimokawa C, Kanaya T, Hachisuka M, Ishiwata K, Hisaeda H, Kurashima Y, Kiyono H, Yoshimoto T, Kaisho T, and Ohno H: Mast cells are crucial for induction of group 2 innate lymphoid cells and clearance of helminth infections. *Immunity*, 46: 863-874, 2017.

5. Nagayasu E, Aung MPPTH, Hortiwakul T, Hino A, Tanaka T, Higashiarakawa M, Olia A, Taniguchi T, Win SMT, Ohashi I, Odongo-Aginya EI, Aye KM, Mon M, Win KK, Ota K, Torisu Y, Panthuwong S, Kimura E, Palacpac NMQ, Kikuchi T, Hirata T, Torisu S, Hisaeda H, Horii T, Fujita J, Htike WW, and Marauyama H: A possible origin population of pathogenic intestinal nematodes, *Strongyloides stercoralis*, unveiled by molecular phylogeny. **Sci Rep**, 7: 4844, DOI:10.1038/s41598-017-05049-x, 2017.
6. Shimokawa C, Senba M, Kobayashi S, Kikuchi M, Obi S, Olia A, Hamano S, and Hisaeda H. Intestinal inflammation-mediated clearance of amebic parasites is dependent on IFN- γ . **J Immunol**, 200: 1101-1109, 2018.
7. Shaulov Y, Shimokawa C, Trebicz-Geffen M, Nagaraja S, Methling K, Lalk M, Weiss-Cerem L, Lamm AT, Hisaeda H, Ankri S. *Escherichia coli* mediated resistance of *Entamoeba histolytica* to oxidative stress is triggered by oxaloacetate. **PLoS Pathog**, 14: e1007295, 2018.
8. Shimokawa C, Obi S, Shibata M, Olia A, Imai T, Suzue K, Hisaeda H. Suppression of obesity by an intestinal helminth through interactions with intestinal microbiota. *Infect Immun*, 87: e00042-19, 2019.

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者
研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者
研究協力者氏名：大野博司、宮内栄治、エマニュエル・アギニヤ、アレックス・オリア、マティン・オグワンク
ローマ字氏名：Ohno Hiroshi、Miyauchi Eiji, Emmanuel Odongo-Aginya, Alex Olia, Martin Ogwang

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。