

令和 6 年 6 月 23 日現在

機関番号：12602

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）

研究期間：2019～2023

課題番号：19KK0206

研究課題名（和文）三日熱マラリア伝搬阻止効果のある患者血漿を用いた新規ワクチン候補抗原の探索

研究課題名（英文）Screening for novel transmission-blocking vaccine targets from plasma of patients infected with Plasmodium vivax

研究代表者

石野 智子（ISHINO, TOMOKO）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：40402680

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,200,000円

研究成果の概要（和文）：三日熱マラリアは致死性が低く、原虫の入手が困難なことから、未だ対策が遅れている。蚊による伝搬を阻止するワクチンの開発が期待されているが、候補抗原の免疫原性の低さが障害となり実用化に至っていない。本研究は、自然感染により獲得されたIgGの中から伝搬阻止効果のあるものを選択しその標的抗原を同定することを目指す。タイ王国の研究者との共同研究により、感染患者から三日熱マラリア原虫の感染赤血球と患者血漿という、貴重な材料が得られた。37人の患者血清のうち、22種類で伝搬阻害効果のある抗体が含まれていた。既知の伝搬阻害抗体の含有量と阻害効果の相関が低いことから、新規ワクチン標的が含まれること考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

熱帯熱マラリア原虫のスポロゾイトを標的とする感染阻止ワクチンが2021年にWHOに使用が推奨された。一方で、アジアで主に流行する三日熱マラリア原虫については、未だ有効な予防法が開発されていない。三日熱マラリアは致死性が低いいため、患者が屋内に留まらないことも感染流行の抑制を困難にする要因である。蚊による伝搬のステップを標的にする伝搬阻止ワクチンは、三日熱マラリア対策に効果的と期待される。本研究により、患者が自然感染により獲得した抗体の中に強い伝搬阻止効果が認められ、既知の抗原と異なることが見出された。今後標的分子を同定することでヒト体内で誘導されやすい伝搬阻止ワクチンの開発へ展開できる。

研究成果の概要（英文）：Plasmodium vivax malaria has been neglected due to its less lethality and difficulty in obtaining parasites. The development of transmission-blocking vaccines is highly anticipated, but the low immunogenicity of candidate antigens has hindered practical application. This study aims to identify target antigens by selecting IgG antibodies with transmission-blocking effects from patients in endemic regions acquired through natural infection.

In collaboration with researchers from Thailand, we obtained valuable materials, including infected red blood cells and plasma from patients with Plasmodium vivax. Among the sera from 37 patients, 22 contained antibodies with transmission-blocking effects. The low correlation between the levels of known transmission-blocking antibodies and their inhibitory effects suggests the presence of novel vaccine targets.

研究分野：寄生虫学

キーワード：三日熱マラリア タイ王国 伝搬阻止ワクチン

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

伝搬阻止ワクチンの標的抗原は、熱帯熱マラリア原虫を用いて、蚊の消化管内でのステージ（雌雄生殖体、接合体）の表面タンパク質から探索されてきている。Pfs230・Pfs48/45・Pfs25 に対する特異抗体は、人から蚊へのマラリア原虫の伝搬を効率よく阻害することが報告され (Hisaeda et al., *Infect Immun.* 2000 68(12), 6618–6623; Tachibana et al., *Vaccine* 2012 30(10), 1807-12)、感染流行地における臨床試験へと進みつつある。しかしながら、これまでに同定された候補抗原の数が限られており、さらに、ヒト体内で効果を示す十分量の抗体が誘導されず、ヒトでの免疫原性の低さが解決すべき課題となっている。

三日熱マラリア原虫は、アジアで主に流行する人に感染するマラリア原虫の一種である。世界ではおよそ 700 万人が年間で感染すると推定される。熱帯熱マラリア原虫とは異なり、致死性が低いことと、実験室内でヒト赤血球を用いて培養により維持継代することができないという大きな障害のため、研究が大きく遅れている。伝搬阻止ワクチンの効果を測定するためには、感染患者の赤血球と効果測定したい抗体と混合した後に、人工的に媒介蚊に吸血させ、1 週間後に消化管上の原虫数を計測するしか方法がない。この検定を行うことができる限られたチームの一つがマヒドン大学の熱帯医学部・三日熱マラリア研究チームであり、そのリーダーである Dr. Sattabongkok が本研究課題の海外研究協力者である。研究代表者と共同研究を通じて、患者血清自体に伝搬阻止効果を示す例が見られたことから、自然感染の過程で患者体内に伝搬阻止抗体が誘導されること、その標的分子の同定により新規伝搬阻止ワクチンが開発できるという本申請課題の立案に繋がった。

## 2. 研究の目的

三日熱マラリア感染流行地に居住する人々は、すでに何度か三日熱マラリア原虫に罹患していると考えられる。自然感染により誘導された抗体の中から、伝搬阻止効果のあるものを検出し、それらが共通に認識する標的タンパク質を同定することで、新規伝搬阻止ワクチンの開発へと展開することを目指す。

## 3. 研究の方法

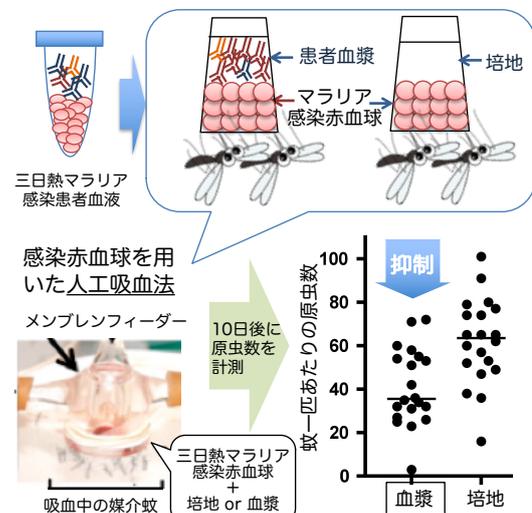
## 3-1) 人工吸血法による伝搬阻害効果のある患者血漿の選択

三日熱マラリアの感染が見られるタイ王国のミャンマーとの国境付近に設置された複数のマラリアクリニックを訪れる人のうち、血液塗抹標本から三日熱マラリア原虫が検出された患者に対し、インフォームドコンセントの後に 15 mL 程度採血する。これを保温しながら研究室まで運び、赤血球と血漿に分離する。等分に混合した血液と、血漿成分を培地に置換したものを用意し、メスのハマダラカ (*Anopheles dirus*) に人工的に吸血させる。十分に吸血した蚊をさらに 1 週間室温で飼育した後、解剖により消化管を取り出しマラリア原虫（オーシスト）数を計測する。培地に置換した群で原虫数が増加した場合、患者血漿中に伝搬阻害効果が含まれていたと判断する (図 1)。なお、フィールドにおける感染実験は、マヒドン大学熱帯医学部 三日熱マラリア研究ユニット Research Professor、

Jetsumon Sattabongkot Prachumsri 博士のチームとの国際共同研究として実施した。

## 3-2) 感染阻害効果が抗体に依存するのか調べる

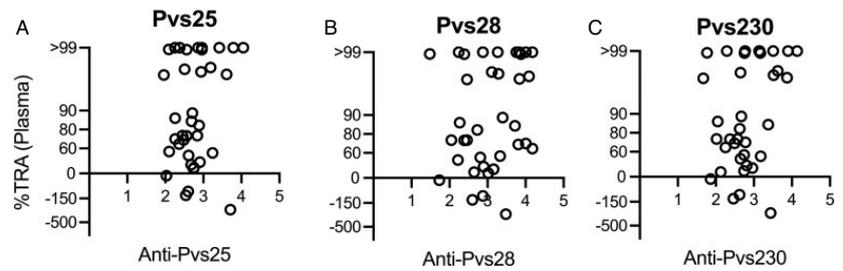
感染阻害効果のあった患者血漿をプロテイン G ビーズとインキュベートすることで、イムノグロブリンを除去する。これを同じ患者由来感染赤血球と混合し、上述の通り蚊に人工的に吸血させる



＜図 1 自然感染により獲得された伝搬阻止抗体保有患者血液の例＞



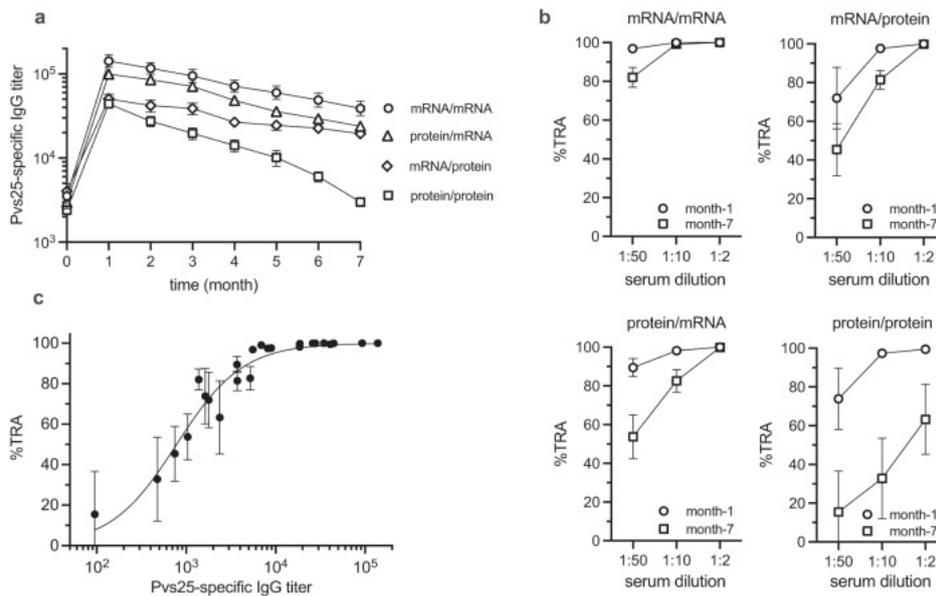
おり、伝搬阻止ワクチンの標的抗原として着目されてきた。図4に示すように、それぞれのタンパク質に対する患者血漿中の抗体の反応性は、伝搬阻止効果と強い正の相関を示さないことから、既知の伝搬阻止抗体以外にも新規の伝搬阻止抗体を誘導する原虫タンパク質の存在が強く示唆された。



＜図4 伝搬阻害効果と既知の伝搬阻害抗体の力価との相関解析＞

患者血漿の伝搬阻害効果とそれに含まれる(A) Pvs25, (B) Pvs28, (C) Pvs230 に対する抗体の力価との相関解析。どの抗原についても、伝搬阻止効果と強い相関は示さなかった。

4-4) 特異抗体が強い伝搬阻止効果を示すことが知られる Pvs25 は、しかしながら、タンパク質を免疫しても阻害効果をもつ抗体を十分にヒト体内に誘導できないために、臨床試験が途中で止まってしまっている。この問題を解決するために、ペンシルバニア大学の Norbert Pardi 博士と協力し、mRNA ワクチンにより効果的な Pvs25 の抗体を誘導できるか解析をした。マウスに対して、Pvs25 を発現する mRNA ワクチンを投与したところ、タンパク質で免疫するより高い力価の Pvs25 抗体を誘導すること、さらにその力価が長く維持されることを示した。mRNA ワクチンで免疫されたマウス血清は、タイ王国の三日熱マラリア原虫感染患者血液を用いた人工吸血法により強い伝搬阻止効果を示した。mRNA ワクチンを2回免疫した方が、タンパク質のみ、あるいは mRNA と順番に免疫した場合に比べて、強く持続性の高い伝搬阻害効果を誘導できた。免疫したマウス血清における伝搬阻害効果は、Pvs25 に対する抗体価と強い相関が認められた (図5)。



＜図5 Pvs25 mRNA ワクチンによる伝搬阻害効果とその持続性＞

(a) それぞれの免疫法の組み合わせによる Pvs25 抗体力価の経時的変動。(b) それぞれの免疫法の組み合わせによる伝搬阻害効果を最終免疫から1ヶ月後、7ヶ月後に測定。(c) 全ての血清中の Pvs25 抗体価と伝搬阻害効果の相関。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Tachibana Mayumi, Takashima Eizo, Morita Masayuki, Sattabongkot Jetsumon, Ishino Tomoko, Culleton Richard, Torii Motomi, Tsuboi Takafumi	4. 巻 87
2. 論文標題 Plasmodium vivax transmission-blocking vaccines: Progress, challenges and innovation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102525 ~ 102525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2021.102525	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Huang Wei-Chiao, Mabrouk Moustafa T., Zhou Luwen, Baba Minami, Tachibana Mayumi, Torii Motomi, Takashima Eizo, Locke Emily, Plieskatt Jordan, King C. Richter, Coelho Camila H., Duffy Patrick E., Long Carole, Tsuboi Takafumi, Miura Kazutoyo, Wu Yimin, Ishino Tomoko, Lovell Jonathan F.	4. 巻 5
2. 論文標題 Vaccine co-display of CSP and Pfs230 on liposomes targeting two Plasmodium falciparum differentiation stages	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-03688-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Tachibana Mayumi, Takashima Eizo, Morita Masayuki, Sattabongkot Jetsumon, Ishino Tomoko, Culleton Richard, Torii Motomi, Tsuboi Takafumi	4. 巻 87
2. 論文標題 Plasmodium vivax transmission-blocking vaccines: Progress, challenges and innovation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102525 ~ 102525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2021.102525	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Tachibana Mayumi, Iriko Hideyuki, Baba Minami, Torii Motomi, Ishino Tomoko	4. 巻 84
2. 論文標題 PSOP1, putative secreted ookinete protein 1, is localized to the micronemes of Plasmodium yoelii and P. berghei ookinetes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102407 ~ 102407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2021.102407	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tachibana Mayumi, Baba Minami, Takashima Eizo, Tsuboi Takafumi, Torii Motomi, Ishino Tomoko	4. 巻 38
2. 論文標題 The C-terminal region of the Plasmodium yoelii microgamete surface antigen PyMiGS induces potent anti-malarial transmission-blocking immunity in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Vaccine	6. 最初と最後の頁 3129 ~ 3136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vaccine.2020.02.058	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishino T, Tachibana M, Baba M, Iriko H, Tsuboi T, Torii M.	4. 巻 236
2. 論文標題 Observation of Morphological Changes of Female Osmiophilic Bodies Prior to Plasmodium Gametocyte Egress From Erythrocytes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Biochem Parasitol	6. 最初と最後の頁 111261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molbiopara.2020.111261	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kunkeaw Nawapol, Nguitragoon Wang, Takashima Eizo, Kangwanransan Niwat, Muramatsu Hiromi, Tachibana Mayumi, Ishino Tomoko, Lin Paulo J. C., Tam Ying K., Pichyangkul Sathit, Tsuboi Takafumi, Pardi Norbert, Sattabongkot Jetsumon	4. 巻 8
2. 論文標題 A Pvs25 mRNA vaccine induces complete and durable transmission-blocking immunity to Plasmodium vivax	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 npj Vaccines	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41541-023-00786-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Thongpoon Sataporn, Roobsoong Wanlapa, Nguitragoon Wang, Chotirat Sadudee, Tsuboi Takafumi, Takashima Eizo, Cui Liwang, Ishino Tomoko, Tachibana Mayumi, Miura Kazutoyo, Sattabongkot Jetsumon	4. 巻 229
2. 論文標題 Naturally Acquired Transmission-Blocking Immunity Against Different Strains of <i>Plasmodium vivax</i> in a Malaria-Endemic Area in Thailand	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 567 ~ 575
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/infdis/jiad469	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tachibana Mayumi, Baba Minami, Iriko Hideyuki, Shinzawa Naoaki, Torii Motomi, Ishino Tomoko	4. 巻 101
2. 論文標題 Identification of a novel protein localized to the crystalloid of the Plasmodium ookinete	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102892 ~ 102892
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2024.102892	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 Tomoko Ishino.
2. 発表標題 Molecular mechanisms of malaria transmission to mammals via mosquitoes.
3. 学会等名 The 20th International Congress for Tropical Medicine and Malaria (ICTMM) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Wei-Chiao Huang, Moustafa T Mabrouk, Luwen Zhou, 馬場 みなみ, 橘 真由美, 鳥居 本美, 高島 英造, Emily Locke, Jordan Plieskatt, C Richter King, Camila H Coelho, Patrick E Duffy, Carole Long, 坪井 敬文, 三浦 憲豊, Yimin Wu, 石野 智子, Jonathan F Lovell
2. 発表標題 異なる2つのステージを標的とするマラリアワクチンの開発に向けて
3. 学会等名 第81回日本寄生虫学会東日本支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomoko Ishino.
2. 発表標題 The 20th Awaji International Forum on Infection and Immunity.
3. 学会等名 Molecular mechanisms of malaria transmission to mammals via mosquito vectors. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomoko Ishino.
2. 発表標題 Molecular mechanisms of malaria parasite transmission from mosquitoes to mammals.
3. 学会等名 第92回日本寄生虫学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomoko ISHINO
2. 発表標題 Molecular mechanisms of sporozoite transmission to mammals, the target of the first malaria vaccine
3. 学会等名 難病のプロテオ医学研究2021「The Genetics, Biology and Epidemiology of Diseases of Poverty」(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 橘真由美、鳥居本美、馬場みなみ、坪井敬文、石野智子
2. 発表標題 マラリア原虫有性生殖体の細胞膜上に輸送されたPyMIGSは受精に関する
3. 学会等名 第89回 日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 面田彩馨、山崎望、橘真由美、石野智子、鳥居本美、坪井敬文、入子英幸
2. 発表標題 熱帯熱マラリア原虫・生殖母体期におけるモーラクレフト分子の発現プロファイル解析
3. 学会等名 第89回 日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tachibana M, Miura K, Takashima E, Morita M, Nagaoka H, Zhou L, Long CA, Richter King C, Torii M, Tsuboi T, Ishino T
2. 発表標題 Screening for candidate domains within Pfs230 that elicit transmission blocking antibody response
3. 学会等名 67th Annual meeting of American Society of Tropical Medicine & Hygiene (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橘真由美、鳥居本美、馬場みなみ、石野智子
2. 発表標題 PyMiGS on the microgamete surface is involved in fertilization
3. 学会等名 Protein Island in Matsuyama (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Nawapol Kunkeaw, Wang Nguitrageol, Eizo Takashima, Niwat Kangwanrangsang, Hiromi Muramatsu, Mayumi Tachibana, Tomoko Ishino, Paulo J. C. Lin, Ying K. Tam, Sathit Pichyangkul, Takafumi Tsuboi, Norbert Pardi, Jetsumon Sattabongkot
2. 発表標題 A Pvs25 mRNA vaccine induces complete and durable transmission-blocking immunity to Plasmodium vivax
3. 学会等名 US-Japan Cooperative Medical Sciences Program (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Eizo Takashima, Nawapol Kunkeaw, Wang Nguitrageol, Niwat Kangwanrangsang, Hiromi Muramatsu, Mayumi Tachibana, Tomoko Ishino, Paulo J. C. Lin, Ying K. Tam, Sathit Pichyangkul, Takafumi Tsuboi, Norbert Pardi, Jetsumon Sattabongkot
2. 発表標題 mRNAワクチン技術を用いたPvs25三日熱マラリア伝播阻止ワクチンの開発
3. 学会等名 第93回 日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Nawapol Kunkeaw, Wang Nguitrageol, Eizo Takashima, Niwat Kangwanrangsang, Hiromi Muramatsu, Mayumi Tachibana, Tomoko Ishino, Paulo J. C. Lin, Ying K. Tam, Sathit Pichyangkul, Takafumi Tsuboi, Norbert Pardi, Jetsumon Sattabongkot
2. 発表標題 Development of a potent Pvs25 mRNA vaccine to block transmission of Plasmodium vivax
3. 学会等名 Protein Island in Matsuyama (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 環境社会医歯学講座 寄生虫学・熱帯医学分野  <a href="https://sites.google.com/view/tmdu-parasitology">https://sites.google.com/view/tmdu-parasitology</a>          寄生虫学・熱帯医学分野  <a href="https://sites.google.com/view/tmdu-parasitology">https://sites.google.com/view/tmdu-parasitology</a>          プロテオサイエンスセンター 寄生病原体学部門  <a href="https://www.m.ehime-u.ac.jp/school/parasitology/">https://www.m.ehime-u.ac.jp/school/parasitology/</a></p>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	橘 真由美  (Tachibana Mayumi)  (00301325)	愛媛大学・プロテオサイエンスセンター・助教   (16301)	
研究分担者	馬場 みなみ  (Baba Minami)  (00814906)	愛媛大学・プロテオサイエンスセンター・研究員   (16301)	長崎大学へ異動のため、2021年5月11日まで。
研究分担者	鳥居 本美  (Torii Motomi)  (20164072)	愛媛大学・プロテオサイエンスセンター・特命教授   (16301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	入子 英幸  (Iriko Hideyuki)  (60346674)	神戸大学・保健学研究科・准教授    (14501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
タイ	マヒドン大学			
米国	ペンシルバニア大学	ニューヨーク州立大学		