

令和 6 年 4 月 11 日現在

機関番号：30109

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2023

課題番号：20K22782

研究課題名（和文）DGKが制御するマラリア原虫赤血球侵入メカニズムの解明

研究課題名（英文）Investigation of the mechanism governing malaria parasite erythrocyte invasion regulated by DGK

研究代表者

石崎 隆弘 (Ishizaki, Takahiro)

酪農学園大学・獣医学群・講師

研究者番号：40880810

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：マラリア原虫が保有するジアシルグリセロール(DAG)をホスファチジン酸(PA)へと転換させるジアシルグリセロールキナーゼ(DGK)の機能解析を実施した。DGK誘導型欠損原虫は赤血球侵入関連分子の細胞内局在の変化、分子分泌の低下、その結果に伴う原虫寄生率とマウスへの病原性の低下という表現型を示した。

またDGK1の代謝産物であるPAと結合するAPHタンパク質の機能解析を実施した。APH誘導型欠損原虫はDGK1欠損原虫同様に赤血球侵入関連分子の分泌阻害が観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題を通してマラリア原虫が保有するDGKとPA結合タンパク質APHが原虫の赤血球侵入時に担う役割を分子レベルで解明することに成功した。また本研究で作製したDGK1欠損原虫は感染宿主内で自然治癒されるため、今後宿主応答の分子機序を精査することで新たな原虫制御法の確立に繋がる知見が得られることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：The functional analysis of diacylglycerol kinase (DGK), responsible for the conversion of diacylglycerol (DAG) to phosphatidic acid (PA) in malaria parasite, elucidated that the inducible DGK deletion mutant exhibited the phenotype characterized by mislocalization of invasion related proteins, reduction of protein secretion, and subsequently decreased parasitemia and pathogenicity in mice.

The functional assessment of the APH protein which interacts with PA, a derivative of DGK1, disclosed that the inducible APH knockout parasite mirrored the inhibition of erythrocyte invasion related protein discharge as same as DGK1 deficient parasites.

研究分野：寄生虫学

キーワード：ネズミマラリア原虫 赤血球侵入 脂質シグナリング 遺伝子編集

1. 研究開始当初の背景

マラリア原虫は年間 2 億人を越える罹患者と 40 万人を越える死者を出す赤血球寄生原虫である。マラリア原虫が赤血球に侵入する際にはリン酸化を介したシグナル伝達が重要な役割を担うことが知られており、ネズミマラリア原虫にてジアシルグリセロールをホスファチジン酸へと変換させるリン酸化酵素ジアシルグリセロールキナーゼ(DGK)の一つ DGK1 欠損原虫では、赤血球侵入関連分子の原虫内局在が変化し、原虫のマウスへの感染率と病原性が著しく低下することを見出した。本研究では、DGK の欠損から赤血球侵入能力の低下という表現型に至るまでの機序を分子レベルで明らかにし、新たな創薬標的を見出すことを目的とする。

2. 研究の目的

マラリア原虫は年間 2 億人を越える罹患者と 40 万人を越える死者を出す赤血球寄生原虫である。マラリア原虫が赤血球に侵入する際にはリン酸化を介したシグナル伝達が重要な役割を担うことが知られているため、ネズミマラリア原虫にて、この時期に発現するリン酸化酵素を網羅的に破壊したところ、ジアシルグリセロール(DAG)をホスファチジン酸(PA)へと変換させるリン酸化酵素ジアシルグリセロールキナーゼ(DGK)の一つ DGK1 欠損原虫では、赤血球侵入関連分子の原虫内局在が変化し、原虫のマウスへの感染率と病原性が著しく低下することを見出した。本研究計画では、マラリア原虫において DGK により産生される PA が赤血球侵入を制御する一連の分子機構にどのように関与しているのかという問いに答えることで、DGK の欠損から赤血球侵入能力の低下という表現型に至るまでの機序を分子レベルで明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

DGK や DGK が産生する PA 結合タンパク質 APH の機能解析を実施するために誘導型遺伝子欠損原虫を作製した。作製した遺伝子組換え原虫を用いて寄生率及び感染マウスの生存試験を実施した。さらに赤血球侵入関連分子分泌試験及びライブイメージング解析を行うことで DGK と APH それぞれが制御する赤血球侵入の分子機序の解明を試みた。

4. 研究成果

(1)DGK 誘導型欠損原虫は原虫の赤血球侵入に必須である

マラリア原虫は赤血球寄生原虫であり、宿主赤血球へと侵入する際に細胞内シグナル伝達を介して原虫タンパク質の分泌を制御する。ネズミマラリア原虫(*Plasmodium yoelii*)が保有するジアシルグリセロール(DAG)をホスファチジン酸(PA)へと転換させるジアシルグリセロールキナーゼ(DGK)の一つである DGK1 欠損マラリア原虫は赤血球侵入関連分子の細胞内局在の変化、分子分泌の低下、その結果に伴う原虫寄生率とマウスへの病原性の低下という表現型を示した。ネズミマラリア原虫は二つの DGK を有しており、その二つが相補的な機能を有しているかを検討するために DGK1/DGK3 二重欠損原虫を作製した。DGK1 欠損原虫と DGK1/DGK3 二重欠損原虫間における赤血球侵入効率には変化がなかったため、DGK1 のみがマラリア原虫の赤血球侵入に必要な酵素であり、赤血球侵入過程において二つの DGK 間に相補的作用は無いという結論に至った。DGK1 欠損原虫及び DGK1/DGK3 二重欠損原虫の研究成果は現在論文投稿準備中であり 2024 年度中に投稿予定である。マラリア原虫生活環において DGK1 が制御する多様なステップについて招待講演にて発表を行なった(石崎隆弘 第 1 回 Transformative Life Science Meeting 2024)。

(2)PA 結合タンパク質 APH は原虫のマイクロネームタンパク質の分泌に必須である

また DGK1 によって転換される PA は PH ドメインを有するタンパク質と結合することが知られており、原虫が保有する PH ドメイン保有タンパク質の誘導型欠損株の作出と解析を並行して実施した。その結果 PH ドメインを有する分子の一つである APH を誘導型欠損した原虫で DGK1 欠損原虫同様に赤血球侵入関連分子の表面分泌が阻害される知見を得た。その一方で APH 欠損原虫

では赤血球侵入関連分子の細胞内局在の変化は見られなかった。以上の結果から DGK1 によって転換される PA と APH の相互作用が赤血球侵入関連分子の分泌には必須だが、それら分子の細胞内局在は DGK1 由来の PA のみが関与する可能性が示唆された(Chaiyawong *et al.*, *Parasitol Int.* 2022)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Chaiyawong Nattawat, Ishizaki Takahiro, Hakimi Hassan, Asada Masahito, Yahata Kazuhide, Kaneko Osamu	4. 巻 86
2. 論文標題 Distinct effects on the secretion of MTRAP and AMA1 in Plasmodium yoelii following deletion of acylated pleckstrin homology domain-containing protein	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102479 ~ 102479
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.parint.2021.102479	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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石崎隆弘、Chaiyawong Nattawat、坂口美亜子、徳舛富由樹、麻田正仁、矢幡一英、金子修
2. 発表標題 マラリア原虫が有する2種のジアシルグリセロールキナーゼの解析
3. 学会等名 第90回日本寄生虫学会・第32回日本臨床寄生虫学会合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takahiro Ishizaki, Nattawat Chaiyawong, Thant Zin Tun, Miako Sakaguchi, Masahito Asada, Fuyuki Tokumasu, Kazuhide Yahata, Osamu Kaneko
2. 発表標題 ジアシルグリセロールキナーゼはネズミマラリア原虫メロゾイトの赤血球侵入と赤血球期発育に重要である
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 石崎隆弘
2. 発表標題 DGKが制御するマラリア原虫生活環
3. 学会等名 第1回Transformative Life Science Meeting（招待講演）
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------