

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：32651

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19257

研究課題名（和文）冬眠宿主におけるマラリア原虫の生存システムの解明

研究課題名（英文）Survival system of Plasmodium parasite in hibernating hosts

研究代表者

嘉糠 洋陸（Kanuka, Hirotaka）

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：50342770

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：冬眠は、平常時よりも極端に低い体温にて消費エネルギーを節約し、低温環境や食糧不足などの危機的状況を乗り越える生存戦略の1つであるとともに、いまだに多くの点が不明であることから、新たな医学的研究への応用および発展可能性が期待されている。研究代表者らは、冬眠動物時動物を用いた解析から得た洞察を元に、培養及び齧歯類モデルの2種類の実験系を用いた解析から、マラリア治療薬と低体温療法が相加効果を示すことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

得られた研究成果から、齧歯類モデルを中心に、通常は恒温動物体内にて安定した温度にて増殖するマラリア原虫について、温度の低下に対して増殖動態が減少することに加え、抗マラリア薬の投与量を減少させる可能性を見出した。本研究成果の今後の発展により、重症頭部外傷や重症脳血管障害の患者、心肺停止から蘇生後の患者に用いられる低体温療法を重症マラリアの治療に応用するなど、感染症の新規治療法の確立へと発展する可能性を有しており、医学的な立場から人間社会への貢献が期待される。

研究成果の概要（英文）：Hibernation is one of the survival strategies to overcome critical situations, such as a low-temperature environment and food shortage, by conserving energy consumption at an extremely lower body temperature than normal. Based on the insights gained from the analysis of hibernating animals, the principal investigators have demonstrated that hypothermia has an additive effect on malaria drugs using two types of experimental systems: a culture model and infected animals.

研究分野：寄生虫学

キーワード：マラリア 原虫 寄生虫 感染 冬眠 低体温療法 代謝

## 1. 研究開始当初の背景

冬眠は、平常時よりも極端に低い体温にて消費エネルギーを節約し、低温環境や食糧不足などの危機的状況乗り越える生存戦略の1つである。冬眠は、約 4,000 種の哺乳類のうち、4%以上を占める 187 種において冬眠が確認されていることから、一部の動物が有する独特な習性ではなく、食糧不足や低温環境などの過酷な条件を乗り越えるための普遍的なシステムとみなされている。冬眠動物は、冬季に異化・同化に係る遺伝子群の発現量を顕著に上昇させるなど、非冬眠動物にはない特殊な代謝システムを備える。冬眠に伴う一連の生理的変化についての研究から、貯蔵脂肪の効率的燃焼や組織・臓器の低温耐性などが明らかになっているが、いまだに多くの点が不明であり、新たな医学的研究への応用および発展可能性が期待されている。

寄生性原虫は、生育に栄養素を宿主に依存し、複雑な生活環を有する単細胞の真核生物である。現存する生物の多くは、紀元前に到来した気温 6 度の氷河期を経験して現存する。魚類から哺乳類まで様々な動物に感染し、宿主の栄養代謝動態に強く依存する寄生性原虫と、冬眠宿主との間に、未知の相互作用が潜む可能性が考えられる。これらは、マラリア原虫が、冬眠時動物において、通常の宿主感染時とは異なる挙動を示す可能性を示唆する。

## 2. 研究の目的

低温生物学とは、低温における生物の習性・生理活性や低温への耐性、低温での組織・細胞の保存などを対象にした学術領域である。一方で、低温医学は、脳低温療法・低体温手術や凍傷などを扱う医学分野であり、低温生物学とは一線を画しているのが現状である。感染現象を横軸にすることにより、低温生物学と低温医学を融合した独自の研究・学術分野の創出が期待される。本研究の推進により、重症頭部外傷や重症脳血管障害の患者、心肺停止から蘇生後の患者に用いられる低体温療法を重症マラリアの治療に応用するなど、感染症の新規治療法の確立へと発展する可能性を有しており、医学的な立場から人間社会への貢献が見込まれる。

冬眠動物であるシリアンハムスターは、日照時間・飼育温度を調節することにより、人為的に低体温状態へと誘導することが可能である。研究代表者らは、所属機関において摂氏 4℃前後、8 時間明期 16 時間暗期となる動物飼育室を設置し、試験的に低体温宿主におけるマラリア原虫の増殖を解析した。マラリア原虫は長期の低温環境では細胞死するため、当初は、死滅する結果も想定していた。しかし、冬眠中はほぼ4度の低体温で過ごすハムスターにおいて、マラリア原虫が1ヶ月以上生存することを見出した。本研究課題は、マラリア原虫をモデルとして、冬眠シリアンハムスターにおける寄生性原虫の挙動を組織・分子レベルで解析することにより、宿主-病原体相互作用における新たな知見の獲得を目的とした。低温環境におけるマラリア原虫の挙動を解析することにより、感染症制御に資する新規知見の獲得を試みた。

## 3. 研究の方法

### (1) 冬眠時動物(ハムスター)におけるマラリア原虫の挙動についての解析

長期間の低温環境において死滅するマラリア原虫が、体温がほぼ4℃となる冬眠時動物において、1ヶ月以上に渡って生存するメカニズムの解明を目的として、冬眠中のハムスターにおける原虫の局在の解明を試みた。体重が 140g 以上になったハムスターを、動物飼育室に移動し、冬眠を誘導した。摂餌量の変化が一定量未満になった個体を冬眠したとみなした。冬眠の確認から約 1 ヶ月後、冬眠状態のまま、齧歯類特異的マラリア原虫 *P. berghei* ANKA を腹腔内経路で感染させた。感染から1ヶ月後、①新麻酔下で開腹し、腹部を IVIS にて撮像、もしくは②脳、肺、脾臓などの臓器を取り出して IVIS を用いて撮像することにより、マラリア原虫の局在を可視化した。

### (2) 低温環境におけるマラリア感染宿主(非冬眠動物)についての解析

脳性マラリア患者の脳浮腫に対して、低体温療法が有効であることが報告されている。低体温宿主におけるマラリア原虫の増殖動態を解析するため、低温環境に暴露した非冬眠動物(マラリア易感受性マウス: BALB/C)における解析を実施した。BALB/c に *P. berghei* ANKA を感染させ、経時的に感染赤血球率が4%前後となる感染4日後に、動物を低温飼育室に移動した。感染動物の体温の推移を知るため、直腸温を計測した。

### (3) 低温環境がマラリア原虫の薬剤感受性に与える影響についての解析

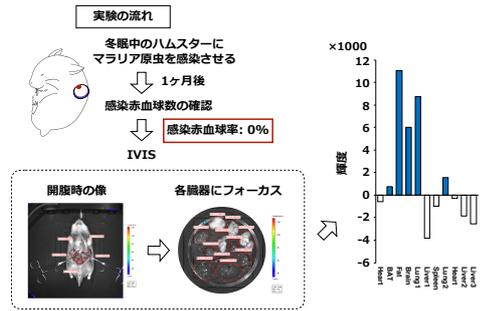
低温環境がマラリア原虫の抗マラリア薬感受性に与える影響の有無を知るため、ヒトマラリア原虫 *P. falciparum* の培養モデル及び齧歯類マラリア原虫 *P. berghei* を用いた感染動物モデルにおいて、低温における薬効試験を実施した。重症マラリア治療における第一選択薬であるアーテスネートをモデルとした。一般的な治療における 1/10 量のアーテスネート存在下において、マラリア原虫の増殖に対する寒冷暴露との相加効果を検討した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 冬眠時動物(ハムスター)におけるマalaria原虫の挙動についての解析

研究代表者らは、熱帯熱マalaria原虫の培養系において、長期間暴露した場合に死滅するとされる4℃の低温環境において、短期間であればマalaria原虫が生存することを確認済みである。さらに研究代表者らは、冬眠中はほぼ4度の低体温で過ごすハムスターにおいて、マalaria原虫が1ヶ月以上生存することを見出している。これらは、マalaria原虫が低温環境を耐え凌ぐシステムを有する可能性を示唆する。そこで研究代表者らは、冬眠時動物においてマalaria原虫が局在する場所を見出すべく、IVISを用いて、原虫の可視化を試みた。その結果、褐色脂肪、白色脂肪、脳、肺など一部の組織及び臓器においてシグナルを検出した。これらの結果から、マalaria原虫は、冬眠宿主の特定の組織・臓器において、低温環境を乗り越える可能性が示唆された。

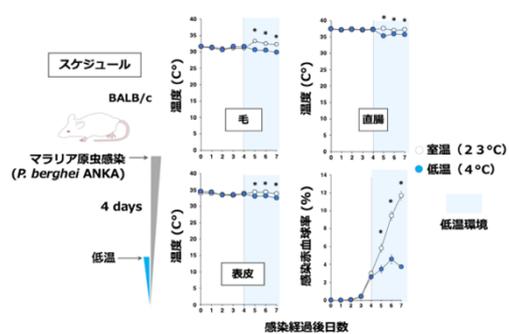
図1 冬眠時動物においてマalaria原虫は特定の臓器に局在する



##### (2) 低温環境におけるマalaria感染宿主(非冬眠動物)についての解析

低体温療法とは、体温管理療法の1種であり、患者が高体温になることを回避することにより、脳障害の進行を防ぐなど中枢神経の保護作用を目的とする治療法である。アメリカ心臓協会のガイドラインでは、「心拍が再開した全ての昏睡状態の患者に対し、32~36℃の体温を24時間以上維持する TTM を施行すべきである」と記載されており、重症脳血管障害や心肺停止から蘇生後の患者に用いられる。2018年のアメリカにおいて、ウガンダからの帰国後に脳性マalariaを発症した重症患者に対し、脳浮腫の抑制を目的として、治療薬投与等のマalaria治療と並行して低体温療法が施行された。研究代表者らはこの報告に興味を抱き、“非”冬眠動物(BALB/c)を用いて、擬似的に、低体温療法の前臨床試験を実施した。低温曝露群において宿主動物の深部体温が1~2℃低下し、その温度変化に同調するようにマalaria原虫の増殖率が低下することを見出した(図2)。これらの結果から、宿主体温の低下によりマalaria原虫の増殖が抑制されることが示唆された。

図2 低体温宿主においてマalaria原虫の増殖率は低下する



##### (3) 低温環境がマalaria原虫の薬剤感受性に与える影響についての解析

マalariaが未だに多くの人命を奪い続けている理由の1つとして、薬剤耐性マalaria原虫の発生およびその増加が挙げられる。マalaria根絶へ向けWHOが主導して実施した抗マalaria薬の無償配布は、薬剤の過剰な処方・服用を可能とし、結果として耐性原虫の発生を助長している。さらに、現在研究・開発が進められている新規薬剤についても、耐性株発生のリスクは免れ得ないと考えられているため、抗マalaria薬の投与量を減少させるツールの開発が喫緊の課題の1つとされている。そこで研究代表者らは、ヒトに重篤な症状を引き起こす熱帯熱マalaria原虫の培養系において、マalariaの治療における第1選択薬であるアーテスネートをモデルとし、低体温療法による減薬の可能性を検討した。その結果、低温暴露との併用により、アーテスネートの抗マalaria作用が増強されることを明らかにした(図3)。さらに研究代表者らは、齧歯類モデルを用いて、低用量のアーテスネート(治療時の1/10量)と低体温療法の前臨床試験を実施した。その結果、アーテスネート単独投与よりも、低温環境に暴露の併用により、抗マalaria作用が増強されることを明らかにした(図4)。既存の抗マalaria薬にはアミノ酸輸送経路を第1標的とするものが認められないことから、本法は他の抗マalaria薬においても効果を発揮するものと考えられる。

図3 熱帯熱マalaria原虫は低温環境において抗マalaria薬に対する感受性が上昇する

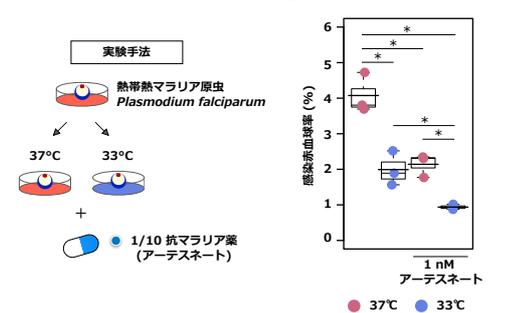
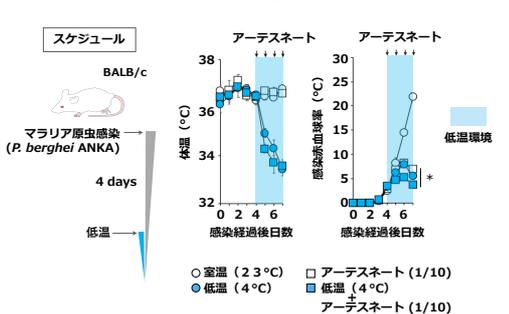


図4 低体温宿主(非冬眠動物)におけるマalaria原虫の抗マalaria薬感受性についての解析



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 齊木選射・嘉糠洋陸
2. 発表標題 冬眠宿主におけるマラリア原虫の挙動解析
3. 学会等名 第91回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齊木選射・嘉糠洋陸
2. 発表標題 マラリアに対する低体温療法の可能性
3. 学会等名 第92回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 嘉糠洋陸
2. 発表標題 現代病としてのマラリア 栄養・代謝から眺めるマラリア原虫と宿主の相互作用
3. 学会等名 第96回日本感染症学会総会（招待講演）
4. 発表年 2022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
研究分担者	齊木 選射  (Saiki Erisha)  (70738971)	東京慈恵会医科大学・医学部・助教    (32651)	

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