

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K17930

研究課題名（和文）Orientia感染症の世界分布解明へ向けた多価リケッチア血清検査法の開発

研究課題名（英文）Development of new diagnosis methods to analzed global distribution

研究代表者

阪下 健太郎（Sakashita, Kentarou）

長崎大学・熱帯医学研究所・客員研究員

研究者番号：30838280

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：適切な診断法がないため、Orientia感染症の分布を解析することは困難である。そこで、ヒト293T細胞において合成したOrientia TSA蛋白質に結合する抗体の有無を測定した。しかし、完全長のTSAを発現する293T細胞は得られなかった。TSAがヒト細胞に対して細胞毒性を持っていることを示唆している。そこで、TSAのN末端領域とC末端領域を発現するプラスミドを構築した。N末端領域は発現が検出されたが、C末端領域は検出されなかった。ベトナムの患者の約30%がN末端領域に結合する抗体を持っていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Orientia感染症を診断可能な新規方法の開発に成功した。この方法を用い、30%というこれまでよりも多い抗体保有率を示した。これまでの診断法よりも感度が高いことを示している。TSAはヒト細胞に対して細胞毒性活性を持ち、特にC末端ドメインが責任領域であることが分かった。TSAがOrientiaの病原性に関与していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：It was difficult to analyze prevalence of Orientia infection, due to the absence of its precise diagnosis methods. We analyzed antibody binding to Orientia TSA protein synthesized in human 293T cells. However, 293T cells expressing the full-length TSA protein were not obtained, suggesting the cytotoxicity of TSA protein to human cells. We constructed expression plasmids encoding N- and C-terminal peptides of TSA protein. When these plasmids were introduced into 293T cells, N-terminal peptide, but not C-terminal, was detected. About 30% of Vietnamin patients contained antibody binding to the TSA N-terminal peptide.

研究分野：臨床感染症学

キーワード：Orientia TSA

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Orientia には Shimokoshi, Giliam, Kuroki, Kato など様々な血清型が存在する。例えば Shimokoshi に結合する抗体は他の Giliam や Kuroki には結合できない。また、これら以外にもまだ発見されていない株が存在すると考えられており、Orientia 感染症の分布を正確に測定できない。

現在は、これまでに見つかった全ての株の Type specific antigen (TSA) の組換え蛋白質を大腸菌において合成し、それらに結合する抗体の有無で Orientia に感染したことがあるかどうかを解析してきた。PCR 結果との比較で、Orientia に感染しているにも関わらず、抗体が検出されない患者がいることが問題となっていた。未知の株に感染しているためか、TSA 組換え蛋白質に抗体が結合しないためであると考えられる。

2. 研究の目的

Orientia の血清型に関係なく、Orientia 感染を検出する検査法を開発することを目的とする。

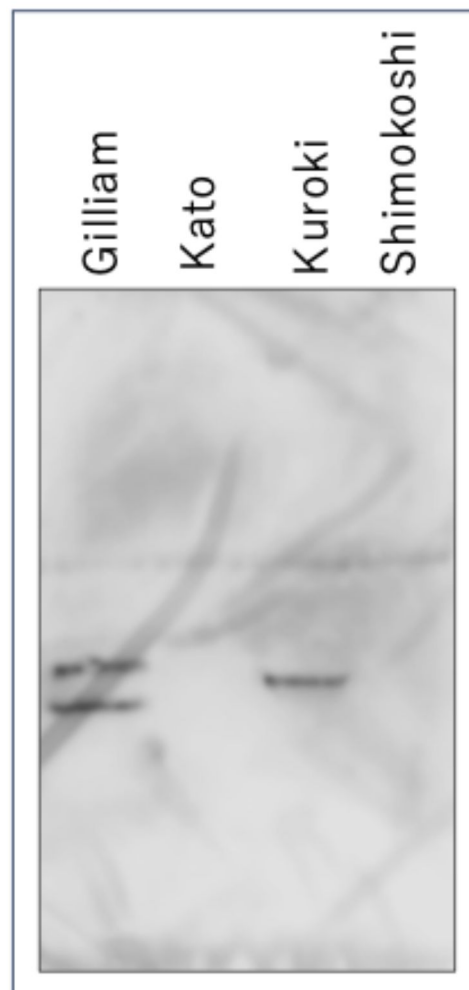
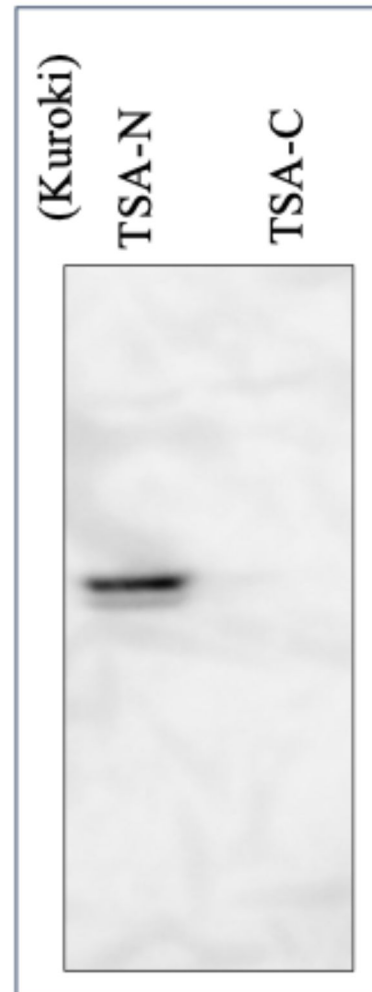
3. 研究の方法

大腸菌ではなく、ヒト 293T 細胞において合成した TSA を用いて、それに結合する抗体の有無を解析する。

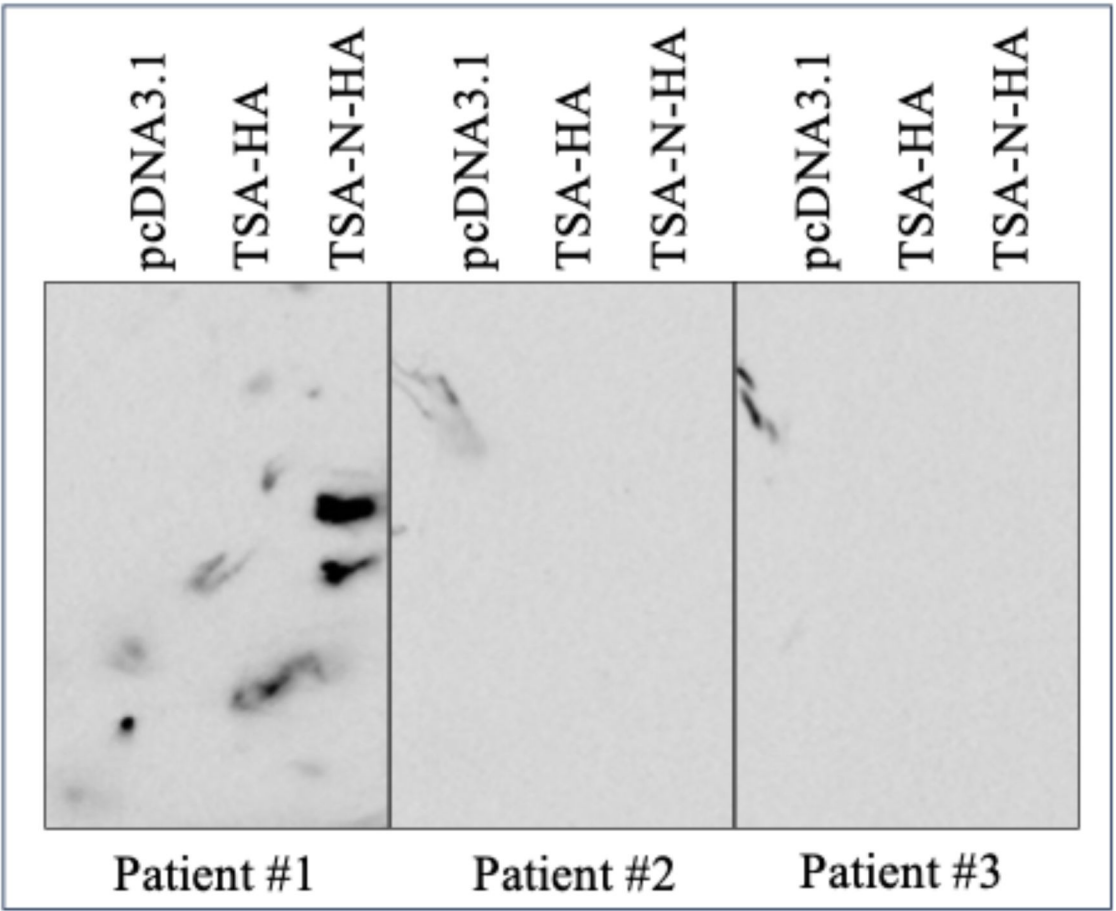
4. 研究成果

最初に Kuroki 株の完全長 TSA の発現プラスミドを構築し、293T 細胞に導入したが、TSA 蛋白質は検出されなかった。TSA はヒト細胞に対して細胞毒性を持っているからであると考えられる。この結果は、TSA が Orientia の病原性にも関与している可能性を示唆している。

そこで TSA の N 末端半分と C 末端半分のそれぞれを発現するプラスミドを構築した。N 末端半分は検出されたが、C 末端半分は検出されなかった(上図)。Kuroki 株 TSA の細胞毒性活性は C 末端領域に存在することを示している。同様に Giliam、Kato、Shimokoshi 株の TSA N 末端半分の発現プラスミドを構築した。Giliam と Kuroki 株の TSA N 末端蛋白質が検出されたが、Kato、Shimokoshi 株の TSA N 末端蛋白質は検出されなかった(下図)。Kato、Shimokoshi 株の TSA には N 末端領域にも細胞毒性活性があることを示している。



Giliam 株と Kuroki 株の TSA N 末端蛋白質の mixture を用いて、ベトナム関連病院に入院した患者の血清における抗体の有無を測定した。PCR で *Orientia* 陰性の患者にも関わらず、10 名中 3 名 (30%) のヒトが TSA N 末端蛋白質に結合する抗体を持っていた (下図)。予想していたよりも、*Orientia* に感染したことがあるヒトが大勢いることを示している。また、293T 細胞における合成の方が大腸菌における合成よりも優れていることを示している。今後、より患者数を増やして解析する予定である。



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

長崎大学熱帯医学研究所臨床感染症学分野
<http://www.tm.nagasaki-u.ac.jp/internal/>

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