

マラリア原虫由来薬剤耐性遺伝子の迅速同定法の開発

大学院医学系研究科・医学部 / 岩永 史朗(准教授)

マラリアはハマダラ蚊の吸血によるPlasmodium属原虫(マラリア原虫)の感染により引き起こされ、年間約2億人の感染者と約50万人の死者を出す世界三大感染症の一つです。主に熱帯・亜熱帯で流行しており、特に東南アジアとアフリカはマラリアの世界的流行地です。近年、地球温暖化によりハマダラ蚊の生息域が拡大したことからマラリアが流行する危険性が高い地域は拡大する傾向にあります。現在、マラリア対策は薬剤治療を主として実施されていますが、地球規模での薬剤耐性原虫の蔓延により治療効果の低下が問題となっています。特に2009年、治療第一選択薬であるアルテミシニン耐性原虫がカンボジアで出現し、大メコン圏へと拡散したことからその拡散阻止は急務の課題となっています。

一方、マラリア原虫は自身を持つ遺伝子に変異が起これば耐性を獲得します。そのため、薬剤耐性の原因遺伝子(耐性遺伝子)の変異は耐性原虫の拡散状況を知るための重要なモレキュラーマーカー(目印)として利用することができます。しかし耐性遺伝子を同定するためには数千以上の耐性原虫株を患者より分離し、全ゲノム配列を決定する必要があり、多大な労力・コスト・時間を必要とする欠点があります。よって簡便かつ安価な薬剤耐性遺伝子同定法の開発が期待されています。

これに対し我々研究グループでは一株の原虫から僅か数カ月で耐性遺伝子を同定する手法の開発に成功しました(図1・文献1,2)。具体的にはまず、薬剤耐性原虫ゲノムDNAより巨大DNA断片(10~50kb)を調製し、これをマラリア原虫の新たな遺伝子操作ツールである人工染色体に組み込みます。続いてDNA断片を組み込んだ人工染色体を直接、薬剤感受性原虫に導入し原虫内で人工染色体遺伝子ライブラリーを構築します。ここで薬剤耐性原虫由来の耐性遺伝子をコードしたDNA断片を有する人工染色体が組み込まれた原虫は新たに薬剤耐性を獲得し、逆にその他の遺伝子であれば原虫は薬剤感受性のままとなります。よって遺伝子ライブラリーが導入された原虫集団を薬剤スクリーニングすることにより新たに耐性を獲得した原虫のみを選択することができます。最終的に選択した原虫から人工染色体を回収し、組み込まれたDNA断片を解析することで薬剤耐性遺伝子を同定できます。実際に抗マラリア薬の一つであるクロロキリンに対する耐性原虫を用いて実験を行ったところ耐性遺伝子であるクロロキリン耐性トランスポーター遺伝子を同定することに成功し、この手法の有効性を示すことができました。

現在、我々研究グループではタイ-ミャンマー国境地域に独自のフィールドサイトを設置し、アルテミシニン耐性原虫の株化に成功しています。今後、開発した手法によりアルテミシニン耐性遺伝子を同定し、耐性原虫の拡散防止に貢献していきたいと考えています。

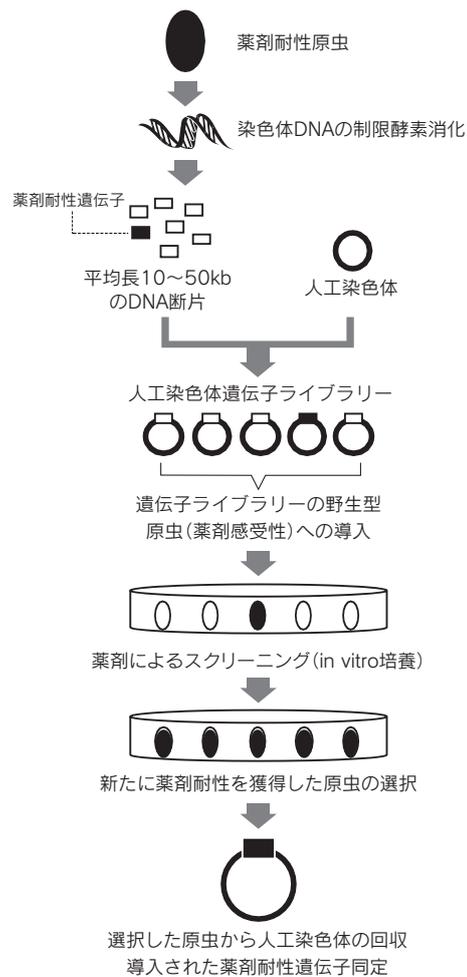


図1:人工染色体を用いたマラリア原虫由来薬剤耐性遺伝子の迅速同定法

【参考文献】

- 文献1: Functional Identification of the Plasmodium Centromere and Generation of a Plasmodium Artificial Chromosome. Iwanaga S, Khan SM., Kaneko I, Christodoulou Z, Newbold C, Yuda M, Janse CJ, Waters AP. Cell, Host & Microbe. 7, 3, 245 (2010)
- 文献2: A high-coverage artificial chromosome library for the genome-wide screening of drug-resistance genes in malaria parasites. Iwanaga S, Kaneko I, Yuda M. Genome Res., 22(5):985-92. (2012)