



Skeleton binding protein 1 localizes to the Maurer's cleft and interacts with PfHSP70-1 and PfHSP70-x in Plasmodium falciparum gametocyte-infected erythrocytes

面田, 彩馨

(Degree)

博士 (保健学)

(Date of Degree)

2024-03-25

(Date of Publication)

2025-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8920号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100490145>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(様式 3)

論文内容の要旨

専攻領域 パブリックヘルス領域

専攻分野 国際感染症対策分野

氏 名 面田 彩馨

論文題目

Skeleton binding protein 1 localizes to the Maurer's cleft and interacts with PfHSP70-1 and PfHSP70-x in *Plasmodium falciparum* gametocyte-infected erythrocytes (熱帯熱マラリア原虫の生殖母体期において Skeleton binding protein 1 は Maurer's cleft に局在し、PfHSP70-1 および PfHSP70-x と相互作用する)

論文内容の要旨

マラリアは、マラリア原虫と呼ばれる寄生性の単細胞真核生物によって引き起こされる感染症であり、ハマダラカ属の蚊によって媒介される。この感染症は、熱帯・亜熱帯地方で流行し、年間約 2 億人の感染者と約 60 万人の死者をもたらしている。

マラリア原虫はヒト体内において赤血球に寄生する。熱帯熱マラリア原虫の赤血球寄生ステージは、48 時間周期で発育増殖を繰り返す「無性生殖期」と、蚊体内における有性生殖に必須のステージで約 2 週間をかけて成熟する「生殖母体期」に大別される。無性生殖期原虫の感染赤血球は血管内皮細胞と結合能を持つ PfEMP1 (*P. falciparum* erythrocyte membrane protein 1) が発現し、主要臓器の毛細血管を閉塞させることが報告されている。これに対し、生殖母体感染赤血球には PfEMP1 はほとんど発現しないが未成熟生殖母体は骨髓実質へ集積する。そのため、感染者体内における生殖母体感染赤血球の挙動は、無性生殖期とは異なる分子機構に起因すると予想されるが、生殖母体感染赤血球表面の接着分子は同定されておらず、生殖母体期の原虫タンパク質輸送の詳細も明らかにされていない。本研究では、感染赤血球の細胞膜近傍に形成される Maurer's cleft に着目した。Maurer's cleft には複数の原虫タンパク質が存在し、中でも SBP1(skeleton binding protein 1)は PfEMP1 の赤血球表面への輸送に関与する。しかしながら生殖母体期における SBP1 の発現時期や局在についてはほとんど明らかにされていない。

まず我々は SBP1 抗体を用いた間接蛍光抗体法によって発現時期を調べた。その結果、生殖母体期の全てのステージにおいて SBP1 を示す光点が観察された。さらに免疫電子顕微鏡法により分子局在

を解析した結果、生殖母体期の SBP1 は赤血球膜近傍に集積した Maurer's cleft に局在することが明らかになった。

次に、生殖母体赤血球表面への分子輸送に関与する分子を探索するために共免疫沈降実験およびイオントラップ型質量分析法を組み合わせ SBP1 相互作用分子の解析を行った。その結果、SBP1 と相互作用するタンパク質として PfHSP70-1 (*P. falciparum* heat shock protein 70-1)、PfHSP70-x (*P. falciparum* heat shock protein 70-x) が検出された。PfHSP70 抗体を用いた間接蛍光抗体法を行なったところ、PfHSP70 は無性生殖期および未成熟生殖母体期において感染赤血球細胞質に弱いドット状のシグナルとして観察された。これらの結果から、未成熟生殖母体期の SBP1 と PfHSP70 との相互作用が示唆された。しかし、PfHSP70-1 および PfHSP70-x は感染赤血球膜に輸送される結果は得られず、無性生殖期でも発現しているため、骨髄における生殖母体感染赤血球の集積に直接関与しているとは考えられなかった。

無性生殖期の PfHSP70-x は感染赤血球細胞質の j-dot と呼ばれる小胞に局在し、PfEMP1 の輸送に関与することが報告されている。本研究によって PfHSP70-x と SBP1 の相互作用が明らかとなり、Maurer's cleft が感染赤血球細胞質の小胞と相互作用することによって赤血球表面への分子輸送を行なっている可能性が示唆された。

本研究では、熱帯熱マラリア原虫生殖母体期において SBP1 が Maurer's cleft に局在することを明らかにした。また、SBP1 抗体を用いた共免疫沈降実験および質量分析により、SBP1 と PfHSP70-1 および PfHSP70-x の相互作用を示す知見を得た。さらに、未成熟生殖母体期の PfHSP70 は感染赤血球細胞質に輸送されることを明らかにした。これらの知見は、生殖母体期における原虫タンパク質輸送の分子基盤の解明のための基礎情報となる。

指導教員氏名：入子 英幸

(別紙1)

論文審査の結果の要旨

| | | | |
|--|--|-----|---------|
| 氏 名 | 面 田 彩 馨 | | |
| 論 文 題 目 | Skeleton binding protein 1 localizes to the Maurer's cleft and interacts with PfHSP70-1 and PfHSP70-x in <i>Plasmodium falciparum</i> gametocyte-infected erythrocytes (熱帯熱マラリア原虫の生殖母体期においてSkeleton binding protein 1はMaurer's cleftに局在し、PfHSP70-1およびPfHSP70-x と相互作用する) | | |
| 審 査 委 員 | 区 分 | 職 名 | 氏 名 |
| | 主 査 | 准教授 | 入 子 英 幸 |
| | 副 査 | 教授 | 亀 岡 正 典 |
| | 副 査 | 教授 | 中 澤 港 |
| | 副 査 | | 印 |
| 要 旨 | | | |
| <p>熱帯熱マラリア原虫は赤血球に侵入後、原虫タンパク質を感染赤血球に輸送する。感染赤血球は、原虫タンパク質により細胞骨格や膜構造が改変され、細胞接着、変形能などの特性の変化により重症化の原因となる。原虫タンパク質の輸送には、感染赤血球膜近傍に形成されるMaurer's cleftと呼ばれる膜構造のSBP1(skeleton binding protein 1)が関与することが知られている。本論文は、生殖母体期における原虫タンパク質輸送との分子基盤を明らかにすることを目的として、生殖母体期におけるSBP1の発現プロファイルおよび分子局在を解析し、SBP1が生殖母体期のすべてのステージに発現し、赤血球膜近傍に集積したMaurer's cleftに局在することを明らかにした。さらに、生殖母体期のSBP1と相互作用する分子を検索ために、SBP1抗体を用いた共免疫沈降実験とイオントラップ型質量分析を行なったところ、PfHSP70-1とPfHSP70-xが検出された。無性生殖期においてPfHSP70-xは、感染赤血球細胞質のj-dotと呼ばれる小胞に局在し、接着分子の輸送に関与することが報告されていることから、生殖母体期においてPfHSP70-xとSBP1が感染赤血球表面への原虫タンパク質輸送に関与する可能性が考えられた。本研究で得られた知見は、マラリア原虫の寄生適応の分子基盤の解明に貢献するものである。</p> <p>よって、学位申請者の面田彩馨は、博士（保健学）の学位を得る資格があると認める。</p> | | | |
| 掲載論文名・著者名・掲載（予定）誌名・巻（号），頁，発行（予定）年を記入してください。 Skeleton binding protein 1 localizes to the Maurer's cleft and interacts with PfHSP70-1 and PfHSP70-x in <i>Plasmodium falciparum</i> gametocyte-infected erythrocytes, Omoda A, Matsumoto K, Yoshino K, Tachibana M, Tsuboi T, Torii M, Ishino T, Iriko H, Parasitology International, 2024, in press. | | | |