

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 8 年 4 月 30 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 群馬大学大学院保健学研究科
職 名 助教
研究代表者 鬼塚 陽子

下記のとおり令和7年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 25022)

1. 共同研究課題名	創薬研究を拡大する細胞内寄生原虫のユニークな脂質代謝経路の解明			
2. 共同研究目的	細胞内寄生原虫の代表であるマラリア原虫とトリパノソーマ原虫は年間に多くの患者や死者を。細胞内寄生原虫は宿主細胞から様々な分子が供給されるため、一部の代謝経路を欠損、または変化させている。一方で同一反応経路に関わる酵素数が単一、または非常に少なく、かつそれらが必須酵素である場合が多い。 このような特徴は、新規抗寄生虫薬の開発に優れたターゲットになり得るが、寄生虫の脂質代謝の研究は、ヒトの研究に比べて大きく遅れている。本研究では、二つの異なる細胞内寄生原虫の脂質代謝関連酵素群を解析し、その共通性や特徴を明らかにすることによって、創薬の可能性を探る。			
3. 共同研究期間	令和7年4月1日 ~ 令和8年3月31日			
4. 共同研究組織				
氏名	所属等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 鬼塚 陽子	大学院保健学研究科 生体情報検査科学講座	助教	研究の総括、脂質解析、 バイオイメージング、生化学的実験	
(分担研究者) 徳舩 富由樹	大学院保健学研究科 生体情報検査科学講座	教授	脂質解析の実験と指導、 バイオイメージング、生化学的実験	
畠山 瑠河	大学院保健学研究科 生体情報検査科学講座	大学院生(M1)	培養、生化学実験、バイオ イメージング、脂質解析	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	代謝疾患医科学分野	氏名	白川 純

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

6. 共同研究計画

マラリア原虫(*Plasmodium falciparum*, Pf)では、2つの必須遺伝子改変原虫 (PfLPLAT1 conditional KO 原虫、PfDGAT cKO 原虫) を用いる。

1. PfDGAT cKO 原虫では、cKO 後数日で死滅する事、原虫の性分化 (無性生殖期⇒有性生殖期) が停止する事が分かっているが、リン脂質代謝への影響は未解析である。よって、cKO 後にリン脂質プロファイル、中性脂質プロファイルを測定する。また電子顕微鏡観察により、cKO 後の細胞の形態変化も確認する。
2. PfLPLAT1、PfDGAT ともに KO で死ぬ理由を、細胞のエネルギー代謝の中心であるミトコンドリアをターゲットとして解析を進める。本実験では PfLPLAT1、PfDGAT それぞれの cKO により、①Mitotracker 等でミトコンドリアを染色し、その構造や断片化を確認する。②ROS 感受性蛍光色素である MitoSOX を用いてミトコンドリアの活性化状態を解析する。③フラックスアナライザーを用いたミトコンドリア呼吸 (酸素消費速度(OCR)) と、解糖系の機能 (細胞外酸性化速度 (EGAR)) を同時に計測して、細胞の代謝状態を解析する。

トリパノソーマ原虫 (*Trypanosoma cruzi*, Tc)では、TcCPT と TcDGAT の遺伝子に着目し、実験を進める。

1. 当研究室で培養している全てのステージ (上鞭毛期、錐鞭毛期、無鞭毛期) の脂質プロファイルを LC-MS/MS を用いて解析し、ステージ間での変化を明らかにする。これにより、外部環境や運動 (鞭毛など) に関連した脂質の要求性が明らかとなる。また、ラベル化したリゾリン脂質を加え、ジアシル型の各リン脂質が生成されるか LC-MS/MS にて検出し、アシル転移酵素の存在と種類を推定する。
2. 全てのステージの TcCPT と TcDGAT 遺伝子発現量の変化を、qPCR 法を用いて解析し、1. のデータと比較する。
3. TcCPT、TcDGAT の KO 株を CRISPR/Cas9 の系を用いて作出する。現在、これらの遺伝子がエッセンシャルであるという報告はないが、致死性だった場合はコンディショナル KO (cKO) 株の作出を検討する。

7. 共同研究の成果

本共同研究課題において、生体調節研究所との共同研究が貢献した内容についても具体的に記載してください。

マラリア原虫の2つの必須遺伝子改変原虫 (PfLPLAT1 conditional KO 原虫、PfDGAT cKO 原虫) の走査電子顕微鏡観察を進めている。PfDGAT cKO 株では、cKO 後に Knob (感染赤血球上に出現する突起上構造体) の数が減少していたが、詳細な定量解析が必要である。また、PfDGAT cKO 株 ER ストレス指標である、リン酸化された eIF2 (p-eIF2) が上昇しており、PfDGAT cKO により ER ストレスが上昇すると言える。

トリパノソーマ原虫の解析について、全てのステージの TcCPT と TcDGAT 遺伝子発現量の変化を、qPCR 法を用いて解析する前に、上鞭毛期における両遺伝子発現量を RT-PCR 確認した。その結果、株間での発現量に差が認められた。そのため今後は qPCR 用のプライマーを設計したのちに、詳細な遺伝子発現量の比較解析を行う予定である。また、原虫感染細胞を用いたフラックスアナライザーの解析を進めるため、使用する特殊培地によるトリパノソーマと宿主細胞の培養系に対する影響を調べ、適切な条件を検証している。

8. 共同研究成果に関連する学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等をできる限り記載してください。なお、論文の場合は、PDFファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係: kk-msomu4@ml.gunma-u.ac.jp

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

該当なし

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

該当なし

③学会発表を行った主なもの3件以内(学会名, 開催日, 演題)

該当なし

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

対面やメールにて、実験手順や方向性、実験データの共有などのディスカッションを行った。また、機器の使用手法について、直接ご教示いただいた。