P193

Differential Localization on Merozoites of Processing Fragments of *Plasmodium falciparum* Serine Repeat Antigen (SERA) and Secondary Processing of the N-terminal 47 kDa Domain ○ LI Jie, MITAMURA Toshihide, and HORII Toshihiro (Dept. Mol. Protozool.,BIKEN, Osaka Univ.)

The serine repeat antigen (SERA) of *Plasmodium falciparum* is a blood stage candidate protein for a malaria vaccine. SERA is processed proteolytically into a N-terminal 47 kDa (P47), central 50 kDa (P50), and a C-terminal 18 kDa (P18) fragments at the time of merozoite release. We have examined the localization of SERA on naturally released merozoites by using mouse antibodies or antiserum directed against different domains of SERA. In Western blot with merozoite lysates, we found that P47 was further processed into two 25 kDa frsgments and that in association with P18, the two fragments derived from P47 are present on the merozoites but P50 is absent. These findings are compatible with the observation that antibodies against P47 but not that against P50 are inhibitory to the parasite growth in vitro. Kinetic analysis of SERA processing showed that all the processing events occurred inside the schizonts at or immediately prior to the schizont rupturing. Finally, we provided the evidence that the secondary processing of P47 is allelic-form dependent while the other processing events are conserved.

P194

細胞内寄生性サルモネラ菌によるマラリア原虫のワクチン候補抗原遺伝子の発現に関する研究 ○ 新川武¹、島袋勲¹、只野昌之²、當眞弘¹、岸本亜耶乃³、Roy Curtiss III⁴、堀井俊宏⁵、清野宏⁶、佐藤良也¹ (¹琉球大・医・寄生虫、²ウイリス、³農・育種、⁴ワシントン大・生物、⁵阪大微研・分子原虫、⁶免疫化学)

マラリア対策の一環としてのワクチン戦略は、ワクチン遺伝子の同定やその遺伝子多形から生ずる耐性マラリア原虫出現の問題、さらに免疫の持続性などに関する様々な問題を抱えており、未だ有効なワクチンが開発されていないのが現状である。特に、東南アジアやアフリカなどのマラリア流行地域は開発途上国が殆どであり、ワクチンの普及には低コストで易接種型であることが極めて重要な要素となる。

腸管や鼻腔などの粘膜組織へのワクチン接種は、その簡便さから魅力があるが、全身性の免疫応答を誘導できるかどうかなどの疑問が残る。しかし、我々は、コレラトキシンなどの粘膜免疫アジュバントを利用すれば、マラリアやウイルス由来のペプチドワクチンの経鼻投与でも、抗原特異的な血清 IgG の産生を効率よく誘導することを見出した。

シズント期のパラシトフォーラスバキュオールに蓄積される SERA タンパク質は、熱帯熱マラリア原虫のワクチン候補抗原として研究が進められており、我々は SE47' (SERA の N-末端 17-382aa) の人工遺伝子 (Tomohiko *et al.*, 1996) を用いて、サルモネラ菌での発現とその組換えタンパク質の分泌に関する研究を進めている。また、ミュータント・コレラトキシンやその B 鎖タンパク質がサルモネラ菌から効率よく分泌されることを確認したので、それらとマラリアワクチン候補抗原遺伝子を融合遺伝子として発現、分泌させることを試みている。今回、それらの結果について報告する。

P195

Dipstick 法によるラオスにおける最近のマラリア流行状況の調査 ○ 今田有美¹、小林 潤^{2,4}、當眞 弘²、新川 武²、知念 邦²、Fabian M. Mashauri²、Sakhon Laymanivong⁴、Bouakham Vannachone⁴、Samlane Phomepida⁴、當間孝子³、宮城 一郎³、佐藤良也² (¹琉球大・医・保健・生体機能、²同・寄生虫、³同・保健・環境保健、⁴ラオスマラリア・寄生虫学・衛生昆虫学研究センター)

ラオスは東南アジア地域で最も深刻なマラリア流行地の一つとして知られている。しかし、住民の間でのマラリア流行状況の実態は明らかではない。また、同国ではマラリアの困難な地域が多いため、一回の調査で陽性者の治療をも行うことができる迅速簡易免疫診断法 (Dipstick 法) による調査が試みられている。今回はラオス南部のカムムン県の 20 か村において、Dipstick 法で実施したマラリア調査の結果を報告する。調査は推定住民数の 62.9% に相当する合計 4,401 名の住民を対象に Dipstick 法のほか、ギムザ染色法、PCR 法で行い、各々の方法の検出効果も比較した。また、12 か村においては、乾季と雨季に 2 回調査を実施し、感染率の季節変動を検討した。その結果、すべての村において高率なマラリア感染が認められた。Dipstick 法での陽性率は 3.5-58.3%、雨季と乾季では乾季において陽性率がやや高い傾向にあったが大きな差ではなかった。一方、同じ血液検体をギムザ法で検査した場合の陽性率は 7.5-57.7% であった。そのうち、Giemsa(+)Dipstick(-) であって Dipstick false-negative と考えられる検体が全体の 2.6% に認められ、逆に Giemsa(-)Dipstick(+) を示す検体が 6.2% 見られた。後者については PCR 法による再検討を行ったところ、原虫が確認されなかった例はごく少数であった。以上の結果より、ラオス国では一般住民の間でのマラリア感染が深刻な状況にあり、その集団検査において Dipstick 法が迅速診断法として有用であると判断した。

P196W7-3

三日熱マラリア伝搬阻止ワクチンの流行地における効果判定 ○ 坪井敬文¹、Jetsumon Sattabongkot²、久枝 一³、橘 真由美¹、鳥居本美¹ (¹愛媛大・医・寄生虫、²Dept. of Entomol., AFRIMS, Thailand、³LPD, NIH, USA)

マラリア伝搬阻止ワクチンは、媒介蚊ステージの中でマラリア原虫の生活環を断つことを目的とするワクチンである。我々は三日熱マラリア伝搬阻止ワクチンの開発を目的として、三日熱マラリア実験室内株 (Sal1 株) からオーキネート表面蛋白 Pvs25 及び Pvs28 の遺伝子をクローニングした。次に Sal1 株由来の遺伝子から酵母を用いて発現させた組み換え蛋白 yPvs25 又は yPvs28 を、アルムアジュバントを用いてマウスに免疫し、その血清を Sal1 株感染チンパンジー血液と混合した後媒介蚊に吸血させ、伝搬阻止活性を検討した。その結果、yPvs25 及び yPvs28 いずれに対する抗血清も三日熱マラリア原虫の蚊への伝搬を完全に阻止した。今回は、この抗血清が流行地における三日熱マラリア原虫に対しても上記と同様の伝搬阻止活性を有するかどうかを、タイにおける三日熱マラリア患者由来の原虫を用いて検討した結果を報告する。ワクチン効果の指標として、吸血した蚊の中腸におけるオーシスト数を算定した。その結果、Sal1 株由来の yPvs25 及び yPvs28 に対するマウス抗血清は、タイにおける患者由来の三日熱マラリア原虫の伝搬も阻止することが明らかとなった。また、同様の方法で作成したウサギ抗血清も伝搬阻止効果を有することが判明した。