

研究題目 トキソプラズマ原虫のシストの形成ならびに維持に関する分子の同定

研究組織

研究代表者：山本 雅裕（大阪大学微生物病研究所）

共同研究者：小迫 英尊（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：笹井 美和（大阪大学微生物病研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

トキソプラズマ原虫は人類の約 30%が既に感染しており、正常な免疫機構が働いている場合は症状を示さない日和見感染を起こす病原体である。トキソプラズマ原虫はシストと呼ばれる特殊な膜構造体を形成し、免疫系を回避して筋肉内や脳内に長期間潜伏することが知られている。シスト形成の詳細なメカニズムは明らかではないが、飢餓や免疫応答といったストレスがトキソプラズマ原虫にかかることにより、トキソプラズマ原虫の遺伝子発現に変化が見られ、シストが誘導されていると考えられている。トキソプラズマ原虫に対する免疫応答で最も重要な役割を担っているのはインターフェロンガンマ(IFN γ)と呼ばれるサイトカインである。IFN γ の刺激を受けた細胞は 2000 種類近くの分子の発現を誘導するが、IFN 誘導性 GTPase と呼ばれる遺伝子群が主に抗トキソプラズマ応答に関与していることが近年の研究で明らかとなってきた。

トキソプラズマ原虫は感染した細胞の細胞質内に「寄生胞」と呼ばれる特殊な膜構造体を形成してその中で増殖することが知られているが、IFN 誘導性 GTPase 群はこの寄生胞膜を破壊するように作用することにより、原虫の増殖を阻止している。IFN 誘導性 GTPase 群は寄生胞膜を直接攻撃する GKS-IRG (IRGs や GBPs など)が該当)と間接的に膜破壊に関与する GMS-IRG (IRGM1/IRGM2/IRGM3) に大別され、GKS-IRG については当研究室を含む多くの研究室で研究が進められているが、GMS-IRG、中でも IRGM2 については未解明のままであったため、IRGM2 の機能について解析を行った。

[1-2]研究の方法・経過

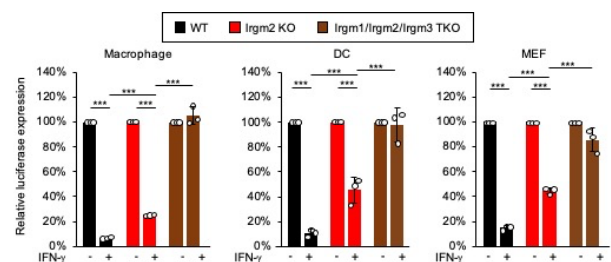
研究方法としては、IRGM2 欠損細胞ならび

に欠損マウスを作成し、トキソプラズマ原虫感染に対する生体防御機構への IRGM2 の役割について、分子生物学的・生化学的手法を用いて解析を行った。特に Spot タグを付加した IRGM2 分子を用いて、IFN γ 刺激下でトキソプラズマ原虫が感染した際の IRGM2 の翻訳後修飾について質量分析計を用いて解析を行った。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

IRGM2 の遺伝子改変マウスを作成し、骨髄由来マクロファージならびに樹状細胞、繊維芽細胞を作製し、IFN γ による抗トキソプラズマ原虫応答について検討した結果、IRGM2 欠損細胞は野生型細胞に比べて IFN γ による抗トキソプラズマ原虫応答は低下するが、全ての IRGM が欠損している IRGM1/IRGM2/IRGM3 三重欠損 (TKO) 細胞の方がより顕著に IFN γ による抗トキソプラズマ原虫応答が減少することが明らかとなった。



[図1] IRGM2 欠損細胞における IFN γ 依存的トキソプラズマ応答

次に IRGM2 がどのような作用機序で抗トキソプラズマ原虫応答に関与しているかについて検討した。IRGM2 を含む IFN 誘導性 GTPase 群はその C 末端領域に両親媒性ヘリックス構造を持っており、その構造が標的となる膜に結合するのに非常に重要な役割を担っていることが報告されている。そこで IRGM2 のこの領域にある C357 と C358 のそれぞれをアラニンに置換

