

2022 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	寄生虫（トキソプラズマ）感染による宿主ミトコンドリアへの影響 トキソプラズマ分泌タンパク質の作用機序に迫る
キーワード	① トキソプラズマ感染、② ミトコンドリア、③ 脂質結合試験

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	ニシゴリ ミツヒロ 錦織 充広
配付時の所属先・職位等 (令和4年4月1日現在)	福岡大学 理学部 助教
現在の所属先・職位等 (令和5年7月1日現在)	福岡大学 理学部 助教
プロフィール	2012年に九州大学大学院理学府において博士（理学）を取得後、国立循環器病研究センターの特任研究員として、心筋症や動脈瘤などの循環器疾患に関する研究に従事した。2020年より現職に着任し、細胞内のミトコンドリア機能に関する研究に取り組んでいる。

1. 研究の概要

トキソプラズマ (*Toxoplasma gondii*) は病原性微生物（寄生虫）の1種であり、日本人も約20%が感染していると言われている。トキソプラズマ感染による健常者への影響は比較的小さいが、免疫不全患者が感染した場合は致死性の脳症を引き起こし、また、妊婦が感染した場合には流産や新生児の水頭症などの重篤な疾患を引き起こす危険性がある。このようなトキソプラズマ感染症が重篤化した場合、その根治は現状困難であり、新規治療法や予防法の開発が急務である。一方で、トキソプラズマ感染症の発症や感染拡大メカニズムの全容はあまり分かっていない。したがって、新規治療法の開発のためにはトキソプラズマがどのように感染し、疾患を引き起こすのかを明らかにする必要がある。本研究では、トキソプラズマが感染時に細胞内で放出する病原性タンパク質に着目し、このタンパク質が生体に及ぼす影響について解析を行った。

2. 研究の動機、目的

トキソプラズマは哺乳動物等の宿主細胞内において、寄生胞と呼ばれる膜状の構造を形成し、感染・増殖することが知られている。また、トキソプラズマが感染した細胞内において、宿主ミトコンドリアの一部がトキソプラズマの寄生胞膜に集積することが明らかとなっている。申請者の研究グループにおける予備検討では、トキソプラズマから寄生胞膜に分泌される病原性タンパク質の1種が宿主ミトコンドリアに結合することを見出している。このトキソプラズマタンパク質と宿主ミトコンドリアの相互作用がトキソプラズマ感染時においてどのような影響をもたらすかは未知である。そこで、トキソプラズマタンパク質が宿主ミトコンドリアのどのような分子と相互作用するのかを明らかにすることで、トキソプラズマ感染メカニズムに関する新たな知見が得られると考えた。現状、トキソプラズマから放出されたタンパク質が宿主ミトコンドリアに作用し、その機能を攪乱することで感染を有利にしているのか、あるいは宿主ミトコンドリアがトキソプラズマタンパク質を認識することで感染に対して防衛的に機能するのかは分かっていない。本研究では、トキソプラズマタンパク質と相互作用す

る宿主ミトコンドリア側の分子を同定し、この相互作用による宿主ミトコンドリア機能への影響を解明することを目的とした。このため、ミトコンドリアに存在するタンパク質および脂質を主な標的として相互作用分子の同定を試みた。また、トキソプラズマタンパク質を欠損させた改変型トキソプラズマを用いた機能解析を行った。

3. 研究の結果

ミトコンドリア結合性トキソプラズマタンパク質の遺伝子導入細胞を用いた網羅的なタンパク質解析を行い、宿主ミトコンドリアの相互作用タンパク質を探索した。細胞分画および消化酵素耐性実験では、トキソプラズマタンパク質がミトコンドリア外膜に結合することが示唆された。そこでミトコンドリア外膜タンパク質に着目して相互作用タンパク質を探索した。免疫沈降による検証実験では、一部のミトコンドリア外膜-内膜貫通型タンパク質との相互作用が確認されたが、ミトコンドリア外膜タンパク質との相互作用は限定的であり、タンパク質間相互作用以外の結合要因の可能性が考えられた。

次に、脂質アレイを用いた結合実験によりトキソプラズマタンパク質と様々なリン脂質との相互作用を調べた。その結果、トキソプラズマタンパク質が特定のリン脂質と特異的に結合することが示された。この結合性はリン脂質の持つ脂肪鎖の長さや二重結合数の違いなどにより変化することも明らかとなった。さらに、ミトコンドリア外膜に存在する上記リン脂質の合成酵素がトキソプラズマタンパク質と相互作用する新事実が見出された。以上より、トキソプラズマタンパク質がミトコンドリア外膜のリン脂質を介して結合することが確認された。

一方、タンパク質改変型トキソプラズマを培養細胞に感染させ、トキソプラズマの感染率、増殖率、感染拡大率を検証した。少なくとも 200 個以上のトキソプラズマをカウントし、上記の値を算出したが、有意な差は見出されず、比較的期間での細胞感染では大きな影響は無いと考えられた。一方、プラークアッセイにより長期間での感染の影響を調べた結果、タンパク質改変型トキソプラズマでは増殖が抑制されていることが明らかとなった。また、リン脂質合成酵素の高発現細胞ではトキソプラズマの感染拡大率が変動した。以上の結果から、宿主ミトコンドリアが膜リン脂質を介してトキソプラズマへ影響を及ぼしている可能性が示唆された。

4. 研究者としてのこれからの展望

私は、現職に着任してからは、細胞内のミトコンドリアの機能、とりわけ寄生虫感染においてミトコンドリアが担う役割の解明を目指した研究をスタートしました。現在は、PI として研究室を主宰できる研究者を目指して、日々、研究に取り組んでいます。以前は循環器病疾患の原因究明や治療法開発を目指した研究に従事しており、研究分野が大きく変わりました。しかし、異分野での研究を行ってきた中で、循環器疾患の中にもミトコンドリアの機能が大きく関係しているものがあることに気づきました。例えばミトコンドリアで機能するタンパク質の先天的な遺伝子変異で循環器疾患を発症する可能性があります。一方で、こういった個々の遺伝子変異がタンパク質の機能にどのような変化を与えて、どのようなメカニズムでミトコンドリアの機能異常や疾患発症につながるのかといった詳細については、まだ未解明なところも多いと感じました。今後は、これまでの自身の知識や経験を活かして、循環器疾患におけるミトコンドリアの機能解析に関する研究にも挑戦していきたいと考えています。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

この度は、本研究課題に対してご支援いただき、誠にありがとうございました。今回の研究によって、寄生虫（トキソプラズマ）と細胞内のミトコンドリア間が特定の脂質を介して相互作用するという全く新しい知見を得ることができました。得られた結果は学術論文として現在、投稿しております。研究者にとって、研究成果を論文化することは社会貢献の機会を得るだけでなく、自身の業績として今後のステップアップのために非常に重要なポイントとなります。今回のご支援によって新たな研究成果を出すことができ、論文化につなげることが出来たことを大変ありがたく思っております。今後とも研究に邁進し、さらに多くの研究成果を世の中に発表できるように精進していきます。