

分野:生命科学・医学系

キーワード: トキソプラズマ、アピコンプレクサ、生体内 CRISPR スクリーニング法、感染症

寄生虫最大のグループ『アピコンプレクサ』に共通する弱点を発見 トキソプラズマ症やマラリアなど幅広い寄生虫に対する新規治療法開発に期待

【研究成果のポイント】

- ◆ 生体内 CRISPR スクリーニング法^{※1} を駆使し、トキソプラズマ原虫^{※2} の病原性因子を多数同定
- ◆ アピコンプレクサ^{※3} に属する寄生虫に広く共通した病原性に必須の遺伝子を発見
- ◆ トキソプラズマ症やマラリア^{※4} 等の病態解明、新規治療法開発に期待

❖ 概要

大阪大学大学院医学系研究科の大学院生の橘優汰さん(博士後期課程)、大阪大学微生物病研究所の山本雅裕教授(免疫学フロンティア研究センター、感染症総合教育研究拠点兼任)らの研究グループは、**生体内 CRISPR スクリーニング技術**を駆使して、**病原性寄生虫「トキソプラズマ原虫」の病原性発揮に必須の遺伝子を多数同定**しました。

トキソプラズマ原虫は寄生虫の一種で新生児や免疫不全患者に致死的な感染症を引き起こします。トキソプラズマ原虫のタンパク質は細胞内の特定の場所に存在することでその機能を発揮します。これまでに世界中で多くの研究が行われてきたにもかかわらず、トキソプラズマ原虫の遺伝子がコードする約 8000 個のタンパク質の多くは細胞内の局在および機能が依然として不明なままであり、病原性への関与も未知な状態でした。こういった局在や機能が未知の遺伝子群の存在はトキソプラズマ症の病態解明において大きな障壁となっていました。

今回、研究グループは、以前に同グループが樹立した生体内 CRISPR スクリーニング技術を駆使することで、細胞内局在が不明であった約 600 個のトキソプラズマ遺伝子をマウスの生体内で網羅的にスクリーニングし、トキソプラズマ原虫の病原性を発現するために必須の因子を多数同定することに成功しました。その中でも医学的に最も重要な寄生虫のグループである『アピコンプレクサ』に共通している RimM 遺伝子に着目し、それがトキソプラズマ原虫の生存に必須であることを証明しました(図 1)。**本研究成果によりアピコンプレクサが引き起こすトキソプラズマ症やマラリアの病態解明、ひいては新規治療薬やワクチン開発につながる**ことが期待されます。

本研究成果は、米国科学誌「mBio」に、7月31日(水)に公開されました。

❖ 研究の背景

寄生虫は宿主(ヒトや動物など)に寄生して、時に恐ろしい病気(感染症)を引き起こします。寄生虫の中

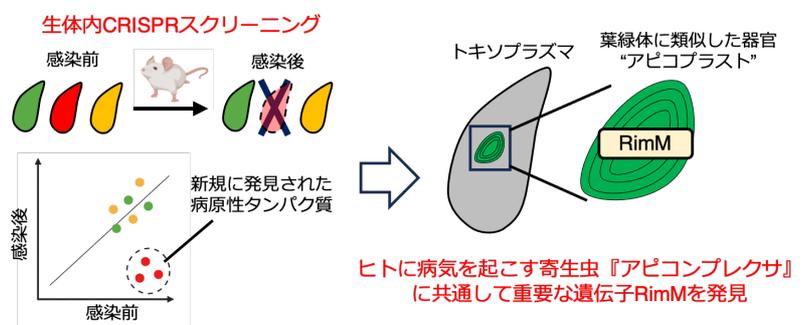


図 1 本研究の概念図

でも、アピコンプレクサと呼ばれるグループは世界中でヒトに病気を起こす医学的に最も重要な寄生虫です。このアピコンプレクサの中には、発展途上国で猛威を振るうマラリア原虫や、先進国においても新生児や免疫不全患者に致死性の疾患を起こすトキソプラズマ原虫が含まれています。その中でもトキソプラズマ症の原因となるトキソプラズマ原虫は全世界で人口の約3分の1が感染していると考えられていて、ネコの糞や汚染された食べ物などから感染します。トキソプラズマ原虫は 8000 個以上の遺伝子を持っていますが、その多くが機能不明であり、どの遺伝子がヒトに病気を起こすのに重要なのかはよくわかっていません。

近年、遺伝子进行操作する技術である CRISPR(クリスパー)/Cas9^{※5} ゲノム編集を応用することで、寄生虫が病気を引き起こすのに重要な遺伝子をまとめて見つけることを可能とする生体内 CRISPR スクリーニング法が開発されました。この革新的技術によって、寄生虫の病原性遺伝子の研究は飛躍的に進みました。山本教授らのグループを含め世界中の研究チームが激しい競争の中で CRISPR スクリーニング技術を活用した研究を行っており、トキソプラズマ原虫が病気を起こすのに重要な遺伝子をこれまでに多数発見してきました。

寄生虫が産生するタンパク質は細胞内の決まった場所(細胞内小器官^{※6})に位置することでその効果を発揮します。特にトキソプラズマ原虫に代表されるアピコンプレクサは宿主の細胞内に寄生することに特化して進化したため、我々ヒトの細胞には存在しない特殊な分泌器官(マイクロネーム、ロブトリー、デンスグラニュール^{※7})や植物の持つ葉緑体に類似した色素体(アピコプラスト^{※8})を有しています。そのため病原性タンパク質の特性を明らかにするためには、そのタンパク質が寄生虫の細胞内のどこに位置しているのかを知ることが大きな手がかりとなります。以前に行われた研究による大規模な解析によって約 2000 種類のタンパク質の細胞内での位置が高精度に予測されました。しかし、依然として大部分のタンパク質に関しては細胞内のどこに位置していて、何をしているのか、寄生虫が病気を引き起こすのに重要なのかはわかっていませんでした。

❖ 研究の内容

研究グループは、細胞内での位置が不明であった遺伝子約 600 個に対して生体内 CRISPR スクリーニングを行うことで、トキソプラズマ原虫が宿主の身体の中に適応して病気を起こすのに重要なタンパク質を多数見つけ出すことに成功しました。

さらに、その中でも寄生虫の中で最も医学的に重要なアピコンプレクサが共通して持っている遺伝子である TgGTPase と TgRimM という 2 つの遺伝子に注目して詳しい解析を行いました。その結果、特に TgRimM タンパク質はアピコプラストと呼ばれる葉緑体に類似した色素体に位置していることがわかりました(図 2)。このアピコプラストはかつて葉緑体であったと考えられており、現在は光合成を行う能力を喪失しているものの、今でも寄生虫の成長に必須の栄養素を作り出しています。遺伝子操作によって TgRimM を欠損したトキソプラズマは、成長に障害がありマウスに病気を起こすことができなくなっていました。TgRimM を詳しく調べるとジンクフィンガーと呼ばれる部位があり、このジンクフィンガーを欠損した TgRimM 変異体は正常に機能しなくなることがわかりました。大腸菌やシロイヌナズナの持つ RimM タンパク質は RNA と呼ばれる物質の調節に働くと報告されています。そのため、トキソプラズマのアピコプラストの中でも TgRimM が RNA を調節している可

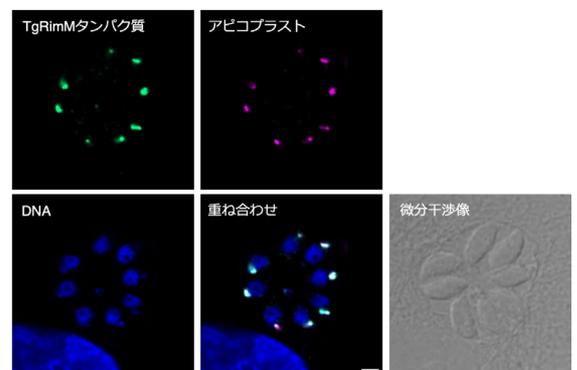


図 2

細胞内で増殖中のトキソプラズマ原虫を顕微鏡で観察した写真。TgRimM タンパク質(緑)はアピコプラスト(マゼンタ)に存在している。

Press Release

能性が示唆されました。また、同じくアピコンプレクサに属する寄生虫であるマラリア原虫にも RimM 遺伝子は存在し、マラリア原虫の成長にも重要であることが別の研究から示唆されています。以上のことから、RimM 遺伝子はトキソプラズマ原虫に限らずアピコンプレクサに属する寄生虫にとって普遍的に重要な遺伝子である可能性が示唆されました。

❖ 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

本研究成果により、トキソプラズマが宿主の生体内環境に適応して病気を起こすために重要な遺伝子が多数発見されました。またその中には TgRimM 遺伝子のように他の寄生虫にも共通して存在するものも含まれていました。今回見つかった病原性に必須の遺伝子はアピコンプレクサに共通する『弱点』であると予想されることから、今後のマラリアやトキソプラズマ症に対する新規治療法やワクチンの開発が大いに期待されます。

❖ 特記事項

本研究成果は、2024年7月31日(水)に米国科学誌「mBio」(オンライン)に掲載されました。
タイトル: “CRISPR screens identify genes essential for *in vivo* virulence among proteins of hyperLOPIT-unassigned subcellular localization in *Toxoplasma*”
著者名: Yuta Tachibana, Miwa Sasai and Masahiro Yamamoto
DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.01728-24>

なお、なお、本研究は、AMED 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業「日本のトキソプラズマとクリプトスポリジウムが起こすヒト孢子虫類原虫症の病態理解・感染実態把握・制御に向けた総合的研究開発」の一環として行われました。

❖ 用語説明

※1 生体内 CRISPR スクリーニング法

従来の CRISPR スクリーニング法を生体に応用することで、病原体が宿主の体内で生存するために必要な遺伝子を探索することができる実験科学と情報科学を組み合わせた最先端の解析手法。

参考: 生体内 CRISPR スクリーニング法を用いたトキソプラズマ原虫の病原性に関与する遺伝子を宿主生体内で網羅的に検索した研究成果

2023年6月6日プレスリリース

[データサイエンスで寄生虫の病原性因子を丸裸に！—多種多彩な新規トキソプラズマ症創薬戦略につながる研究成果—](#)

※2 トキソプラズマ原虫

ネコ科動物を終宿主とする寄生虫で、ヒトを含め全ての恒温動物に感染可能。初感染の妊婦の場合、胎児や新生児に重篤な先天性障害・奇形をもたらす原因となる。既感染の大人で免疫不全となると致死的な脳炎や肺炎、心筋炎を起こすこともある。また、最近の研究ではトキソプラズマが宿主に感染すると脳に潜伏感染し、感染宿主の性格や行動が変わるという報告もある。

※3 アピコンプレクサ

真核生物のうち動物でも植物でも菌類でもない原生生物と呼ばれる微生物の中で大きなグループを形成する寄生虫の一種。複雑な生活環を有する。共通してアピカルコンプレックスと呼ばれる構造物を細胞内の先端に有する。トキソプラズマやマラリア、バベシア、クリプトスポリジウムなどの原虫が含まれる。

※4 マラリア

アピコンプレクサの一種であるマラリア原虫によって引き起こされる感染症。蚊によって媒介され、世界中の熱帯・亜熱帯地域で流行している世界 3 大感染症の一つである。年間2億人以上が感染し、60 万人以上が死亡している。

※5 CRISPR(クリスパー)/Cas9

ゲノム DNA を切断し、遺伝子情報を自由に書き換えることができる技術。現在は臨床応用も進み遺伝疾患の治療にも役立てられている。元々は細菌や古細菌の生体防御システムであった。2020 年にノーベル化学賞を受賞。

※6 細胞内小器官

核やミトコンドリアといった真核生物の細胞内で特定の形態や機能を有する構造。オルガネラとも呼ぶ。

※7 マイクロネーム、ロプトリー、デンスグラニュール

アピコンプレクサに特徴的な分泌に特化した細胞内小器官。この中には様々な病原性タンパク質が格納されていて、それらが細胞外へと放出されて機能することで病原性を発揮する。

※8 アピコプラスト

多くのアピコンプレクサに存在する4重の膜に囲まれ独自の環状ゲノムを有する葉緑体に類似した細胞内小器官。現在は光合成能を喪失しており、寄生虫の代謝に関与している。かつてアピコンプレクサの祖先が藻類の仲間を取り込んだことによって生じたと考えられている。

【山本教授のコメント】

トキソプラズマ症やマラリアといったアピコンプレクサに属する寄生虫によって引き起こされる感染症は依然として人類の脅威となっています。トキソプラズマ原虫は実験がしやすいことからアピコンプレクサのモデルであると言われていています。今後もトキソプラズマの研究を通じて、アピコンプレクサ全体に繋がる成果を発信していきたいと考えています。

❖ 参考 URL

大阪大学微生物病研究所 感染病態分野(山本研)

URL <https://immpara.biken.osaka-u.ac.jp/>

山本雅裕教授 研究者総覧 URL <https://rd.iai.osaka-u.ac.jp/ja/0b3a8cfc76bb6001.html>