

寄生虫感染により産生誘導される一酸化窒素が 宿主免疫を弱める

キーワード： 寄生虫学、トキソプラズマ、一酸化窒素、GRA15、免疫抑制

【研究成果のポイント】

- ◆ マウスの研究では機能解明されていなかったトキソプラズマ病原性因子 **GRA15(※1)**が、ヒトでは免疫応答を抑制するという新規の病原性機構を発見
- ◆ GRA15 が宿主細胞に作用して一酸化窒素(※2)の産生を誘導し、免疫反応を抑制することを明らかにした
- ◆ 一酸化窒素合成阻害剤が「ヒト」のトキソプラズマ症の新しい治療薬となることが期待される

❖ 概要

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兼任)らの研究グループは、トキソプラズマの病原性因子 GRA15 によって、宿主免疫系が強制的に活性化され産生させられる一酸化窒素(NO)が、ヒトの抗トキソプラズマ免疫を抑制することを世界で初めて明らかにしました。

これまでマウスの研究では、病原性因子 GRA15 は宿主免疫系を活性化することは知られていましたが、トキソプラズマによって本来不利であるはずの宿主免疫活性化がなぜ起こるのか、その理由は不明でした。

今回、山本教授らの研究グループが発見したのは、

- ① ヒト肝臓細胞では、GRA15 依存的にマクロファージから放出されたインターロイキン1(IL-1 ※3)により、NO 産生が誘導されること
- ② トキソプラズマの GRA15 により誘導された NO が、ヒトの抗トキソプラズマ免疫反応に重要な IDO1(※4)を減少させることによって、ヒトの免疫反応を抑制すること

以上より、一酸化窒素の産生阻害が「ヒト」のトキソプラズマ症の新規の治療戦略となることが期待されます。

❖ 研究の背景

トキソプラズマはヒトを含む全ての恒温動物に感染する人畜共通の寄生虫です。世界人口の 3 分の1が感染していると言われますが、免疫系が正常である場合は特に問題はありません。しかし、トキソプラズマは、エイズにかかる、臓器移植を受ける、あるいは、妊娠するなど免疫不全状態になると、場合によっては致死的な脳炎や肺炎、肝炎などを引き起こす病原体で、現在、トキソプラズマ症は我が国で医学的に最も大きな問題となっている寄生虫疾患のひとつであると言っても過言ではありません。

トキソプラズマは細胞に感染してのみ増殖ができる寄生虫です。これまでに宿主の細胞に感染した際に様々な分子を放出することが知られており、日欧米中の中でその寄生虫学の研究競争が激化しています。その中の一つである GRA15 も宿主細胞内に放出され、宿主免疫系を活性化することが知られていました。しかし、マウスを使った寄生虫免疫学による研究の結果、GRA15 を欠損したトキソプラズマの方が野生型原虫よりも病原性が増す(つまり、GRA15 が無い方がトキソプラズマには有利である)ことが報告され、トキソプラズマが GRA15 を持つ寄生虫学上の

意義は長い間不明でした。

山本教授らの研究グループでは、インターフェロン(※5)依存的な抗トキソプラズマ免疫応答がヒトとマウスで大きく異なる点に着目し、研究を進めました。その結果、**GRA15 はマウスではなく、ヒトの抗トキソプラズマ免疫応答を抑制するという新規の病原性機構を発見**しました。

まず、ヒトのマクロファージや肝臓細胞の単独培養系にトキソプラズマを感染させても、GRA15 の有無にかかわらずトキソプラズマはインターフェロン刺激によって増殖が抑制され、野生型と GRA15 欠損トキソプラズマの間に違いを見つけることはできませんでした(図1A)。トキソプラズマが感染した宿主体内では、トキソプラズマに感染したマクロファージが様々な臓器を巡ります。このことから、トキソプラズマ感染マクロファージを肝臓細胞と一緒に培養する系(共培養系)で試験してみました。その結果、野生型のトキソプラズマに比べて GRA15 を欠損したトキソプラズマは、インターフェロン存在下で増殖できないことがわかりました(図 1B)。

その理由を詳細に解析した結果、まず感染マクロファージはトキソプラズマの GRA15 依存的にインターロイキン(IL-1)と呼ばれるサイトカインを産生し、放出することがわかりました(図2A)。そこで IL-1 を肝臓細胞に作用させたところ、インターフェロンと相乗的に肝臓細胞に作用して誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)の発現が上昇し、一酸化窒素(NO)の合成が誘導されていました。さらにこの NO が、ヒトにおいて抗トキソプラズマ免疫応答に必須の役割をしている IDO1 のタンパク質量が著しく減少させ、免疫応答を抑制していることがわかりました。

これらの結果により、トキソプラズマが GRA15 依存的にインターフェロン誘導性の抗トキソプラズマ免疫反応を抑制していることが明らかになりました(図2B、C)。これは、元来マウスの寄生虫免疫学で重要な抗トキソプラズマ宿主因子と考えられていた NO が、ヒトでは逆に抗トキソプラズマ免疫反応を抑制していたという点でとても意外でした。さらに、iNOS の阻害剤を加えることによって、GRA15 を有する野生型トキソプラズマの増殖をマクロファージ・肝臓細胞の共培養系でも抑制できることを確認しました(図2D)。

以上の結果から、ヒトの抗トキソプラズマ免疫反応の抑制における一酸化窒素の重要な役割が明らかとなりました(図3)。

❖ 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、**トキソプラズマ感染時に起きる NO の産生を阻害すれば、トキソプラズマによる抗トキソプラズマ免疫抑制を回避できることを示唆しており、「ヒト」トキソプラズマ症の新規の治療戦略を提供できるものと期待**されます。

❖ 用語説明

※1 GRA15 (グラ 15)

トキソプラズマのデンスグラニュール(濃縮顆粒)から宿主細胞に放出されるタンパク質の一つ。2011 年に宿主免疫系を強く活性化することが米国・マサチューセッツ工科大の研究グループにより報告されましたが、マウスを使った実験系では GRA15 欠損トキソプラズマはむしろ病原性が増してしまい、GRA15 がトキソプラズマに何のために存在しているのか意義を示せませんでした。その後も欧米グループから GRA15 に関する論文が複数出ましたが、全て宿主免疫系の活性化について述べるにとどまり、GRA15 のトキソプラズマにとっての利点(存在意義)はいよいよ不明なままでした。

※2 一酸化窒素 (Nitric Oxide = NO)

インターフェロン刺激によって、誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)が誘導される結果、一酸化窒素が合成されます。マウスではインターフェロン刺激によってマクロファージを含め、様々な細胞から一酸化窒素が高濃度に産生され、慢性期のトキソプラズマ症の発症抑制に重要です。一方、ヒトにおいてはインターフェロン刺激によって一酸化窒素が産生される細胞は限られており、その濃度もマウス細胞に比べて10倍程度低くなります。またヒトのマクロファージからは一酸化窒素はほとんど産生されません。※4のIDO1と同様に、インターフェロンによる一酸化窒素の産生もヒトとマウスでは大きく異なっています。

※3 インターロイキン1 (IL-1)

炎症性サイトカインの一つ。GRA15がマクロファージ内で細胞内シグナル伝達経路を活性化した結果、マクロファージから放出されます。

※4 IDO1

インターフェロンによって発現が誘導されるトリプトファン分解酵素。トリプトファンはトキソプラズマが細胞内で増殖するのに必須のアミノ酸ですが、インターフェロン刺激によって誘導されたIDO1により急速に分解されるため、トリプトファンが欠乏しトキソプラズマの増殖が阻害されます。これはヒト細胞では観測されますが、マウスの細胞では観測できないことから、このIDO1に依存した抗トキソプラズマ応答が、ヒトとマウスで異なっていることを、最近私達は報告しました (Bando et al. *Frontiers in Immunology*, 2018年)。

※5 インターフェロン

サイトカインの一つ。本研究でのインターフェロンはインターフェロンガンマのことです。インターフェロンガンマはヒトとマウスの両方で、抗トキソプラズマ免疫応答に必須の役割を果たします。

❖ 特記事項

本研究成果は、2018年10月9日(火)午後7時(日本時間)に米国科学誌「mBio」(オンライン)に掲載。

- ✓ **Journal:** *mBio* (October 9, 2018 online)
- ✓ **Authors:** Hironori Bando, Youngae Lee, Naoya Sakaguchi, Ariel Pradipta, Ji Su Ma, Shun Tanaka, Yihong Cai, Jianfa Liu, Jilong Shen, Yoshifumi Nishikawa, Miwa Sasai, and Masahiro Yamamoto.
- ✓ **Title:** “iNOS is a key host factor for Toxoplasma GRA15-dependent disruption of the IFN- γ -induced anti-parasitic human response”

本研究は、日本医療研究開発機構(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「トキソプラズマ症の総合的対策に向けた開発研究」の一環として行われ、帯広畜産大学 原虫病研究センター 西川義文 教授の協力を得て行われました。また、感染症研究革新イニシアティブ(J-PRIDE)「新規治療戦略基盤創出に資する病原性原虫のPCV破壊・形成・維持に関与する宿主因子群の解明」の研究支援を受けて実施されました。

(図)

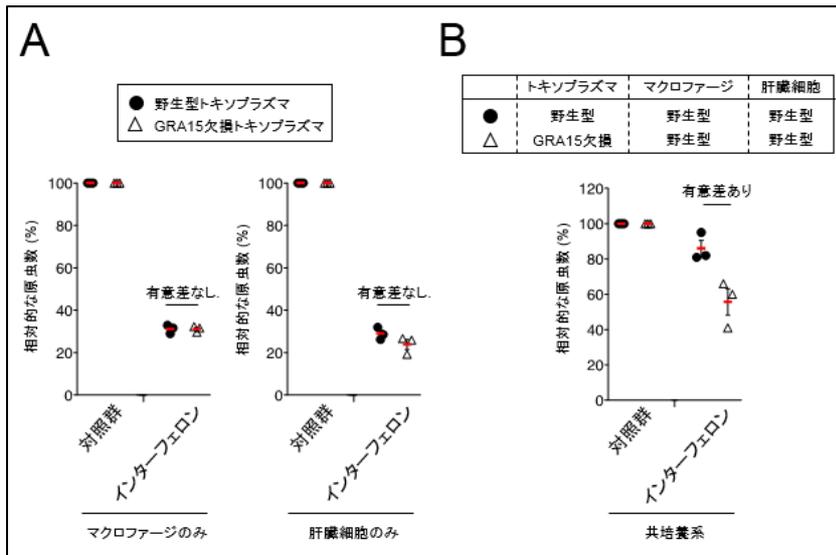


図1 GRA15 依存的な抗トキソプラズマ免疫応答抑制

(A) 未刺激またはインターフェロンで刺激したヒトのマクロファージまたはヒトの肝臓細胞に野生型または GRA15 欠損トキソプラズマを感染させた後に原虫数を比較した結果、どちらのトキソプラズマも数が同様に低下していた。

(B) 野生型または GRA15 欠損トキソプラズマを感染させたヒトマクロファージをヒト肝臓細胞と共培養し、インターフェロン刺激したところ、野生型トキソプラズマに比べて GRA15 欠損トキソプラズマ感染群は数が低下していた。このことから、ヒトマクロファージと肝臓細胞の共培養系で、GRA15 によるインターフェロン依存的な抗原虫応答の抑制が観測された。

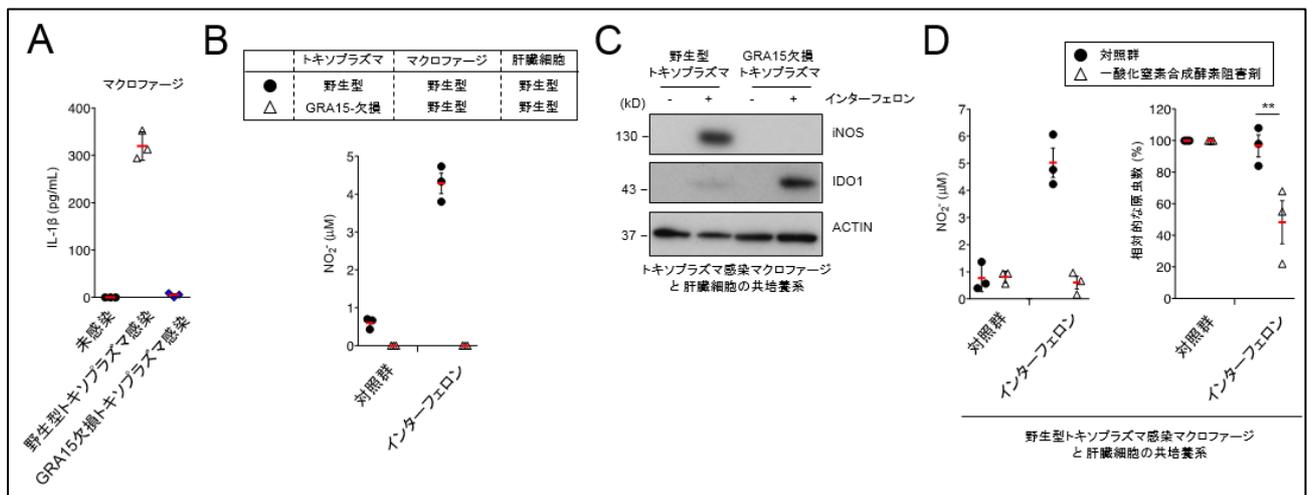


図2 GRA15 依存的な一酸化窒素の産生と一酸化窒素産生阻害による野生型トキソプラズマの増殖抑制

(A) 野生型トキソプラズマを感染させたマクロファージから IL-1 が産生される。一方、GRA15 欠損トキソプラズマ感染細胞から全く IL-1 が産生されない。

(B) 野生型または GRA15 欠損トキソプラズマを感染させたヒトマクロファージをヒト肝臓細胞と共培養し、インターフェロン刺激したところ、野生型トキソプラズマに比べて GRA15 欠損トキソプラズマ感染群は一酸化窒素が全く産生されていなかった。

(C) (B)の条件で、iNOS 及び IDO1 タンパク質を検出したところ、iNOS については野生型トキソプラズマ感染群では検出されたが、GRA15 欠損トキソプラズマ感染群では iNOS が全く検出されなかった。一方 IDO1 について、野生型トキソプラズマ感染群ではほとんど検出されず、GRA15 欠損トキソプラズマ感染群では IDO1 が多く発現していた。

(D) 一酸化窒素合成阻害剤(既に糖尿病合併症治療薬として広く使われている化合物)存在下で、野生型トキソプラズマ感染群であってもインターフェロン刺激後の数が大幅に減少した。

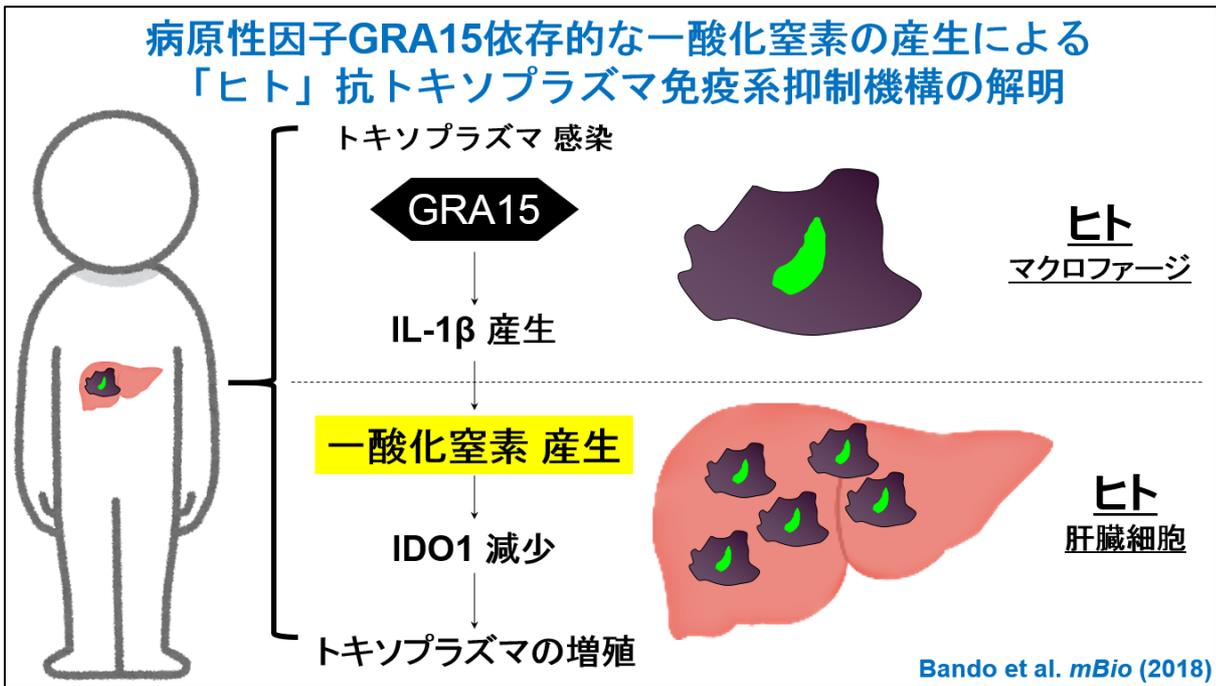


図 3 GRA15 によるインターフェロン誘導性「ヒト」抗トキソプラズマ免疫系抑制機構

トキソプラズマ感染によって、GRA15 依存的にヒトマクロファージから IL-1 が産生され、それが肝臓細胞にインターフェロンと共に作用すると一酸化窒素の産生が起きる。その結果、インターフェロン刺激により誘導されるはずのヒト抗トキソプラズマ免疫分子である IDO1 が減少し、トキソプラズマは増殖できる。