

病原菌が感染初期の生体防御機構を回避する仕組みを解明!

笹川 千尋

私たちの免疫系は病原性微生物による感染を防いでいるが、一部の細菌やウイルスは、この防御系を巧みにかわす戦術を用意している。東京大学医科学研究所細菌感染分野の笹川千尋教授らは、病原菌のリステリアが、オートファジーという感染初期に発動される生体防御機構を巧みに回避している仕組みを突き止めた。

Nature Digest — オートファジーとはどんな機構でしょうか？

笹川 — オートファジーは「自食」ともよばれ、不要なタンパク質や細胞小器官を分解する仕組みです。酵母からヒトにいたる真核生物のすべての細胞が、この仕組みをもっています。よく知られるのは、細胞内の異常なタンパク質を分解して蓄積を防ぐ、栄養環境が悪化した場合に自らのタンパク質を分解して再利用する、といった機能です。また、細胞質に侵入してくる細菌に対して、菌体を丸ごと取り囲み、リソソームと融合して消化・分解します。つまり細胞の恒常性の維持に重要な仕組みといえます。最近では、アルツハイマー病やハンチントン舞踏病などの変性性疾患、あるいはがんやオートファジー異常との関連がクローズアップされてきました。

オートファジーによるタンパク質の分解は、細胞質内に作られる二重膜構造体（オートファゴソーム）が加水分解酵素をもつリソソームと融合し、その内部に取り込まれることで行わ

れます。その仕組みは、東京工業大学の大隅良典教授（現在）が1990年代に酵母で解明し、日本ではオートファジーの先駆的研究が数多くなされています。

ND — 先生はそのオートファジーとどんなかたちで出会われたのでしょうか？

笹川 — 私は、胃や腸の粘膜に感染する病原菌について、感染のメカニズムとヒトなど宿主側の免疫や細胞応答についての研究を進めてきました。その一環として、病原菌が病原性を発揮するために宿主細胞に注入する一群のタンパク質の同定と機能解析を始めました。これらのタンパク質は「エフェクター」と総称され、宿主細胞の細胞骨格の再構成、細胞周期の調節、細胞接着の強化などに関わるものなどを明らかにしてきました^{1,2,3}。そして2005年に、ある特定のエフェクターを欠損した赤痢菌が、宿主の細胞質内で増殖できなくなる理由を探るうちに、そのエフェクターがオートファジーを回避するために機能していることを突き止めたのです⁴。これがオートファジーとの出会いとなり、今回の成果につながりました。

リステリアが細胞に侵入する仕組み

ND — 今回はリステリアという病原菌を使われていますが、どのような細菌でしょうか？

笹川 — グラム陽性菌の1つで、リステリア属として8種が知られています。その1つであるリステリア・モノサイトゲネス (*L. monocytogenes*) は、動物や環境中にも広く存在し、乳製品、食肉を介して、日常的にヒトの口に入っています。毒素を出すのではなく、炎症を引き起こすことで病原性を発揮します。人獣共通の病原菌ですが、病原性は低く、免疫系が正常ならば感染が成立する前にマクロファージで処理されるので問題になりません。ところが、免疫力が落ちている場合には、腸管粘膜の上皮細胞やマクロファージへ侵入した菌が、リンパ節から肝臓、脾臓、髄膜へと感染を拡大します。初期段階で適切な治療をしないと菌が全身にまわり、敗血症や髄膜炎などによるショックで死亡することも珍しくありません。

リステリアは宿主のさまざまな細胞へ侵入し、ActA というタンパク質を菌表面に発現させて、細胞質内で増殖します。このActAは、細胞質内に多く存在する別のタンパク質

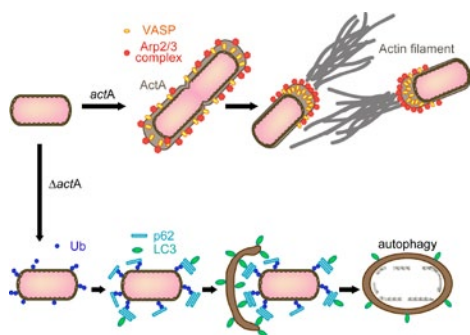


図1 野生型のリステリア（上）とActA遺伝子を欠損した変異型のリステリア（下）。野生型ではActAがArp2/3およびVASPと結合して作る複合体を菌体表面につける一方、菌体の一端に、凝縮したActA-Arp2/3-VASP複合体によるアクチン重合が誘導される。Arp2/3およびVASPの宿主タンパク質で覆われた野生型は、オートファジーによる認識を回避する。一方の変異型では複合体が作られず、オートファジーにより異物として認識され最終的に分解される。

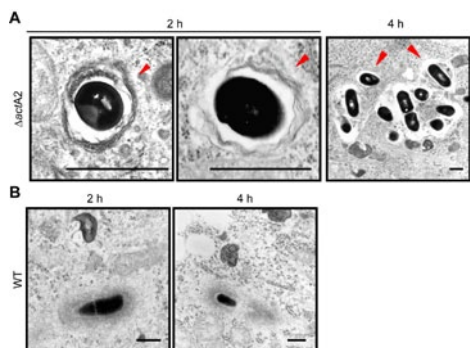


図2 ActA遺伝子を欠損した変異型のリステリア（A）と、野生型のリステリア（B）。これらの電子顕微鏡像からわかるように、変異型では細胞内へ侵入後2時間および4時間後は、いずれもオートファゴソームに特有な多重膜に菌が取り囲まれている。一方、同時期の分裂直後の野生型は、菌体周囲に重合化したアクチンが見える。



笹川千尋（ささかわ・ちひろ）／東京大学医科学研究所 感染・免疫部門 細菌感染分野教授、同感染症国際研究センター教授。専門は細菌学。1972年に千葉大学理学部を卒業。同大学薬学部大学院修士課程を経て、1974年に東京大学大学院基礎医学系博士課程へ入学、1978年に医学博士取得。東京大学医科学研究所細菌感染研究部助手。1980～1983年、ポスドクとしてワシントン大学医学部免疫・微生物部門（Tn5の発見者 Douglas Berg 博士）に留学。大腸菌のトランスポゾン Tn5 の転移分子機構の研究を進め、Tn5 の転移にかかわる大腸菌とトランスポゾンの機能を解明した。1983年

に東京大学医科学研究所へ戻り、赤痢菌、O157、腸管病原性大腸菌、炭疽菌等の病原性の研究を開始。O157 のゲノム解読プロジェクトに参加するとともに、細菌の病原性研究に細胞生物学、免疫学、感染病理学等を取り入れ、赤痢菌の腸粘膜感染における基本的な感染システム（細胞侵入、細胞内運動、生体防御回避等）を解明した。助教授を経て1995年より教授。1998年～2001年は大阪大学微生物病研究所教授を兼任。2000年からピロリ菌の研究も開始し、胃粘膜上皮へ分泌する CagA が、菌の胃粘膜持続感染、胃炎・胃がん誘導に重要な役割を果たしていることを示した。

(Arp2/3 および VASP) と結合し、複合体を作ります。その後、ActA は菌体の一端に集積し、ActA と複合体を形成した Arp2/3 がアクチンの重合を行います。この仕組みにより、菌は細胞質内を自由に移動できるようになります。移動する菌は、さらに突起を形成して隣の細胞へと拡散します (図 1)。

オートファジーを回避する秘密を解明

ND — 今回、どのような実験をされたのでしょうか？

笹川 — イヌの腎臓上皮細胞、ヒトの腸管上皮細胞、マウスのマクロファージなどの培養細胞に、野生型のリステリアと ActA 変異体のリステリアを感染させ、オートファジーの回避の有無、Arp2/3 や VASP との結合、菌の細胞内運動などについて調べました⁵。その結果、まず、ActA をもたない変異体は、細胞へ侵入開始 4 時間後にはオートファジーによって速やかに分解されることがわかりました (図 2)。

これまでは、ActA がないとアクチン重合が行われず、移動できないのでオートファジーに捕捉されてしまうと考えられてきました。つまり、菌の運動こそがオートファジー回避のカギと思われていたのですが、私たちはそうではないことを明らかにしました。ActA は菌表面全体でも Arp2/3 や VASP と結合し、この仕組みの方がオートファジー回避に重要だったのです。

実験では、ActA がいないために Arp2/3 と VASP に結合できない変異体は、異常なタンパク質が処理される場合と同様にユビキチンという標識タンパク質のタグが付けられ、それをオートファジーが認識してすみやかに分解・消化していました。ところが、遺伝子操作によって、ActA は作られるものの、Arp2/3 か VASP のいずれか片方のタンパク質しか結合できない変異体を作って調べたところ、このような変異体はオートファジーの認識システムを回避することがわかりました。こうした結果から、私たちは、リステリアが宿主のタンパク質で表面を覆い隠して巧みに変装し、あたかも宿主細胞の一部であるかのように擬態することで、オートファジーを回避していると結論づけました。

ND — 今回の成果から、細菌と宿主についてのどのようなことが言えるのでしょうか？

笹川 — まず、病原菌は私たち以上に、私たちの免疫システムをよく知っているといえるでしょう。長い進化を経て、さまざまな病原菌が生き残っているということは、宿主と病原菌との戦いにおいて、常に病原菌の力の方がわずかに勝っていたことを示唆しています。なかでもリステリアは非常に高度に進化した病原菌であるといえます。

応用への可能性について

ND — オートファジー回避の仕組みは、予防や治療に応用可能でしょうか？

笹川 — ActA のような「オートファジーの回避に関わるエフェクター」を作るための共通の仕組みを解明し、そこをターゲットにする方法が有望でしょう。アルツハイマー病やハンチントン舞踏病などの治療を考える際にも、ActA によるオートファジー回避の仕組みがヒントになる可能性があります。これらの変性疾患は、変性タンパク質が凝集体化することが一因となると考えられています。今回、私たちは、ハンチントン舞踏病などの原因になるポリ Q タンパク質と ActA との融合タンパク質を作る実験も行いましたが、このような融合タンパク質は、ActA により細胞内で凝集体が形成されませんでした⁵。

ND — 最後に、今後の目標についてお願いします。

笹川 — 日本では、抗生物質の普及に伴って細菌の研究が下火になりましたが、1996 年の O157 の大規模食中毒事件以来、再び注目されるようになってきました。現在、世界的に問題なのは、ピロリ菌と多剤耐性菌（黄色ブドウ球菌、結核菌など）だと思えます。いずれも免疫系を回避する高度な仕組みを備えています。これらも含め、病原菌の感染の戦略全体を理解し、それを創薬やワクチン開発に応用するのが私の願いです。

ND — ありがとうございます。 ■

聞き手は、西村尚子（サイエンスライター）

1. Handa Y. et al. *Nat Cell Biol.*, **9**, 121-128 (2007)
2. Iwai H. et al. *Cell*, **130**, 611-623 (2007)
3. Kim M. *Nature*, **459**, 578-582 (2009)
4. Ogawa M. et al. *Science*, **307**, 727-731 (2005)
5. Yoshikawa Y. et al. *Nat Cell Biol.*, **11**, 1223-1240 (2009)