

氏名	福本 隼平		
学位の種類	博 士 (理学)		
学位記番号	博 甲 第 9 4 4 5 号		
学位授与年月日	令和2年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Elucidating the Significance of Rhoptyry Proteins Associated with the Survival Strategy of <i>Toxoplasma gondii</i> in the Host (トキソプラズマの宿主生存戦略に関するロプトリータンパク質の意義の解明)		
主査	筑波大学教授	博士 (理学)	稲垣 祐司
副査	筑波大学教授 (連携大学院)	博士 (医学)	永宗 喜三郎
副査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学准教授 (連携大学院)	博士 (理学)	守屋 繁春

論 文 の 要 旨

細胞内寄生原虫であるトキソプラズマは人獣共通寄生虫感染症の一つである。トキソプラズマは、ヒトでは免疫不全患者や胎児に重篤な症状を引き起こし、家畜では流産の原因となる。トキソプラズマは感染の際、宿主細胞内で宿主の細胞機能を様々に変化させるが、それに関わる分子として原虫が侵入する宿主細胞内に分泌するロプトリータンパク質群 (ROPs) が知られている。ROPsはN末端にシグナルペプチドを、C末端にセリン・スレオニンキナーゼドメインを有している。このキナーゼドメインによって宿主タンパク質をリン酸化することで、宿主の細胞機能を様々に変化させる。本研究で著者は、ゲノム解析および各種細胞生物学的手法を用いてトキソプラズマ原虫がROPsによりどのように宿主細胞を改変するかを検証した。

まず著者は、沖縄で分離されたトキソプラズマ原虫株のゲノム解析を行った。トキソプラズマの表現型解析は、欧米に広く蔓延しているtype1、2、3を中心に行われて来た。マウスに対する毒性はtype1~3の間で顕著に異なっており、type1は強毒、type2は弱毒、type3は無毒である。これらの毒性の違いはロプトリータンパク質群 (ROPs) のうちROP5、ROP16、ROP18の多型によって説明できる。ところが沖縄からはこの分類に当てはまらないTgCatJpOk3およびTgCatJpOk4株が単離された。系統解析では、マウスに対する毒性が無毒であるTgCatJpOk3株、強毒であるTgCatJpOk4株は、type2原虫に近いことが示唆された。上記2株の全ゲノムシーケンスを行ったところ、TgCatJpOk4の強毒性はROP5、16によって説明がつくことが示唆された。従って、もともとtype2型のTgCatJpOk4の祖先が日本の宿主に適応していく過程で強毒性を獲得したと考えられる。一方TgCatJpOk4は系統的にはtype2に近いが、ROP5、16がそれぞれtype1、3型であり、この株の無毒性の原因は明らかにすることは出来なかった。

次に著者は、ROPsに注目してトキソプラズマの宿主ミトコンドリアリクルート因子を探索した。トキソプラズマの寄生胞の周りには宿主のミトコンドリアや小胞体といったオルガネラがリクルートされる。原虫がオルガネラをリクルートする理由として、原虫が自身の増殖に必要なエ

エネルギー源や代謝産物を宿主から搾取するためであるとする考えが支持されてきた。近年の先行研究では、宿主ミトコンドリアのリクルート因子としてmitochondrial association factor 1 (MAF1) が同定されたが、MAF1遺伝子ノックアウト株においても若干の宿主ミトコンドリアのリクルートが観察された。そこで著者はMAF1の他にもリクルート因子が存在していると考え、リクルート因子候補としてROPsに注目した。宿主ミトコンドリアのリクルートが起こる時期は原虫のROPs分泌時期と重なっている。また先行研究で、ROPsの注入が過剰に起こることでミトコンドリアのリクルートが亢進することが報告されていた。そこで著者はトキソプラズマを感染させた細胞のミトコンドリア上で存在量が増加したROPsの同定を行ったところ、ROP39の存在量が感染細胞のミトコンドリア上で増加していた。ROP39遺伝子をノックアウトした原虫(KO原虫)ではミトコンドリアの誘引率が親株と比較して有意に低下していること、ROP39遺伝子を再度導入したコンプリメント株の誘引率は親株と同程度に回復していることが認められた。さらに、KO原虫の表現型解析を行ったところ、KO原虫では親株と比較して増殖速度やマウスに対する毒性が有意に低下することが明らかとなった。著者は以上の結果を総合し、ROP39は宿主ミトコンドリアのリクルート因子であり、ミトコンドリアのリクルートを介して原虫の増殖速度とマウスに対する毒性に影響を与えている可能性を示唆した。

ROPsはトキソプラズマを含めたアピコンプレクサ原虫に特異的なタンパク質である。アピコンプレクサ原虫には、トキソプラズマの他にヒトの疾患に関わるマラリア原虫やサルコシステイス、家畜の病原体であるネオスポラ、アイメリアなどが含まれる。トキソプラズマのROPsを解析することで、これらアピコンプレクサ原虫の宿主への適応戦略の分子基盤の解明につながることを期待される。将来的には、本研究の成果がアピコンプレクサ病原性寄生原虫に対するより効果的な薬剤の開発につながることも期待される。

審 査 の 要 旨

本論文の著者は、沖縄から分離されたトキソプラズマ株のゲノムシーケンス解析を行い、同株のマウスに対する毒性がROP5、16の遺伝子多型で決定されていることを明らかにした。またトキソプラズマ原虫がROP39をもちいて宿主細胞内のミトコンドリアをリクルートする分子機構の一端を明らかにした。これらの新知見は、寄生性生物が宿主細胞をあやつる巧妙な分子機構を理解する上で重要な基礎生物学的成果である。また、著者がトキソプラズマ原虫から得た知見は、病原性原虫である近縁種に対抗するための薬剤開発の端緒となりうるものであり、応用生物学的にも重要である。

令和2年2月5日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士(理学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。