

初学者向け研究紹介

1. 原虫に特異的に存在する代謝経路の解明と創薬

原虫症に対する薬を作るためには、原虫にだけあって私たち哺乳動物にない代謝経路や酵素を発見し、その生化学的性状を明らかにすることにより、合理的に薬剤をデザインすることが重要です。私たちが注目しているいくつかの有望な創薬標的があります。

- ・ 原虫の小胞輸送経路。真核生物において、タンパク質が小胞体で合成された後、ゴルジ体、リソソームなどを介して輸送・修飾・貯蔵・分泌・或いは、分解されます。更に外界から栄養素などを取り込んで細胞の中で利用します。これらの輸送過程は脂質二重膜につつまれた小胞と呼ばれる細胞内小器官の相互作用により担われています。この小胞間の物質の輸送を制御する機構を小胞輸送或いはメンブレントラフィックと呼びます。私たちは寄生体の病原性（寄生虫がどうやって人に病気を起こすか）や寄生適応（どうやって人に病気を起こさせずに仲良く暮らすか）を小胞輸送の観点から調べ、原虫に特異的な生物現象・機構を解明し、それを創薬標的としようとしています。

- ・ 原虫の含硫（硫黄を含んだ）アミノ酸（メチオニン・ホモシステイン・システイン）の生合成・分解などの代謝経路。嫌氣的な（酸素に弱い）原虫である赤痢アメーバやトリコモナス原虫は哺乳動物と全く異なる代謝経路をもっています。特に無機硫黄とセリンとからシステインを合成するシステイン生合成経路と含硫アミノ酸の分解を触媒するメチオニンガンマリナーゼと呼ばれる酵素は原虫に特異的な代謝経路であり、我々が最も注目する創薬標的のひとつです。

- ・ 脂質修飾。発ガン遺伝子として発見された **Ras** と呼ばれるタンパク質があります。**Ras** は **GTP** と呼ばれるエネルギー貯蔵体を加水分解する酵素で、細胞の分化や増殖に重要な役割をしています。真核生物には **Ras** の他にも小胞輸送に関わる **Rab** や細胞骨格の形成に関わる **Rac/Rho**、核と細胞質の物質輸送に関与する **Ran** などの多くの遺伝子群を含めたタンパク質が存在します。これらのほとんどはそのカルボシキ末端部に脂質修飾を受けます。この脂質修飾はこれらのタンパク質の機能にとって不可欠なので、脂質修飾を阻害してやると細胞は増殖・分化出来なくなったり、異常な細胞形状を示すようになります。私たちは原虫の脂質修飾酵素の選択的な阻害剤を開発し、これを抗原虫薬として使おうと考えています。

- ・ ポリアミン代謝・補酵素 A 代謝などに関しても同様の研究を展開し、創薬標的としてのバリデーションを続けています。

- ・ 創薬研究としては、赤痢アメーバ症やマラリア等の原虫に対する薬剤を開発することを目的として、二つのアプローチで薬剤の探索を行っています。1つは自然界の多様な生物（カビ・放線菌など）の作る二次代謝産物を沢山スクリーニングして有用な抽出液を見つけ、有望化合

物を精製・同定する方法。2 つ目は、構造の分かっている化合物ライブラリーをスクリーニングする方法です。いずれの方法でも有望な化合物が次々に見つかりつつあります。

2. 赤痢アメーバの寄生・病原機構の解明

赤痢アメーバは大腸に寄生して赤痢を起こす原虫です。途上国を中心として世界中の人口の約 1% に感染して、年間 7 万人の死亡を起こしています。通常は大腸の管の中に寄生していて人に病気を起こさないことも多いのですが、時に組織侵入して病気を起こします。赤痢アメーバが大腸内にとどまり、大腸粘膜上皮細胞に接着し、これを破壊し、組織内に寄生したり、時に腸管外に播種して、肝臓・肺・脳などに寄生するには多くの細胞機構が必要です。私たちは一般に「病原体がどのように病気を起こすか？」という問題を単純に「病原機構」と表現しますが、病原機構は **multifactorial** (多因子により規定される) であり、複雑です。例えば、赤痢アメーバが人に病気を起こすには、腸管上皮細胞上の特定の分子の認識、病原因子である組織融解性物質の分泌、分解された哺乳動物組織を食食・分解など様々な細胞機能を持たなくてはなりません。そこでいくつかの項目に焦点を絞って研究を行っています。

- ・ 小胞輸送 (メンブレントラフィック)。赤痢アメーバは他の高等真核生物を凌駕する 90 を超える Rab 低分子量 GTP 結合タンパク質をもち、その膜輸送の複雑さは我々哺乳動物や植物を凌駕しています。私たちは多様な Rab のうち、**Rab5, Rab7, Rab11** などについて詳細な機能解析を行った結果、これらの Rab が赤痢アメーバの病原機構において重要な役割を演ずることを解明しました。

- ・ システインプロテアーゼ輸送。システインプロテアーゼは組織傷害において中心的な役割を果たすが、50 を超えるそれぞれのアイソエンザイムの役割は不明であると同時に、システインプロテアーゼの細胞内輸送の分子機構の大部分は未解明です。そこで私たちはシステインプロテアーゼ並びにその輸送を制御する Rab に結合するタンパク質を同定し、輸送分子機構を解明しようとしています。これらの解析により **Rab7** に結合するレトロマー複合体やシステインプロテアーゼ 5 に結合する受容体などを同定しました。今後これらの詳細な機能を解明していきます。

- ・ オートファジー。赤痢アメーバは他種生物 (例えば酵母・ヒト) に保存された遺伝子のうち、最低限の遺伝子のみをもっています。赤痢アメーバ並びに関連生物種においてオートファジーは分化 (嚢子化、**encystation**) に機能していることを示しました。今後、オートファジー、或は **Atg8** 経路の、分化・増殖・病原機構などにおける役割を解明する予定です。

- ・ "omics"アプローチ。赤痢アメーバの病原性を統合的に理解することを目的として、網羅的な解析を行っています。まず第一に、赤痢アメーバ並びに関連種 **E. invadens** の全遺伝子を

網羅した DNA マイクロアレイを作成し、病原性の異なる複数の赤痢アメーバ分離株で遺伝子発現プロファイルを比較し、病原性に強く関連する遺伝子群を網羅的に解明するとともに、病原性関連遺伝子のマスター遺伝子を決定しようとしています。また囊子化過程の遺伝子発現調節を詳細に解析しています。また、プロテオミクスによりファゴソーム・ミトコンドリアなどの細胞内小器官のタンパク質を網羅的に比較することによって、例えば、病原性の異なる株間での食食に関わるタンパク質の量的・質的相違を明らかにしています。これらの網羅的アプローチによりその端緒が明らかになった分子に関して、より詳細に機能解析を行います。

・食食・トロゴサイトーシス。赤痢アメーバは活発にヒトや細菌などの細胞を食食し、栄養にしたり、宿主の免疫機構から逃れたりしています。近年、従来のファゴサイトーシス（丸ごと飲み込む）と分子機構の異なるトロゴサイトーシス（摘まみ食いする）という現象が赤痢アメーバの病原性において重要であることが分かってきました。その分子機構と生理的意義の研究を展開しています。

3. 原虫におけるオルガネラ、特にミトコンドリアの進化

赤痢アメーバは嫌気的環境に生育する寄生虫なのでミトコンドリアでの酸素を用いた ATP 合成はできません。赤痢アメーバのミトコンドリアは、他の真核生物のもつ多くの機能を欠損するとともに、高度に特殊化しています。我々は最近赤痢アメーバのミトコンドリアが硫酸の活性化を主な機能としていることを発見し、このミトコンドリア関連オルガネラをサルフォソーム "sulfosome" と命名しました。今後も寄生性原虫の不思議なミトコンドリアなどオルガネラの機能を解明していきます。

4. 赤痢アメーバの遺伝的多型の解析

通常、赤痢アメーバ症は、熱帯・亜熱帯を中心とする保健・衛生状態の悪い地域に高い感染率が見られます。しかしながら、我が国では先進国の中では例外的に高い感染が見られます。赤痢アメーバは感染症法で定められた届け出義務のある感染症ですが、一年で 600 以上の届け出があります。そのほとんどは海外渡航歴のない国内感染例です。我が国における赤痢アメーバ症の感染者のほとんどは、一般に想像されているように海外で感染して帰国した例ではなくて、国内で感染しているのです。そのほとんどは男性同性愛者間の感染と考えられています。赤痢アメーバは国内では性行為感染症 (STD) として考えられています。また、届け出上の数字に表れていない事実ですが、知的障害者の入所している施設とグループホームなどの日帰りの教育・介護施設の施設利用者・入所者が赤痢アメーバ症に濃厚に感染していることが知られてい

ます。男性同性愛者及び知的障害者の間で浸淫する赤痢アメーバ症を起こす原虫株の種類を調べて、感染経路を明らかにし、次の流行を防ぐのはとても重要で、そのために私たちは分子疫学と呼ばれる手法で、患者さんから分離された赤痢アメーバ株の種類を特定しています。これはいわば、様々な遺伝子マーカーを用いて赤痢アメーバの「指紋(fingerprint)」を採取する方法で、別名遺伝子タイピングともいいます。これにより私たちは日本国内に伝播している赤痢アメーバ株が極めて多様な遺伝的背景をもつ集団であることを明らかにしました。同時に数百キロ離れた県で、10年も歳月を経て同じ遺伝子型を示す赤痢アメーバ株が分離されたことがあります。このことは遺伝子タイピングが指紋解析法として優れた方法であることを示しています。現在解らないのは国内に流行している赤痢アメーバ株が一体いつどうやって国内に流入したかということです。赤痢アメーバは性行為感染症ですから、HIV（エイズ）などと一緒に東南アジアの HIV 浸淫地から侵入したと予想していましたが、分離株の遺伝子タイピングの結果はこれを全く指示しませんでした。現在、近隣のアジア諸国、中国・韓国からの流入を想定して検討を進めています。同時に特定の病型（無症候性、肝膿瘍、腸炎）と関連する遺伝子マーカーの検索を進めています。

検査・診断・臨床業務

寄生虫症は決してまれな感染症ではなく、臨床において時々遭遇する機会があります。これらの寄生虫感染症・原虫症は、国内で比較的頻繁に経験し、感染症法にも指定されている赤痢アメーバ症・ランブル鞭毛症・クリプトスポリジア症を始めとする消化管感染症、マラリア、イヌ回虫症などの幼虫移行症、グルメ食などで感染の増えている肺吸虫症・アニサキス症・エキノкокクス症から、国内での感染がほとんど見られない熱帯感染症やまれな寄生虫感染症に至るまで、様々な疾患が含まれます。本研究室では様々な病院・大学から臨床からの診断と治療に関する様々な相談に応じています。