

## 二国間交流事業 共同研究報告書

平成 23 年 3 月 31 日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 東京大学・医科学研究所

職・氏名 <sup>(ふりがな)</sup> 教授・<sup>ささかわ</sup> 笹川 <sup>ちひろ</sup> 千尋

1. 事業名 相手国 ( フランス ) との共同研究 振興会対応機関 ( CNRS )

2. 研究課題名 腸管感染モデルとしてショウジョウバエを利用した赤痢菌病原因子の解明

3. 全採用期間

平成 21 年 4 月 1 日 ~ 平成 23 年 3 月 31 日 ( 2 年 0 ヶ月 )

4. 研究経費総額

(1) 本事業により交付された研究経費総額 5,000 千円

初年度経費 2,500 千円、 2年度経費 2,500 千円、 3年度経費 0 千円

(2) 本事業による経費以外の国内研究経費総額 0 千円

5. 研究組織

(1) 日本側参加者

氏名 <small>(ふりがな)</small>	所属・職名	研究協力テーマ
さきかわ ちひろ 笹川 千尋 おがわ みわなが 小川 道永 あしだ ひろし 芦田 浩	東京大学・教授 東京大学・助教 東京大学・助教	腸管感染モデルとしてショウジョウバエを利用した赤痢菌病原因子の解明

(2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名 Institute of Molecular and Cellular Biology・教授・Jean-Marc REICHHART

(3) 相手国参加者（代表者の氏名の前に○印を付すこと）

氏名	所属・職名（国名）	研究協力テーマ
○Jean-Marc REICHHART	Institute of Molecular and Cellular Biology	腸管感染モデルとしてショウジョウバエを利用した赤痢菌病原因子の解明
Nicolas Matt	Institute of Molecular and Cellular Biology	
Magdalena Kawalec	Institute of Molecular and Cellular Biology	
Annie Meunier	Institute of Molecular and Cellular Biology	
Laure El Chamy	Institute of Molecular and Cellular Biology	
Stephanie Wendling	Institute of Molecular and Cellular Biology	

## 6. 研究概要（研究の目的・内容・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

**目的：**病原細菌が腸粘膜上皮へ感染し定着するためには、粘膜上皮の固有バリアと感染により誘導される自然免疫応答の二つのバリアを回避・克服しなければならない。しかし、病原菌が感染成立の鍵を握る二つの重要なバリアを克服する戦術は未だに不明な点が多い。我々はこれまで赤痢菌をモデルにして、病原菌の粘膜バリアの克服戦術を主に培養細胞を中心に解析を行い、病原細菌の新たな感染戦術の一端を解明してきた。その結果、赤痢菌ではIII型分泌装置(T3SS)を通じてエフェクターと呼ばれる一群の(60数個)病原因子を感染の各過程で宿主細胞へ分泌すること、また宿主細胞へ分泌されたエフェクターは感染に必要な細胞高次機能を収奪するとともに、粘膜上皮の上述の二つのバリアの回避・克服に関わるエフェクターを多数分泌していることを示唆してきた。しかしながら赤痢菌は、ヒトと霊長類にのみ自然感染しマウスの腸管へは感染・定着しないために、菌のエフェクターの研究は、菌を主に培養細胞、ウサギ、モルモット腸管に感染させる系に限定され、菌のエフェクターの個々の機能と感染に及ぼす影響を個体レベルで精査することは困難であった。このような背景で、本共同研究では、ショウジョウバエの自然免疫の研究では現在世界の第一人者である、Strasbourg 大学（フランス）の CNRS の分子細胞生物学研究所 (IBMC) の Jean-Marc Reichhart 教授グループと共同して、自然免疫学と個体および組織形態発生学の最適モデルの一つであるショウジョウバエの系を利用して、赤痢菌のオートファジーによる認識機構の解明、およびこれまでに培養細胞ではその機能の解明が困難であった赤痢菌のエフェクターによる粘膜固有および自然免疫によるバリアに対する作用を解明することを目的とした。またその知見を感染症の予防、治療への応用を目指すことを計画した。

**内容：**本研究では Reichhart 教授グループと共同研究を以下の三つの項目に関して行った。1) 赤痢菌のエフェクター (OspB, OspC1, OspC2, OspC3, OspD, OspJ, OspH) のトランスジェニックショウジョウバエの作製とその形質発現が組織および個体に及ぼす影響の解析、2) オートファジー新規因子 TECPR1 ホオモログ、CG32226-RA 遺伝子のノックアウトショウジョウバエの作製と菌感染に及ぼす影響の解析、3) 赤痢菌の経口感染ハエモデルの作製とその応用。

### 成果：

1) 赤痢菌のエフェクター (OspB, OspC1, OspC2, OspC3, OspD, OspJ, OspH) のトランスジェニックショウジョウバエの作製とその形質発現の解析：Reichhart グループでは、ショウジョウバエでの個体発生において OspC3 の発現により個眼発現系で個眼発生に異常が生ずることを認めた。一方、我々は、OspC3 は Caspase-4 を標的として細胞死を抑制することを見いだした。Reichhart グループは、OspH が Cdc42GAP を標的にして EGFR の発現抑制を行っていることを見いだした。一方、我々も Reichhart チームとの共同研究の開始以前に OspH が Cdc42GAP を標的にすることを見いだしており、今後さらに OspC と Cdc42 の相互作用による宿主細胞への影響を各々の系で精査する予定である。その他のエフェクターについては、現在解析中である。

2) 選択的オートファジーによる赤痢菌の認識機構の解明：我々は、オートファジーによる赤痢菌、サルモネラ、A 群レンサ球菌の細胞内認識に関わるあらたな分子として、Tecpr1 を同定し、Tecpr1 が選択的オートファジーの開始に重要な働きを担っていることを、哺乳動物、ヒト細胞で示した。一方、Reichhart グループでは、Tecpr1 のショウジョウバエホモログ遺伝子、CG32226-RA 遺伝子のノックアウトショウジョウバエを作製した。CG32226-RA 遺伝子ノックアウトショウジョウバエは野生型に比べ、黄色ブドウ球菌に対する感受性が亢進していることを見いだした。本研究期間に、Tecpr1 のオートファジーに対する新規な役割について詳細な解析結果が得られ、Reichhart との共著論文を Cell Host Microbe へ投稿し、現在 Revise を行い、論文を再投稿した。

3) 赤痢菌の経口感染ハエモデルの作製：ヒト腸管系病原菌は一般に 37C で感染が行われるが、ショウジョウバエは生育温度が 26C であり赤痢菌の腸管感染モデルは不可能であると考えられていた。Reichhart グループでは、ショウジョウバエの生育温度上限の 30C において、シュクロースを添加した培地で培養させた赤痢菌を経口感染させると最終的に死亡することを見いだした。Reichhart グループでは、GFP-標識化した赤痢菌のハエ個体内の動態を解析した結果、菌は中腸線より腎臓（マルピーギ管）へ到達していた。現在、腸上皮から腎臓への侵入経路および菌感染ハエの病理を精査している。