

受理年月日	受理番号

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

平成27年 5月28日

採択番号 26-共同-2			
研究部門	感染免疫研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	西川 義文
研究課題名	次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトームによるトキソプラズマ由来エフェクター分子の機能解析		
研究代表者	(ふりがな) 氏名	所属部局等・職名	
	すずき ゆたか 鈴木 穰	東京大学・新領域創成科学研究科・教授	
研究分担者			
研究期間	平成26年 4月 1日 ~ 平成27年 3月 31日		
目的・趣旨	<p>トキソプラズマは細胞内寄生性原虫であり、原虫由来の様々な分泌タンパク質により宿主細胞の機能を制御していることが知られている。しかしながら、トキソプラズマ特有の寄生戦略のメカニズムについては不明な点が多い。</p> <p>我々の共同研究により、トキソプラズマに感染させたマウスの脳組織および脳神経細胞のトランスクリプトーム解析を実施してきた。その結果、トキソプラズマの感染によって、マウス脳内では免疫に関与する遺伝子発現、特にケモカインの発現が増加し、神経系に関わる遺伝子発現が低下するという結果を得ている (Tanaka et al., Infect Immun. 2013)。しかしながら、トキソプラズマのどの分子が宿主細胞の遺伝子発現を制御するのかは不明である。共同研究担当教員 (西川義文) の研究グループでは、宿主制御に関与する原虫因子として、Dense Granule Protein 7 (GRA7) と cyclophilin 18 (Cyp18) を見出し (Ibrahim et al., Infect Immun. 2009; Terkawi et al., Clin Vaccine Immunol. 2013)、当該遺伝子の欠損原虫の作出に成功した。本共同研究では、これら遺伝子欠損原虫を免疫細胞や脳神経細胞へ感染させ、次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトームにより、宿主細胞制御メカニズムを明らかにすることを目的とする。</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究経過の概要</p>	<p>マウスにチオグリコレートを接種し、腹腔内細胞からマクロファージを分離した。次に、トキソプラズマの野生株、あるいは GRA7 欠損株、Cyp18 欠損株を感染させ、24 時間後、直ちに TRI Reagent で処理し、-80℃で保存した。ここまでの作業は原虫病研究センターで実施した。</p> <p>上記方法で調製したサンプルを東京大学鈴木研究室に送付し、RNA Sample Prep Kit を用いてシーケンスライブラリーを作成し、TruSeq SBS Kit v5-GA (36 cycle) で処理した後、Illumina Genome Analyzer IIx にてシーケンスを行った。得られたリードはマウスゲノムにマッピングし、ミスマッチを除外したリード数から遺伝子発現量を算出し、野生型トキソプラズマと GRA7 欠損株、Cyp18 欠損株を感染させた時のマクロファージにおける宿主遺伝子の発現の違いを比較した。</p>
<p>研究成果の概要</p>	<p>野生型トキソプラズマと GRA7 欠損株での比較では、有意な遺伝子発現変動はほとんど認められず、metalloproteinase 関連遺伝子のみ GRA7 欠損株で発現が増加した。一方、野生型トキソプラズマと Cyp18 欠損株での比較では、Cyp18 欠損により原虫の宿主細胞内殺滅作用に重要な一酸化窒素の産生およびインターフェロン誘導型タンパク質群に関与する遺伝子の発現が増加した。これらの結果を総合すると、トキソプラズマのエフェクター分子の一つである Cyp18 は、宿主細胞内での原虫を生存させるために、宿主側の防御反応を制御している可能性が示された。今回の結果は、トキソプラズマ由来のエフェクター分子による宿主細胞制御メカニズムの理解に大きく貢献することが期待される。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>【論文発表】 Nishimura M, Tanaka S, Ihara F, Muroi Y, Yamagishi J, Furuoka H, Suzuki Y, Nishikawa Y. Transcriptome and Histopathological Changes in Mouse Brain Infected with <i>Neospora caninum</i>. Sci Rep. 2015 Jan 21;5:7936. doi: 10.1038/srep07936.</p> <p>【学会発表】 猪原 史成、田中 沙智、山岸 潤也、鈴木 穰、西川 義文：トキソプラズマ感染神経細胞を用いた TLR2 依存的防御反応に関するトランスクリプトーム解析。第 84 回日本寄生虫学会大会、2015 年 3 月 22 日（口頭発表）、杏林大学三鷹キャンパス</p>