

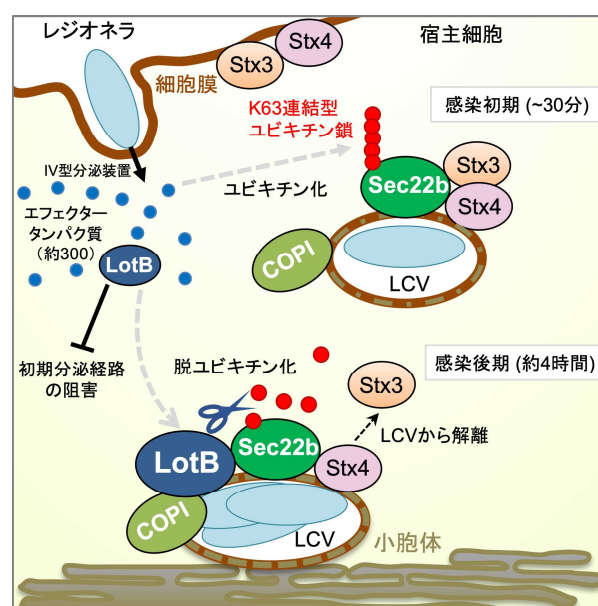
Press Release(R2/9/2)

病原細菌レジオネラが宿主小胞輸送を
操作する新しい仕組みを発見

ヒトを含め、真核生物の細胞は小胞輸送¹⁾というシステムを使って生体分子の運搬を行っています。重篤な肺炎を引き起こす病原細菌であるレジオネラは宿主真核細胞に侵入して小胞輸送システムを「ハイジャック」し、自身の増殖の「場」である特殊な液胞を構築します。岐阜大学大学院医学系研究科の北尾公英助教、久堀智子准教授、永井宏樹教授らのグループは、結核研究所・生体防御部の瀬戸真太郎免疫科長および東京薬科大学・生命科学部の新崎恒平准教授と共同で、レジオネラがユビキチン化²⁾・脱ユビキチン化³⁾という翻訳後修飾を介して宿主細胞の小胞輸送システムや膜融合を操作し、感染を確立しているという新しいメカニズムを発見しました。本研究成果は、米国の科学誌「Cell Reports」(電子版)に2020年9月8日(火)午前11時(日本時間9月9日(水)午前0時)付けで掲載される予定です。

【研究成果のポイント】

- 小胞輸送に必要な膜融合に関わる SNARE タンパク質⁴⁾ Sec22b がレジオネラ感染初期にユビキチン化されることを見つけた。
- これまで機能が未知であったレジオネラタンパク質 LotB が脱ユビキチン化酵素として働くことを示した。
- レジオネラ感染初期にユビキチン化された Sec22b は感染後期に LotB によって脱ユビキチン化されることを見出した。
- LotB による Sec22b の脱ユビキチン化により、感染初期にレジオネラ液胞上で結合した2種類の SNARE タンパク質 Sec22b と syntaxin 3(Stx3)が解離することを示した。



【研究成果の背景】

レジオネラは本来、淡水や土壌などの様々な環境中にいるグラム陰性細菌で、自然界ではアメーバを宿主としています。温泉施設や浴室、メンテナンスが行き届いていない加湿器などにも生息しており、エアロゾルを介してレジオネラがヒト体内に入ると肺胞の中に存在するマクロファージ内で増殖し、免疫が低下した患者や高齢者などで重篤な肺炎を引き起こします。

レジオネラは自身の分泌装置を用いて約 300 もの機能性タンパク質(エフェクタータンパク質)を感染細胞に輸送することによって、宿主小胞輸送経路を操作し感染を確立します。小胞輸送においては COPI 小胞⁵⁾などの輸送小胞や膜融合を触媒する SNARE タンパク質が重要な役割を担います。レジオネラが細胞に侵入する際、細胞膜上にある SNARE タンパク質 syntaxin はレジオネラファゴソーム⁶⁾上に取り込まれ、小胞体由来の SNARE タンパク質 Sec22b との間に通常の細胞内ではみられない特殊な結合を形成します。この結合により、ファゴソーム膜が小胞体由来の膜で部分的に置き換わり、レジオネラ増殖に必要な液胞 (Legionella-containing vacuole: LCV) の構築が始まるのが知られています。

しかしながら、この液胞がその後どのようなプロセスを経て小胞体を模倣したオルガネラ様構造体に変貌を遂げ、

成熟 LCV が形成されるのかについてのメカニズムは明らかになってはいません。このメカニズムの解明はレジオネラによる感染症の防御や治療のための科学的基盤を提供すると考えられます。

【研究の目的】

機能未知のレジオネラエフェクタータンパク質の機能解明を通して、レジオネラが感染細胞内で増殖できる特殊な液泡が構築される仕組みの一端を明らかにすることを目的として研究を行いました。

【研究の成果】

- 隠れマルコフモデルを用いてレジオネラの機能未知エフェクタータンパク質のモチーフ検索解析を試みた結果、脱ユビキチン化酵素の特徴を持つタンパク質 LotB を同定しました。LotB は脱ユビキチン化酵素をコードするドメインと、膜局在に必要とされる膜貫通ドメインの 2 つのドメインから構成されるタンパク質であることが分かりました。精製した LotB タンパク質を用いた生化学解析から、LotB は K63 連結型ユビキチン鎖⁷を特異的に切断する脱ユビキチン化酵素であることが明らかになりました。
- LotB が宿主細胞内でどのような相手と相互作用するかを解析したところ、宿主小胞輸送システムにおいて重要な役割を担う COPI 小胞と相互作用することが明らかとなりました。一過的に宿主細胞内で発現させた LotB は COPI 小胞が機能する場である初期分泌経路を阻害しました。その阻害には LotB の脱ユビキチン化活性と膜貫通ドメインの両方が必須であることが分かりました。
- 小胞体由来 SNARE タンパク質 Sec22b がレジオネラ感染初期にユビキチン化されることを発見しました。さらに、感染後期になると Sec22b は LotB によって脱ユビキチン化されることが分かりました。小胞輸送のキープレイヤーである Sec22b が細菌感染によってユビキチン化・脱ユビキチン化されるという現象を世界に先駆けて示すことができました。
- 感染後期に起こる LotB による Sec22b の脱ユビキチン化は感染初期に LCV 上に形成された Sec22b-Stx3 間の SNARE ペアリングの解除を引き起こすことが明らかになりました。LotB を介した Sec22b からの Stx3 の解離は感染後期に Sec22b が LCV 上で別の SNARE ペアリングを作ることにより LCV の構築プロセスを完了するのに必要である可能性があります。また、Stx3 を遊離させることで Stx3 が再び細胞膜で本来の SNARE ペアリングを形成し、正常な細胞状態を維持するためのプロセスに再利用される可能性が考えられます。

【今後の展開】

本研究により、レジオネラ感染依存的に宿主小胞輸送に関わる SNARE タンパク質 Sec22b がユビキチン化され、感染後期に LotB によって脱ユビキチン化されることが明らかになりました。しかしながら、Sec22b がユビキチン化されるメカニズムや何故感染初期に Sec22b がユビキチン化される必要があるのかについてはまだ明らかではありません。Sec22b はレジオネラ感染のみならず、ウイルス抗原や腫瘍抗原のクロスプレゼンテーションなどにおいても重要な役割を果たしています。今後、ユビキチン化された Sec22b の病原体感染における役割や、Sec22b のユビキチン化を担う責任因子が明らかになれば、病原体感染と宿主免疫の両方に重要な Sec22b の詳細な役割についてさらなる洞察が得られると考えられます。また、レジオネラが感染細胞で増殖できる詳細なメカニズムの解明は、レジオネラ感染による病態発症を防ぐ薬剤や技術の開発に結び付くことが期待されます。

【用語解説】

- 1) 小胞輸送: 真核細胞において、小胞体などのオルガネラから生体分子を取り込んだ直径 50~100 ナノメートルほどの小さな膜小胞が出芽し、それが別のオルガネラへと移動し膜融合することによって小胞の中身や膜成分が輸送されるシステム。
- 2) ユビキチン化: ユビキチン(76 個のアミノ酸からなる小さなタンパク質)で標的タンパク質が修飾される反応。
- 3) 脱ユビキチン化: ユビキチンと標的タンパク質間、あるいはユビキチン間の結合を切る反応。
- 4) SNARE タンパク質: 小胞が標的の膜と融合する過程を媒介するタンパク質。
- 5) COPI 小胞: ゴルジ体から小胞体への逆行輸送を担う小胞。
- 6) ファゴソーム: 食作用で細胞に取り込まれた細菌などの異物の周りに、細胞膜が融合して形成される小胞。

- 7) K63 連結型ユビキチン鎖: 標的タンパク質がユビキチン化される際にユビキチン同士が結合し数珠つなぎになったものをユビキチン鎖という。その中でユビキチンの 63 番目のリジン残基(K)を介したユビキチン鎖のことを K63 連結型ユビキチン鎖と呼ぶ。

【論文情報】

雑誌名: Cell Reports

タイトル: *Legionella* manipulates non-canonical SNARE pairing using a bacterial deubiquitinase.

著者: Tomoe Kitao, Kyoichiro Taguchi, Shintaro Seto, Kohei Arasaki, Hiroki Ando, Hiroki Nagai, Tomoko Kubori

DOI 番号: 10.1016/j.celrep.2020.108107

論文公開URL: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108107>

【研究支援】

本研究は、科学研究費助成事業(19H03469, 16H05189, 16K14724, 17J40044, 18K15145, 20K07477, 19H03470)、武田科学振興財団、および内藤記念科学振興財団からの支援を受けて行われました。

【本件に関する問い合わせ先】

＜研究に関すること＞

岐阜大学医学部 准教授 久堀智子

電話: 058-230-6488

E-mail: tkubori@gifu-u.ac.jp

＜報道担当＞

岐阜大学管理部総務課広報係

電話: 058-293-3377

E-mail: kohositu@gifu-u.ac.jp