

寄生虫タンデムリピート抗原に関する研究

後藤 康之 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

aygoto@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

寄生虫感染症において、抗原の同定はワクチンや診断技術の開発に重要な役割を果たす。抗原の効率的な探索法として、ゲノム情報を利用したバイオインフォマティクスに注目が集まっている。我々は、アミノ酸の繰返し配列 (タンデムリピート: TR) を持つことが B 細胞への抗原性に強く寄与することを見出し、病原体のゲノムより TR をコードする遺伝子を探索することによって効率的に抗原を同定できることを明らかにした。本手法はコンピュータ解析による網羅的な抗原同定において類を見ない成功例であり、現在様々な寄生虫疾患の診断法開発に力を発揮している。

はじめに

2010年に国内で発生した口蹄疫の際、ワクチン接種群が感染群と混同される恐れがあることが現在唯一存在する不活化ワクチンの問題として浮かび上がった。イヌに対して致死的な原虫性疾患である内臓型リーシュマニア症においても同様な問題が発生している。ブラジルでは、人獣共通感染症であるリーシュマニア症のヒトへの伝播を減らす目的で感染犬を淘汰する政策がとられていたが、同時期にブラジルで開発されていたワクチンは粗抗原を用いた不活化ワクチンであったため、ワクチン接種犬→血清診断陽性犬→淘汰という矛盾が起きてしまい、実際イヌへの使用を行うことが出来なかった。以上のことから、21世紀の感染症対策においてはより特異性の高いサブユニットワクチンや診断テストを開発することが重要であり、そのためには病原体から目的に適合する有用抗原を同定することが必要不可欠である。これまでの抗原探索には遺伝子発現ライブラリの抗体によるスクリーニングが最も一般的に行われてきたが、ライブラリ作製、スクリーニングや遺伝子同定の作業が煩雑であるという理由から多くの病原体について抗原探索が進んでいないのが現状である。

一方、1995年にインフルエンザ菌ゲノム配列が報告されたのを皮切りに、バクテリアから哺乳類に至るまで幅広い生物においてゲノム配列の解析が行われ、ゲノム情報が一般に利用できるようになった。ゲノム情報の有効利用は薬剤開発において特に進んでおり、病原体特異的酵素の探索、そしてそれら酵素の二次構造を基にした阻害的分子のデザインと、選択性の高い治療薬の開発に繋がるゲノム解析手法が開発・研究されている。しかしながら、ワクチンや診断技術開発への利用となると遅々として進んでいない。バイオインフォマティクスによりゲノム・プロテオームからワクチン抗原を同定する試み、すなわち reverse vaccinology という言葉が提唱されて15年が経過したが、今日でも総論文数が数百報に留まる。

タンデムリピート蛋白の抗原性

我々は、ゲノム情報から有用抗原を同定する手法として TR 蛋白に注目している。そのきっかけは、内臓型リーシュマニア症を引き起こす病原体である *Leishmania infantum* から一般的なライブラリスク

リーニングによって同定した抗原の多くが TR ドメインを有したことである (文献 1)。同定された抗原の 44% が TR ドメインを有していたのに対して、TR 蛋白は総プロテオームの 1% 程度でしかなかったことは、TR 蛋白の抗原性を示唆する結果であった (文献 1、2)。そこで、逆に病原体ゲノムから TR 蛋白をコードする遺伝子を探索することで抗原性の高い蛋白を効率よく同定できると考え、*L. infantum* においてその有用性を初めて実証した (図 1、文献 2)。本手法の有用性はリーシュマニア原虫にとどまらず、*Trypanosoma cruzi* (シャーガス病：文献 3)、*T. brucei* (眠り病：文献 5、7)、*T. congolense* (ナガナ病：文献 7)、*T. evansi* (スーラ病：文献 8、10、12、15)、*Schistosoma japonicum* (日本住血吸虫症：文献 6、9、13、16)、*S. mansoni* (マンソン住血吸虫症：文献 14) などの寄生虫においても新規抗原の同定で極めて良好な成績を得てきた。これらの発見は *in silico* 解析による網羅的な抗原同定において画期的なものである。

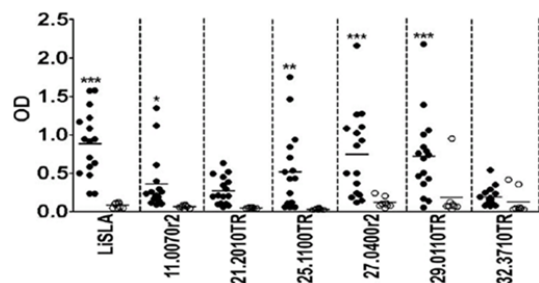


図 1. *L. infantum* 由来 TR 蛋白の抗原性

原虫粗抗原 (LISLA) ならびに *in silico* 解析により新規同定された TR 蛋白 6 種について、内臓型リーシュマニア症患者血清 (●) ならびに健常人血清 (○) との反応性を ELISA にて解析した。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ by unpaired t test.

文献 2 より一部改編。

タンデムリピート抗原の生物学的意義

その抗原性という共通点の一方で、TR 蛋白のレパートリーは生物種によって様々であり、それぞれの病原体において TR 蛋白の種類や発現パターンと感染における液性免疫の役割に相関がみられた (文献 3-5)。例えばリーシュマニア原虫の感染時は液性免疫が感染増悪に働くことが知られているが、リーシュマニア原虫には反復回数の多い TR 蛋白が他種に比べ非常に富んでいる。TR の反復回数は抗体との反応性に影響しており (文献 4)、実際リーシュマニア原虫感染において反復回数の多い TR 蛋白に対する抗体反応性は非常に高い。そこで、TR 蛋白の抗原性に寄与する因子として、TL-2 抗原への抗体応答に重要な役割を果たす BAFF について着目した。内臓型リーシュマニア症患者血清中の BAFF を測定したところ、健常人に比べて有意に高い値が得られた (文献 11)。これまで、自己免疫疾患など液性免疫の異常を伴う疾患における BAFF の上昇については報告があったものの、リーシュマニア症との関連については初めての報告である。

今後の展開

TR 蛋白の *in silico* スクリーニングによる抗原探索手法は、これまでのところ病原体の由来を問わず有用性を発揮している。解読されたゲノム情報が抗原同定に結びついていない病原体は数多く存在することから、本研究の成果がさまざまな感染症のコントロールに波及することが期待できる。

それと同時に、TR 蛋白の抗原性は寄生虫が宿主免疫適応を果たす上で重要な役割を果たしていることを示唆するデータが蓄積されてきている。我々は抗原として認識される蛋白質がどのような共通

点を持っており、その共通点の免疫学的な意義は何なのか、というステップを通して宿主-病原体の相互作用を理解するという新しい試みを行っている。TR 蛋白の抗原性から連想された宿主因子がリーシュマニア症に関連していたという発見は、疾患の理解において抗原の視点から見た新たな免疫学的アプローチの可能性を示すものである。

このように、TR 抗原に関する研究は、ポストゲノム時代における有用な抗原探索法としての役割とともに、宿主-病原体の相互作用を理解する足掛かりとしても重要な役割を果たしている。

謝辞

本賞を授賞するにあたり、東京大学大学院農学生命科学研究科・丹下健研究科長よりご推薦いただき感謝申し上げます。また、本研究の遂行にあたり共同研究に携わっていただいた Infectious Disease Research Institute、Universidade Federal da Bahia、帯広畜産大学ならびに長崎大学の皆様に感謝いたします。本研究は、日本学術振興会、科学技術振興機構、グローバルヘルス技術振興基金、武田科学振興財団、アメリカ国立衛生研究所、ゲイツ財団、世界保健機関の助成によりなされました。

引用文献

- 1) Goto Y, Coler RN, Guderian J, Mohamath R, Reed SG. *Infect Immun* 74:3939-3945 (2006).
- 2) Goto Y, Coler RN, Reed SG. *Infect Immun* 75:846-851 (2007).
- 3) Goto Y, Carter D, Reed SG. *Infect Immun* 76:3967-3974 (2008).
- 4) Goto Y, Carter D, Guderian J, Inoue N, Kawazu SI, Reed SG. *Infect Immun* 78:2138-2145 (2010).
- 5) Goto Y, Duthie MS, Kawazu SI, Inoue N, Carter D. *Biochem Biophys Res Commun* 405:434-438 (2011).
- 6) Angeles JM, Goto Y, Kirinoki M, Leonardo L, Tongol-Rivera P, Villacorte E, Inoue N, Chigusa Y, Kawazu SI. *Am J Trop Med Hyg* 85:674-679 (2011).
- 7) Goto Y, Duthie MS, Nguyen TT, Asada M, Kawazu SI, Carter D, Inoue N. *Parasitol Int* 60:538-540 (2011).
- 8) Thuy NT, Goto Y, Lun ZR, Kawazu SI, Inoue N. *Parasitol Res* 110:733-739 (2012).
- 9) Angeles JM, Goto Y, Kirinoki M, Asada M, Leonardo LR, Rivera PT, Villacorte EA, Inoue N, Chigusa Y, Kawazu S. *PLoS Negl Trop Dis* 6:e1800 (2012).
- 10) Nguyen TT, Zhou M, Ruttayaporn N, Nguyen QD, Nguyen VK, Goto Y, Suzuki Y, Kawazu SI, Inoue N. *Vet Parasitol* 201:18-23 (2014).
- 11) Goto Y, Omachi S, Sanjoba C, Matsumoto Y. *Am J Trop Med Hyg* 91:912-914 (2014).
- 12) Nguyen TT, Motsiri MS, Taioe MO, Mtshali MS, Goto Y, Kawazu SI, Thekiso OM, Inoue N. *J Vet Med Sci* 77:217-220 (2015).
- 13) Moendeg KJ, Angeles JM, Leonardo LR, Goto Y, Kirinoki M, Villacorte EA, Rivera PT, Inoue N, Chigusa Y, Kawazu SI. *Parasitol Res* 114:1225-1228 (2015).
- 14) Kalenda YD, Kato K, Goto Y, Fujii Y, Hamano S. *Parasitol Int* 64:503-512 (2015).
- 15) Nguyen TT, Ruttayaporn N, Goto Y, Kawazu SI, Sakurai T, Inoue N. *Parasitol Res* 114:4319-4325 (2015).
- 16) Angeles JM, Leonardo LR, Goto Y, Kirinoki M, Villacorte EA, Hakimi H, Moendeg KJ, Lee S, Rivera PT, Inoue N, Chigusa Y, Kawazu SI. *Bull World Health Organ* 93:511-512 (2015).