

細胞自律的免疫系による レジオネラ含有液胞の認識メカニズム



東京薬科大学大学院 生命科学研究所 生命科学専攻 博士後期2年 生出 紘夢

背景

細菌を含む様々な病原体に対し、我々宿主は様々な免疫系を備えている。病原体侵入に対して最初に機能するが自然免疫系である。この免疫系を司る自然免疫細胞は、フラグエリンやLPSといった病原体特有の分子パターンを主に宿主細胞膜表面上に存在するパターン認識受容体によって識別する。これが「自己」と「非自己」の境界となり、宿主から病原体を排除する様々な免疫応答を惹起する。一方、多くの病原体はこの系を逃れる為に宿主細胞内に侵入し、増殖ニッチを形成する。その結果、宿主は細胞内に侵入した病原体を自然・獲得免疫系では排除することが出来ない。しかしながら、宿主側には細胞内の病原

体を捕捉・殺傷する免疫系が備わっており、インターフェロン（IFN）によって活性化される細胞自律的免疫系がその一つとなる。一方、多くの細胞内病原体は宿主細胞膜など宿主由来膜から形成される液胞内に増殖ニッチを形成することから、細胞自律的免疫系における「自己」と「非自己」の境界はよく分かっていない（図1）。

レジオネラは1976年・米国ペンシルベニア州・フィラデルフィアで開催された米国在郷軍人会において、肺炎様の症状を引き起こす病原体として同定されたグラム陰性細胞内寄生細菌である。通常、レジオネラはアメーバなどの原生生物を自然宿主とし、河川や生活排水といった水性環境に普遍的に存在

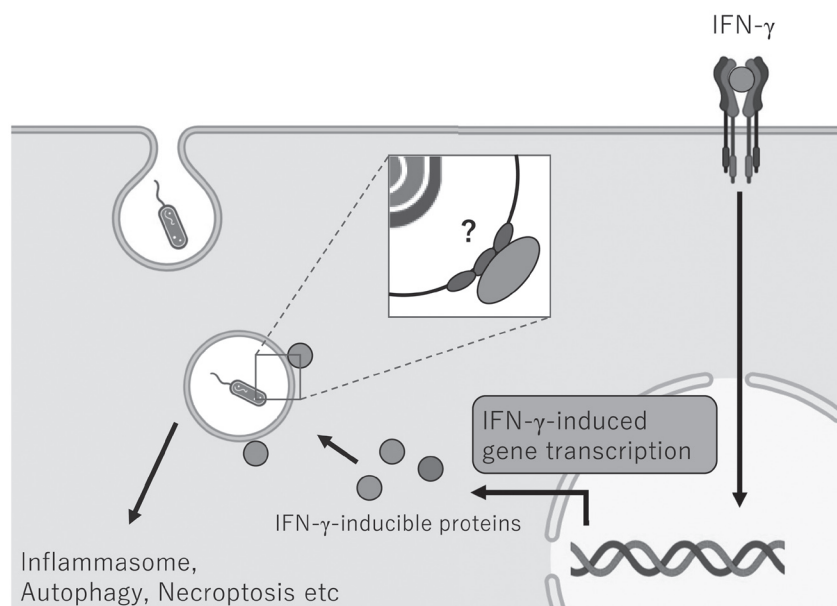


図1. 細胞自律的免疫系の概要



する。レジオネラのヒトへの感染はレジオネラに汚染されたエアロゾルを吸引し肺胞マクロファージに貪食されることによって成立する。その後、レジオネラは宿主細胞膜によって覆われた *Legionella*-containing vacuole (LCV) を形成し、LCV から様々な病原因子を宿主細胞内に放出し細胞機能を制御することで増殖ニッチを形成する。

細胞自律的免疫系では、IFN によって発現が誘導される GTPases (GBPs や IRGs) が感染制御に重要である。レジオネラ感染において、GBPs が LCV を標的化することで宿主細胞内のレジオネラ排除に貢献する。なお、病原因子を放出出来ない変異株を含む LCV 上には GBPs の集積が観察されない。つまり、GBPs による LCV の捕捉にはレジオネラの病原因子が引き起こす何らかの変化が必要となることを示している。また、レジオネラと同様に細胞内に増殖ニッチを形成する寄生虫であるトキソプラズマ (真核生物) 感染において、トキソプラズマを包む液胞上に、通常、低濃度にしか存在しない PI5P と呼ばれるリン脂質が豊富に存在し、これを IRGs の一種が「非自己」と認識していることが示唆されている⁽¹⁾。これらを考慮すると、1) 病原体の生活環に応じて出現する宿主由来の分子パターンが「非自己」シグナルとなるのか。2) トキソプラズマ感染で見られた免疫応答は原核生物である細菌やウイルスなど広範な病原体感染に対する普遍的な免疫応答であるのかという疑問点が挙げられる。

マウス GBP による LCV 膜認識機構

抗菌活性を有する 5 つのマウス GBP (mGBP) のうち、mGBP2 が最も活性が強いことが知られていたことから、まず我々は mGBP2 が LCV を捕捉する要因となる病原因子を探索した。その結果、300 を超える病原因子の中から Lpg2552 と呼ばれる病原因子を見出した。Lpg2552 は LCV 上で脂質の合成促進に働くことが報告されていた⁽²⁾。本研究における学術的問いは mGBP2 が何を認識し

ているのかである。ここでの可能性として、1) 病原因子である Lpg2552 (明確な非自己分子) を直接認識する、2) Lpg2552 によって変動する宿主由来分子を認識する可能性が挙げられる。そこで様々な解析を行なった結果、mGBP2 は Lpg2552 自身ではなく、宿主由来リン脂質であるホスファチジン酸 (PA) の認識を介して LCV を捕捉していることが明らかとなった。

次の疑問は「なぜ LCV 膜の宿主由来分子 PA を特異的に認識出来るのか」である。何故なら PA はミトコンドリアや細胞膜などに普遍的に存在する脂質だからである。一方で、PA は脂質全体に占める割合が 1-2% と低濃度に制御されている。そこで我々は mGBP2 には濃度依存的な PA 認識機構が存在するとの仮説を立てた。これを検証する為、生体膜を模したリポソームを用いてタンパク質-脂質結合解析を行なった。その結果、mGBP2 は PA 含有濃度が 5% まで低下するとリポソームと結合出来なくなった。すなわち、mGBP2 は生体膜に普遍的に存在する低濃度の PA を認識することではなく、Lpg2552 によって LCV 膜に高濃度に蓄積した PA のみを特異的に認識することによって、LCV を捕捉出来るということを示唆している。さらに我々は mGBP2 が負に帯電した PA を認識するアミノ酸残基として、正に帯電する 585 番目のリジン残基を同定した。このアミノ酸残基を変異させると、mGBP2 は LCV を捕捉出来なくなり、レジオネラの増殖を抑制出来なくなることを明らかにした。

ここまでの結果から、LCV 膜の「非自己化」及び mGBP2 による非自己化 LCV の認識機構が明らかとなった。さらに我々は mGBP2 が LCV を非自己と認識後、他のヘテロオリゴマーを形成する mGBP1 などを必要とせず、LCV 膜を破壊することを示した (図 2)。

ヒト GBP における LCV 膜認識機構

ヒト GBP (hGBP) においては、mGBP とは異なり GBP1 の活性が最も強いことが知ら

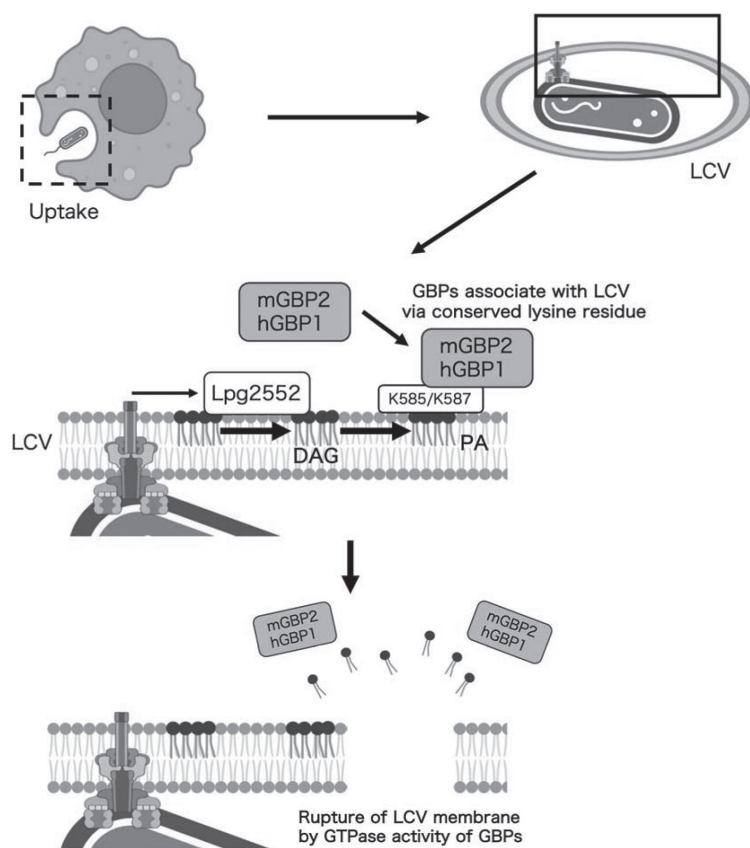


図2. mGBP2/hGBP1によるLCV膜標的化機構

れている。このことから、我々はヒトとマウス GBP 間における LCV 認識機構の違いまたは共通性を明らかにする為に解析を行なった。その結果、hGBP1 も mGBP2 と同様に Lpg2552 による LCV 上での PA 産生に依存して LCV を捕捉することが出来ることを見出した。すなわち、マウスとヒト GBP は「非自己化 LCV」を共通のメカニズムで捕捉していることが示唆された。では、なぜマウスとヒトで異なる GBP が働くのだろうか？この疑問を明らかにする為、PA 認識に重要であったリジン残基に注目すると、LCV 膜の PA 認識に重要な mGBP2 の 585 番目のリジン残基は 7 種類あるヒト GBP の中で hGBP1 にのみ保存されていることが判明した。そして、この保存されたリジン残基に変異を導入したヒト GBP1 は LCV を捕捉出来ないことを見出した(図2)。

最後に、IFN 存在下における Lpg2552 の影響を評価したところ、この病原因子を欠いたレジオネラは IFN 非存在下の際と同様に増殖することが明らかとなった。すなわち、GBP の補足から逃れることで IFN 存在下においても細胞内に増殖ニッチを形成することが示された。これらの結果は、最後に大きな疑問を抱かせる。なぜ、レジオネラは自身の生存に不利な病原因子を有しているのだろうか？レジオネラの自然宿主はアメーバであり、単細胞生物である彼らには IFN で惹起されるような免疫系は存在しない。その為、レジオネラがアメーバ内で増殖ニッチを形成する上では重要な因子であるにも関わらず、ヒトはこの変化を逆に「非自己化」シグナルとして捉えることでレジオネラを排除出来るという宿主-病原体相互作用の戦いであると示唆される。本研究ではこのせめぎ合いに焦点を当てることで細胞自律的免疫系における「自己」と「非自己」の境界の一端を明らかに出来たものであると考えている。

なお、本内容は 2025 年 8 月に PNAS に掲載された (Oide et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2025 122 (32): e2420096122.)。

おわりに

レジオネラによる LCV 膜での PA の産生・蓄積が「非自己化」シグナルとなり免疫系が捕捉するという事実は、免疫系が自己分子を量的側面から監視しており、感染非依存的に「自己」が「非自己」となることを示唆している。すなわち、脂質の異常な蓄積や GBP の異常な活性化が自己免疫疾患に関与することなどが考えられ、感染症だけでなく広範な免疫疾患の理解にも役立つと考えられる。

参考文献

- 1) *Life Sci. Alliance*. 2019 Dec 18; 3(1): e201900549.
- 2) *PLoS Pathog.* 2012; 8 (11): e1002988.