

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10018

研究課題名(和文)オートファジー誘導因子Atg1を標的としたカンジダ症の予防

研究課題名(英文)Application of autophagy-inducing factor Atg1 for candidiasis

研究代表者

島村 真太郎 (SHIMAMURA, Shintaro)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員研究員

研究者番号：30547138

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：Candida glabrataのATG1欠損株では基本的な増殖速度が低下していた。ATG1欠損株で spot assayを行ったところ、飢餓や過酸化水素への感受性が増した。また、ATG1欠損株では活性酸素の代謝効率が低下していることが示唆された。ex vivoの実験として、マクロファージとCandida glabrataを共培養したところ、ATG1欠損株ではマクロファージによる貪食への抵抗力が落ちていた。最終的に、マウスへの感染実験で、複数の感染経路・臓器でATG1欠損株の生菌数の低下が見られた。以上をまとめ、原著論文をFrontiers in Microbiologyに出版した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義としては、オートファジーはヒトや酵母でよく研究されているが、病原菌のオートファジーの研究は発展途上であり、Candida glabrataでAtg1の研究を行ったのは本研究が初であり、病原性とオートファジーの関係についての知見に貢献するものと考えられる。社会的意義については、オートファジーは患者の機能を高める観点でよく研究されているが、逆に、外敵側のオートファジー、特に常在菌を発症前に抑えることに本研究はつながら、臨床応用に役立つ成果と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Autophagy was induced by nitrogen starvation and H₂O₂ in *C. glabrata*. A mutant strain lacking CgAtg1, an autophagy-inducing factor, was generated and confirmed to be deficient for autophagy. The Cgatg1 strain was sensitive to nitrogen starvation and H₂O₂, died rapidly in water without any nutrients, and showed high intracellular ROS levels compared with the wild-type strain and the CgATG1-reconstituted strain in vitro. Upon infecting mouse peritoneal macrophages, the Cgatg1 strain showed higher mortality from phagocytosis by macrophages. Finally, in vivo experiments were performed using two mouse models of disseminated candidiasis and intra-abdominal candidiasis. The Cgatg1 strain showed significantly decreased CFUs in the organs of the two mouse models. These results suggest that autophagy contributes to *C. glabrata* virulence by conferring resistance to unstable nutrient environments and immune defense of hosts, and that Atg1 is a novel fitness factor in *Candida* species.

研究分野：感染症学

キーワード：カンジダ症 オートファジー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

カンジダ属は日和見感染において代表的な病原真菌の1つであり、健常者にも存在する常在菌であることから、カンジダ症発症後の治療に加えて、発症が予想される状況での予防も重要となる。細胞の自食機構であるオートファジーは飢餓状態や宿主免疫への抵抗に重要である。オートファジーはカンジダが常在菌として生存し続けるのに重要であると予想されるが、カンジダにおけるオートファジーの解析は少ない。

オートファジーは多くの真核生物に見られる細胞内のタンパク質分解反応による自食であり、飢餓状態への適応、ストレス応答、恒常性の維持に機能する。病原真菌も宿主の防御機構に抵抗するためにオートファジーが重要であると考えられるが、哺乳動物や *Saccharomyces cerevisiae* と比べると研究が進んでいない。

2. 研究の目的

今回、遺伝子学的に解析が容易な *Candida glabrata* を用いて、オートファジーと各種ストレス応答および病原性との関連を解析した。

代表者らが、臨床で高頻度で分離され実験モデルとしても優れている *Candida glabrata* を用いて、オートファジー誘導因子 ATG1 を欠損させたところ病原性が低下した。この結果を元に、Atg1 を標的としたカンジダ症予防薬の開発に繋げることが本研究の目的であり、これは感染症対策にオートファジーを用いる初の試みである。

3. 研究の方法

S. cerevisiae などで知られている代表的なオートファジー誘導因子である ATG1 を *C. glabrata* で欠損させ、*in vitro* で飢餓状態やストレス下での増殖能を評価した。また、播種性カンジダ症マウスモデルにおける臓器内生菌数を測定し、病原性への影響を評価した。

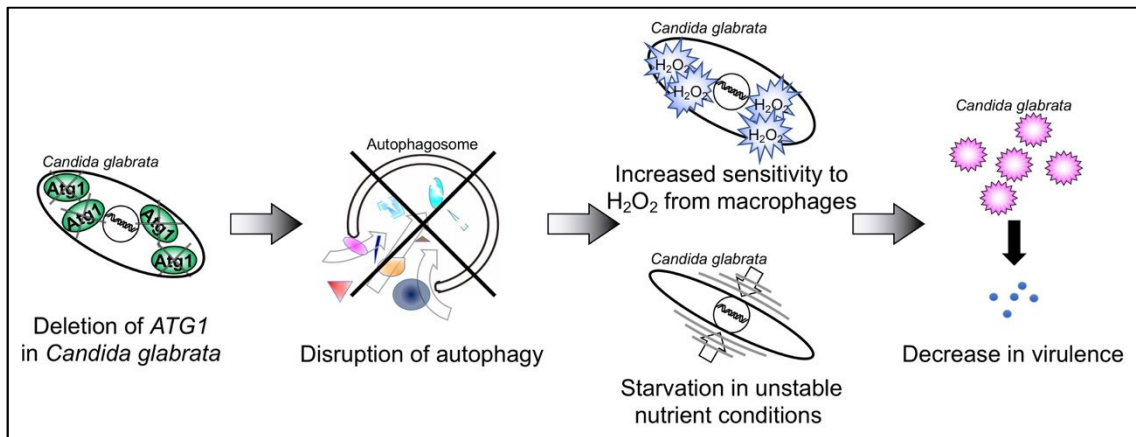
4. 研究成果

spot assay において、*C. glabrata* ATG1 欠損株は野生株と比較して、窒素飢餓や過酸化水素に感受性を示した。*ex vivo* の解析として、過酸化水素発生源であるマクロファージと *C. glabrata* を共培養したところ、ATG1 欠損によりマクロファージ内での増殖効率が減少した。播種性あるいは腹腔内感染によるカンジダ症マウスモデルにおいて、ATG1 欠損株では複数の臓器内で生菌数が低下した。以上より、*C. glabrata* において Atg1 がストレス下での生存や病原性に重要であることが示唆された。

これまでに生命現象としてのオートファジーを観察した。*Candida glabrata* の ATG1 欠損株では基本的な増殖速度が低下していた。ATG1 欠損株で spot assay を行ったところ、飢餓や過酸化水素への感受性が増した。また、ATG1 欠損株では活性酸素の代謝効率が低下していることが示唆された。*ex vivo* の実験として、マクロファージと *Candida glabrata* を共培養したところ、

ATG1 欠損株ではマクロファージによる貪食への抵抗力が落ちていた。最終的に、マウスへの感染実験で、複数の感染経路・臓器で ATG1 欠損株の生菌数の低下が見られた。以上をまとめ、原著論文を *Frontiers in Microbiology* に出版した。

モデル図



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shintaro Shimamura, Taiga Miyazaki, Masato Tashiro, Takahiro Takazono, Tomomi Saijo, Kazuko Yamamoto, Yoshifumi Imamura, Koichi Izumikawa, Katsunori Yanagihara, Shigeru Kohno and Hiroshi Mukae	4. 巻 19
2. 論文標題 Autophagy-Inducing Factor Atg1 Is Required for Virulence in the Pathogenic Fungus <i>Candida glabrata</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2019.00027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 島村真太郎、宮崎泰可、田代将人、高園貴弘、西條知見、山本和子、今村圭文、泉川公一、柳原克紀、河野茂、迎寛
2. 発表標題 病原真菌 <i>Candida glabrata</i> におけるオートファジー誘導因子 Atg1 と病原性の関連
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 島村 真太郎
2. 発表標題 <i>Candida glabrata</i> におけるオートファジー関連因子 Atg1 と病原性の関連
3. 学会等名 第61回日本医真菌学会総会・学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	宮崎 泰可 (MIYAZAKI Taiga) (60448496)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・講師 (17301)	