

【第58回 小島三郎記念文化賞】

病原性寄生虫トキソプラズマに対する宿主免疫系とその破綻の分子機構の解明

やま もと まさ ひろ
山 本 雅 裕
Masahiro YAMAMOTO

はじめに

トキソプラズマは、ヒトを含む全ての恒温動物に感染し、トキソプラズマ症を引き起こす寄生虫（原虫）である。世界人口の3分の1に感染していると言われており、わが国においても、年齢にもよるが5 - 20%に感染していると見積もられている。妊婦がトキソプラズマに初感染をすると胎児に垂直感染し、流産や死産の原因となる、あるいは感染したまま生まれた新生児が、脳の石灰化や網膜異常による弱視や精神疾患を発症するのが、先天性トキソプラズマ症である。また、男女を問わず健康人にトキソプラズマが感染しても、無症状あるいは軽い感冒様症状を呈するだけで終息するが、完全には体内から排除されず多くの場合は潜伏感染するため、生涯の中でエイズや臓器移植あるいは骨髄移植などの免疫不全状態となると、致死的な脳炎や肺炎、心筋炎、肝炎などを主症状とする後天性トキソプラズマ症になることがあり、わが国においても散見される。トキソプラズマは、ネコを終宿主、それ以外の全ての恒温動物を中間宿主とする生活環を持つ。ヒトには主に非加熱あるいは過熱不十分の家畜動物の肉中に含まれる嚢子（シスト）や、あるいは、オーシストを含むネコの糞便に汚染された水や野菜を経口摂取することによって感染することから、トキソプラズマ症を制御するためには、ヒトのみならず、家畜動物やペットであるネコの管理など、人獣にまたがる対策、すなわちワンヘルスの観点に立った総合的対策が重要である。このような人獣共通感染症を引き起こすトキソプラズマが宿主内に感染した際に、どの

ような宿主生体防御反応が起きるのか、また、それを回避し、あるいは逆に利用するトキソプラズマ側の戦略について概説する。

I. トキソプラズマに対する宿主生体防御機構

宿主動物がトキソプラズマに感染すると、様々な免疫応答が起きる。トキソプラズマには種々のToll様受容体（TLR）のリガンドが含まれており、リポタンパク質はTLR2、DNAやRNAはTLR9やTLR7、細胞侵入に必要なトキソプラズマのタンパク質であるプロフィリンはTLR11やTLR12が認識することによって、TLRの必須アダプター分子であるMyD88依存的なシグナル伝達経路が活性化する。NF- κ BやMAPキナーゼの活性化が起きたのち、様々な炎症性サイトカインの遺伝子発現が起きる。炎症性サイトカインの中でも重要なものはTNFとインターロイキン12（IL-12）である。TNFは慢性感染時のトキソプラズマの増殖を抑制することが分かっており、TNFを欠損したマウスは慢性感染時に生存率が著しく低下することが1990年代に分かっていた。一方、IL-12は感染後すぐの急性期に重要であることが分かっている¹⁾。IL-12はナチュラルキラー（NK）細胞やヘルパーT細胞（CD4 + T細胞）、キラーT細胞（CD8 + T細胞）を刺激し、大量のインターフェロン γ （IFN- γ ）を産生させる。最近筆者らは、PLC β 4がキラーT細胞の活性化に重要であり、IFN- γ 産生に重要であることも示している²⁾。IFN- γ が抗トキソプラズマ宿主生体防御に極めて重要であることは、1990年ごろから抗IFN- γ 中和抗

体を投与したマウスあるいは IFN- γ 欠損マウスが、トキソプラズマに急性期に高感受性となることから分かってきた。IFN- γ は感染細胞内におけるトキソプラズマの増殖を阻害し殺傷するという細胞自律的な免疫力を高めることがその理由であるが、IFN- γ 刺激によって約 500 種類もの IFN- γ 誘導性タンパク質が誘導されることから、その中のどれが細胞自律的免疫系で重要なのかを探索することが、それ以後の世界中での研究の中心となり、今に至っている。トキソプラズマは、宿主細胞内でのみ増殖できる偏性寄生性原虫であり、感染細胞内では「寄生胞」と呼ばれる宿主細胞膜に由来するが、細胞膜上にあった宿主由来のタンパク質は取り除かれてしまっている膜構造体に包まれて存在し、その中で宿主のアミノ酸や脂質を奪うことにより寄生生活を成り立たせている。IFN- γ 誘導性タンパク質群の中にはトキソプラズマの寄生胞内での増殖を阻害する一酸化窒素を誘導する酵素の iNOS や、増殖に必要な必須アミノ酸であるトリプトファンを急速に分解する酵素であるインドール-2,3-ジヒドロキシゲナーゼ (IDO) も含まれることが 1990 年代後半に明らかになってきた。他方、IFN- γ 刺激によってトキソプラズマそのものが破壊されることが電子顕微鏡観察などにより形態学的に示されていたが、その分子機構は 2000 年代までよく分かっていなかった³⁾。まとめると、筆者がトキソプラズマ研究を開始した 2007 年当時、トキソプラズマに対する自然免疫応答と獲得免疫応答に加えて、細胞自律的免疫系の存在が指摘され始め、トキソプラズマの増殖阻害するメカニズムは分かっていたが、殺傷する分子機構は不明であった (図 1)。

II. IFN- γ 誘導性 GTPase 群による寄生胞膜破壊

IFN 誘導性タンパク質群に p47 GTPase (IRG) と p65 GTPase (GBP) のファミリー分子群が含まれていることは以前から分かっていた。マウスで約 20 個存在する IRG の内、制御性 IRG として知られる Irgm1 や Irgm3 を欠損するとトキソプラズマ感染に急性期に高感受性となること、さらに、エフェクター IRG と呼ばれる Irga6 や Irgb6 がトキソプラズマの寄生胞の周囲に蓄積することも 2000 年代に

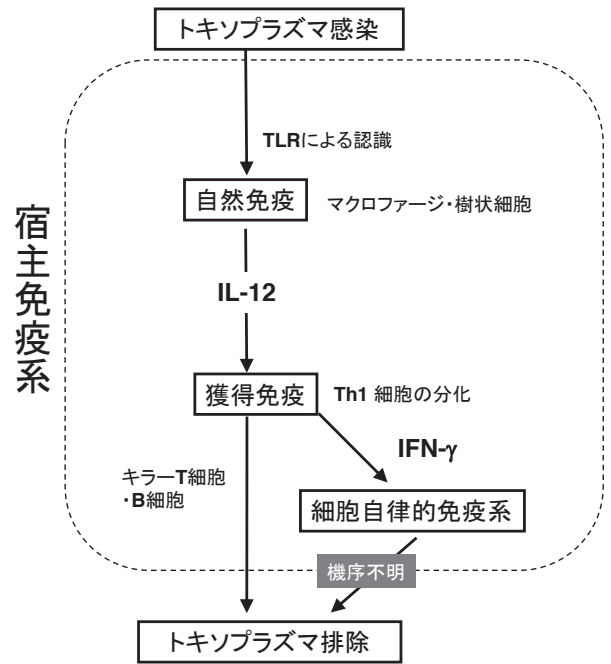


図 1 2000 年代中頃の抗トキソプラズマ免疫応答の理解

筆者がトキソプラズマの免疫応答解析を開始した 2007 年当時、トキソプラズマ感染に対する自然免疫系や獲得免疫系の役割に比べて、IFN- γ 作用後に働く細胞自律的免疫系の作動メカニズムやトキソプラズマ殺傷機構については不明な点が多かった。

分かってきたが、寄生胞膜の周囲に集まり何をしているのかについては不明であった。一方、GBP についてはマウスで 11 個存在し、3 番染色体に 5 個、5 番染色体に 6 個に分かれてそれぞれクラスターを形成して存在し、エフェクター IRG 同様にトキソプラズマの寄生胞の周囲に集まるのが 2007 年に報告されたが、機能については不明であった。そこで筆者らは染色体工学的手法により、3 番染色体に存在する GBP (以後、GBPchr3 と呼ぶ) を欠損したマウスを作製し、GBPchr3 の役割を解析することとした。その結果、GBPchr3 欠損マウスはトキソプラズマ感染に高感受性となることが分かった⁴⁾。さらに、野生型マクロファージでは見られる IFN- γ 刺激依存的な寄生胞膜破壊が GBPchr3 欠損マクロファージでは見られないことから、GBPchr3 は寄生胞膜破壊に関与していることが分かった。また、エフェクター IRG である Irgb6 の寄生胞膜への蓄積率を野生型マクロファージと GBPchr3 欠損マクロファージで比較したところ、GBPchr3 欠損マクロファージでは Irgb6 の動員率が低くなることから、GBPchr3 は Irgb6 の寄生胞膜動員を助長して寄生胞膜破壊を起こしていることが示唆された (図 2、中央)。

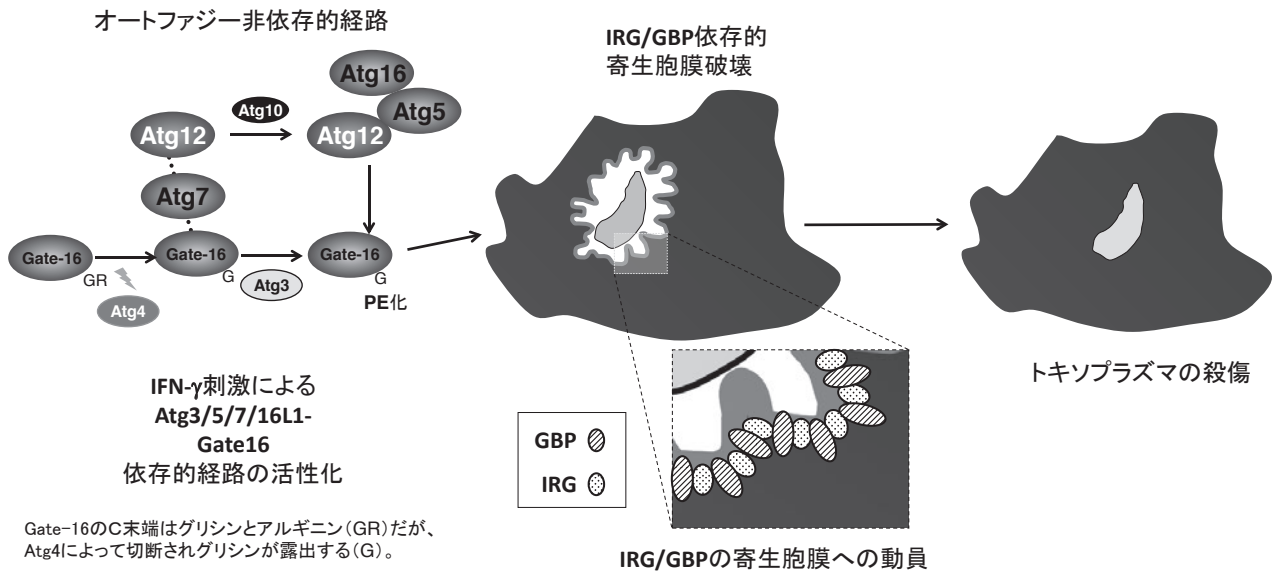


図2 オートファジー関連分子による抗トキソプラズマ細胞自律的免疫系

オートファジー関連分子であるAtg5/Atg7/Atg16L1複合体によるGate-16 (Gabarap/Gabarapl1)の活性化がIFN- γ 誘導性GTPaseであるGBPやIRGの寄生胞膜動員を正に制御している。

Ⅲ. IFN- γ 誘導性GTPaseの寄生胞膜動員の正と負の制御機構の解析

次にGBPchr3の寄生胞膜への動員の制御機構を調べる目的で、GBPchr3に結合する分子群を質量分析で検討した。その結果、GBPchr3の内のGBP2に結合する分子としてRabGDI α を同定した。RabGDI α を欠損したマウスを作製したところ、RabGDI α 欠損細胞においてはGBP2の寄生胞膜動員が亢進し、さらにエフェクターIRGの一つであるIrga6の寄生胞膜動員率が上昇していた。さらにRabGDI α に存在する脂質結合ポケットがGBP2の結合を担い、GBP2の負の制御機構に重要であることが分かった⁵⁾。次に、正の制御機構を解析した。そのきっかけとなったのは、2008年に米国の研究グループが発表したオートファジー必須分子Atg5を欠損した細胞におけるIrga6の膜動員の低下に関する論文であった⁶⁾。このことからIFN- γ 依存的なトキソプラズマの寄生胞膜破壊へのオートファジーの関与が示唆されたが、筆者らは他のオートファジー必須分子であるAtg7, Atg9, Atg14, Atg16L1の関与を検討した。その結果、Atg7やAtg16L1を欠損する細胞では、エフェクターIRGやGBPの寄生胞膜動員率が著しく低下し、IFN- γ 依存的なトキソプラズマの

殺傷反応が障害を受けるのに対して、Atg9やAtg14欠損細胞では全く正常であることが分かったことから、いわゆる典型的なオートファジーはIFN- γ 依存的抗トキソプラズマ免疫応答に関与していないのではないかと考え、2014年に発表した⁷⁾。一方、米国の研究グループは同時期に細胞内のオートファジーの指標としてよく知られているLC3が寄生胞膜の周囲に蓄積することを示したが、一方でわれわれと同じくAtg14は関与しないことも示した⁸⁾。Atg5やAtg7, Atg16L1は全てLC3を含むAtg8ファミリー分子の修飾に関与する分子群である。また、Atg8ファミリー分子にはLC3サブファミリーのLC3aとLC3bに加えて、GabarapとGabarapl1とGate-16 (Gabarapl2)というGabarapサブファミリーが存在する。筆者らは典型的なオートファジーではないと考えられるIFN- γ 依存的な抗トキソプラズマ免疫応答のAtg5/Atg7/Atg16L1の下流の分子メカニズム解析において、LC3サブファミリーだけではなくGabarapサブファミリーについてもその対象に加えることとした。Atg8ファミリー分子の一つずつあるいは、LC3サブファミリーまたはGabarapサブファミリーを全て欠損したマウスをゲノム編集で作製し、IFN- γ 依存的な抗トキソプラズマ免疫応答を検討したところ、LC3を個々にまたはサブファミリーで欠損しても抗トキソプラズマ免疫応答は正常であ

るが、Gabarap サブファミリーの中の Gate-16 だけを欠損する、Gate-16 に加えて Gabarap と Gabarapl1 をさらに欠損すると IRG や GBP だけではなく、ユビキチンや p62/Sqstm1 といった抗原提示に重要な分子群の寄生胞膜動員まで抑制され、総合的に IFN- γ 依存的な抗トキソプラズマ免疫応答が著しく阻害されることを見出した^{9,10}。このことから、IFN- γ 誘導性 GTPase の寄生胞膜への動員を正に制御するオートファジー関連分子 Gabarap サブファミリーの非オートファジーにおける役割が明らかとなった(図 2、左)。

IV. IFN- γ 誘導性 GTPase の寄生胞膜認識機構の探索

次に、IFN- γ 誘導性 GTPase が寄生胞膜をどのようにして認識しているのかという問題に取り組んだ。エフェクター IRG の内、最初に寄生胞膜に蓄積する分子は Irgb6 であるが、その生理的機能は不明であった。そこで、Irgb6 欠損マウスをゲノム編集法で作製し、IFN- γ 依存的抗トキソプラズマ免疫応答を検討した結果、Irgb6 欠損細胞では IFN- γ 依存的な原虫殺傷反応が障害を受けること、さらに他のエフェクター IRG である Irga6 や Irgb10、さらに GBP の寄生胞膜の動員率が大幅に低下することを見いだした。このことから、Irgb6 が最上流で寄生胞膜の認識による一連の IFN- γ 依存的抗トキソプラズマ細胞自律的免疫系のトリガーとなることが分かった。では、Irgb6 は寄生胞膜の何を認識しているのか？ Irgb6 の構造は N 末端に GTPase ドメインを、C 末端に α ヘリックスからなる膜結合部位を有する。IFN- γ 誘導性 GTPase は抗トキソプラズマ免疫応答のみならず、ノロウイルス、サルモネラ(細菌)、クラミジア(細菌)、マイコバクテリウム(細菌)、カビ(真菌)など幅広い微生物が感染宿主細胞内に形成する膜構造体を認識し、細胞自律的免疫系を担うが、これらのウイルス-原核生物-真核生物の微生物に幅広く保存されたタンパク質は存在しないことから、非タンパク質物質が Irgb6 の標的であり、さらに寄生胞膜は宿主細胞膜に由来することから、細胞膜を形成するリン脂質が標的ではないかと考えた。そこで、Irgb6 の精製タンパク質を作製し、様々なリン脂質との結合を PIPstrip 解析したとこ

ろ、フォスファチジルイノシトール 5 リン酸 (PI5P) とフォスファチジルセリン (PS) に Irgb6 が結合し、さらに PI5P と PS は寄生胞膜の周囲に高度に蓄積していることが確認された。C 末の α ヘリックスに存在する 275 番目のリジン残基 (K275) と 371 番目のアルギニン残基 (R371) が PI5P および PS の結合に重要であり、Irgb6 の寄生胞膜への蓄積にも必須である¹¹。このことは X 線結晶構造解析で解いた Irgb6 高次構造でも、K275 と R371 に加えて N 末の 3 番目のトリプトファン残基 (W3) を加えた箇所がポケットを作っており、そこに PI5P がはまり込むことがシミュレーションでも示された¹²。以上のように、IFN- γ 誘導性 GTPase の中でも Irgb6 が一番先に寄生胞膜上の PI5P や PS を認識して蓄積し、その他の GTPase 群を呼び寄せて IFN- γ 依存的な抗トキソプラズマ細胞自律的免疫系が始まる素過程が明らかになってきた。しかし、寄生胞膜上にどのようにして PI5P や PS が高濃度に蓄積するのか、また、他の病原体が感染細胞内で形成する膜にも PI5P や PS が(あるいは、また別の非タンパク質物質が)蓄積しており、それらが IFN- γ 誘導性 GTPase の標的となっているのかなど未解決の問題も多く、今後明らかにしていきたい。

V. 高病原性トキソプラズマによる宿主免疫系抑制機構

北米とヨーロッパで分離されるトキソプラズマは遺伝的に I 型と II 型、III 型の 3 種類に分けられ、それぞれマウスでの病原性が大きく異なり、I 型は LD50 が 10^0 、II 型は 10^3 、III 型は 10^5 であることから、病原性の高さは I 型 > II 型 > III 型である。IFN- γ 依存的な抗トキソプラズマ生体防御系の解析では II 型トキソプラズマが使われているが、実際には I 型トキソプラズマのように IFN- γ 依存的生体防御系に異常がない宿主においても強毒である株が存在するが、その理由は長らくよく分かっていなかった。2006 年末に米国の 2 つの研究グループから II 型と III 型のトキソプラズマを掛け合わせた雑種株の順遺伝学的な解析によって、ROP16 と ROP18 が病原性の違いを決める候補遺伝子であることが報告された¹³。ROP16 と ROP18 はトキソプラズマの頭頂部にあるアピカル複合体の中のロプトリーと呼ばれ

る分泌器官に存在するリン酸化酵素であり、感染後 ROP16 と ROP18 は宿主細胞内に放出され、それぞれ宿主の核および寄生胞膜上に蓄積することから、宿主分子との相互作用が想定された。そこで筆者は ROP16 や ROP18 との宿主免疫系との相互作用解析を開始した。また別の研究では、I 型や III 型の生きたトキソプラズマは宿主の転写因子である Stat3 を活性化できるが、II 型トキソプラズマは活性化が著しく低いことが報告され¹⁴⁾、I 型/III 型トキソプラズマの ROP16 に比べて、II 型トキソプラズマの ROP16 は高度にアミノ酸配列多型を有していることから、ROP16 が Stat3 の活性化に関与しているのではないかと考えた。筆者はまず ROP16 を欠損する I 型トキソプラズマを作製し、ROP16 欠損 I 型トキソプラズマを宿主細胞に感染させても Stat3 が活性化しないことを確かめた。次に、トキソプラズマの ROP16 を宿主細胞に異所性に過剰発現させるだけで宿主の Stat3 が強く活性化することから、ROP16 が直接的に Stat3 を活性化することを突き止めた。さらに、この異所性発現系を使って I 型および II 型トキソプラズマの ROP16 を比較した結果、I 型の ROP16 の 503 番目のロイシンが II 型トキソプラズマの ROP16 ではセリンに置換されることにより Stat3 の活性化能が著しく低下した。以上のことから、ROP16 の 1 つのアミノ酸多型によってトキソプラズマの自然免疫系抑制の系統間の差が決まっていることを明らかにした¹⁵⁾。次に、ROP18 の宿主免疫系との相互作用解析に取り組んだ。ROP18 の宿主結合分子を探索した結果、ROP18 は宿主の小胞体にある転写因子である ATF6 β に結合しリン酸化して分解することが分かった。ATF6 β は樹状細胞において、キラー T 細胞への抗原提示を促進する機能を有していることが明らかとなり、ROP18 は ATF6 β 依存的な獲得免疫経路の活性化を阻害することにより宿主免疫系を抑制していることが分かった¹⁶⁾。さて、トキソプラズマが宿主細胞に分泌するエフェクタータンパク質にはロプトリータンパク質 (ROP) の他にデンスグラニュールタンパク質 (GRA) があり、それぞれ約 100 種類存在することが想定されている。GRA の一つである TgIST は宿主細胞内に放出されたのち核に蓄積し、IFN- γ 依存的遺伝子発現に重要な転写因子である Stat1 の働きを止め、IFN- γ 誘導性 GTPase や IDO といった IFN- γ 依

的な細胞自律的免疫系を抑制することを、われわれや国外の研究グループは報告した^{17~19)}。以上のように、高病原性トキソプラズマは、ROP や GRA といった様々なエフェクタータンパク質を宿主細胞内に放出して、宿主の自然免疫系・獲得免疫系・細胞自律的免疫系の各段階において巧緻に抑制していることが見えてきた (図 3)。

VI. 宿主免疫系を利用するトキソプラズマの病原性発揮戦略

トキソプラズマが放出するエフェクタータンパク質は宿主免疫系を抑制するばかりではないことが徐々に分かってきた。例えば、GRA6 は宿主転写因子である NFAT4 を強く活性化し、ケモカインの遺伝子発現を強く誘導する。これによって、感染局所に好中球が遊走しトキソプラズマが感染後、全身に感染が拡大していくことを筆者らは見出した²⁰⁾ (図 4A)。結果、殺傷能力が低い好中球を使ってトキソプラズマが宿主の体内を移動するという「トキソプラズマのトロイの木馬現象」に GRA6-NFAT4 経路が関与していることを示すことができた。また、別の GRA である GRA15 は宿主転写因子である NF- κ B を強く活性化し、宿主のマクロファージからの IL-1 β の産生を誘導し、ヒトにおいては IL-1 β が肝臓細胞や神経細胞に作用し IFN- γ と共に刺激が入ると iNOS が誘導され、ヒトにおいては必須の抗トキソプラズマ細胞自律的免疫を担う IDO の分解や発現抑制を引き起こすことによって、結果的にトキソプラズマの細胞内の増殖を促進していることを見出した^{21,22)} (図 4B)。これら GRA6 や GRA15 のように宿主免疫系のシグナル伝達経路を活性化することによって、都合よくしたたかに宿主免疫系を利用して感染細胞内や生体内において増殖と感染拡大を行っているトキソプラズマの戦略が明らかとなってきた (図 4)。

おわりに

以上、トキソプラズマと宿主の免疫学的相互作用を筆者の研究を中心に概説した。トキソプラズマ側から見ると、機能が分かった ROP や GRA は総数約 200 個の内の 20 個程度である。さらに ROP や GRA

は約 8,000 個の内の数%に過ぎず、残りの遺伝子の宿主体内での役割は全く不明である。他方、宿主側から見ても感染細胞内や個体内での抗トキソプラズマ自然免疫・獲得免疫・細胞自律的免疫系の全容は解明されたとは言い難く、生きた生物同士の戦いの

素過程をこれからも新しい視点や手法で解き明かしていきたい。また、トキソプラズマと同じ胞子虫類原虫と宿主の相互作用解析も進め^{23,24)}、さらに深い寄生虫学研究を行いわが国の微生物学研究のレベルの向上に寄与したい。この度、小島三郎記念文化賞

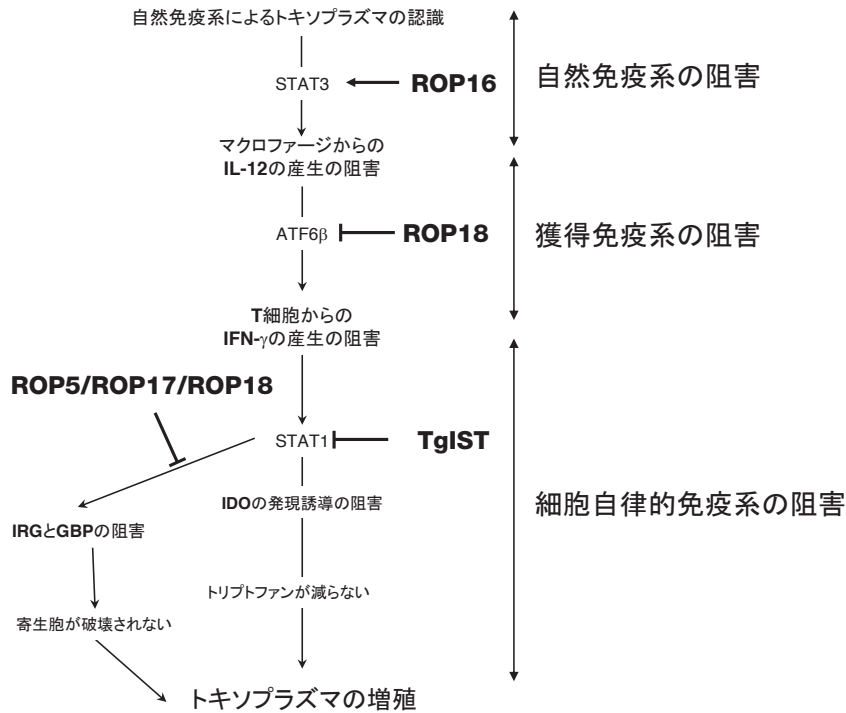


図3 トキソプラズマのエフェクタータンパク質による宿主免疫抑制

自然免疫系、獲得免疫系、細胞自律的免疫系の各ステップでROPやGRAのタンパク質群が効果的に宿主免疫系を抑制する。本文では述べていないがROP5/ROP17/ROP18複合体はIFN-γ誘導性GTPaseをリン酸化して阻害することも報告されている。

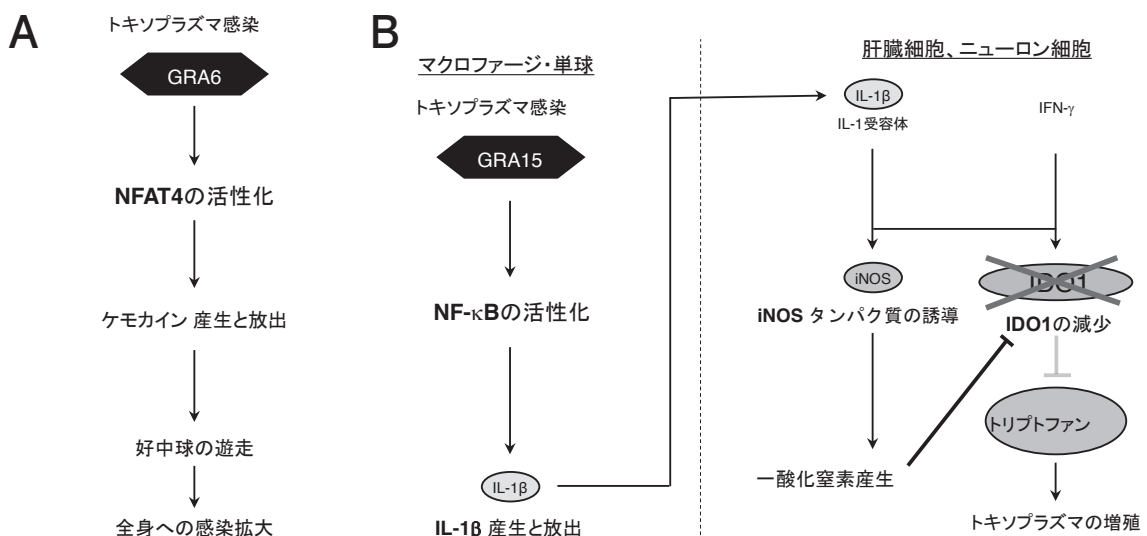


図4 宿主免疫系の活性化によるトキソプラズマの病原性機構

GRA6やGRA15は、それぞれ宿主の転写因子NFAT4とNF-κBを活性化し、免疫応答を起こすことがその後のトキソプラズマの体内での感染拡大や、IDOの分解による原虫の増殖の促進を引き起こす。

という伝統ある素晴らしい賞を受賞し、これまで以上に本研究を加速・発展させて、ユニークなトキソプラズマの寄生虫免疫学研究を展開したいと決意を新たにしております。筆末ではございますが、厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Sasai, M. & Yamamoto, M. Anti-Toxoplasma host defense systems and the parasitic counterdefense mechanisms. *Parasitol Int* **89**, 102593, doi:10.1016/j.parint.2022.102593 (2022).
- 2) Sasai, M. *et al.* Uncovering a novel role of PLCbeta4 in selectively mediating TCR signaling in CD8+ but not CD4+ T cells. *J Exp Med* **218**, doi:10.1084/jem.20201763 (2021).
- 3) Sasai, M., Pradipta, A. & Yamamoto, M. Host immune responses to *Toxoplasma gondii*. *Int Immunol* **30**, 113-119, doi:10.1093/intimm/dxy004 (2018).
- 4) Yamamoto, M. *et al.* A cluster of interferon-gamma-inducible p65 GTPases plays a critical role in host defense against *Toxoplasma gondii*. *Immunity* **37**, 302-313, doi:10.1016/j.immuni.2012.06.009 (2012).
- 5) Ohshima, J. *et al.* RabGDIalpha is a negative regulator of interferon-gamma-inducible GTPase-dependent cell-autonomous immunity to *Toxoplasma gondii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **112**, E4581-4590, doi:10.1073/pnas.1510031112 (2015).
- 6) Zhao, Z. *et al.* Autophagosome-independent essential function for the autophagy protein Atg5 in cellular immunity to intracellular pathogens. *Cell host & microbe* **4**, 458-469, doi:10.1016/j.chom.2008.10.003 (2008).
- 7) Ohshima, J. *et al.* Role of mouse and human autophagy proteins in IFN-gamma-induced cell-autonomous responses against *Toxoplasma gondii*. *J Immunol* **192**, 3328-3335, doi:10.4049/jimmunol.1302822 (2014).
- 8) Choi, J. *et al.* The parasitophorous vacuole membrane of *Toxoplasma gondii* is targeted for disruption by ubiquitin-like conjugation systems of autophagy. *Immunity* **40**, 924-935, doi:10.1016/j.immuni.2014.05.006 (2014).
- 9) Sasai, M. *et al.* Essential role for GABARAP autophagy proteins in interferon-inducible GTPase-mediated host defense. *Nature immunology* **18**, 899-910, doi:10.1038/ni.3767 (2017).
- 10) Lee, Y. *et al.* p62 Plays a Specific Role in Interferon-gamma-Induced Presentation of a *Toxoplasma* Vacuolar Antigen. *Cell reports* **13**, 223-233, doi:10.1016/j.celrep.2015.09.005 (2015).
- 11) Lee, Y. *et al.* Initial phospholipid-dependent Irgb6 targeting to *Toxoplasma gondii* vacuoles mediates host defense. *Life Sci Alliance* **3**, doi:10.26508/lsa.201900549 (2020).
- 12) Saijo-Hamano, Y. *et al.* Structural basis of membrane recognition of *Toxoplasma gondii* vacuole by Irgb6. *Life Sci Alliance* **5**, doi:10.26508/lsa.202101149 (2022).
- 13) Saeij, J. P. *et al.* Polymorphic secreted kinases are key virulence factors in toxoplasmosis. *Science* **314**, 1780-1783, doi:10.1126/science.1133690 (2006).
- 14) Saeij, J. P. *et al.* *Toxoplasma* co-opts host gene expression by injection of a polymorphic kinase homologue. *Nature* **445**, 324-327, doi:10.1038/nature05395 (2007).
- 15) Yamamoto, M. *et al.* A single polymorphic amino acid on *Toxoplasma gondii* kinase ROP16 determines the direct and strain-specific activation of Stat3. *The Journal of experimental medicine* **206**, 2747-2760, doi:10.1084/jem.20091703 (2009).
- 16) Yamamoto, M. *et al.* ATF6beta is a host cellular target of the *Toxoplasma gondii* virulence factor ROP18. *The Journal of experimental medicine* **208**, 1533-1546, doi:10.1084/jem.20101660 (2011).
- 17) Gay, G. *et al.* *Toxoplasma gondii* TgIST co-opts host chromatin repressors dampening STAT1-dependent gene regulation and IFN-gamma-mediated host defenses. *The Journal of experimental medicine* **213**, 1779-1798, doi:10.1084/jem.20160340 (2016).
- 18) Olias, P., Etheridge, R. D., Zhang, Y., Holtzman, M. J. & Sibley, L. D. *Toxoplasma* Effector Recruits the Mi-2/NuRD Complex to Repress STAT1 Transcription and Block IFN-gamma-Dependent Gene Expression. *Cell host & microbe* **20**, 72-82, doi:10.1016/j.chom.2016.06.006 (2016).
- 19) Bando, H. *et al.* *Toxoplasma* Effector TgIST Targets Host IDO1 to Antagonize the IFN-gamma-Induced Anti-parasitic Response in Human Cells. *Frontiers in immunology* **9**, 2073, doi:10.3389/fimmu.2018.02073 (2018).
- 20) Ma, J. S. *et al.* Selective and strain-specific NFAT4 activation by the *Toxoplasma gondii* polymorphic dense granule protein GRA6. *The Journal of experimental medicine* **211**, 2013-2032, doi:10.1084/jem.20131272 (2014).
- 21) Bando, H. *et al.* Inducible Nitric Oxide Synthase Is a Key Host Factor for *Toxoplasma* GRA15-Dependent Disruption of the Gamma Interferon-Induced Antiparasitic Human Response. *mBio* **9**, doi:10.1128/mBio.01738-18 (2018).
- 22) Bando, H. *et al.* *Toxoplasma* Effector GRA15-Dependent Suppression of IFN-gamma-Induced Antiparasitic Response in Human Neurons. *Front Cell Infect Microbiol* **9**, 140, doi:10.3389/fcimb.2019.00140 (2019).
- 23) Bando, H. *et al.* CXCR4 regulates Plasmodium development in mouse and human hepatocytes. *The Journal of experimental medicine* **216**, 1733-1748, doi:10.1084/jem.20182227 (2019).
- 24) Pradipta, A. *et al.* Plasmodium UIS3 avoids host cell-autonomous exclusion that requires GABARAPs but not LC3 and autophagy. *Parasitol Int* **83**, 102335, doi:10.1016/j.parint.2021.102335 (2021).