

平成 18 年 1 1 月 8 日

科学技術振興機構（JST）  
電話(03)5214-8404(広報・ポータル部広報室)

東京大学医科学研究所

## 赤痢菌感染における細胞内運動の新たなメカニズムを発見

JST（理事長 沖村憲樹）と東京大学医科学研究所は、赤痢菌が、宿主細胞の細胞骨格を担っている微小管ネットワーク<sup>(注1)</sup>と呼ばれる網目状の構造物を破壊することで細胞内の運動を円滑に行っているということ突き止めました。

赤痢菌は、感染した宿主の大腸にある腸管粘膜細胞の内側に侵入した後、細胞内を自由に動き回ります。このとき、菌によって誘導されるアクチン重合<sup>(注2)</sup>と呼ばれる現象が運動の推進力となっていることが知られています。しかし、微小管ネットワークと赤痢菌感染との関係は明らかにされていませんでした。

本研究チームは、この細胞内運動と微小管ネットワークの關係に着目しました。詳細な解析を行った結果、赤痢菌はVirAタンパク質<sup>(注3)</sup>を菌体外に分泌し、VirAタンパク質が有しているタンパク質分解活性によって、移動の障害となる微小管ネットワークを破壊し、移動しやすい環境を作り出していることを発見しました。

本研究の成果は、リステリア属菌<sup>(注4)</sup>やリケッチア<sup>(注5)</sup>など他の細胞内運動性を持つ病原性細菌の感染機構の解明にも応用されることが期待され、ひいては病原菌感染に対する予防法および治療法を開発する上で重要な手掛かりを与えるものと考えられます。

本研究成果は、JST戦略的創造研究推進事業チーム型研究（CREST）「免疫難病・感染症等の先進医療技術」研究領域（研究総括：山西弘一）の研究テーマ「病原細菌の粘膜感染と宿主免疫抑制機構の解明とその応用」の研究代表者・笹川千尋（東京大学医科学研究所 教授）と吉田整（同 特任助手）らによって得られたもので、米国の科学雑誌「Science」に2006年11月10日（米国東部時間）に掲載されます。

### <研究の背景>

赤痢菌は依然として我々人類にとって深刻な病原性細菌です。実際に発展途上国では乳幼児を中心に年間一億人が細菌性赤痢に感染し、死者は数十万人にのぼっています。この赤痢菌の感染過程を分子レベルで明らかにすることは、ワクチンを含めた細菌性赤痢の予防法および治療法を開発する上で非常に重要であると考えられます。

赤痢菌の感染過程は、まず飲料水、食物などにより口から我々の体内に侵入した赤痢菌が大腸に到達した後に、巧妙な感染機構により腸管粘膜上皮細胞内に侵入し、さらには細胞内を無秩序に動き回り、隣接細胞に次々に移動していくことが知られています。(図1)

さらに、赤痢菌の細胞内移動には、菌体表面の一極に発現されたVirGタンパク質<sup>(注6)</sup>が、宿主細胞の形態を維持している構造体(細胞骨格)の一つであるアクチンに作用し、菌体の一極にアクチンを再構成してアクチン凝集束を作り出すこと(アクチン重合)によって運動の推進力を作り出すことが知られていました。

一方で、アクチンによる細胞骨格と同様に宿主細胞の細胞骨格を形成している微小管ネットワークの、赤痢菌感染における変化の報告は全くありませんでした。

### <研究成果の概要>

今回、本研究チームは、赤痢菌が細胞内の運動を行う際に用いる機構の新たな局面を明らかにすべく、赤痢菌の細胞内移動と微小管ネットワークの関係に着目し、詳細な解析を行いました。

その結果、赤痢菌は、VirAタンパク質を菌体表面に分泌することにより微小管ネットワークを破壊していることを、電子顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡および蛍光顕微鏡による観察手法を組み合わせることにより明らかにしました。(図2)

さらに、VirAタンパク質が有する微小管を破壊する能力の生化学的な解析を行った結果、VirAタンパク質は、アミノ酸の一つであるシステインを活性中心に持つタンパク質分解酵素システインプロテイナーゼのようなタンパク質としてタンパク質分解活性を有しており、微小管を構成しているタンパク質の一つである $\alpha$ -チューブリンを選択的に分解することが明らかになりました。(図3)

これらの解析結果により、赤痢菌は細胞内移動の障害となる微小管ネットワークをVirAタンパク質により破壊し、その結果スムーズな細胞内運動性を獲得していることが明らかになりました。(図4)

#### <今後の展開>

本研究成果は、赤痢菌の細胞内での円滑な運動性は、アクチン凝集束の形成と同時に微小管ネットワークの破壊を行うことにより初めて成し遂げられることを示しており、赤痢菌の感染システムの新たな側面が明らかとなりました。

さらに、リステリア属菌やリケッチアなどの病原細菌も赤痢菌と同様に細胞内運動性を有していることから、本研究の成果が赤痢菌のみならず他の細胞内運動性を有する病原細菌の細胞内での挙動に関する研究にも新たな知見を与えることが期待されます。

<参考図>

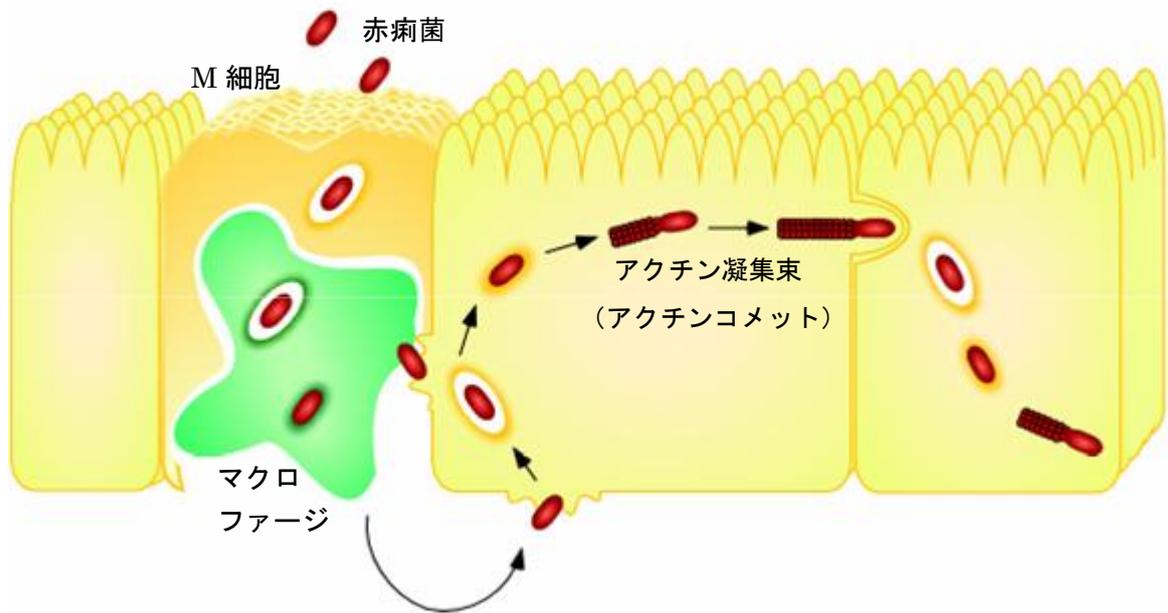


図1 赤痢菌の感染過程

大腸に達した赤痢菌は、M細胞（絨毛（じゅうもう）が発達せず、マクロファージなどの免疫システムへ異物の提示や受け渡しを行う細胞）から侵入後、通常の細菌やウイルスと同様にマクロファージに貪食されます。しかし、マクロファージに細胞死を引き起こし、遊離した赤痢菌は上皮細胞の基底膜側（生体内側）から侵入した後、ファゴソーム（食胞）から細胞質へと離脱します。細胞質内に離脱した赤痢菌は増殖をしながら菌体の一極にアクチン凝集束（アクチンコメット）を形成し細胞質内を移動し、やがて隣接細胞へと拡散し感染を拡大させていきます。

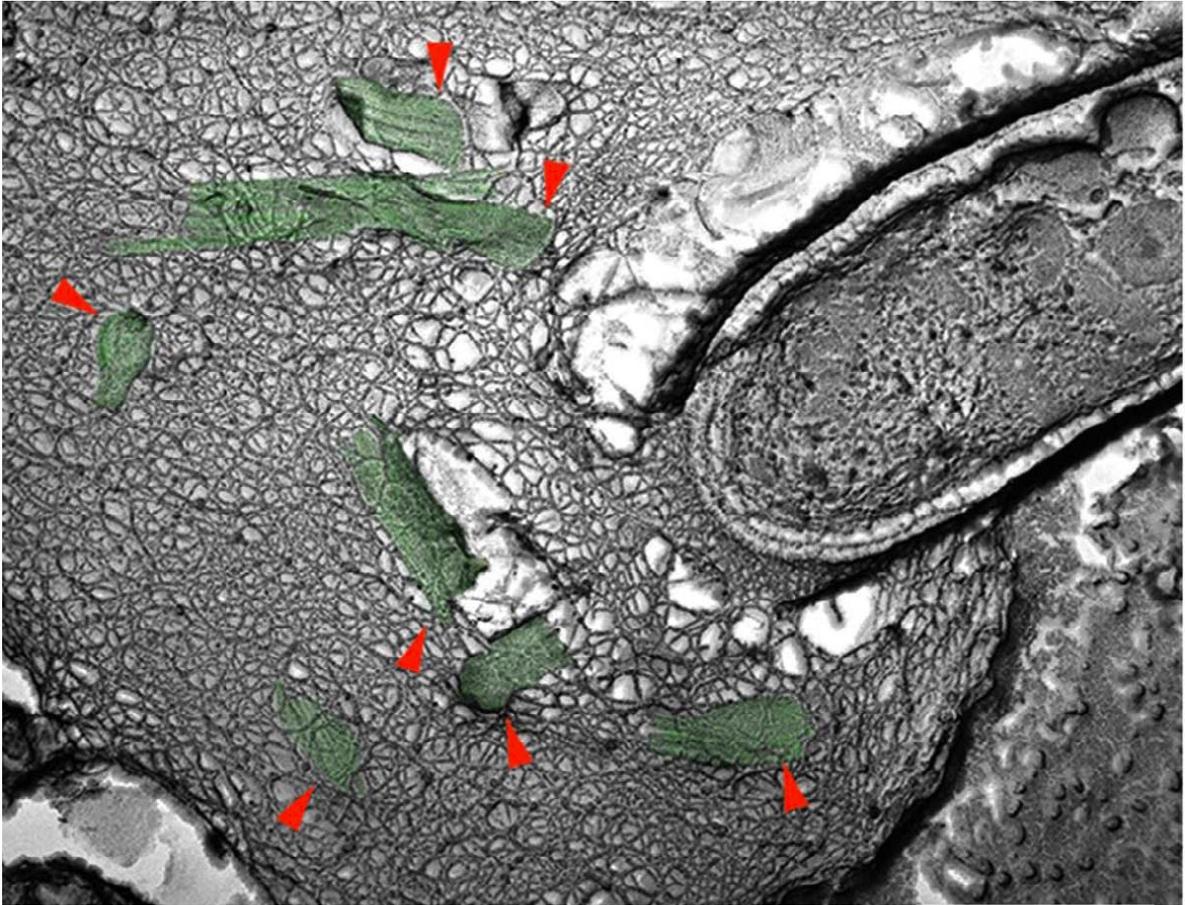


図2 赤痢菌によって破断された微小管の電子顕微鏡像

細胞内を運動する赤痢菌をフリーズフラクチャ法により観察しました。菌体の一極に集積したアクチン凝集束の中に切断された微小管の一部が観察されます(緑)。

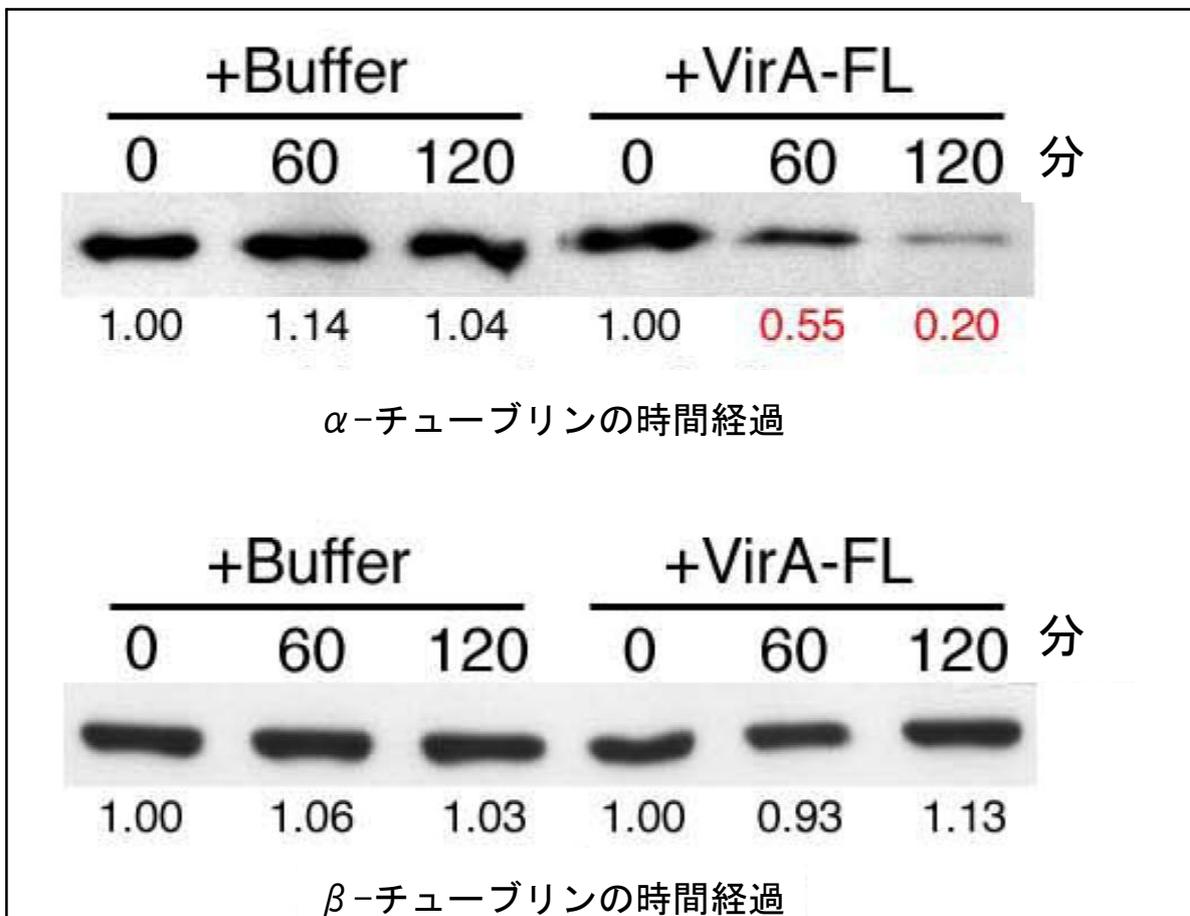


図3 VirAタンパク質と $\alpha$ -チューブリンおよび $\beta$ -チューブリンとの関係

精製した微小管( $\alpha$ -チューブリンと $\beta$ -チューブリンのヘテロ 2 両体)と精製したVirAタンパク質を混合し $\alpha$ -チューブリンまたは $\beta$ -チューブリンの安定性を検討しました。その結果、VirAタンパク質の作用により $\alpha$ -チューブリンの量は経時的に低下したのに対し、 $\beta$ -チューブリンの量は変化しなかったことから、VirAタンパク質は $\alpha$ -チューブリンを選択的に分解することが明らかになりました。

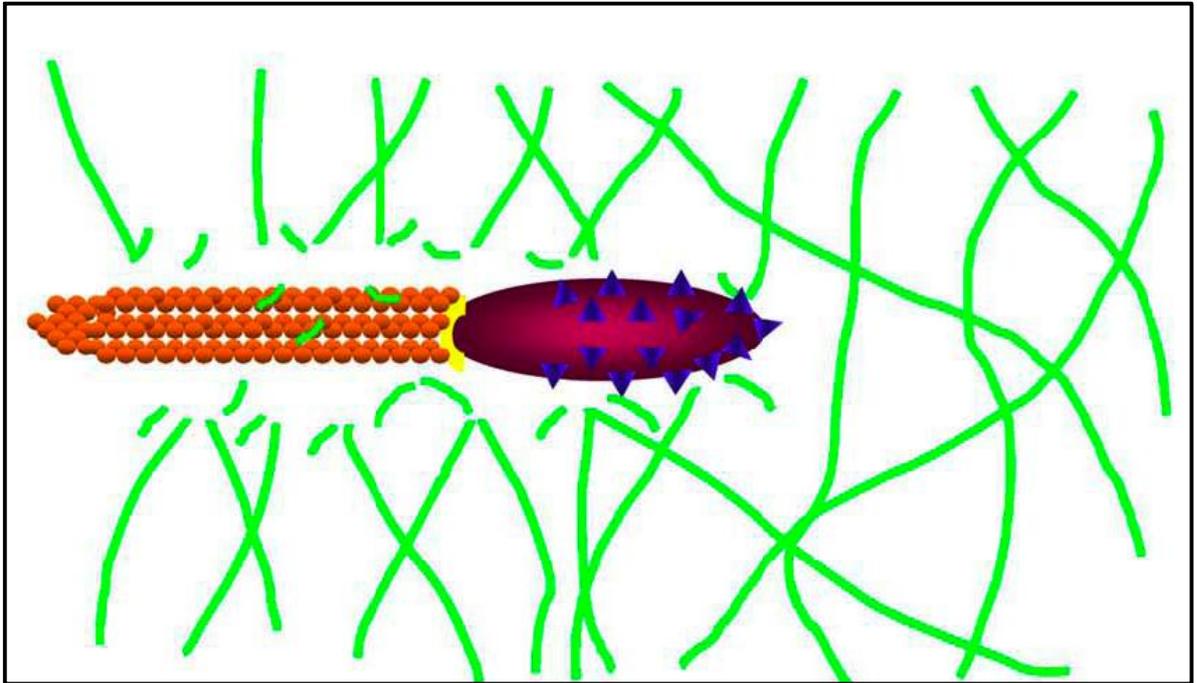


図4 微小管ネットワークを破断することでスムーズに細胞内を運動する赤痢菌

細胞内に侵入した赤痢菌(紫)は、菌体の一極に発現したVirGタンパク質(黄)の働きにより菌体の一極にアクチンを再構成したアクチン凝集束(オレンジ)を形成して細胞内を運動します。さらに、赤痢菌はVirAタンパク質(青)を分泌し微小管ネットワーク(緑)を切断することにより細胞内をスムーズに運動することが本研究の成果により明らかになりました。

## <用語解説>

### (注1) 微小管ネットワーク :

微小管はアクチンと同様に宿主細胞の形態を維持するために重要な働きをしているフィラメント状の構造物です。微小管は $\alpha$ -チューブリンと $\beta$ -チューブリンが1:1で結合したもの(ヘテロ2両体)が重合したものです。細胞質内には微小管ネットワークが網目状に張り巡らされており、これに沿って物質の移動が行われています。

### (注2) アクチン重合 :

アクチンには単量体であるG-アクチンと複数のG-アクチンが重合したF-アクチンとがあります。宿主細胞内ではF-アクチンが繊維状に重合した構造物(アクチンフィラメント)が細胞の背骨の役割を果たし、細胞の形態維持に重要な役割を担っています。赤痢菌は菌体表面の一極に発現されたVirGタンパク質により菌体の一極でF-アクチンの重合を促進し、菌体の後部にアクチン凝集束を形成することによって菌体を前に押し出すことで運動の推進力を作り出すことが知られています。その様子は彗星が尾を引いて動いているように見えることから、アクチン凝集束を「アクチンコメット」と呼ぶこともあります。

### (注3) VirAタンパク質 :

赤痢菌が持つ針状のIII型分泌機構から菌体外へ分泌される病原タンパク質です。赤痢菌は上皮細胞にIII型分泌機構を突き刺し、直接細胞内へ各種病原因子を送り込み、赤痢菌が付着した部位の周辺で細胞の形態を立体的に変化させること(ラッフル誘導)により細胞内に侵入することが知られていますが、VirAタンパク質は上皮細胞にラッフル形成を誘導する赤痢菌の病原因子の一つとして考えられています。

### (注4) リステリア属菌 :

リステリア属に属する8種の菌のこと。このうち、リステリア・モノサイトゲネスにはヒトに対する病原性があり、医学分野では特にこの菌種のことを指します。リステリア・モノサイトゲネスは、宿主細胞内でも細胞外でも増殖することが可能です。赤痢菌と同様に細胞骨格を構成するアクチンを利用して細胞質内を

移動し、さらに隣接する細胞へ侵入するという特徴をもちます。

(注5) リケッチア :

リケッチア属の菌の総称。シラミ、ダニ、ツツガムシ等の節足動物を媒介として、ヒトに紅斑熱、発疹チフス、ツツガムシ病など各種リケッチア症を引き起こします。宿主細胞内で増殖し、細胞外へ出すと急激に死滅します。

(注6) VirG タンパク質 :

赤痢菌の菌体表面の片方の端に存在する病原タンパク質であり、アクチンを再構成しアクチン凝集束を形成させる働きを持ちます。赤痢菌はアクチン凝集束を足場として移動することから、細胞内における赤痢菌の運動性に必須なタンパク質です。

### <論文名>

“ Microtubule-Severing Activity of *Shigella* is Pivotal for Intercellular Spreading ”

(赤痢菌の病原因子の微小管切断活性は赤痢菌の細胞間拡散において中心的な役割を果たしている)

### <研究領域等>

この研究テーマが含まれる研究領域、研究期間は以下のとおりです。

○戦略的創造研究推進事業 チーム型研究(CREST)

研究領域：「免疫難病・感染症等の先進医療技術」

(研究総括：山西 弘一 独立行政法人医薬基盤研究所 理事長)

研究課題名：「病原細菌の粘膜感染と宿主免疫抑制機構の解明とその応用」

研究代表者：笹川 千尋 東京大学医科学研究所 教授

研究期間：平成15年度～平成20年度

### <お問い合わせ先>

笹川 千尋 (ささかわ ちひろ)

東京大学医科学研究所 細菌感染分野

佐藤 雅裕 (さとう まさひろ)

独立行政法人科学技術振興機構 戦略的創造事業本部

研究推進部 研究第一課