

第24回麻布環境科学研究会 講演B7

高温性 *Campylobacter lari* の病原遺伝子の比較分子生物学

関塚 剛史¹, 茂松 慎², 熊谷 温子², 村山 洋^{1,2},
Millar B C³, Moore J E³, 松田 基夫^{1,2}

¹麻布大院・環境・分子生物学, ²麻布大・環境・遺伝子生物学,
³N. Ireland Public Health Lab., Belfast

1. はじめに

Campylobacter jejuni は、下痢、腸炎を主な症状とする食中毒起病菌であり、敗血症、関節炎、髄膜炎を起こす事もある。また、感染後、ギランバレー症候群を続発する事もある。2000年に *C. jejuni* NCTC11168 の全ゲノムシーケンスが発表され (Parkhill *et al.*, 2000), *Campylobacter* が引き起こす *Campylobacter* 症における、重要な病原遺伝子群総体としての解析が可能かつ必要となった。しかし、それら病原因子がどのように働き、相互作用し、宿主に影響を及ぼすかは未だ不明なままである。

urease-negative thermophilic *Campylobacter lari* (UNC. *lari*) は、多くはカモメ等の野鳥及び家畜から分離されているが、ヒト臨床由来の事例が世界で10数カ国数十例110株以上報告されている。一方、1985年以降 urease-positive thermophilic *Campylobacter* (UPTC) 株が主に自然環境中から200株以上分離されているが、ヒト臨床由来株はフランスの4株のみで、しかもヒト疾患との関係が確定していない (Matsuda and Moore, 2004)。このUPTCは、*C. lari* の variant あるいは biovar とされ今日に至っている。

そこで我々は、この様な *C. lari* の分離プロファイルを考慮し、細菌のもつ病原性とその病原遺伝子との関係を明らかにする為に *C. jejuni* 及び *C. lari* を対象とした病原遺伝子の比較分子生物学的解析を行った。

2. 方法

C. jejuni, UNC. *lari* 及び UPTC を用いて、

Campylobacter 症の重要な病原因子群を構成する Flagellin (*flaA*), cytolethal distending toxin (CDT; *cdtB*), *Campylobacter* invasion antigen (Cia; *ciaB*) 及び peptide methionine sulfoxide reductase (*msrA*) の遺伝子をPCRによりそれぞれ増幅し、TA cloning の後、シーケンシングを行った。

3. 結果および考察

C. jejuni と *C. coli* の *flaA* (約1700 bp) の可変領域である large variable region (この領域は、べん毛を構築する際に外側の骨格を構成するとされている) の約80アミノ酸残基からなる部位が、野鳥を含まない自然環境中から分離されたUPTCの *flaA* (約1450 bp) では欠失が生じてその結果短くなって (約1450 bp) おり、あるいは偽遺伝子 (約1450 bp) となっている事例もあることが明らかとなった。しかし、生体即ちカモメから分離されたUPTCでは、その長さと同配列が *C. jejuni* の *flaA* に類似しており large variable region が存在していた。*C. jejuni* や *C. coli* の *flaA* のこの領域のセリン残基には glycosylation の生じている事が近年報告された (Thibault *et al.*, 2001, Logan *et al.*, 2002)。更に、*Campylobacter* の宿主細胞への付着には、様々な接着分子が関与するが、第1の付着分子について、flagellin が第2の付着分子になると報告されている (Yao *et al.*, 1994)。今回の我々の結果と Thibault ら、Logan らそして Yao らの報告から、これら *Campylobacter* のべん毛の可変領域である large variable region が細胞への付着性、つまり病原性に非常に重要な領域である事が示唆される。

一方 *UNC. lari* 及び UPTC の *cdtB* は、*C. jejuni* の *cdtB* よりも 2~3 アミノ酸残基長くなっており、全体的に相同性は高かったものの、*C. jejuni* の配列とは異なった特有の構造を有する領域が存在した。しかし、アミノ酸配列のアライメント及び立体構造の予測の結果、酵素活性部位は保存されていた。それ故に、*C. lari* の CDT は細胞致死性膨張毒素の機能を保持していることが示唆された。

UNC. lari 及び UPTC の *ciaB* においても、全体的に相同性は高かったものの、*C. jejuni* の配列とは異なった特有の構造を有する領域が存在した。

UNC. lari 及び UPTC の *msrA* は、N 末端の 90 残基付近までは *C. jejuni* の *msrA* と高い相同性を示した。しかし、nucleotide position (np) 290 以降での残基置換、np333 及び np348 での残基の欠失によるフレームシフトにより、C 末端側の相同性は低くなっていた。また、1 株の自然環境由来の UPTC では、np379 にアデニンが 1 塩基挿入され、従ってフレームシフトを生じ、その結果この株の *msrA* は偽遺伝子である可能性が示唆された。

以上のように自然環境由来及び生体（ヒト及びカモメ）由来の UPTC の *cdtB*、*ciaB* 及び *msrA* の病原因子

は、それぞれに特徴有る変異の箇所が見られた。このような結果から、由来の異なる UPTC の病原因子中に存在する変異の箇所、更に *C. lari* 及び *C. jejuni* の病原因子間で存在する変異の箇所が、*Campylobacter* が有する病原因子において、機能的及び構造的に重要な役割を果たす領域である事が示唆される。

以上の様な結果は、*Campylobacter* の病原遺伝子は種間及び株間で多様に変化することで、その病原性の程度を変化させているものと予想される。特に、運動性、付着性及び侵襲性に大きく関わるべん毛の変異は、*Campylobacter* 生物の病原性の有無の大きな要因となる事が強く示唆された。

4. 参考文献

- Parkhill J *et al.*, Nature, 403, 665-668 (2000)
Matsuda M and Moore J E, Appl. Environ. Microbiol, 70, 4415-4418 (2004)
Thibault P M *et al.*, J. Biol. Chem, 276, 34862-34870 (2001)
Logan S M *et al.*, Mol Microbiol, 2, 587-597 (2002)
Yao R *et al.*, Mol Microbiol, 5, 883-893 (1994)