

第27回麻布環境科学研究会 一般講演12

Autoinducer2の産生に必須な *luxS* 遺伝子の *Campylobacter* 属内における偏在性

田積 晃浩¹, 関塚 剛史¹, 富山ゆかり¹, 村山 洋¹, Millar B. Cherie²,
Moore John E.², 高宮信三郎³, 松田 基夫¹

¹麻布大・環境保健・遺伝子生物, ²N. Ireland public Health Lab・Belfast, UK,

³順天堂大・医・熱帯医・寄生虫病

はじめに

生物は様々な情報伝達の機構を持っている。一番単純な生物である細菌においても、多くの巧妙な機構を用いて様々な条件下での生存戦略をとっている。その中に Quorum sensing (細胞密度依存的遺伝子発現制御機構) と呼ばれる細菌細胞間情報伝達機構がある (Federle and Bassler 2003)。Quorum sensing は病原性の発現, 抗生物質産生, 共生, 更にバイオフィルムの形成など多くの種類の細菌の行動に関わる生理的機能を制御している。そして, Quorum sensing は細菌の産生するホルモン様物質 (autoinducer; AI) を介した遺伝子の制御システム機構である。

現在, AI 分子は3種類に大別されており, 1つにはグラム陰性菌で見られる acyl homoserine lactone (AHL, AI-1) 誘導体, 第2にグラム陽性菌で見られる oligopeptide, そして第3にグラム陰性, 陽性菌に共通して存在する furanone 誘導体 (AI-2) が報告されている。AI-2 は脱リン酸化反応によりターゲット遺伝子の発現を調節する。現在, 30種を越える細菌がこの AI-2 を介した Quorum sensing 機構を有していることが報告されている。細菌は, 菌種特異的な AI (AHL あるいは oligopeptide) を介して環境中の自身の濃度を感知するとともに, 共通の AI-2 を感知することにより細菌叢全体の中の自身の置かれている状況を察知しているようである。そして, AI-2 の生成には *luxS* 遺伝子がコードしている AI-2 synthase (S-ribosylhomocysteinase) の活性が必須である。

Campylobacter はグラム陰性のらせん状桿菌であり, ヒトや動物に食中毒等のカンピロバクター症を引き起こす菌種を含んでいる。現在, *C. jejuni* で *luxS* 遺伝子の存在が知られており (Elvers and Park 2002), 更に *C. jejuni* においては AI-2 を介した病原遺伝子の発現調節が報告されている (Jeon *et al.* 2003; 2004)。そこで, 本研究では, 人畜共通感染症の起因菌である *Campylobacter* 属菌の *luxS* 遺伝子及びそのホモログに着目し解析した。

材料及び方法

今回の研究では, *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* [n=2; urease negative *C. lari* (UN *C. lari*), n=2; urease positive thermophilic *Campylobacter* (UPTC)], *C. upsaliensis*, *C. fetus* 及び *C. hyointestinalis* から成る合計6菌種のそれぞれ4株合計24株を用いた。まず, 既に DDBJ/EMBL/GenBank に登録されている *C. jejuni* 及び *C. coli* の *luxS* 遺伝子の塩基配列を基に *in silico* に *Campylobacter* 属の *luxS* 遺伝子を増幅するための degenerate プライマーを構築し PCR を行った。更に, *C. jejuni* JCM2013 株の PCR 産物を基に *luxS* の DIG 標識プローブを作成し, サザンブロットハイブリダイゼーションを行い *luxS* 遺伝子及びそのホモログの存在の有無を調べた。

結果及び考察

まず, degenerate プライマーを用いた PCR の結果,

C. lari 及び *C. hyointestinalis* の全ての株と、*C. upsaliensis* と *C. fetus* の一部の株で *luxS* の増幅断片が認められなかった。それ以外の株では増幅断片が認められた。一方、サザンブロットハイブリダイゼーションでは *C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis* 及び *C. fetus* の全ての株で陽性シグナルが検出されたが、*C. lari* 及び *C. hyointestinalis* では如何なるシグナルも検出されなかった。

次いで、ゲノム解析が行われ既に登録されている *Campylobacter* 属菌 (*C. jejuni* NCTC11168, *C. coli* RM2228, *C. upsaliensis* RM3195, *C. fetus* 82-40, *C. concisus* 13826, *C. curvus* 525.92, *C. hominis* ATCCBAA-381) から *luxS* 遺伝子の塩基配列を求め、アライメントし比較解析を行ったところ、それらの配列の類似性は種間において 63 ~ 84 % と高い値を示した。一方、今回の我々の解析で *luxS* 遺伝子が検出されなかった *C. lari* では RM2100 株がゲノム解析されているが、この株の塩基配列の中では *luxS* の存在は確認されていない。更に、*Campylobacter* 属菌の登録されている *luxS* 遺伝子の塩基配列は、遠縁種である *Escherichia coli* E24377A の *luxS* 遺伝子のそれと高い類似性 (60 % 以上) を示した。このことから、PCR 及びサザンブロットサイブリダイゼーションにより、*C. lari* と *C. hyointestinalis* から *luxS* 遺伝子が検出されなかったのは、ゲノム DNA 上に *luxS* 遺伝子あるいはそのホモログが存在しないことに起因しているものと判断される。

細菌における AI-2 の作用機序の 1 つとして、複数の細菌種が存在しているバイオフィーム中で、ある種の細菌細胞内で生成された AI-2 分子が細胞膜を介して外に分泌され、異種の細菌種内で利用される方

式がある。それ故に、今回の研究により *luxS* 遺伝子が存在していないことが明らかとなった、*C. lari* 及び *C. hyointestinalis* においても AI-2 のレセプターが存在すれば、他菌種の産生した AI-2 分子を利用することは可能であると考えられる。*C. lari* 及び *C. hyointestinalis* もヒトに感染しカンピロバクター症を引き起こすが、その分離報告例は *C. jejuni* や *C. coli* に比べ明らかに少ない。*C. lari* に関しては、我々の研究室での文献的調査では 1984 年の Nachamkin らのアメリカでの初めての報告 (Nachamkin *et al.* 1984) 以後、23 年間で約 30 症例 110 株である。その要因として病原性及び感染性の低さが示唆されているが、今回の研究でその要因の 1 つに、病原遺伝子の発現制御に強く関与する AI-2 の生成に必要な *luxS* 遺伝子の欠損にある可能性が強く示唆された。

文献

- Elvers K. T. and Park S. F. (2002) Quorum sensing in *Campylobacter jejuni*: detection of a *luxS* encoded signalling molecule. *Microbiology* 148, 1475-1481.
- Federle M. J. and Bassler B. L. (2003) Interspecies communication in bacteria. *J. Clin. Invest.* 112, 1291-1299.
- Jeon B. *et al.* (2003) Effects of quorum sensing on *flaA* transcription and autoagglutination in *Campylobacter jejuni*. *Microbiol. Immunol.* 47, 833-839.
- Jeon B. *et al.* (2005) Promoter analysis of cytolethal distending toxin genes (*cdtA*, *B* and *C*) and effect of a *luxS* mutation on CDT production in *Campylobacter jejuni*. *Microbiol. Immunol.* 49, 599-603.
- Nachamkin I. *et al.* (1984) *Campylobacter laridis* causing bacteremia in an immunosuppressed patient. *Ann. Intern. Med.* 101, 55-57.