病原菌の鉄獲得機構

山本重雄¹・篠田純男²

岡山大学薬学部¹ 衛生化学教室, ² 環境衛生化学教室
〒700 岡山市津島中1-1-1

〔受理：1995年11月20日〕

鉄（イオン）はほとんどの生物の生存と増殖に不可欠な元素である。しかし、宿主生体における鉄は大部分が結合型やヘム鉄として存在し、細菌が自由に利用できる遊離鉄は極めて少ない。これは有害な活性酸素の生成防止と共に細菌感染症に対する非特異的生体防御機構の一つとなっている。それ故、宿主生体中で増殖し得る病原菌は何らかの巧妙な鉄獲得系を保持している筈である。鉄欠乏下に発現する2つの鉄獲得系が明かにされている：1) Fe^{3+} に高親和性の輸送キレート剤、シデロフォア（siderophore, siderochrome と呼ばれる）を産生し、トランスフェリンやラクトフェリンに結合している鉄を奪い取り、そのコンプレックスに特異的なレセプターを介して鉄を取り込む系；2) トランスフェリン、ラクトフェリン、ヘムに結合している鉄をそれぞれに特異的なレセプターを介して直接利用する系。この能力は細菌の生体内増殖を可能にするので、病原性（強化）因子の一つと考えられている。近年、分子生物学的あるいは分子遺伝学的手法を用いて、これら鉄獲得系の発現調節機構や病原性強化における役割が個々の病原菌についてより詳細に解明されつつある。さらに、鉄獲得に関与する遺伝子群と共に鉄獲得に直接関係のない病原因子遺伝子の発現も鉄欠乏に呼応して増加し、これに係わる統括的（global）調節因子の存在が明かにされた。病原菌の鉄獲得機構の解明は感染症防御のための新たな手段、戦略を提供する可能性を秘めている。

1. はじめに

鉄（イオン）はほとんどの生物の生存、増殖に不可欠の元素であり、必ず何らかの方法で外界から取り込まなければならない（67）。1944年、Waring と Werkman（195）はたとえ他の栄養素が豊富であっても鉄を培地から除去すると増殖が阻止されることを示し、これが細菌における鉄の必須性を示した最初の報告とされている。一般に、細菌の至適増殖には遊離鉄として 0.05–0.5

μM を必要とする（111）。しかしながら、宿主生体の鉄は大部分が結合鉄やヘム鉄として存在し、細菌が容易に利用できる遊離鉄濃度は極めて低い（ $10^{-12} \mu\text{M}$ ）（24）。その上、細菌の侵入に応答して、宿主生体は体液中の遊離鉄濃度をさらに低下させる機構（hypoferremic response）を作動させる（196）。従って、このような鉄欠乏状態を克服して宿主内で増殖することのできる細菌は何らかの効率的鉄獲得手段を持っている筈である。Jackson と Burrows はペスト菌がヘム（heme；Hm）結合性を失うとビルレンスがなくなるが、無機鉄や Hm の投与によってビルレンスが回復することを発見した（90）。これが鉄と病原性発現に関する研究の嚆矢とされている。鉄要求性は

Shigeo YAMAMOTO and Sumio SHINODA
Iron Uptake Mechanisms of Pathogenic Bacteria
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Okayama University,
1-1-1 Tsushima-naka, Okayama 700

栄養要求性の一環であるが、上記の生体側の対応から考えて鉄獲得能力の有無は病原性発現における重要な因子の一つであると言える。細菌感染症は宿主と病原菌との複雑な多因子の相互作用の結果として成立するが、その共通する必須の前提はまずそれらが宿主生体中で生存し、増殖しなければならないことである。

この分野の研究は分子生物学的ならびに遺伝学的手法を駆使してここ数年の間に急速に進展してきた。大腸菌以外の病原菌でも鉄獲得系やその制御に関与する遺伝子群のクローニングがなされ、共通性と多様性が明かにされつつある。一方、遺伝子破壊法などを用いて鉄獲得系の病原因子としての重要性をより直接的に証明しようとする試みもなされている。

本稿では、まず生体防御機構の観点から生体鉄の動態について述べ、次に、鉄獲得様式を各病原菌毎に分類、整理する。さらに、最近の知見に基づき鉄獲得に関与する遺伝子群の発現調節機構を比較、概説すると共に、鉄欠乏ストレスに応答した溶血毒などの病原因子の産生調節機構についても紹介する。

2. 宿主生体内鉄の動態

成人は3-4 gの鉄を保持しているが、そのほとんどはフェリチン (ferritin)、ヘモンデリン (hemosiderin) あるいは Hm 化合物として細胞内に存在している (141) (表1)。その内の2.5 g位がヘモグロビン (hemoglobin; Hb) として赤血球中に存在する。溶血によって血清中に遊離した Hb は直ちにハプトグロビン (haptoglobin; Hp) に結合し、細網内皮系細胞によって循環系から除去される。さらに、Hb から遊離する Hm

は主にヘモペキシン (hemopexin; Hx) に結合し、肝に運ばれ分解される。一方、フェリチンは大腸菌からヒトまで広く分布している細胞内鉄貯蔵蛋白質である。哺乳動物では肝フェリチンが鉄の恒常性に寄与している。リソソーム中に存在するヘモンデリンはフェリチンの分解に由来する不溶性の顆粒であるが、その役割は明かでない。

細胞外鉄は鉄結合性糖蛋白であるトランスフェリン (transferrin; Tf) やラクトフェリン (lactoferrin; Lf) に強固に結合して存在している。Tf は主に血液やリンパ液中に、Lf は粘膜分泌液 (母乳、涙、鼻汁、唾液、気管支粘液、胃腸分泌液、胆汁、子宮粘液、精液) や好中球、マクロファージ内 (196, 197) に存在し、特に Lf は感染炎症患部での殺菌物質と考えられている。Tf は主に細胞へ鉄を輸送する機能を担っており、その血中濃度は $20 \mu\text{M}$ 位である (196)。両蛋白質とも2分子の Fe^{3+} を結合することができるが、通常は部分的にしか飽和されていない (20-40%)。従って、正常なヒト体液の遊離鉄濃度はせいぜい $10^{-12} \mu\text{M}$ であり、これは細菌の増殖に必要な濃度 ($0.05\text{-}0.5 \mu\text{M}$) と較べてはるかに低い。

細菌感染に呼応して、非特異的生体防御機構 (hypoferremic response) が作動し、宿主の血液や組織液中遊離鉄濃度をさらに減少させる。このメカニズムは完全には解明されていないが、次のように考えられている (196, 202)。内毒素のような細菌成分によって種々のサイトカイン、特にインターロイキン-1 や $\text{TNF-}\alpha$ 、の遊離が刺激され、次いで好中球からのアポ-Lf の遊離や肝フェリチンの合成が亢進し、それらに鉄が吸収される結果、血液中の遊離鉄濃度が減少する。Hp の合成も促進されるが、これは血中の遊離 Hb 量を減

表1. 成人における鉄の分布

細胞内	細胞外
ヘモグロビン (2300 mg)	トランスフェリン, ラクトフェリン (3 mg)
ミオグロビン (320 mg)	ハプトグロビン-ヘモグロビン
フェリチン (700 mg)	ヘモペキシン-ヘム
ヘモンデリン (300 mg)	
ヘム酵素 (80 mg)	
非ヘム酵素 (100 mg)	

少させる。また、感染の初期には腸管からの鉄吸収が減少する。

さらに、インターフェロン- γ 活性化マクロファージや単球における Tf-レセプターの発現減少が知られている (202)。また、NO (nitric oxide, 窒素酸化物) がインターフェロン- γ との共同作用で細胞内非ヘム鉄の流出を起こすことも明かにされている (198)。これらは細胞内不安定鉄 (labile iron) の量を減少させるので、Tf や Lf による体液中遊離鉄の捕獲 (iron withholding) と区別して細胞内鉄枯渇 (intracellular iron depletion) に基づく感染防御機構と呼ばれている (198)。前者は細胞外寄生菌の、後者は細胞内寄生菌の増殖阻止に効果的な機構である。

宿主生体が鉄制限状態であることは実際の感染症における病原菌の鉄獲得系 (シデロフォア産生や鉄制御外膜蛋白の発現) の発現や抗鉄制御外膜抗体の産生によっても証明されている (68)。

一方、逆に鉄の過剰負荷は細菌感染症に対する感受性を高めると考えられるが、このことは実験動物で多くの病原菌において確認されている (107, 196)。ヒトではヘモクロマトーシス患者や治療目的で鉄剤を投与された子供などで、*Vibrio vulnificus* (25), *Yersinia enterocolitica* (116), 大腸菌 (7, 8) に易感染性となることが示されている。しかし、鉄の過剰は細胞性免疫や白血球殺菌作用などの生体防御機構を障害するので、易感染性となるのは鉄による病原菌の増殖促進ばかりではないとする考えもある (107)。

3. 鉄獲得様式の分類

一般に、遊離鉄が自由に利用できる場合、細菌は低親和性輸送系を介してそれを取り込むと考えられている。この系はまだよく解明されていないが、5-10 μM 以上の遊離鉄が存在する時に作動する (129)。鉄制限 (一般に 0.5-1 μM 以下) になると、十分な細胞内鉄を確保すべく高親和性の獲得系が発現する。大腸菌をはじめ腸内細菌科の菌種における高親和性鉄獲得系の病因学的あるいは分子遺伝学的研究は膨大であるので、これらについての詳細は総説 (19, 142) も参照されたい。

病原菌による宿主生体からの高親和性鉄獲得様式は 2 種に大別できる。一つは病原菌の産生す

るシデロフォアを介する遊離鉄や Tf, Lf 鉄の利用である。もう一つは生体鉄源 (Hm, Hm 含有蛋白, Tf, Lf) のレセプターを介する直接利用である。いずれの場合にも、鉄欠乏に応答してシデロフォアや外膜レセプターを迅速に産生、発現し、能率的に鉄を取り込むことが特徴である。なお、シデロフォアは Hm から鉄を奪い取ることはできない。病原菌の利用できる生体鉄源と産生されるシデロフォアを表 2 にまとめた。

1) シデロフォアを介する鉄獲得系

シデロフォアは Fe^{3+} に高親和性を示す鉄輸送キレート剤で、鉄欠乏に応答して一般に好気性ならびに通性嫌気性菌によって産生、分泌される。シデロフォアは構造的 (キレート形成に参与する官能基によって) に 3 種に分類される: 1) カテコレートあるいはフェノレート (2,3-di-hydroxyphenyl 基あるいは 2-hydroxyphenyl 基); 2) ヒドロキサメート [$-\text{N}(\text{OH})-\text{CO}-$]; 3) ポリカルボキシレート [$-(\text{COOH})_n-$]。それらの代表例の構造を図 1 に示す。シデロフォアとして単離、構造決定された物質のほとんどは Tf から鉄を奪い取ることができるが、Lf からは奪い取れないものもある。化学構造などは引用文献を参照されたい。

腸内細菌科の菌種 (*Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Shigella*) がカテコール型シデロフォアであるエンテロバクチン (enterobactin; enterochelin と呼ばれる) を産生することは 1970 年代初頭から知られていた (134)。エンテロバクチンは Fe^{3+} に対して非常に高い親和性を示す。しかし、ビルレンスへの寄与は実験方法に問題がありとする異論もあるが、次の理由から概して否定的である: エンテロバクチンは水に解け難く、蛋白に吸着され易い。しかもこれに対する抗体が産生され不活性化される、などである (110)。なお、エンテロバクチンの生合成や取り込みに関する遺伝子は全て染色体上にコードされている。

ところが、1979 年、Williams は血清耐性、上皮細胞附着性、運動性などのビルレンス因子を決定する大腸菌プラスミド、pColV-K30 が新しい鉄獲得系を持っていることを発見し、このビルレンス因子がシデロフォアであることを明かにした (200)。その後、このシデロフォアは既に

表2. 病原菌の生体鉄利用とシデロフォア産生

菌 種	利用できる生体内鉄源	産生されるシデロフォア	その他
<i>Acinetobacter baumannii</i>		Acinetobactin (208)	
<i>haemolyticus</i>		Acinetoferrin (137)	
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Hm, Hb (50), Tf (133)		
<i>Aeromonas caviae</i>	Hm, Hb, Hp-Hb, Tf (112)	Amonabactin (29,182)	
<i>hydrophila</i>	"	"	
<i>sobria</i>	"	"	
<i>salmonicida</i>	Tf, Lf (34)	"	
<i>Bacteroides fragilis</i>	Hm, Hb (140)		
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Tf, Lf (117)	Bordetellin (Alcaligin) (123)	
<i>pertussis</i>	"	"	
<i>Brucella abortus</i>		2,3-Dihydroxybenzoic acid (109)	
<i>Campylobacter jejuni</i>	Hm, Hb, Hx-Hm, Hp-Hb (148)	構造未決定 (57)	
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>		コリネバクチン (構造未決 定) (160)	
<i>Escherichia coli</i>	Hm (130), Tf, Lf (23, 130)	エロバクチン (18, 194) エンテロバクチン (134)	
<i>Haemophilus influenzae</i>	Hm, Hb, Hx-Hm, Hp-Hb, Tf (84,149)		
<i>ducreyi</i>	Hm, Hb, Hp-Hb (101)		
<i>Helicobacter pylori</i>	Hm, Lf (88)	構造未決定 (89)	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		エロバクチン (128), エンテロバクチン (145)	
<i>Legionella pneumophila</i>			鉄還元酵素 (93)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Tf (43, 78)		ペプチド性還元剤 (43)
<i>Mycobacterium species</i>		マイコバクチン類 (170)	
<i>tuberculosis</i>		エキソキリン (63)	
<i>smegmatis</i>		エキソキリン MS (168)	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Lf (?) (188)		
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Tf, Lf (31)		
<i>Neisseria species</i>	Hm, Hb, Hp-Hb (51)		
<i>gonorrhoeae</i>	Tf, Lf (118,119)		
<i>meningitidis</i>	"		
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Hm, Hx-Hm, Hb, Hp-Hb (16), TF (181)		溶血毒 (36), プロテアーゼ (32, 49)
<i>Pseudomonas species</i>		ピオベルジン類 (1)	
<i>aeruginosa</i>	Tf, Lf (21)	ピオキリン (45)	
<i>cepacia</i>			ピオシアニン (44) プロテアーゼ (21)
<i>Salmonella species</i>		ピオキリン (171) エロバクチン, エンテロバクチン (142)	

<i>Serratia marcescens</i>	Hm(103)	エロバクチン (142), Serratiochelin(53)
<i>Shigella</i> species	Hm, Tf, Lf(99)	エロバクチン, エンテロバクチン (143)
<i>Staphylococcus</i> species		Staphyloferrin A, B(73, 98)
<i>aureus</i>	Hb, Hp-Hb(58), Tf, Lf(127)	
<i>Streptococcus mutans</i>		鉄還元 (55)
<i>pneumoniae</i>	Hm, Hb(178)	
<i>pyrogens</i>	Hb, Hp-Hb(58)	
<i>Vibrio anguillarum</i>	Hm(114)	アングイバクチン (91)
<i>cholerae</i>	Hm, Hb(82)	ビブリオバクチン (69)
<i>fluvialis, furnissii</i>		Fluvibactin(206)
<i>hollisiae, mimicus</i>		エロバクチン (138)
<i>parahaemolyticus</i>	Hm, Hb(205), TF(207)	Vibrioferriin(204, 209)
<i>vulnificus</i>	Hm, Hb, Hp-Hb(81)	Vulnibactin(136) プロテアーゼ (132)
<i>Yersinia pestis</i>	Hm, Hb, Hx-Hm(144)	
<i>enterocolitica</i>	"	2,3-Dihydroxybenzoyl-L-serine, エルシニアバクチン (構造未決定) (74)
<i>pseudotuberculosis</i>	"	
environmental strains		エロバクチン (177)

Hm, ヘム ; Hb, ヘモグロビン ; Hx-Hm, ヘモベキシン-ヘム ; Hp-Hb, ハプトグロビン-ヘモグロビン ; Tf, トランスフェリン ; Lf, ラクトフェリン

図1. 代表的なシデロフォアの構造
(A) エンテロバクチン, (B) エロバクチン, (C) Vibrioferriin

Aerobacter (Klebsiella) aerogenes において発見されていたヒドロキサケート型シデロフォアであるエロバクチン (aerobactin) と同一であることが示された (18, 194)。エロバクチン産生は腸内細菌科の菌種に広く認められたが、大腸菌や *Shigella* のいくつかの株では染色体性であること

も明かにされている (142)。主に疫学調査の結果からエロバクチン産生能は敗血症、尿道感染、髄膜炎を起こす細胞外寄生性大腸菌のビルレンス因子であることが示唆された (110)。腸管上皮細胞侵入性の *Shigella*, *Salmonella* も高頻度でエロバクチンを産生するが、実験動物モデルの結果

は細胞内増殖にはそれを必要とせず（細胞内は一般に鉄豊富と考えられている（142））、むしろ腸管内定着（増殖）に必要であることを示唆した（142）。しかし、エロバクチンは *Yersinia* 属菌ではペスト菌、*Y. enterocolica*、*Y. pseudotuberculosis* には検出されず、環境由来の非病原菌種でしか検出されていない（177）。*Y. enterocolitica* では新規のシデロフォアである *yersiniabactin*（エルシニアバクチン、構造未決定）の存在とその病原性因子としての可能性が示唆されている（74）。最近、私達は *V. hollisae*、*V. mimicus* もエロバクチンを産生することを明らかにした（138）。大腸菌のエロバクチン遺伝子との関連を明かにすべくさらに検討中である。

魚類病原菌 *V. anguillarum* でもプラスミド（pJM1, 65 kbp）上に乗っているビルレンス因子として鉄獲得系が発見され、アングイバクチン（anguibactin）の構造（91）や関連遺伝子のオーガナイゼーション（47）が明かにされた。アングイバクチンと同様に N-hydroxyhistamine 残基を持つ珍しい構造の acinetobactin が日和見感染菌の *Acinetobacter baumannii* から単離された（208）。

ジフテリア菌は以前から新規シデロフォア（コリネバクチン、corynebactin）を産生することが報告されている（160）が、まだ構造は決定されていない。毒素を多量に産生するにも拘わらずビルレントでない Park-Williams 8 株はコリネバクチンを産生できない（161）。つまり、シデロフォア産生能がビルレンスに関与することを示している。

最近構造決定された *Staphylococcus* 属菌の staphyloferrin A, B（73, 98）や腸炎ビブリオの vibrioferrin（209）はいずれも新規なポリカルボキシレート型シデロフォアである。*Bordetella bronchiseptica* や百日咳菌のシデロフォアは海洋細菌の *Alcaligenes denitrificans* が産生する alcaligin と同一であることが最近明かにされた（123）。腸炎ビブリオや百日咳菌のシデロフォアは Tf あるいは Lf 鉄の利用に役立つことが示された（117, 207）。Payne らはコレラ菌のシデロフォア、ビブリオバクチン（vibriobactin）はその病原性発現に一切寄与しないと報告していた

が、最近欠損株を用いて再検討し、病原性発現における本シデロフォア産生の重要性を確認している（82）。*V. fluvialis*、*V. vulnificus* もビブリオバクチンに類似のノルスベルミジン（異常ポリアミンの1種）を骨格とするカテコレート型シデロフォアを産生する（136, 206）。

Mycobacterium 属菌では細胞結合性のマイコバクチン類（mycobactins）（170）の他に、有機溶媒に対する溶解性によって区別される2種の細胞外シデロフォア、エキソキリン類（exochelins）の存在が知られていた。最近、結核菌や *M. smegmatis* のエキソキリンが構造決定された（63, 168）。特に、後者のエキソキリン MS は全く新規な構造体である。*Halicobacter pylori* では相反する報告がなされている：ヒト Lf を特異的に直接利用し、シデロフォアを産生しない（88）；シデロフォアを産生し、Tf、Lf の直接利用はない（89）。この矛盾は今後解明されなければならない課題であろう。

Pseudomonas 属菌では 2,3-diamino-6,7-dihydroxy-quinoline に種々のペプチド鎖の付いたピオベルジン類（pyoverdins；pseudobactins と呼ばれる）が検出されている（1）。緑膿菌はピオベルジンに加えてピオキリン（pyochelin）も産生し（45）、さらに本菌の分泌するプロテアーゼ（鉄制限下に増加する）との共同作用で Tf や Lf 鉄の利用に寄与する（21）。さらに、鉄欠乏下に産生量の増加する還元性色素ピオシアニン（pyocyanin）が Tf から Fe^{2+} としての遊離を促進することも示されている（44）。ピオキリンは Fe^{3+} と 2:1 のキレートを形成するが、この鉄は Haber-Weiss 反応を触媒することができる。従って、感染部位で好中球などに由来する $\cdot\text{O}_2^-$ や H_2O_2 から $\cdot\text{OH}$ の産生を促進し、本菌の特徴である組織障害を惹起する（22）。このことはシデロフォアの新たな生物活性として注目されている。

2) 直接的鉄獲得系

a. ヘム鉄の利用

多数の病原菌が *in vitro* で Hm や Hb を唯一の鉄源として増殖できる（表2）。しかし、これらは一般に赤血球中に存在するので、病原菌が利用するためには溶血毒などの作用で遊離させる必

要がある。溶血毒の産生は多くの病原菌で報告されており、さらにサイトリシンなどの細胞障害性毒素の産生は出血に伴う Hm 鉄の供給を可能にする。これら毒素の産生は特に腸管、粘膜上皮感染菌あるいは血管移行性菌には有利に働くであろう。例えば、大腸菌の産生する α -溶血毒は Hm 鉄を供給し、ビルレンスを高めることが明かにされている (193)。エロバクチンを産生しない血液由来株の55%が溶血毒を産生しており、代替的鉄獲得系として機能していることを示している (139)。また、溶血毒産生は鉄欠乏に応答して増加することも報告されているが、鉄制御病原因子発現の例はまとめて後述する (表3参照)。

Shigella 属菌は細胞表面に Hm を吸着し、この能力はビルレンスと関係することが知られている (113)。しかし、この能力のない変異株でも Hm を利用し増殖できる。従って、*Shigella* 属菌は Hm の鎧を付けることによって生体の殺菌機構を回避し、さらに宿主細胞の Hm レセプターを介するエンドサイトーシスを容易にし、細胞侵襲性を発揮すると考えられている (143)。これはトロイの木馬効果 (Trojan horse effect) と呼ばれ、ペスト菌の Hm 吸着にも同様の効果が推定されている (144)。

Porphyromonas gingivalis の産生する溶血毒は歯周ポケットでの Hm 供給に重要であることが指摘されている (36)。肺炎球菌の Hm 利用欠損株ではビルレンスの低下が示されている (178)。また、コレラ菌の Hm 利用欠損株では下痢原性が著しく低下した (82)。腸管定着ができなくなるためであろう。

ところが、Eaton ら (52) は Hb 投与による大腸菌のラットに対する致死活性が Hp の同時投与によって中和されることを見出した。これは大腸菌が Hp-Hb を鉄源として利用できないことを示している。しかしながら、*Campylobacter jejuni* (148)、*Haemophilus* 属菌 (149)、*Neisseria* 属菌 (51)、*P. gingivalis* (16)、黄色ブドウ球菌 (58)、化膿レンサ球菌 (58)、*V. vulnificus* (81) などは Hp-Hb を鉄源として利用できる (表2)。*V. vulnificus* では金属プロテアーゼが Hb や Hp-Hb からの Hm の遊離を促し、その利用性を高める (132)。同様のことが *P. gingivalis* においても報

告されており (32)、鉄獲得におけるプロテアーゼの重要性が指摘されている。

最近、*Serratia marcescens* は鉄制限下に細胞外 Hm 結合蛋白 (HasA, 19 kDa) を分泌し、これを介して Hm や Hb 鉄を利用するという興味深い報告がなされた (103)。*hasA* 遺伝子はクローニングされ、塩基配列も決定されている。*hasA* 変異は Hm, Hb を鉄源として利用できなくする。本蛋白は Hb からの Hm の遊離を促し、推定されている HasA-Hm レセプターを介して取り込まれるのであろう。Hp による Hb の捕獲を回避する手段であり、この系は他の病原菌にも存在する可能性がある。

b. トランスフェリン、ラクトフェリン鉄の利用

大腸菌や緑膿菌では Tf や Lf 鉄の利用はシデロフォアを介して行われる。しかし、髄膜炎菌や淋菌はシデロフォアを産生しないにも拘わらず、ヒト Tf や Lf を鉄源として利用でき (118, 119)、また、外から加えたヒト Tf は髄膜炎菌の病原性を促進した (86)。これらの利用には鉄欠乏下に発現するエネルギー依存性で、菌体との接触を必要とする系 (レセプターの関与) が提案された (6, 115)。その後、それらの鉄制御外膜レセプターが決定され (後述)、利用性と一致してレセプターとの結合においてヒト Tf, Lf に対する高い特異性が証明された (167)。

一方、*Haemophilus* 属菌では *H. parainfluenzae*, *H. paraphrophilus*, *H. parasuis* はシデロフォアを産生するが、*H. influenzae* (インフルエンザ菌)、*Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* は産生しないと報告されている (125)。b 型インフルエンザ菌はヒト Tf は利用できるが、Lf は利用できない (84, 149)。また、non-typeable、非病原性インフルエンザ菌は Tf を利用できないので、この能力は本菌種の病原性とよく一致している (84)。しかも、Tf に関して髄膜炎菌、淋菌ほどではないが種特異的利用が認められている (126, 133)。

百日咳菌は Tf や Lf 鉄を直接およびシデロフォアを介して利用できるが、前者の系がずっと効果的な機序である (117)。*P. gingivalis* ではプロテアーゼによる Tf の分解による鉄利用の促進が知られていたが (49)、最近、Tf レセプターを介

する直接利用の可能性も報告された (181)。*Mycoplasma pneumoniae* ではヒト Lf との結合性が報告されているが、実際に Lf を唯一の鉄源として増殖できるかどうかは不明である (188)。なお、Tf, Lf の直接利用に関しての詳細は Williams と Griffiths (199) がまとめているので参照されたい。

3) その他の鉄獲得系

細胞内寄生菌、*Legionella pneumophila* はシデロフォア非産生性であり、Tf, Lf も利用できず Fe^{3+} の取り込み系を持っていない。ペリプラスムに鉄還元酵素 (ferric reductase) 活性が認められている (93)。しかし、その病因論的意義は不明であり、また Hm 鉄の利用性についての報告はない。細胞侵襲性菌 *Listeria monocytogenes* は Tf の鉄を還元し Fe^{2+} として遊離させる 8-10 kDa のペプチド還元剤を産生するが、この反応は非特異的である (43)。また、本菌では Tf に特異的な鉄制御外膜蛋白が検出され、直接利用も報告されている (78)。*Streptococcus mutans* にも膜局在性鉄還元酵素を介する Fe^{2+} の取り込み系が存在する (55)。

最近、大腸菌でも嫌気下に発現する ATP 依存性 Fe^{2+} 取り込み系が見出され、関与する 2 つの遺伝子 (*feoAB*) がクローニングされた (94)。*feoAB* の上流には鉄制御遺伝子のレプレッサー

蛋白 (Fur, 後述) の結合部位が、また FeoB には traffic ATPase (3) に共通のヌクレオチド結合部位が見つかった。

以上のように、複数のシデロフォアを産生したり、複数の生体鉄源を利用する病原菌もあるが、これは感染の経路、部位、時期によって刻々変化する鉄源に対応して効率的に鉄を獲得するためであろう。さらに、変異などによる欠失を補うためのバックアップシステムとも考えられる。

4. 鉄獲得に関与する遺伝子群と発現調節の分子機構

1) シデロフォアの生合成と Fe^{3+} -シデロフォアの輸送系

表 2 に示すように、多数の病原菌からシデロフォアが単離、構造決定されているが、それらの生合成経路や Fe^{3+} -シデロフォア輸送系が調節機構を含めて遺伝子レベルではほぼ解明されているのはエンテロバクチンとエロバクチンのみである (47, 70, 169)。大腸菌における両シデロフォアの生合成と輸送に関与する遺伝子クラスターおよびそれらの制御様式を図 2 に示す。Fur (ferric uptake regulation) は大腸菌において発見された統括的 (global) なレプレッサー蛋白で、鉄豊富下ではコレプレッサーである Fe^{2+} と結合し、特定の DNA コンセンサス配列 (Fur box) を認識

図 2. 大腸菌エンテロバクチンおよびエロバクチン系遺伝子の Fur 制御機構
■ は Fur box を示す。文献168を一部改図。

し、当該遺伝子の発現を抑える (Fur レギュロンと呼ばれる) (Fur, Fur box の詳細は後述)。しかし、鉄欠乏時には Fur-Fe^{2+} は形成されなくなり、転写阻止は解除される。

エンテロバクチンは図 1 に示すように 2,3-dihydroxybenzoylserine 3 分子がエステル結合で閉環しており、その合成と輸送には染色体上の 13 個の *ent-fep* 遺伝子群が関与する。EntCBA はコリスミン酸からの 2,3-dihydroxybenzoic acid の合成を、さらに EntDEF がセリンとの反応と閉環を行う (169)。エンテロバクチンは合成されると速やかに排出されるものと考えられているが、排出系の詳細は明かでない。 Fe^{3+} -エンテロバクチンは外膜レセプター、FepA (80 kDa) に結合し、TonB-ExbBD の助けによって外膜を通過する (図 3 A)。一般に、 Fe^{3+} -シデロフォアのレセプターに対するミカエリス-メンテン定数は $0.1 \mu\text{M}$ 以下で高親和性を示す (146)。基質の結合によってレセプターのコンフォメーション変化が起こり、その結果 TonB [26 kDa, プロリン含量 17% (155)] と相互作用するようになり、それからのプロトン駆動力によってレセプターのゲートが開き、輸送される (154)。*S. typhimurium*, *S. marcescens*, *Y. enterocolitica* など腸内細菌科の

菌種 (97), インフルエンザ菌 (92), *P. putida* (13) の *tonB* もクローニング, 解析されている。

これまでに検討されたグラム陰性菌の Fe^{3+} -シデロフォア外膜レセプターは全て TonB 依存性であり、それらの N-端付近に TonB と相互作用するのに必要な特異なアミノ酸配列がある (TonB box)。TonB box に対応するペプチド (Glu-Thr-Val-Ile-Val) を外から加えると TonB 活性を阻害することが示されている (190)。しかし、枯草菌の Fe^{3+} -ヒドロキサメート型シデロフォアの輸送系では、内膜に結合しているリポ蛋白 (FhuD 様蛋白, 図 3 B 参照) がレセプターとして機能し、TonB は存在しない (166)。ジフテリア菌においても鉄制限下に発現する内膜結合リポ蛋白をコードする遺伝子がクローニングされ、 Fe^{3+} -コリネバクチンのレセプターの可能性が示唆されている (165)。従って、外膜を持たないグラム陽性菌に共通の仕組みと考えられる。TonB の活性ドメインや ExbB との相互作用などの分子レベルでの検討が進行中であり (187), ExbB は TonB を安定化するためにシャペロン様蛋白として機能する (96) ばかりでなく、ExbD と共同で TonB の活性化に寄与する (169)。

図 3. 大腸菌における (A) Fe^{3+} -エンテロバクチンおよび (B) Fe^{3+} -エロバクチン輸送系のモデル
文献70, 168より改図。各蛋白の機能については本文参照。

外膜通過後はペリプラスム結合蛋白 FepB, 次いで内膜蛋白 (FepCDG) によって Fe^{3+} -エンテロバクチンは細胞内に輸送される。内膜通過には FepC から ATP 加水分解エネルギーが供給される。Fes はエステラーゼ活性を持ち、エンテロバクチンを分解することによって鉄の遊離と還元を促進する。FepE の機能は解明されていない。ORF15, 43はそれぞれ15, 43 kDa 蛋白をコードするが、エンテロバクチン系には必要でなく、その存在は謎とされている。

一方、エロバクチンの生合成経路は比較的簡単で、プラスミド上にある4つの遺伝子、*iucABCD* によって行われる (図2)。これら遺伝子の下流には Fe^{3+} -エロバクチンのレセプター遺伝子 (*iutA*) が存在する。IutA (74 kDa) は FepA と同様にモノマーとして機能し、TonB box も存在する。細胞内への輸送は大腸菌の利用できる異種ヒドロキサメート型シデロフォアである coprogen や ferri-chrome の FhuBCD を共用する (図3B) (56)。本系には Fes 様蛋白は存在しない。これはエロバクチンがリサイクルされることを示している。エロバクチンオペロンには両端に IS1 が、さらに近くにプラスミド複製系も存在し、オペロン全体がトランスポゾンとして効率的に移動、機能できるようになっている。*Salmonella* 属菌の FIme 薬剤耐性プラスミドにはほぼ同じエロバクチントランスポゾンが見つかった (37)。

以上のように、レセプターならびに TonB によって、効率的に、しかも特異的にペリプラスムに取り込まれた Fe^{3+} -シデロフォアはペリプラスム結合蛋白依存輸送 (PBT)-traffic ATPase (3) 系によって細胞内に移行される。

V. anguillarum pJM1 に乗っているアングイバクチン系は Crosa グループによって精力的に研究されている (47)。このプラスミドにはその生合成や Fe^{3+} -アングイバクチンの輸送に係わる遺伝子のほかに2つのアクチベーター蛋白、AngR と Taf の遺伝子も存在する (後述)。輸送に関する遺伝子 (*fatDCBA*; FatA, 86 kDa がレセプター) の解析が進んでいる (2) が、*fatA* には Fur box も認められている。生合成経路は未解明であるが、最近、アングイバクチンの一構成成分

の前駆体であるヒスタミンの産生に関与するヒスチジデカルボキシラーゼ遺伝子もこのプラスミド上にあることが示された (185)。しかし、これには Fur box は見つかっていない。

これら以外の菌種では遺伝学的手法上の困難もあり、生合成経路や輸送系の解明は遅れていた。しかし、ここ数年の間に急速に進展した。コレラ菌では Fe^{3+} -ビブリオバクチンのレセプター遺伝子 (*viuA*) とそのすぐ下流に位置する大腸菌 *fes* 遺伝子に類似の *viuB* がクローニング、解析され、それぞれに Fur box が見つかった (27, 28)。一般に Fe^{3+} -カテコール系シデロフォアは細胞内で分解される必要があるように思える。*Y. enterocolitica* の *fyuA* は Fur box を持ち、TonB 依存性のエルシニアバクチン レセプター (65 kDa) をコードすることが示された (158)。なお、本蛋白は pesticin レセプターとしても機能する。緑膿菌のピオキリン、ピオベルジンレセプター (FptA, FpvA, いずれも TonB 依存性) (5, 153) やピオベルジン生合成関連遺伝子群 (189, 192) の解析も進められている。

エンテロバクチンなどのカテコレート型シデロフォアと Fe^{3+} との結合は非常に強い。従って、速やかに排出されないと細胞内鉄の正常な代謝を攪乱する可能性がある。最近、緑膿菌からピオベルジンの分泌に関与する遺伝子群がクローニング、解析された (151)。3つの遺伝子 (*mexA*, *B*, *oprK*) はオペロンを構成し、MexA, B (40, 108 kDa) は細胞質膜に、OprR (50 kDa) は外膜に存在することが示された。このオペロンは鉄制限下に発現するが、その発現調節機構は明かでない。興味深いことに、これらの内のいずれの遺伝子が欠損してもテトラサイクリン、クロラムフェニコール、シプロフロキサシンなどの構造を異にする抗生物質に感受性となる。従って、このピオベルジン分泌系が抗生物質の排出系として機能し、本菌の多剤耐性の原因となっていることが示唆されている (152)。

2) Hm 鉄および Tf, Lf 鉄利用の輸送系

ヘミン-セフェロースアフィニティー法やピオチン化 Tf, Lf との結合法によって、Hm, Hb, Tf, Lf などに対するレセプターの鉄制限下での発現が明かにされ、それぞれのレセプターや輸送

機構について遺伝子レベルでの研究へと進展した。現在までに解明された結果に基づいてそれぞれの輸送系のモデルを図4 A, B に示し、以下に詳述する。

Hm 鉄: Hantke グループは *Y. enterocolitica* の Hm 鉄輸送系オペロン (12.5 kbp) をクローニングし、個々の遺伝子産物の機能を解析している (図5) (173, 174)。HemR には TonB box が存在するので、これが Hm レセプターである。Fur box が *hemP* の構造遺伝子 5'-端側に存在し、ポリシストロニックな転写が鉄制御されていることが示された。HemP の機能は明かにされていない。さらに、Hm 分解酵素と思われる HemS の存在は鉄を遊離することなく Hm 分子がそのまま細胞内に取り込まれることを示唆する。

髄膜炎菌の Hb レセプター (HmbR, 89.5 kDa) 遺伝子の解析はやはり Fur box の存在と TonB 依存性を示した (176)。また、Hm に特異的なレセプター遺伝子も同時に単離されたが、解析はまだ行われていない。さらに、最近鉄制限下に発

現する Hp-Hb レセプター (85 kDa) の存在も報告された (104)。コレラ菌の Hm レセプター (HutA, 77 kDa) もクローニング、解析され、この場合も TonB 依存性で、Fur box の存在が示された (83)。*S. dysenteriae* から Hm レセプター (70 kDa) 遺伝子 (*shu*) が単離されている (121)。

インフルエンザ菌の Hm 鉄利用系も Hansen グループによる遺伝子レベルの研究が進展し、レセプターなど輸送に係わるメンバーが明かにされつつある。まず、ヘム結合性リポ蛋白 (HbpA, 60.7 kDa) をコードする遺伝子が単離された (75)。この蛋白は広く *Haemophilus* 属菌に保存されており、おそらく内膜にアンカーされてペリプラスム側に存在する Hm 輸送に関与する一構成蛋白と考えられている。大腸菌 *tonB* 変異の相補性から *tonB* 遺伝子が単離され、この遺伝子を破壊した株は Hm 鉄利用性や病原性を失うことが示された (92)。最近、インフルエンザ菌において Hm や Hx-Hm 利用に関与する遺伝子クラ

図4 A. ヘモグロビンおよびヘム (ヘミン) からの鉄獲得のモデル

主に *Y. enterocolitica* (174) および髄膜炎菌 (176) のデータに基づいて作図した。HemR も TonB 依存性である。HmbR, ヘモグロビンレセプター; Hm, ヘムレセプター; ■, ヘム。その他の蛋白の機能は本文参照。

図4 B. 淋菌, 髄膜炎菌におけるトランスフェリン (Tf) およびラクトフェリン (Lf) からの鉄獲得モデル

Tlu は淋菌に存在するが、その正確な機能やローカリゼーションは明かでない。インフルエンザ菌によるトランスフェリン鉄利用系もほぼ同様の様式である。Lbp も TonB 依存性である。Tbp1, トランスフェリンレセプター; Lbp, ラクトフェリンレセプター; ■, Fe^{3+} (または Fe^{2+})。その他の蛋白の機能は本文参照。文献41を改図。

hemR: ヘミンレセプター
hemS: ヘミンオキシゲナーゼ
hemT: ペリプラスムヘミン結合蛋白
hemU: ヘミン透過酵素
hemV: ATP 結合蛋白

図5. *Y. enterocolitica* のヘミン輸送および利用に關与する遺伝子のオーガナイゼーション
 文献174より作図。

スター (*hxCBA*) の解析が報告された(38, 39)。個々の挿入変異株を用いた検討から次のことが明かにされた: HxuA は細胞表面のみならず培養上清にも存在する Hx-Hm 結合蛋白 (100 kDa) である; HxuC (78 kDa) は TonB 依存性外膜レセプター蛋白に相同性を示し, Hm レセプターである; HxuB (60 kDa) は HxuA の活性化や分泌に關与する可能性がある。しかも, *hxC*, *B* それぞれのプロモーター領域には Fur box が認められた。

興味深いことに, インフルエンザ菌 (59) ならびに *H. ducreyi* (54) の Hb レセプターの発現は Hm の添加によって抑制されるが, 遊離鉄の添加では抑制されない。Hm がコレプレッサーとして働く可能性が示唆されているが, その説明は非常に興味深い。また, *P. gingivalis* では鉄制限下に発現する Hm レセプター (26 kDa) (17) に加えて, Hm 存在下に誘導される Hm 貯蔵能力の増加 (61) も知られている。それら遺伝子の解析が期待される。

以上のように, TonB 依存性レセプターを介する (Fur box 制御の) Hm 輸送系の存在は確かである。Hx-Hm, Hb, Hp-Hb にそれぞれ特異的なレセプターの発現も報告されているが, これらがレセプターに結合した後, Hm がどのような機構で遊離されるのかは明かでない。遊離した Hm の内膜輸送様式は共通であろう。しかし, 菌種間で Hm, Hx-Hm, Hb, Hp-Hb の利用性が異なるので, 遺伝子構成やその調節機構は多様であるように思われる。

Tf, Lf 鉄: まず, Tf と Lf のレセプターが別々に存在することは淋菌からそれぞれの変異株が作製され明かとなった (14)。また, Tf レセプターはホロ-Tf とアポ-Tf を区別でき, ホロ-Tf から鉄が遊離した後, アポ-Tf は細胞表面から離れることが示された (14)。主に髄膜炎菌, 淋菌, インフルエンザ菌における検討から, 鉄制限下に発現する Tf レセプターには 2 種 (Tbp1, 2) 存在することが明かにされた。病原性 *Neisseria* 属菌の Tbp1, 2 はそれぞれ 93–99 kDa, 85–88 kDa, インフルエンザ菌では 90–105 kDa, 90 kDa である (41)。最近, 淋菌 (4, 40), 髄膜炎菌 (102), インフルエンザ菌 (66) から *tbpB*, *A* (Tbp2, 1) 遺伝子がクローニングされ, 塩基配列が決定された。いずれの場合にも, *tbpB* プロモーター領域に Fur box が認められ, *tbpA* はプロモーターを欠くので 1 つのユニットとして転写される。さらに, Tbp1 は FepA (図3) に高いホモロジーを示し, TonB box も認められた。Tbp2 はシグナルペプチダーゼ II 切断配列 (LSAC) (79) を持つリポ蛋白であるが, TonB box は認められていない。Tbp2 は膜から変性剤で容易に遊離, 可溶化できるのでこのリビッド部分で外膜にアンカーされていると考えられている。Tbp1 と Tbp2 のいずれか, あるいは両方の欠損株を用いた検討によって, Tbp2 は Tf 鉄利用に必須ではないが, Tbp1 への Tf 結合の効率と特異性 (ホロ-, アポ-Tf の区別) を高めることが示された (4, 40, 41)。

淋菌 (10), 髄膜炎菌 (9) から鉄制限下に発現する主蛋白 (Fbp, 37 kDa) の遺伝子がクローニングされた。Fbp は Fe^{3+} と 1:1 で結合する。本蛋白は Tf 鉄の利用においてペリプラスム結合蛋白として機能することが示された (35)。同様の蛋白 (40 kDa) がインフルエンザ菌で同定されている (77)。このコンポーネントが見つかったことから, *Neisseria* や *Haemophilus* 属菌の Tf からの鉄輸送においても traffic ATPase が關与すると考えられている (41)。淋菌以外には認められていないが, Tf, Lf 鉄の利用に共通して必要な *thl* 遺伝子産物が知られている (14)。この蛋白はレセプターではなく, レセプターに結合した Tf, Lf からの鉄遊離に關与すると考えられて

いる。インフルエンザ菌の Tf レセプターも Hm レセプターと同様に Hm によってその発現が抑制される (124)。

Neisseria 属菌は Lf 鉄を Tf 鉄と同様の様式で利用すると考えられている。最近、髄膜炎菌、淋菌からクローニングされたLfレセプター遺伝子 (*lbpA*) は Fur box を持ち、LbpA は Tf レセプター (Tbp1) と相同性を示した (12, 147)。しかし、Tbp2 に相当する蛋白が存在するかどうかは明かでない。宿主特異的な Tf, Lf 鉄利用の分子認識機構やレセプターに結合した Tf や Lf からの鉄遊離機構の解明は今後の課題である。後者のためには鉄還元酵素の関与が推定されている (199)。

3) 遺伝子発現調節の分子機構

大腸菌においてある種の変異は鉄獲得に関与する遺伝子産物を鉄豊富下でも産生させることが見つかり、*fur* 変異と呼ばれた (76)。この変異に関与する遺伝子がクローニングされ、16795 Da の、ヒスチジン (8%) に富んだ蛋白 (Fur) をコードすることが示された (163)。一方、Fur に支配される遺伝子の解析から 19 bp のモチーフ (Fur box あるいは iron box), 5'-GAT (A/T) ATGAT (A/T) AT (C/T) ATTT TC-3', が導き出された。Fur の N-端ドメインがこのモチーフの認識に、C-端ドメイン (His, Cys に富む) が Fe^{2+} との結合や Fur のオリゴマー形成に関与

することが示唆されている (46, 175)。しかし、Fur は多くの DNA 結合蛋白と異なり helix-turn-helix モチーフを欠く。他の病原菌でも鉄獲得に関与する遺伝子群の解析に伴って、大腸菌類似の Fur box の存在が明かにされた (前述)。さらに、以下の10種のグラム陰性病原菌からも *fur* 遺伝子がクローニングされ、Fur レギュロンの存在が明かにされている：ペスト菌 (172)；コレラ菌 (105)；緑膿菌 (156)；淋菌 (11)；*V. vulnificus* (106)；髄膜炎菌 (183)；*V. anguillarum* (186)；*L. pneumophila* (85)；百日咳菌 (20)；*C. jejuni* (203)。さらに、Fur は鉄獲得系以外の蛋白の発現にも調節因子として機能することが示されている (108)。*sodA* (MnSOD) には Fur box が認められ、鉄制御される (131)。

一方、緑膿菌では Fur- Fe^{2+} による制御の他に、鉄欠乏時に転写アクチベーター蛋白が関与するより積極的な鉄欠乏対応機構が存在する。しかも、興味深いことにアクチベーターの遺伝子は Fur box を持っており、鉄豊富時には転写阻止されている (図6)。このような因子は大腸菌に存在してもよい筈であるが現在のところ報告はない。緑膿菌のピオキリンレセプター遺伝子 (*fptA*) には大腸菌のそれと高いホモロジーを示す Fur box が認められている (5) にも拘わらず、ピオベルジンレセプター遺伝子 (*fpuA*) には Fur box が認められていない (153)。即ち、この2つの

図6. 緑膿菌におけるシデロフォア関連遺伝子の発現調節機構のモデル

PchR, PvdS の結合する DNA モチーフは明かでない。転写は左より右にされるものとする。+, ポジティブコントロール; -, ネガティブコントロール。

<i>tox</i>	ATAATTAGGATAGCCTTTACCTAATTATTT
IRP1	CATTTTITAGGTTAGCCAAACCTTTGTTGGTG
IRP2	CCGCGCAGGGTAGCCTAACCTAAACCGGCG
<i>S. pilosus</i>	GACATTAGGTTAGGCTCACCTAAGTTTC

19 bp consensus:

ttAGGtTAGcctaACCTaa

図7. ジフテリア菌 (*tox*, IRP1, 2) および *S. pilosus*(*desA*) 遺伝子オペレーターにおける Fe^{2+} -DtxR 結合部位の DNA 配列のアライメント

シデロフォアの利用性は異なる機構で調節されている可能性を示唆する。ピオキリンの産生やそのレセプターの発現を促進するアクチベーター蛋白 (AraC ファミリーに属するアクチベーターと相同性あり) として helix-turn-helix モチーフを持つ PchR (32.5 kDa) が同定され、しかもその遺伝子には Fur box が見つかっている (80)。さらに、ピオベルジンの産生に必須な因子をコードする遺伝子として、*pvdS* が単離されている (48, 122) が、この遺伝子にも Fur box および helix-turn helix モチーフが認められている。従って、PchR や PvdS は鉄応答性アクチベーターとしてもっと広範な役割を担っているのかもしれない。それ故、他の細菌においても鉄欠乏によって産生が増加するにも拘わらずその遺伝子に Fur box が検出されない場合には、上記のようにアクチベーターが Fur- Fe^{2+} 制御されている可能性も考えなければならぬ。

統括的なアクチベーターが介在するのならば活性化される遺伝子にはそれに対するコンセンサス配列がある筈である。最近、Rombel らは緑膿菌や *P. putida* のピオベルジン型シデロフォアのいくつかの生合成遺伝子 (15個の遺伝子が5個のクラスターに分布しているが、経路の全容は解明されていない) には共通して 5'-(G/C)CTAAATCCC-3' モチーフがプロモーターあるいはその上流に存在することを明らかにした (iron-starvation box と名付けられている) (159)。*P. putida* のシデロフォア、pseudobactin 358 の産生に係わるアクチベーターとして Fur box を持つ *pfrI* (PfrI, 19.5 kDa; PvdS と80%相同で、helix-turn-helix モチーフを持つ) がクローニングされた (191)。どのような蛋白が上記のモチーフを認識する統括的アクチベーターなのか、あるいは他の因子も介在するのか、今後の解明が期待

される。

同様に、*V. anguillarum* pJM1 のアングイバクチン系も複雑に調節されていることが明かにされつつある。鉄豊富時は FatA (アングイバクチン- Fe^{3+} レセプター), AngR (アクチベーター, helix-turn-helix モチーフを持つ) の mRNA に相補的なアンチセンス RNA α , β が産生され、それらの翻訳を抑える。*fatA* は Fur- Fe^{2+} の制御も受けている。ところが、鉄欠乏になると上記の制御が解除され、さらに *taf* 遺伝子産物 (複数かもしれないが、蛋白レベルでは未検討) が *angR* に作用し、次いで AngR が *fatA* を活性化することが示されている (162)。特異な系かもしれないが興味深い調節機構である。

ジフテリア毒素遺伝子 (*tox*) はバクテリオファージに乗っており、その産生と鉄との関連は以前から注目されていた。この鉄制御機構については幾多の変遷があったが、最近ようやく結論に達した。まず、染色体性のレプレッサー蛋白、DtxR (25316 Da) をコードする遺伝子がクローニング、解析された。Helix-turn-helix モチーフを持ち、しかも Fur とのアミノ酸レベルでの相同性は18%と低いことが示された (15, 164)。しかし、 Fe^{2+} との結合性を有している (179)。一方、相補性試験などの結果から当初報告されていた *tox* における Fur box の存在が否定された (164)。このことは DtxR の作用する特異的なオペレーター配列が存在することを示唆した。最近、3 グループが 19 bp のコンセンサス配列 (DtxR box) を提示している (図7) (72, 165, 180)。特に、グラム陽性菌 *Streptomyces pilosus* のシデロフォア (desferrioxamine B) 合成酵素の一つである *desA* (リジンデカルボキシラーゼ) にも DtxR box が存在することは興味深い (72)。本菌にはまだ DtxR 様蛋白が確認されていないが、

DtxR はグラム陽性菌の鉄制御系に共通するレプ
レッサー蛋白かもしれない (180)。

5. 鉄とその他のビルレンス因子

鉄は病原菌にとって必須の栄養素であるばかり
でなく、それらの生体内での生存や増殖に必要な
多くのビルレンス因子の発現に影響を与える調節
シグナルとしても働く (107)。鉄欠乏に応答し
て産生されるビルレンス因子 (鉄獲得系を除く)
を表3にまとめた。その鉄制御機構の解明され
ていないものもあるが、ほとんどの場合、遺伝子
レベルでの解析から当該遺伝子に Fur-Fe²⁺ の作
用するコンセンサス配列の存在が報告されてい
る。

V. vulnificus サイトリシン遺伝子では2組の
Fur box の存在が報告されている (210)。本菌種
には Fur の存在も報告されている (106) ので、
恐らくサイトリシン産生は鉄制御を受けるであろ
う。大腸菌 *slt-I*(30) や *S. dysenteriae* 1 *stxA* も
Fur 制御されている (19, 107)。しかし、*slt-II*,
slt-IIv は鉄制御されないし、Fur box を持って
いない。ジフテリア毒素遺伝子 *tox* にも前述の

DtxR box が認められている (図7参照) (180)。
コレラ菌の IrgA (外膜蛋白) の正確な機能は不
明であるが、これの欠損株は乳飲みマウスに対す
る LD₅₀ が100分の1に低下する。*irgA* の転写ア
クチベーターとして IrgB (helix-turn-helix を持
つ) が同定された (64)。両遺伝子は共通の Fur
box によって鉄制御されており、鉄欠乏に際して
お互いに逆方向に転写される。IrgB によって
irgA の転写効率は850倍となる。

緑膿菌エキソトキシン A 遺伝子 (*toxA*) の鉄
制御機構も興味深い。鉄欠乏時に *toxA* は RegA
によって転写活性化されるが、*regA* には明かな
Fur box は存在しない (157)。しかし、*toxA* に
は Fur box (-39~-21) の他に、アクチベ
ーター蛋白の結合部位と思われる前述の iron-star-
vation box (-62CATAAATCCC-53) も認められ
ている (159)。RegA が後者の box に作用する
のか、あるいは他の部位に作用するのか、または
他の因子と共同で作用するのかは明かでない。さ
らに、緑膿菌のエラスターゼ、アリカリ性プロテ
アーゼも鉄制御されるが、これらに関しては最近
の総説 (135) を参照されたい。

表3. 鉄制限に応答してその産生量が増加するビルレンス因子

菌種	毒素など	文献
<i>Aeromonas hydrophila</i>	ピリン	87
<i>Escherichia coli</i>	溶血毒	100
	志賀毒素様毒素 I *	30
	CFA/1 fimbriae*	95
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	ジフテリア毒素*	180
<i>Listeria monocytogenes</i>	溶血毒	42
<i>Neisseria meningitidis</i>	孔形成サイトリシン (?)*	184
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	CHO 細胞伸長因子	60
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	溶血毒, 血球凝集素, プロテアーゼ	62
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	エキソトキシン A*	157
	エラスターゼ, アルカリ性プロテアーゼ	135
<i>Serratia marcescens</i>	溶血毒*	150
<i>Shigella dysenteriae</i>	志賀毒素*	107
<i>Vibrio cholerae</i>	溶血毒*	19
	ビルレンス因子 (IrgA, 77-kDa OMP)*	64
<i>vulnificus</i>	サイトリシン*	210
<i>parahaemolyticus</i>	溶血毒	201
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ビルレンス因子 (HMWP1, 2*)	33, 71

*; 証明あるいは推定された Fur (あるいは DtxR) box が当該遺伝子のプロモーター領域に存在する。

髄膜炎菌からは鉄制限下に増加する蛋白の遺伝子, *frpA* がクローニング, 解析されている。*frpA* には Fur box が認められ, しかも FrpA は孔形成サイトリシンに高い相同性を示した (184)。このことは鉄欠乏下に本菌がサイトリシンを産生する可能性を示唆している。*P. gingivalis* の Hm 利用欠損株では溶血毒などの産生が増加したことから, Hm による調節が示唆されている (62)。ビルレントな *Yersinia* 菌種は鉄欠乏下に高分子量蛋白 (HMWP) 1 および 2 (240, 190 kDa) を特異的に産生する (33)。HMWP2 の遺伝子, *irp2* がクローニングされ, Fur box の存在が示された (71)。非病原性 *Yersinia* 属菌にはこの遺伝子は存在しない。エルシニアバクチン生合成に関与する遺伝子の一つと考えられているが, 詳細は今後の研究を待たねばならない。

溶血毒, サイトリシン, プロテアーゼなど細胞障害性因子の産生は病原菌が生体から鉄を獲得するための手段とも考えられる。前述の髄膜炎菌 (184) や *P. gingivalis* (62) の報告は新しい病原因子を見出すために他の病原菌にも適用できる方法論を提供している。今後も鉄制限下に発現される新たな病原因子が発見される可能性がある。

6. お わ り に

以上, 病原菌が鉄を獲得するために如何に様々な戦略を発展させてきたか, その研究の現状を紹介した。当初大腸菌で発見された Fur は鉄豊富下に不必要な遺伝子発現を抑制するための比較的単純な系であった。しかし, 最近 *Pseudomonas* 属菌において, 鉄制限下に転写アクチベーターが関与するより効率的で, しかも複雑な鉄獲得系の存在が明かにされた。グラム陽性菌の鉄獲得系はあまり研究されていないので, 今後の課題であろう。鉄欠乏ストレスと病原因子発現の遺伝子レベルの研究やシデロフォアの検索はヒトや動物ばかりでなく, 魚類, 植物などの病原菌においても進行中であり, 未知の鉄制御病原因子や新規なシデロフォアの発見も期待される。

一方, 鉄獲得系 (シデロフォアの生合成, 外膜レセプターなど) は病原菌の増殖阻止やコンポーネントワクチン開発のターゲットとして, またシ

デロフォアは治療薬や抗菌剤の先導 (lead) 化合物として有用であるかもしれない。シデロフォアやその類縁化合物を抗生物質の輸送担体 (120) や抗原虫剤 (65) として利用しようとする研究も既に開始されている。緑膿菌で示されたように, 他の病原菌においてもシデロフォア排出系が抗生物質の汲み出し系として機能する可能性が考えられる。この機能を阻止する薬剤にはより強力な増殖阻止効果が期待できるかもしれない。細菌蛋白の遺伝子に鉄制御プロモーターを挿入して生体内での抗原の産生を促し, ワクチンとしての効力を上げようとする試みもなされている (26)。病原菌の鉄獲得系の解明は私達に感染症防御に対する新たなストラテジーを与えてくれる。

文 献

- 1) Abdallah, M.A. (1991): Pyoverdins and pseudobactins, p. 139-153. In CRC Handbook of Microbial Iron Chelates, Winkelman, G., ed., CRC Press, Boca Raton.
- 2) Actis, L.A., Tolmasky, M.E., Crosa, L.M., Crosa, J.H. (1995): Characterization and regulation of the expression of FatB, an iron transport protein encoded by the pJM1 virulence plasmid. Mol. Microbiol. **17**, 197-204.
- 3) Ames, G.F.-L., Mimura, C.S., Shyamala, V. (1990): Bacterial periplasmic permeases belong to a family of transport proteins operating from *Escherichia coli* to human: traffic ATPases. FEMS Microbiol. Rev. **75**, 429-446.
- 4) Anderson, J.E., Sparling, P.F., Cornelissen, C.N. (1994): Gonococcal transferrin-binding protein 2 facilitates but is not essential for transferrin utilization. J. Bacteriol. **176**, 3162-3170.
- 5) Ankenbauer, R.G., Quan, H.N. (1994): FptA, the Fe(III)-pyochelin receptor of *Pseudomonas aeruginosa*: a phenolate siderophore receptor homologous to hydroxamate siderophore receptor. J. Bacteriol. **176**, 307-319.
- 6) Archibald, F.S., DeVoe, I.W. (1980): Iron acquisition by *Neisseria meningitidis* in vitro. Infect. Immun. **27**, 322-334.
- 7) Barry, D.M.J., Reeve, A.W. (1977): Increased incidence of gram-negative neonatal sepsis with intramuscular iron administration. Pediatrics **60**, 908-912.
- 8) Becroft, D.M.O., Dix, M.R., Farmer, K. (1977):

- Intramuscular iron-dextran and susceptibility of neonates to bacterial infections. *Arch. Dis. Nutr.* **1**, 27-46.
- 9) Berish, S.A., Kapcznski, D.R., Morse, S.A. (1990): Nucleotide sequence of the *Fbp* gene from *Neisseria meningitidis*. *Nucleic Acids Res.* **18**, 4596.
 - 10) Berish, S.A., Mietzner, T.A., Mayer, L.W., Genco, C.A., Holloway, B.P., Morse, S.A. (1990): Molecular cloning and characterization of the structural gene for the major iron-regulated protein expressed by *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Exp. Med.* **171**, 1535-1546.
 - 11) Berrish, S.A., Subbarao, S., Chen, C., Trees, D.L., Morse, S.A. (1993): Identification and cloning of a *fur* homolog from *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect. Immun.* **61**, 4599-4606.
 - 12) Biswas, G.D., Sparling, P.F. (1995): Characterization of *lbpA*, the structural gene for a lactoferrin receptor in *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect. Immun.* **63**, 2958-2967.
 - 13) Bitter, W., Tommassen, J., Weisbeek, P.J. (1993): Identification and characterization of the *exbB*, *exbD* and *tonB* genes of *Pseudomonas putida* WCS358: their involvement in ferric-pseudobactin transport. *Mol. Microbiol.* **7**, 117-130.
 - 14) Blanton, K.J., Biswas, G.D., Tsai, J., Adams, J., Dyer, D.W., Davis, S.M., Koch, G.G., Sen, P.K., Sparling, P.F. (1990): Genetic evidence that *Neisseria gonorrhoeae* produces specific receptors for transferrin and lactoferrin. *J. Bacteriol.* **172**, 5225-5235.
 - 15) Boyd, J., Oza, M.N., Murphy, J.R. (1990): Molecular cloning and DNA sequence analysis of a diphtheria *tox* iron-dependent regulatory element (*dtxR*) from *Corynebacterium diphtheriae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**, 5968-5972.
 - 16) Bramanti, T.E., Holt, S.C. (1991): Roles of porphyrins and host iron transport protein in regulation of growth of *Porphyromonas gingivalis* W50. *J. Bacteriol.* **173**, 7330-7339.
 - 17) Bramanti, T.E., Holt, S.C. (1993): Hemin uptake in *Porphyromonas gingivalis*: Omp26 is a hemin-binding surface protein. *J. Bacteriol.* **175**, 7413-7420.
 - 18) Braun, V. (1981): *Escherichia coli* cells containing the plasmid ColV produce the iron siderophore aerobactin. *FEMS Microbiol. Lett.* **11**, 225-228.
 - 19) Braun, V., Hantke, K. (1991): Genetics of bacterial iron transport, p. 107-138. *In Handbook of Microbial Iron Chelates*, Winkelmann, G., ed., CRC Press, Boca Raton.
 - 20) Brickman, T.J., Armstrong, S.K. (1995): *Bordetella pertussis fur* gene restores iron repressibility of siderophore and protein expression to deregulated *Bordetella bronchiseptica* mutant. *J. Bacteriol.* **177**, 268-270.
 - 21) Britigan, B.E., Hayer, M.B., Doebbeling, B.N., Fick, R.B. Jr. (1993): Transferrin and lactoferrin undergo proteolytic cleavage in the *Pseudomonas aeruginosa*-infected lungs of patients with cystic fibrosis. *Infect. Immun.* **61**, 5049-5055.
 - 22) Britigan, B.E., Rasmussen, G.T., Cox, C.D. (1994): *Pseudomonas* siderophore pyochelin enhances neutrophil-mediated endothelial cell injury. *Am. J. Physiol.* **266**, L192-198.
 - 23) Brock, J.H., Williams, P.H., Liceaga, J., Wooldridge, K.G. (1991): Relative availability of transferrin-bound iron and cell-derived iron to aerobactin-producing and enterobactin-producing strains of *Escherichia coli* and to other microorganisms. *Infect. Immun.* **59**, 3185-3190.
 - 24) Bullen, J.J. (1981): The significance of iron in infection. *Rev. Infect. Dis.* **3**, 1127-1138.
 - 25) Bullen, J.J., Spalding, P.B., Ward, C.G., Gutteridge, J.M.C. (1991): Hemochromatosis, iron, and septicemia caused by *Vibrio vulnificus*. *Arch. Intern. Med.* **151**, 1606-1609.
 - 26) Butterson, J.R., Boyko, S.A., Calderwood, S.B. (1993): Use of the *Vibrio cholerae irgA* gene as a locus for insertion and expression of heterologous antigen in cholera vaccine strains. *Vaccine* **11**, 1327-1335.
 - 27) Butterson, J.R., Calderwood, S.B. (1994): Identification, cloning, and sequencing of a gene required for ferric vibriobactin utilization by *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* **176**, 5631-5638.
 - 28) Butterson, J.R., Stoebner, J.A., Payne, S.M., Calderwood, S.B. (1992): Cloning, sequencing, and transcriptional regulation of *viuA*, the gene encoding the ferric vibriobactin receptor of *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* **174**, 3729-3738.
 - 29) Byers, B.R., Arceneaux, E.L. (1993): Siderophore diversity in the genus *Aeromonas*. *Med. Microbiol. Lett.* **2**, 281-285.
 - 30) Calderwood, S.B., Mekalanos, J.J. (1987): Iron regulation of shiga-like toxin expression in *Escherichia coli* is mediated by the *fur* locus. *J. Bacteriol.* **169**, 4759-4764.

- 31) Campagnari, A.A., Shanks, K.L., Dyer, D.W. (1994): Growth of *Moraxella catarrhalis* with human transferrin and lactoferrin : expression of iron-repressible proteins without siderophore production. *Infect. Immun.* **62**, 4909–4914.
- 32) Carlsson, J., Hofling, J.F., Sundqvist, G.K. (1984): Degradation of albumin, haemopexin, haptoglobin and transferrin, by black-pigmented *Bacteroides* species. *J. Med. Microbiol.* **18**, 39–46.
- 33) Carniel, E., Mazigh, D., Mollaret, H.H. (1987): Expression of iron-regulated proteins in *Yersinia* species and their relation to virulence. *Infect. Immun.* **55**, 277–280.
- 34) Chart, H., Trust, T.J. (1983): Acquisition of iron by *Aeromonas salmonicida*. *J. Bacteriol.* **156**, 758–764.
- 35) Chen, C., Berish, S.A., Morse, S.A., Mietzner, T.A. (1993): The ferric iron-binding protein of pathogenic *Neisseria* spp. functions as a periplasmic transport protein in iron acquisition from human transferrin. *Mol. Microbiol.* **10**, 311–318.
- 36) Chu, L., Bramanti, T.E., Ebersole, J.L., Holt, S.C. (1991): Hemolytic activity in the periodontopathogen *Porphyromonas gingivalis* : kinetics of enzyme release and localization. *Infect. Immun.* **59**, 1932–1940.
- 37) Colonna, B., Nicoletti, M., Visca, P., Casalino, M., Valenti, P., Maimone, F. (1985): Composite *ISI* elements encoding hydroxamate-mediated iron uptake in *FIme* plasmids from epidemic *Salmonella* spp. *J. Bacteriol.* **162**, 307–316.
- 38) Cope, L.D., Thomas, S.E., Latimer, J.L., Slaughter, C.A., Muller-Eberhard, U., Hansen, E.J. (1994): The 100 kDa haem : haemopexin-binding protein of *Haemophilus influenzae* : structure and localization. *Mol. Microbiol.* **13**, 863–873.
- 39) Cope, L.D., Yogev, R., Muller-Eberhard, U., Hansen, E.J. (1995): A gene cluster involved in the utilization of both free heme and heme : hemopexin by *Haemophilus influenzae* type b. *J. Bacteriol.* **177**, 2644–2653.
- 40) Cornelissen, C.N., Biswas, G.D., Tsai, J., Paruchuri, D.K., Thompson, S.A., Sparling, P.F. (1992): Gonococcal transferrin-binding protein 1 is required for transferrin utilization and is homologous to TonB-dependent outer membrane receptors. *J. Bacteriol.* **174**, 5788–5797.
- 41) Cornelissen, C.N., Sparling, P.F. (1994): Iron piracy : acquisition of transferrin-bound iron by bacterial pathogens. *Mol. Microbiol.* **14**, 843–850.
- 42) Cowart, R.E., Foster, B.G. (1981): The role of iron in the production of hemolysin by *Listeria monocytogenes*. *Curr. Microbiol.* **6**, 287–290.
- 43) Cowart, R.E., Foster, B.G. (1985): Differential effects of iron on the growth of *Listeria monocytogenes* : minimum requirements and mechanism of acquisition. *J. Infect. Dis.* **151**, 721–730.
- 44) Cox, C.D. (1986): Role of pyocyanin in the acquisition of iron from transferrin. *Infect. Immun.* **52**, 263–270.
- 45) Cox, C.D., Rinehart, K.L. Jr., Moore, M.L., Cook, J.C. Jr. (1981): Pyochelin : novel structure of an iron-chelating growth promoter for *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **78**, 4256–4260.
- 46) Coy, M., Neilands, J.B. (1991): Structural dynamics and functional domains of the Fur protein. *Biochemistry* **30**, 8201–8210.
- 47) Crosa, J.H. (1989): Genetics and molecular biology of siderophore-mediated iron transport in bacteria. *Microbiol. Rev.* **53**, 517–530.
- 48) Cunliffe, H.E., Merriman, T.R., Lamont, I.J. (1995): Cloning and characterization of *pvdS*, a gene required for pyoverdinin synthesis in *Pseudomonas aeruginosa* : PvdS is probably an alternative sigma factor. *J. Bacteriol.* **177**, 2744–2750.
- 49) Cutler, C.W., Kalmar, J.R., Genco, C.A. (1995): Pathogenic strategies of the oral anaerobe : *Porphyromonas gingivalis*. *Trends Microbiol.* **3**, 45–51.
- 50) Deneer, H.G., Potter, A.A. (1989): Effect of iron restriction on the outer membrane proteins of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae*. *Infect. Immun.* **57**, 798–804.
- 51) Dyer, D.W., West, E.P., Sparling, P.F. (1987): Effect of serum carrier proteins on the growth of pathogenic *Neisseriae* with heme-bound iron. *Infect. Immun.* **55**, 2171–2175.
- 52) Eaton, J.W., Brandt, R.L., Mahoney, J.R., Lee, J.T. (1982): Haptoglobin : a natural bacteriostat. *Science* **215**, 691–693.
- 53) Ehlert, G., Taraz, K., Budzikiewicz, H. (1994): Serratiochelin, a new catecholate siderophore from *Serratia marcescens*. *Z. Naturforsch.* **49c**, 11–17.

- 54) Elkins, C. (1995): Identification and purification of a conserved heme-regulated hemoglobin-binding outer membrane protein from *Haemophilus ducreyi*. *Infect. Immun.* **63**, 1241-1245.
- 55) Evans, S.L., Arceneaux, J.E.L., Byers, B.R., Martin, M.E., Aranha, H. (1986): Ferrous iron transport in *Streptococcus mutans*. *J. Bacteriol.* **168**, 1096-1099.
- 56) Fecker, L., Braun, V. (1983): Cloning and expression of the *fhu* genes involved in iron (III)-hydroxamate uptake in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **156**, 1301-1314.
- 57) Field, L.H., Headley, V.L., Payne, S.M., Berry, L.J. (1986): Influence of iron on growth, morphology, outer membrane protein composition, and synthesis of siderophores in *Campylobacter jejuni*. *Infect. Immun.* **54**, 126-132.
- 58) Francis, R.T. Jr., Booth, J.W., Becker, R.R. (1985): Uptake of iron from hemoglobin and the haptoglobin-hemoglobin complex by hemolytic bacteria. *Int. J. Biochem.* **17**, 767-773.
- 59) Frangipane, M.E., Morton, D.J., Wooten, J.A., Pozsgay, J.M., Stull, T.L. (1994): Binding of human hemoglobin by *Haemophilus influenzae*. *FEMS Microbiol. Lett.* **118**, 243-248.
- 60) Gardner, S.E., Fowlston, S.E., George, W.L. (1990): Effect of iron on production of a possible virulence factor by *Plesiomonas shigelloides*. *J. Clin. Microbiol.* **28**, 811-813.
- 61) Genco, C.A., Odusanya, B.M., Brown, G. (1994): Binding and accumulation of hemin in *Porphyromonas gingivalis* are induced by hemin. *Infect. Immun.* **62**, 2885-2892.
- 62) Genco, C.A., Simpson, W., Forng, R.Y., Egal, M., Odusanya, B.M. (1995): Characterization of a Tn4351-generated hemin uptake mutant of *Porphyromonas gingivalis*: evidence for the coordinate regulation of virulence factors by hemin. *Infect. Immun.* **63**, 2459-2466.
- 63) Gobin, J., Moore, C.H., Reeve, J.R. Jr., Wong, D.K., Gibson, B.W., Horwitz, M.A. (1995): Iron acquisition by *Mycobacterium tuberculosis*: isolation and characterization of a family of iron-binding exochelins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**, 5189-5193.
- 64) Goldberg, M.B., Boyko, S.A., Calderwood, S.B. (1991): Positive transcriptional regulation of an iron-regulated virulence gene in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, 1125-1129.
- 65) Golenser, J., Tsafack, A., Amichai, Y., Libman, J., Shanzer, A., Cabantchik, Z.I. (1995): Antimalarial action of hydroxamate-based iron chelators and potentiation of desferrioxamine action by reversed siderophores. *Antimicrob. Agents Chemother.* **39**, 61-65.
- 66) Gray-Owen, S.D., Loosmore, S., Schryvers, A.B. (1995): Identification and characterization of genes encoding the human transferrin-binding proteins from *Haemophilus influenzae*. *Infect. Immun.* **63**, 1201-1210.
- 67) Griffiths, E. (1987): Iron in biological systems, p. 1-26. *In* Bullen, J.J., Griffiths, E., eds., *Iron and Infection*, John Wiley & Sons, Chichester.
- 68) Griffiths, E. (1987): The iron-uptake systems of pathogenic bacteria, p. 69-137. *In* Bullen, J.J., Griffiths, E., eds., *Iron and Infection*, John Wiley & Sons, Chichester.
- 69) Griffiths, G.L., Sigel, S.P., Payne, S.M., Neilands, J.B. (1984): Vibriobactin: a siderophore from *Vibrio cholerae*. *J. Biol. Chem.* **259**, 383-385.
- 70) Guerinot, M.L. (1994): Microbial iron transport. *Annu. Rev. Microbiol.* **48**, 743-772.
- 71) Guilvout, I., Mercereau-Puijalon, O., Bonnefoy, S., Pugsley, A.P., Carnied, E. (1993): High-molecular-weight protein 2 of *Yersinia enterocolitica* is homologous to AngR of *Vibrio anguillarum* and belongs to a family of proteins involved in nonribosomal peptide synthesis. *J. Bacteriol.* **175**, 5488-5504.
- 72) Gunter, K., Toupet, C., Schupp, T. (1993): Characterization of an iron-regulated promoter involved in desferrioxamine B synthesis in *Streptomyces pilosus*: repressor-binding site and homology to the diphtheria toxin gene promoter. *J. Bacteriol.* **175**, 3295-3302.
- 73) Haag, H., Fiedler, H.-P., Meiwes, J., Drechsel, H., Jung, G., Zahner, H. (1994): Isolation and biological characterization of staphyloferrin B, a compound with siderophore activity from staphylococci. *FEMS Microbiol. Lett.* **115**, 125-130.
- 74) Haag, H., Hantke, K., Drechsel, H., Stojiljkovic, I., Jung, G., Zahner, H. (1994): Purification of yersiniabactin: a siderophore and possible virulence factor of *Yersinia enterocolitica*. *J. Gen. Microbiol.* **139**, 2159-2165.
- 75) Hanson, M.S., Slaughter, C., Hansen, E.J. (1992): The *hbpA* gene of *Haemophilus influenzae* type b encodes a heme-binding lipoprotein con-

- served among heme-dependent *Haemophilus* species. Infect. Immun. **60**, 2257-2266.
- 76) Hantke, K. (1981): Regulation of ferric iron transport in *Escherichia coli* K12: isolation of a constitutive mutant. Mol. Gen. Genet. **182**, 288-292.
 - 77) Harkness, R.E., Chong, P., Klein, M.H. (1992): Identification of two iron-repressed periplasmic proteins in *Haemophilus influenzae*. J. Bacteriol. **174**, 2425-2430.
 - 78) Hartford, T., O'Brien, S., Andrew, P.W., Jones, D., Roberts, I.S. (1993): Utilization of transferrin-bound iron by *Listeria monocytogenes*. FEMS Microbiol. Lett. **108**, 311-318.
 - 79) Hayashi, S., Wu, H.C. (1990): Lipoprotein in bacteria. J. Bioenerg. Biomembr. **22**, 451-471.
 - 80) Heinrichs, D.E., Poole, K. (1993): Cloning and sequence analysis of a gene (*pchR*) encoding an AraC family activator of pyochelin and ferripyochelin receptor synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol. **175**, 5882-5889.
 - 81) Helms, S.D., Oliver, J.D., Travis, J.C. (1984): Role of heme compounds and haptoglobin in *Vibrio vulnificus* pathogenicity. Infect. Immun. **45**, 345-349.
 - 82) Henderson, D.P., Payne, S.M. (1994): *Vibrio cholerae* iron transport systems: roles of heme and siderophore iron transport in virulence and identification of a gene associated with multiple iron transport systems. Infect. Immun. **62**, 5120-5125.
 - 83) Henderson, D.P., Payne, S.M. (1994): Characterization of the *Vibrio cholerae* outer membrane heme transport protein HutA: sequence of the gene, regulation of expression, and homology to the family of TonB-dependent proteins. J. Bacteriol. **176**, 3269-3277.
 - 84) Herrington, D.A., Sparling, P.F. (1985): *Haemophilus influenzae* can use human transferrin as a sole source for required iron. Infect. Immun. **48**, 248-251.
 - 85) Hickey, E.K., Cianciotto, N.P. (1994): Cloning and sequencing of the *Legionella pneumophila* *fur* gene. Gene **143**, 117-121.
 - 86) Holbein, B.E. (1981): Enhancement of *Neisseria meningitidis* infection in mice by the addition of iron bound to transferrin. Infect. Immun. **33**, 120-125.
 - 87) Ho, A.A.Y., Mietzner, T.A., Smith, A.J., Schoolnik, G.K. (1990): The pili of *Aeromonas hydrophila*: identification of an environmentally regulated "mini pilin". J. Exp. Med. **172**, 795-806.
 - 88) Husson, M.-O., Legrand, D., Spik, G., Leclerc, H. (1993): Iron acquisition by *Helicobacter pylori*: importance of human lactoferrin. Infect. Immun. **61**, 2694-2697.
 - 89) Illingworth, D.S., Walter, K.S., Griffiths, P.L., Barclay, R. (1993): Siderophore production and iron-regulated envelope proteins of *Helicobacter pylori*. Zbl. Bakt. **280**, 113-119.
 - 90) Jackson, S., Burrows, T.W. (1956): The virulence-enhancing effect of non-pigmented mutants of virulence strains of *Pasteurella pestis*. Br. J. Exp. Pathol. **37**, 577-583.
 - 91) Jadal, M.A.F., Hossain, M.B., van der Helm, D., Sanders-Loehr, J., Actis, L.A., Crosa, J.H. (1989): Structure of anguibactin, a unique plasmid-related bacterial siderophore from the fish pathogen *Vibrio anguillarum*. J. Am. Chem. Soc. **111**, 292-296.
 - 92) Jarosik, G.P., Sanders, J.D., Cope, L.D., Muller-Eberhard, U., Hansen, E.J. (1994): A functional *tonB* gene is required for both utilization of heme and virulence expression by *Haemophilus influenzae* type b. Infect. Immun. **62**, 2470-2477.
 - 93) Johnson, W., Varner, L., Poch, M. (1991): Acquisition of iron by *Legionella pneumophila*: role of iron reductase. Infect. Immun. **59**, 2376-2381.
 - 94) Kammler, M., Schon, C., Hantke, K. (1993): Characterization of the ferrous iron uptake system of *Escherichia coli*. J. Bacteriol. **175**, 6212-6219.
 - 95) Karjalainen, T.K., Evans, D.G., Evans, D.J. Jr., Graham, D.Y. (1991): Iron represses the expression of CFA/I fimbriae of enterotoxigenic *E. coli*. Microb. Pathogen. **11**, 317-323.
 - 96) Karlsson, M., Hannavy, K., Higgins, C.F. (1993): ExbB acts as a chaperone-like protein to stabilize TonB in the cytoplasm. Mol. Microbiol. **8**, 389-396.
 - 97) Koebnik, R., Baumler, A.J., Heesemann, J., Braun, V., Hantke, K. (1993): The TonB protein of *Yersinia enterocolitica* and its interactions with TonB-box proteins. Mol. Gen. Genet. **237**, 152-160.
 - 98) Konetschny-Rapp, S., Jung, G., Meiwes, J., Zahner, H. (1990): Staphyloferrin A: a structurally new siderophore from staphylococci. Eur. J. Biochem. **191**, 65-74.

- 99) Lawlor, K.M., Daskaleros, P.A., Robinson, R.E., Payne, S.M. (1987): Virulence of iron transport mutants of *Shigella flexneri* and utilization of host compounds. *Infect. Immun.* **55**, 594-599.
- 100) Lebek, G., Gruenig, H.-M. (1985): Relation between the hemolytic property and iron metabolism in *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* **50**, 682-686.
- 101) Lee, B.C. (1991): Iron sources for *Haemophilus ducreyi*. *J. Med. Microbiol.* **34**, 317-322.
- 102) Legrain, M., Mazarin, V., Irwin, S.W., Bouchon, B., Quentin-Millet, M.-J., Schryvers, A.B. (1993): Cloning and characterization of *Neisseria meningitidis* genes encoding the transferrin-binding proteins Tbp1 and Tbp2. *Gene* **130**, 73-80.
- 103) Leotffe, S., Ghigo, J.M., Wandersman, C. (1994): Iron acquisition from heme and hemoglobin by a *Serratia marcescens* extracellular protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 9876-9880.
- 104) Lewis, L.A., Dyer, D.W. (1995): Identification of an iron-regulated outer membrane protein of *Neisseria meningitidis* involved in the utilization of hemoglobin complexed to haptoglobin. *J. Bacteriol.* **177**, 1299-1306.
- 105) Litwin, C.M., Boyko, S.A., Calderwood, S.B. (1993): Cloning, sequencing, and transcriptional regulation of the *Vibrio cholerae fur* gene. *J. Bacteriol.* **174**, 1897-1903.
- 106) Litwin, C.M., Calderwood, S.B. (1993): Cloning and genetic analysis of the *Vibrio vulnificus fur* gene and construction of a *fur* mutant by *in vivo* marker exchange. *J. Bacteriol.* **175**, 706-715.
- 107) Litwin, C.M., Calderwood, S.B. (1993): Role of iron in regulation of virulence genes. *Clin. Microbiol. Rev.* **6**, 137-149.
- 108) Litwin, C.M., Calderwood, S.B. (1994): Analysis of the complexity of gene regulation by Fur in *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* **176**, 240-248.
- 109) Lopez-Goni, I., Moriyon, I., Neilands, J.B. (1992): Identification of 2,3-dihydroxybenzoic acid as a *Brucella abortus* siderophore. *Infect. Immun.* **60**, 4496-4503.
- 110) de Lorenzo, V., Martinez, J.L. (1988): Aerobactin production as a virulence factor: a reevaluation. *Eur. J. Microbiol. Infect. Dis.* **7**, 621-629.
- 111) Martinez, J.L., Delgado-Iribarren, A., Baquero, F. (1990): Mechanisms of iron acquisition and bacterial virulence. *FEMS Microbiol. Rev.* **75**, 45-56.
- 112) Massad, G., Arceneaux, J.E.L., Byers, B.R. (1991): Acquisition of iron from host sources by mesophilic *Aeromonas* species. *J. Gen. Microbiol.* **137**, 237-241.
- 113) Maurelli, A.T., Blackmon, B., Curtiss III, R. (1984): Loss of pigmentation in *Shigella flexneri* 2a is correlated with loss of virulence and virulence associated plasmid. *Infect. Immun.* **43**, 397-401.
- 114) Mazoy, R., Lemos, M.L. (1991): Iron-binding proteins and heme compounds as iron sources for *Vibrio anguillarum*. *Curr. Microbiol.* **23**, 221-226.
- 115) McKenna, W.R., Mickelsen, P.A., Sparling, P.F., Dyer, D.W. (1988): Iron uptake from lactoferrin and transferrin by *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect. Immun.* **56**, 785-791.
- 116) Melby, K.L., Slordahl, S., Gutterberg, T.J., Nordbo, S.A. (1982): Septicaemia due to *Yersinia enterocolitica* after oral overdoses of iron. *Br. Med. J.* **285**, 467-468.
- 117) Menozzi, F.D., Gantiez, C., Loch, C. (1991): Identification and purification of transferrin- and lactoferrin-binding proteins of *Bordetella pertussis* and *B. bronchiseptica*. *Infect. Immun.* **59**, 3982-3988.
- 118) Mickelsen, P.A., Blackman, E., Sparling, F.P. (1981): Ability of *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, and commensal *Neisseria* species to obtain iron from transferrin and iron compounds. *Infect. Immun.* **33**, 555-564.
- 119) Mickelsen, P.A., Blackman, E., Sparling, F.P. (1982): Ability of *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, and commensal *Neisseria* species to obtain iron from lactoferrin. *Infect. Immun.* **35**, 915-920.
- 120) Miller, M.J., Malouin, F. (1993): Microbial iron chelators as drug delivery agents: the rational design and synthesis of siderophore-drug conjugates. *Acc. Chem. Res.* **26**, 241-249.
- 121) Mills, M., Payne, S.M. (1995): Genetics and regulation of heme iron transport in *Shigella dysenteriae* and detection of an analogous system in *Escherichia coli* O157: H7. *J. Bacteriol.* **177**, 3004-3009.
- 122) Miyazaki, H., Kato, H., Nakazawa, T., Tsuda, M. (1995): A positive regulatory gene, *pvdS*, for expression of pyoverdinin biosynthetic genes in *Pseudomonas aeruginosa* PAO. *Mol. Gen. Genet.* **248**, 17-24.
- 123) Moore, C.H., Foster, L.-A., Gerbig, D.G., Jr.,

- Dyer, D.W. (1995): Identification of alcaligin as the siderophore produced by *Bordetella pertussis* and *B. bronchiseptica*. J. Bacteriol. **177**, 1116-1118.
- 124) Morton, D.J., Musser, J.M., Stull, T.L. (1993): Expression of the *Haemophilus influenzae* transferrin receptor is repressible by hemin but not elemental iron alone. Infect. Immun. **61**, 4033-4037.
- 125) Morton, D.J., Williams, P. (1989): Utilization of transferrin-bound iron by *Haemophilus* species of human and porcine origin. FEMS Microbiol. Lett. **65**, 123-128.
- 126) Morton, D.J., Williams, P. (1990): Siderophore-independent acquisition of transferrin-bound iron by *Haemophilus influenzae* type b. J. Gen. Microbiol. **136**, 927-933.
- 127) Naidu, A.S., Miedzobrodzki, J., Muser, J.M., Rosedahl, V.T., Hedstrom, S.-A., Forsgren, A. (1991): Human lactoferrin binding in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. J. Med. Microbiol. **34**, 323-328.
- 128) Nassif, X., Sansonetti, P.L. (1986): Correlation of the virulence of *Klebsiella pneumoniae* K1 and K2 with the presence of a plasmid encoding aerobactin. Infect. Immun. **54**, 603-608.
- 129) Neilands, J.B. (1981): Iron absorption and transport in microorganisms. Annu. Rev. Nutr. **1**, 27-46.
- 130) Neilands, J.B., Konopka, K., Schwyne, B., Coy, M., Francis, R.T., Paw, B.H., Bagg, A. (1987): Comparative biochemistry of microbial iron assimilation, p. 3-34. In Iron Transport in Microbes, Plants and Animals, Winkelmann, G., van der Helm, D., Neilands, J.B., eds., VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.
- 131) Niederhoffer, E.C., Naranjo, C.M., Bradley, K.L., Fee, J.A. (1990): Control of *Escherichia coli* superoxide dismutase (*sodA* and *sodB*) genes by the ferric uptake regulation (*fur*) locus. J. Bacteriol. **172**, 1930-1938.
- 132) Nishina, Y., Miyoshi, S., Nagase, A., Shinoda, S. (1992): Significant role of an exocellular protease in utilization of heme by *Vibrio vulnificus*. Infect. Immun. **60**, 2128-2132.
- 133) Niven, D.F., Donga, J., Archibald, F.S. (1989): Responses of *Haemophilus pleuropneumoniae* to iron-restriction: changes in the outer membrane protein profile and the removal of iron from porcine transferrin. Mol. Microbiol. **3**, 1083-1089.
- 134) O'Brien, I.J., Gibson, F. (1970): The structure of enterochelin and related 2,3-dihydroxy-N-benzoylserine conjugates from *Escherichia coli*. Biochem. Biophys. Acta **215**, 393-402.
- 135) 奥田研爾, 福島 淳 (1994): 緑膿菌病原因子の分子生物学最近の進歩. 日本細菌学雑誌 **49**, 475-483.
- 136) Okujo, N., Saito, M., Yamamoto, S., Yoshida, T., Miyoshi, S., Shinoda, S. (1994): Structure of vulnibactin, a new polyamine-containing siderophore from *Vibrio vulnificus*. BioMetals **7**, 109-116.
- 137) Okujo, N., Sakakibara, Y., Yoshida, T., Yamamoto, S. (1994): Structure of acinetoferrin, a new citrate-based dihydroxamate siderophore from *Acinetobacter haemolyticus*. BioMetals **7**, 170-176.
- 138) Okujo, N., Yamamoto, S. (1994): Identification of the siderophores from *Vibrio hollisae* and *Vibrio mimicus* as aerobactin. FEMS Microbiol. Lett. **118**, 187-192.
- 139) Opal, S.M., Cross, A.S., Gemski, P., Lythe, L.W. (1990): Aerobactin and α -hemolysin as virulence determinants in *Escherichia coli* isolated from human blood, urine, and stool. J. Infect. Dis. **161**, 794-796.
- 140) Otto, B.R., Sparrius, M., Verweij-van Vught, A.M.J.J., MacLaren, D.M. (1990): Iron-regulated outer membrane protein of *Bacteroides fragilis* involved in heme uptake. Infect. Immun. **5**, 3954-3958.
- 141) Otto, B.R., Verweij-van Vught, A.M.J.J., MacLaren, D.M. (1992): Transferrins and heme-compounds as iron sources for pathogenic bacteria. Crit. Rev. Microbiol. **18**, 217-233.
- 142) Payne, S.M. (1988): Iron and virulence in the family Enterobacteriaceae. Crit. Rev. Microbiol. **16**, 81-111.
- 143) Payne, S.M. (1989): Iron and virulence of *Shigella*. Mol. Microbiol. **3**, 1301-1306.
- 144) Perry, R.D. (1993): Acquisition and storage of inorganic iron and hemin by the yersiniae. Trends Microbiol. **1**, 142-147.
- 145) Perry, R.D., San Clemente, C.L. (1979): Siderophore synthesis in *Klebsiella pneumoniae* and *Shigella sonnei* during iron deficiency. J. Bacteriol. **140**, 1129-1132.
- 146) Persmark, M., Expert, D., Neilands, J.B. (1992): Ferric iron uptake in *Erwinia chrysanthemi* mediated by chrysobactin and related catechol-

- type compounds. J. Bacteriol. **174**, 4783-4789.
- 147) Pettersson, A., Maas, A., Tommassen, J. (1994): Identification of the *iroA* gene product of *Neisseria meningitidis* as a lactoferrin receptor. J. Bacteriol. **176**, 1764-1766.
 - 148) Pickett, C.L., Auffenberg, T., Pesci, E.C., Sheen, V.L., Jusuf, S.D. (1992): Iron acquisition and hemolysin production by *Campylobacter jejuni*. Infect. Immun. **60**, 3872-3877.
 - 149) Pidcock, K.A., Wooten, J.A., Daley, B.A., Stull, T.L. (1988): Iron acquisition by *Haemophilus influenzae*. Infect. Immun. **56**, 721-725.
 - 150) Poole, K., Braun, V. (1988): Iron regulation of *Serratia marcescens* hemolysin gene expression. Infect. Immun. **56**, 2967-2971.
 - 151) Poole, K., Heinrichs, D.E., Neshat, S. (1993): Cloning and sequence analysis of an EnvCD homologue in *Pseudomonas aeruginosa*: regulation by iron and possible involvement in the secretion of the siderophore pyoverdine. Mol. Microbiol. **10**, 529-544.
 - 152) Poole, K., Krebs, K., McNally, C., Neshat, S. (1993): Multiple antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: evidence for involvement of an efflux operon. J. Bacteriol. **175**, 7363-7372.
 - 153) Poole, K., Neshat, S., Krebs, K., Heinrichs, D.E. (1993): Cloning and nucleotide analysis of the ferripyoverdine receptor gene *fvpA* of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol. **175**, 4597-4604.
 - 154) Postle, K. (1993): TonB protein and energy transduction between membranes. J. Bioenerg. Biomembr. **25**, 591-602.
 - 155) Postle, K., Good, R.F. (1983): DNA sequence of the *Escherichia coli tonB* gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **80**, 5235-5239.
 - 156) Prince, R.W., Cox, C.D., Vasil, M.L. (1993): Coordinate regulation of siderophore and exotoxin A production: molecular cloning and sequencing of the *Pseudomonas aeruginosa fur* gene. J. Bacteriol. **175**, 2589-2598.
 - 157) Prince, R.W., Storey, D.G., Vasil, A.I., Vasil, M.L. (1991): Regulation of *toxA* and *regA* by the *Escherichia coli fur* gene and identification of a Fur homologue in *Pseudomonas aeruginosa* PA101 and PA01. Mol. Microbiol. **5**, 2823-2831.
 - 158) Rakin, A., Saken, E., Harmsen, D., Heesemann, J. (1994): The pesticin receptor of *Yersinia enterocolitica*: a novel virulence factor with dual function. Mol. Microbiol. **13**, 253-263.
 - 159) Rombel, I.T., McMorran, B.J., Lamont, I.L. (1995): Identification of a DNA sequence motif required for expression of iron-regulated genes in pseudomonads. Mol. Gen. Genet. **246**, 519-528.
 - 160) Russell, L.M., Cryz, S.J.Jr., Holmes, R.K. (1984): Genetic and biochemical evidence for a siderophore-dependent iron transport system in *Corynebacterium diphtheriae*. Infect. Immun. **45**, 143-149.
 - 161) Russell, L.M., Holmes, R.K. (1985): Highly toxigenic but avirulent Park-Williams 8 strain of *Corynebacterium diphtheriae* does not produce siderophore. Infect. Immun. **47**, 575-578.
 - 162) Salinas, P.C., Crosa, J.H. (1995): Regulation of *angR*, a gene with regulatory and biosynthetic functions in the pJM1 plasmid-mediated iron uptake system of *Vibrio anguillarum*. Gene **160**, 17-23.
 - 163) Schaffer, S., Hantke, K., Braun, V. (1985): Nucleotide sequence of the iron-regulatory gene *fur*. Mol. Gen. Genet. **200**, 110-113.
 - 164) Schmitt, M.P., Holmes, R.K. (1991): Iron-dependent regulation of diphtheria toxin and siderophore expression by the cloned *Corynebacterium diphtheriae* repressor gene *dtxR* in *C. diphtheriae* C7 strains. Infect. Immun. **59**, 1899-1904.
 - 165) Schmitt, M.P., Holmes, R.K. (1994): Cloning, sequence, and footprint analysis of two promoter/operators from *Corynebacterium diphtheriae* that are regulated by the diphtheria toxin repressor (DtxR) and iron. J. Bacteriol. **176**, 1141-1149.
 - 166) Schneider, R., Hantke, K. (1993): Iron-hydroxamate uptake systems in *Bacillus subtilis*: identification of a lipoprotein as part of a binding protein-dependent transport system. Mol. Microbiol. **8**, 111-121.
 - 167) Schryvers, A.B., Lee, B.C. (1989): Comparative analysis of the transferrin and lactoferrin binding proteins in the family *Neisseriaceae*. Can. J. Microbiol. **35**, 409-415.
 - 168) Sharrman, G.L., Williams, D.H., Eving, D.F., Ratledge, C. (1995): Isolation, purification and structure of exochelin MS, the extracellular siderophore from *Mycobacterium smegmatis*. Biochem. J. **305**, 187-196.
 - 169) Silver, S., Walderhaug, M. (1992): Gene regulation of plasmid- and chromosome-determined in-

- organic ion transport in bacteria. *Microbiol. Rev.* **56**, 195–228.
- 170) Snow, G.A. (1970): Mycobactins : iron chelating growth factors from mycobacteria. *Bacteriol. Rev.* **34**, 99–125.
 - 171) Sokol, P.A. (1986): Production and utilization of pyochelin by clinical isolates of *Pseudomonas cepacia*. *J. Clin. Microbiol.* **23**, 7330–7339.
 - 172) Staggs, T.M., Perry, R.D. (1991): Identification and cloning of a *fur* regulatory gene in *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.* **173**, 417–425.
 - 173) Stojiljkovic, I., Hantke, K. (1992): Hemin uptake system of *Yersinia enterocolitica* : similarities with other TonB-dependent systems in gram-negative bacteria. *EMBO J.* **11**, 4359–4367.
 - 174) Stojiljkovic, I., Hantke, K. (1994): Transport of haemin across the cytoplasmic binding-protein-dependent system in *Yersinia enterocolitica*. *Mol. Microbiol.* **13**, 719–732.
 - 175) Stojiljkovic, I., Hantke, K. (1995): Functional domains of the *Escherichia coli* ferric uptake regulator protein (Fur). *Mol. Gen. Genet.* **247**, 199–205.
 - 176) Stojiljkovic, I., Hwa, V., Martin, L.S., O'Gaora, P., Nassif, X., Heffron, F., So, M. (1995): The *Neisseria meningitidis* haemoglobin receptor : its role in iron utilization and virulence. *Mol. Microbiol.* **15**, 531–541.
 - 177) Stuart, S.J., Pepic, J.K., Robins-Brown, R.M. (1986): Production of aerobactin by some species of the genus *Yersinia*. *J. Bacteriol.* **166**, 1131–1133.
 - 178) Tai, S.S., Lee, C., Winter, R.E. (1993): Hemin utilization is related to virulence of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect. Immun.* **61**, 5401–5405.
 - 179) Tao, X., Botd, J., Murphy, J. (1992): Specific binding of the diphtheria *tox* regulatory element DtxR to the *tox* operator requires divalent heavy metal ions and a 9-base-pair interrupted palindromic sequence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 5897–5901.
 - 180) Tao, X., Schiering, N., Zeng, H., Ringe, D., Murphy, J. (1994): Iron, DtxR, and the regulation of diphtheria toxin expression. *Mol. Microbiol.* **14**, 191–197.
 - 181) Tazaki, K., Inoshita, E., Amano, A., Hanioka, T., Tamagawa, H., Shizukuishi, S. (1995): Interaction of *Porphyromonas gingivalis* with transferrin. *FEMS Microbiol. Lett.* **131**, 161–166.
 - 182) Telford, J.R., Leary, J.A., Tunstad, L.M.G., Byers, B.R., Raymond, K.N. (1994): Amonabactin : characterization of a series of siderophores from *Aeromonas hydrophila*. *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 4499–4500.
 - 183) Thomas, C.E., Sparling, P.F. (1994): Identification and cloning of a *fur* homologue from *Neisseria meningitidis*. *Mol. Microbiol.* **11**, 725–737.
 - 184) Thompson, S.A., Wang, L.L., Sparling, P.F. (1993): *Neisseria meningitidis* produces iron-regulated proteins related to the RTX family of exoprotein. *J. Bacteriol.* **175**, 811–817.
 - 185) Tolmasky, M.E., Actis, L.A., Crosa, J.H. (1995): A histidine decarboxylase gene encoded by the *Vibrio anguillarum* plasmid pJM1 is essential for virulence : histamine is a precursor in the biosynthesis of anguibactin. *Mol. Microbiol.* **15**, 87–95.
 - 186) Tolmasky, M.E., Wertheimer, A.M., Actis, L.A., Crosa, J.H. (1994): Characterization of the *Vibrio anguillarum fur* gene : role in regulation of expression of the FatA outer membrane protein and catechols. *J. Bacteriol.* **176**, 213–220.
 - 187) Traub, I., Gaisser, S., Braun, V. (1993): Activity domains of the TonB protein. *Mol. Microbiol.* **8**, 409–423.
 - 188) Tryon, V.V., Baseman, J.B. (1987): The acquisition of human lactoferrin by *Mycoplasma pneumoniae*. *Microb. Pathogen.* **3**, 437–443.
 - 189) Tsuda, M., Miyazaki, H., Nakazawa, T. (1995): Genetic and physical mapping of genes involved in pyoverdinin production in *Pseudomonas aeruginosa* PAO. *J. Bacteriol.* **177**, 423–431.
 - 190) Tuckman, M., Osburne, M.S. (1992): *In vivo* inhibition of TonB-dependent processes by a TonB box consensus pentapeptide. *J. Bacteriol.* **174**, 320–323.
 - 191) Ventiro, V., Ottevanger, C., Bracke, M., Weisbeek, P. (1995): Iron regulation of siderophore biosynthesis and transport in *Pseudomonas putida* WCS358 : involvement of a transcriptional activator and of the Fur protein. *Mol. Microbiol.* **15**, 1081–1093.
 - 192) Visca, P., Ciervo, A., Orsi, N. (1994): Cloning and nucleotide sequence of the *pvdA* gene encoding the pyoverdinin biosynthetic enzyme L-ornithine N⁵-oxygenase in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* **176**, 1128–1140.
 - 193) Waalwijk, C., MacLaren, D.M., deGraaff, J. (1983): *In vivo* function of hemolysin in nephropathogenicity of *Escherichia coli*. *Infect.*

- Immun. **42**, 245-249.
- 194) Warner, P.J., Williams, P.H., Binderif, A., Neilands, J.B. (1981): ColV plasmid-specified aerobactin synthesis by invasive strains of *Escherichia coli*. Infect. Immun. **33**, 540-545.
 - 195) Warning, W.S., Werkman, C.H. (1944): Iron deficiency in bacterial metabolism. Arch. Biochem. **4**, 75-87.
 - 196) Weinberg, E.D. (1978): Iron and infection. Microbiol. Rev. **42**, 45-66.
 - 197) Weinberg, E.D. (1984): Iron withholding: a defense against infection and neoplasia. Physiol. Rev. **64**, 65-102.
 - 198) Weinberg, E.D. (1992): Iron depletion: a defense against intracellular infection and neoplasia. Life Sci. **50**, 1289-1297.
 - 199) Williams, P., Griffiths, E. (1992): Bacterial transferrin receptors: structure, function and contribution to virulence. Med. Microbiol. Immunol. **181**, 301-322.
 - 200) Williams, P.H. (1979): Novel iron uptake system specified ColV plasmids: an important component in the virulence of invasive strains of *Escherichia coli*. Infect. Immun. **26**, 925-932.
 - 201) Wong, H., Lee, Y. (1994): Regulation of iron on bacterial growth and production of thermostable direct hemolysin by *Vibrio parahaemolyticus* in intraperitoneal infected mice. Microbiol. Immunol. **38**, 367-371.
 - 202) Wooldridge, K.G., Williams, P.H. (1993): Iron uptake mechanisms of pathogenic bacteria. FEMS Microbiol. Rev. **64**, 65-102.
 - 203) Wooldridge, K.G., Williams, P.H., Ketley, J.M. (1994): Iron-responsive genetic regulation in *Campyrobacter jejuni*: cloning and characterization of a *fur* homolog. J. Bacteriol. **176**, 5852-5856.
 - 204) Yamamoto, S., Akiyama, T., Okujo, N., Matsuura, S., Shinoda, S. (1995): Demonstration of a ferric vibrioferrin-binding protein in the outer membrane of *Vibrio parahaemolyticus*. Microbiol. Immunol. **39**, 759-766.
 - 205) Yamamoto, S., Hara, Y., Tomotika, K., Shinoda, S. (1995): Utilization of hemin and hemoglobin as iron sources by *Vibrio parahaemolyticus* and identification of an iron-repressible hemin-binding protein. FEMS Microbiol. Lett. **128**, 195-200.
 - 206) Yamamoto, S., Okujo, N., Fujita, Y., Saito, M., Yoshida, T., Shinoda, S. (1993): Structures of two polyamine-containing catecholate siderophores from *Vibrio fluvialis*. J. Biochem. **113**, 538-544.
 - 207) Yamamoto, S., Okujo, N., Matsuura, S., Fujiwara, I., Fujita, Y., Shinoda, S. (1994): Siderophore-mediated utilization of iron bound to transferrin by *Vibrio parahaemolyticus*. Microbiol. Immunol. **38**, 687-693.
 - 208) Yamamoto, S., Okujo, N., Sakakibara, Y. (1994): Isolation and structure elucidation of acinetobactin, a novel siderophore from *Acinetobacter baumannii*. Arch. Microbiol. **162**, 249-254.
 - 209) Yamamoto, S., Okujo, N., Yoshida, T., Matsuura, S., Shinoda, S. (1994): Structure and iron transport activity of vibrioferrin, a new siderophore of *Vibrio parahaemolyticus*. J. Biochem. **115**, 868-874.
 - 210) Yamamoto, K., Wright, A.C., Kaper, J.B., Morris, J.G.Jr. (1990): The cytolysin gene of *Vibrio vulnificus*: sequence and relationship to the *Vibrio cholerae* El Tol hemolysin gene. Infect. Immun. **58**, 2706-2709.