ブドウ球菌研究の過去から未来へ

橋 本 一

(株)北里研究所
〒108 東京都港区白金5-9-1

〔受理：1996年4月4日〕

ブドウ球菌研究会は、その30周年記念事業として、1986年、37人の執筆者よりなる編著を発行した。その中で吉川昌之介氏は、遺伝学の項で、“ブドウ球菌の染色体は今なおほとんど何もわかっていない”と述べている。その後10年間、今に至るまで研究の最も進んだのはその遺伝学、或いは分子生物学の領域であるので、その立場から、今まで何がわかり、何がわからないで来たかを解説する。

I. 薬 剤 耐 性

Staphylococcus aureus (黄色ブドウ球菌) の染色体の解析がおくれたのは、菌の接合による高頻度伝達系がまだないからである。*S. aureus* には溶原フェージが多く、それらを用いた導入系が最も広く用いられた遺伝子伝達系であった。1972年よりは直接 DNA を用いた形質転換で解析されるようになり、また Tn551 など、挿入変異株を得やすいトランスポゾンも有力な解析手段となつて、1993年やっと切れ目のない *S. aureus* 染色体の環状地図が Pattee らによって発表された(11)。薬剤耐性と病原性に関する遺伝子座位を図1に紹介する。

S. aureus 薬剤耐性機序としては、他の菌と同じく、1) 薬剤の不活化、2) 作用点の変異、

3) 透過性低下とある(表1, 図2)。菌が最もとり易い方法は、自分自身を変えず相手を変える不活化であり、 β ラクタマーゼやアミノグリコシド不活化酵素が知られている。相手が変わらない場合、自分が変わらざるを得ないが、まず自分の弱点を補強するのが作用点の変異である。その次に薬剤を菌体内に入れないか、入っても排出する機構が働く。これが透過性低下、或いは薬剤の菌体内蓄積低下である。作用点変異のよい例は MRSA における PBP の変化であるし、侵入阻止ではホスホマイシン (FOM) 耐性、排出ではテトラサイクリン (TC) 耐性が早くから知られている。

S. aureus に有効などの抗菌剤でも、いつかは臨床株から上記3種類の機構をもつ耐性株が分離される可能性が考えられる。但し外膜のない *S. aureus* において、作用点が細胞膜上の酵素である β ラクタム剤に対しては、透過性変異株は考える必要はない。マクロライド (MLs) の場合は、最初に発見された臨床耐性株は、作用点であるリボゾームの変化によるものであり、それはリボゾーム RNA のメチル化であった。しかし後に排出による耐性株が現れたし、他の菌種では不活化による MLs 耐性が発見されている。人工的な合成剤である新キノロン剤ではまだ不活化はみつかっていないが、作用点変異に2種あることが最近わかったので次の項で詳述する。

キノロン耐性

作用点が細胞壁合成とか、DNA の複製といっ

Hajime HASHIMOTO
Studies on *Staphylococcus aureus* : from the Past to the Future
The Kitasato Institute, Minato-ku, Tokyo 108

図1. ブドウ球菌の遺伝子地図
各遺伝子マーカーについては文献(11)参照。括弧内はまだ座位が決まっていない。

表1. ブドウ球菌の薬剤耐性遺伝子

薬剤耐性	遺伝子	耐性機序
β-ラクタム	<i>bla mec</i>	I, β-ラクタマーゼ M, PBP2'
アミノグリコシド系	<i>aac, aph, aad</i>	I, アセチル化 リン酸化 アデニル化
クロラムフェニコール	<i>cat</i>	I, アセチル化
テトラサイクリン系	<i>tetK tetM</i>	P, 排出 M, リボソーム保護
マクロライド系	<i>erm</i>	M, 23S rRNA アデニンのジメチル化
	<i>sbh</i>	I, ハイドrolラーゼ
リンコマイシン	<i>lin</i>	I, スクレオチジルトランスフェラーゼ
リファンピシン	<i>rpo</i>	M, RNA ポリメラーゼ変異
新キノロン	<i>gyr</i>	M, DNA ジャイレース変異
	<i>gri</i>	M, DNA トポイソメラーゼ IV 変異
	<i>nor</i>	P, 排出
ホスホマイシン	<i>glp, uhp, fos</i>	P, とりこみ阻害 I, グルタチオン転移
サルファ剤, トリメトプリム	<i>sul, tmp</i>	M, 葉酸合成酵素の増量, 変異
重金属	<i>mer, cad, asa</i>	I, P, 不活化 排出

I: 不活化, M: 作用点の変異, P: 透過性低下

た複雑な合成系である場合には、それに参画する酵素も複数であり、同じ薬剤に対する耐性の表現型でも、阻害される酵素が2種以上なため、遺伝子型が異なる場合がある。それらの酵素が1

種変わると MIC で示される薬剤耐性度は中等度に上昇し、さらに別の酵素の変異が加わると MIC が高度耐性化したりする。そのよい例が *S. aureus* の新キノロン耐性変異と、メチシリン高

I. 薬剤の不活化

Ia. 分解

Ib. 修飾

II. 作用点の変異

IIa. 質的変異

IIb. 量的変異

III. 透過性の変化

IIIa. 流入阻害

IIIb. 排出

図2. 薬剤耐性機序

度耐性の MRSA であった。

新キノロンの作用点が DNA ジャイレースであることは、1976年の Gellert らの仕事でわかって

いることであるが、*S. aureus* の場合、大腸菌などと違って、一度の変異でジャイレース変異株が得られないのが長らく不可解だった。1990年、

加藤らは細胞分裂異常株を調べている内に、*par*と名づけられた変異株が新しい DNA トポイソメラーゼ、トポ IV であることを発見し、さらにその株が同時にキノロン耐性を示すことを見た(5)。この酵素は菌の生存に必須で、複製が終わり、からみ合った2つの娘 DNA 分子を解離する時に働く。続いて1994年に Ferrero らが、*S. aureus* のキノロンへの MIC が連続して増加した一連の変異株を調べ、シプロフロキサシン (CPFX) の MIC が 2-16 $\mu\text{g/ml}$ の株はトポ IV 酵素の変異のみでジャイレースの変異がなく、それ以上の MIC の株になって始めて両酵素が変異していることがわかった(2)。変異株では両酵素のそれぞれにアミノ酸置換が認められている。大腸菌では両酵素のキノロン感受性が、ジャイレースの方が高いので、薬剤の選択濃度をあげてゆくと、先ずジャイレースだけの変異株が容易に得られる。つまり *S. aureus* では2つの遺伝子の変異がなければジャイレース変異株は得られず、従って1回だけの選択でジャイレース変異株が得られない理由がわかったわけである。

β ラクタム耐性

同様に β ラクタム耐性でも、高度耐性には2つ以上の酵素の変異が関与していることがわかりつつある。*S. aureus* では β ラクタムの作用を受けるのは細胞壁合成酵素、PBP (penicillin binding protein) の阻害によるが、外来性の遺伝子 *mecA* により、 β ラクタムに親和性の少ない新しい PBP、すなわち PBP2' の新生でメチシリン耐性 (MRSA) となる。PBP2' は調節遺伝子を持ち、 β ラクタムにより誘導されて耐性を発現する(8)。これに不活化酵素の PCase (ペニシリナーゼ) 産生遺伝子 *bla* が加わると、その強力な抑制遺伝子産物が *mecA* にも働き耐性発現を抑えたりする。そのため β ラクタムの抗菌力と誘導性の違いによって同じ耐性でもさまざまな MIC の発現となる。*S. aureus* の PCase はほとんどがプラスミド性であり、ほとんどの *S. aureus* 株はこのプラスミドをもつが、MRSA 臨床株の中にはプラスミドのないものがある。その株でも薬剤の選択で種々の耐性度の変異株が得られ、高度耐性株が得られる。Tomasz らはメチシリン高度耐性株

図3. メチシリン高度耐性株の変異

実線は構成型高度耐性株とそれよりの感受性変異株。点線は一部分に高度耐性株を含むヘテロ耐性株、この株は MIC では中等度耐性を発現する。感受性変異株 RUSA4 にヘテロ耐性発現遺伝子を形質転換すると、再びすべての菌が高度耐性を発現するホモ高度耐性株となる。Tomasz (13) より改変。

表2. キノロン耐性 *Staphylococcus aureus* の遺伝子

臨床株	MIC ($\mu\text{g/ml}$) CPFX	コードンの変化	
		<i>gyrA</i> 変異	<i>griA</i> (<i>parC</i>) 変異
RN4220	1	No	No
SA42	0.5	No	No
SA1	2	No	80Ser→Phe
SA3	4	No	80Ser→Phe
SA2	16	No	80Ser→Tyr
SA47	16	84Ser→Leu	80Ser→Tyr
SA4	32	88Glu→Lys	80Ser→Phe
SA5	32	84Ser→Leu	80Ser→Phe
SA6	32	84Ser→Leu	80Ser→Phe
SA35	64	85Ser→Pro	80Ser→Tyr
SA42R	128	84Ser→Leu	80Ser→Tyr

Ferrero (2) より

からトランスポゾン Tn551 を用いて種々の感受性変異株を得た (13)。大部分は中等度耐性株となり、PBP2' 生産に関する *mecA* 遺伝子に変異はなかった。少数株ではほぼ感受性株と変わらぬまでに MIC が下がり、*mecA* 遺伝子が挿入変異した事がわかった。ところがこの株に通常の中程度耐性を形質発現する *mecA* 遺伝子を再び入れてやると、高度耐性株となった。この事より高度耐性株では *mecA* と異なる箇所にある別の遺伝子が *mecA* の発現を更に高度化することが推定された。この未知の遺伝子を、実験株を用い、逆の耐

性化変異株を求める方法で解明したのは、近藤、平松らの1995年の仕事であった。彼らは *mecA* の他に、そのメチシリン耐性度を高度化する新しい遺伝子 *hmr* を同定したが、その作用機構はまだ解明されていない。これらの耐性機構の解明には、後述する如く、 β ラクタムの作用機構の解明を伴わねばならず、この分野は細胞壁合成機構と共にまだまだ未知の事が残されている。

薬剤排出系

薬剤耐性がエネルギーを用いた排出によることの例は、早く TC 耐性に於てみられている。エネ

表3. ブドウ球菌のプラスミド

クラス	群	プラスミド	コピー数	大きさ (Kb)	不和合性 グループ	表現型
I	pT181	pT181	22	4.4	3	TC
		PS194	22	4.4	5	SM
	pC194	pC194	15	2.9	8	CP
		pUB110	10	4.5	13	KM, BI
		pOX6		3.2		Cd
	pSN2	pSN2	50	1.3		Criptic
		pE12	10	2.2	12	EM
		pE194	55	3.7	11	EM
	II α	pI258	5	28.2	1	EM etc
		pII147	5	32.6	2	PC etc
III	III	pG01		52		Tra, GM etc

Novick (10) より

ルギー代謝阻害剤を用いると、薬剤の細胞内蓄積量が増加することはその傍証であるが、Levy らは細胞膜の内外を逆にした反転膜の系を作り、*in vitro* で膜タンパクによる薬剤の排出系を解析することを可能にした。山口らはこの TC の排出が 2 価金属イオンとのキレート物として、プロトンと 1:1 に逆輸送されることを確証した (15)。

S. aureus の種々のキノロン耐性株を解析すると、親水性のキノロンにより高い MIC を示す変異株が得られる。生方らはこれらの株を解析し、排出系の変異 *norA* の存在を確認した (14)。マクロライドでもリボゾームの変異のない耐性があり、排出によることが知られている。*S. aureus* にはまた多くの金属や色素への耐性が知られているが、これらの多くも排出系による。

プラスミドとトランスポゾン

S. aureus の薬剤耐性遺伝子は多くプラスミド上にあり、中でもエリスロマイシン (EM) 耐性やカナマイシン (KM) 耐性のように、遺伝子がトランスポゾン上にあるものは染色体上にも存在する。プラスミドは表 3 のように 3 つのクラスに分類され、さらに不和合性で分けられている。1 つの薬剤耐性遺伝子をもつのが普通である、5 kb 以下の小さいプラスミド群、20~30 kb 付近の多剤耐性プラスミド群、そして 50 kb 以上の伝達性あるプラスミド群である (10)。伝達性と

いっても伝達頻度は低く、フィルター上で行われるのが常である。

S. aureus トランスポゾンを表 4 に示す (10)。Tn551 や Tn917 は挿入点の特異性はなく、40 bp の末端反復あり、5 bp の挿入点反復もあって、グラム陰性菌でみられる多くの Tn と変わりはない。EM 耐性遺伝子をもつので挿入変異株を得るのによく用いられる。Tn554 となると末端反復も挿入点反復もなく、挿入点の特異性は高度である (9)。6691 bp の長さがあり、誘導性の EM 耐性とスペクチノマイシン耐性がマーカーとなる。特異的な挿入箇所は *att554* と言われ、GATGTA の塩基配列をもつが、その両側の 10 数塩基の配列も重要である。さらに GATGTA 以外の配列箇所に次々に挿入した場合、そのターゲットの配列は挿入された Tn554 の左端に来て、それ以前の Tn554 の左端が右端となる (図 4)。挿入方向が違うとコア配列の違う側に入る。これらの現象がどのような機構によるかの解明は今後の課題である。

MRSA の *mecA* がトランスポゾンであるという解析が、1988 年に Trees らにより *Journal of Bacteriology* に発表されたが再現性がなく、その真実の程が疑われている。

表 4. トランスポゾンと関連因子

因子	大きさ (Kb)	耐性	末端反復 (bp)	挿入点反復 (bp)	挿入点特異性	相同因子
Tn551	5.3	EM (MLS)	40	5	なし	Yn917
Tn552	6.7	PC, 重金属	ND	6	ND	Tn3852
						Tn4002
						Tn4201
Tn554	6.7	EM (ind), SPC	なし	なし	高度	Tn3853
Tn916	15.0	TC	28	なし	低度	Tn918
						Tn919
						Tn1545
Tn4001	4.7	EM, KM, TOB, GM	IS256	なし	ND	Tn3851
Tn4003	3.6	TMP	IS257	ND	ND	
IS256	1.35		ND	ND	ND	
IS431	0.8		17-22	ND	ND	IS257

Novick (10) より

図4. Tn554 の転移機構。Murphy (9) より

II. 病 原 性

スタフィロキナーゼ

ブドウ球菌研究会の1986年の編著で、近藤らは、*S. aureus* の繊維素溶解因子はプラスミノーゲンの活性化に基づくものであることから、スタフィロキナーゼ (SAK) と呼んだ。この SAK 遺伝子は殆どの *S. aureus* が所有し、コアグララーゼと協調して働く病原性因子の一つである。疫学的調査によると、ヒト由来の *S. aureus* では大部分の SAK (+) 株が β ヘモリジン (β -Hly) 非産生であり、ウシ由来株では逆に殆どが SAK (-), Hly (+) で、少数の SAK (+) 株は Hly (-) であった (表5)。これらの事実から、近藤らは、これらの形質発現は溶原ファージで運ばれる遺伝子により、そのファージ遺伝体上には Hly 発現を抑制する遺伝子があると推定した。彼らは推定通り、それらの現象がファージによる溶原交換であることを実証したが、Hly (-) の機構については、後年遺伝子地図がわかってみると (11)、抑制遺伝子ではなく、溶原ファージの挿入部位が Hly 遺伝子の中にあることで容易に説明がつくことがわかった。

病原性遺伝子の総括的調節

S. aureus は病原性因子として多くの毒素タン

パクを菌体外に排出する。排出されるタンパクは細胞膜通過のためにシグナルペプチドをもつ。これらの外毒素の他に、*S. aureus* は表面抗原としてプロテイン A やコアグララーゼを産生し、膜タンパクとして知られている。菌の生理的状态とこれらのタンパク産生との関係を見ると、外毒素は定常期になって産生量が増し、逆に表面抗原は対数期に産生性が高い。一方 β ラクターマーゼ生産は排出されるタンパクながら調節を受けていない。80年代の後半にこれらの調節に関係する一群の遺伝子 *agr* (*exp* も同じ) が発見された。図5に

表5. *S. aureus* のスタフィロキナーゼ
—ヒトと動物由来株の差, β ヘモリジンとの関係—

由来	バイオタイプ SAK	β -Hly	分離 株数	(%)	主な ファージ型
ヒト	+	-	63	64.3	I, NT
	+	+	25	25.5	NT
	-	+	7	7.1	
	-	-	3	3.1	
ウシ	+	-	13	20.6	III, NT
	-	+	50	79.4	IV, NT
	+	+	0	0	
	-	-	0	0	

近藤 勇ほか (1986) より

図 5. *S. aureus* における病原性因子産生調節。Novick ら (6) より

示すように、Agr⁺ 株では静止期に、αヘモリジン等は高度に発現し、Agr⁻ 株ではほとんど抑えられる。βヘモリジン等はその調節は中等度であり、プロテイン A ではその調節が逆になっている。agr 遺伝子群としては A, B, C, D とありその順に並んでいるが、D から C, B, A の左方向に読む mRNA II と、同じ領域から右方向に読み、δヘモリジンもコードしている RNA III とがあり、AgrA 産物がリン酸化されると RNA III の産生が高まる。Agr B, C, D は AgrA のリン酸化を調節しているがその機構はわかっていない。RNA III はそのままの形で各種排出タンパク遺伝子オペロンを調節している (6)。それが抑制に働くか、増強に働くかは各オペロン特有であるがその機作も明らかではない。さらに *S. aureus* は菌体外にアクチベーター (RAP) を分泌し、AgrC がそのレセプターとして働く、いわゆる autocrine の回路をもつと報告され、またある変異株はこの RAP の働きを阻害するインヒビター (RIP) も出すとされたが (1)、これら調節物質の本体ならびに作用機構は不明で、近い将来の解析が待たれるところである。

RNA III は転写の段階で生産調節されており、その regulon への調節も転写の段階であると考えられているが、同じ RNA III の生産増強があっても、例えばヘモリジンとエンテロトキシンでは、mRNA 産生増加は同じでも、最終産物の増加に差があり、翻訳の段階でも調節を受けている可能性が考えられている。また Cheung らのグループは、RNA III の転写をさらに調節していて agr とは独立した他の調節遺伝子 sar を分離しその解析を進めている。Iandolo らのグループは、agr と似て異なる遺伝子 xpr を発表しているが、これらは agr 程詳しい解析がなされておらず、*S. aureus* 排出タンパク調節系の全貌の解明は今後の最大課題の一つであろう。

スーパー抗原

MRSA の多くは外毒素 TSST-1 を生産し、これは TSS (Toxic Shock Syndrome) を惹起することが知られている。これはこの毒素がスーパー抗原として非特異的に T リンパ球を活性化し、サイトカインの過剰生産で、毒素の直接作用と共にショック、または多器官障害に導くものと考えられている。TSS を起こすのは TSST-1 に限ら

ず、エンテロトキシンでも起こることがある。エンテロトキシンには A から E までであり、これらとレンサ球菌の毒素とはその遺伝子 DNA 塩基配列を比較するとお互いに約50%の相同性を示し、さらに TSST-1 と30%程の相同性がみられる。従って起原は同一であり、その毒素タンパクの或るエピトープがスーパー抗原としての性質をもつとしても不思議ではない。*S. aureus* にはまた SEZ のように毒素として翻訳されない遺伝子までがみつかつて、これらも含め、進化の系統樹が書かれている。これらの感染諸過程における分子レベルにおける作用機構の解明は、Host 側の諸要素も含み、全く今後の研究に待つところである。

III. 細胞分裂機構

最後に *S. aureus* の細胞分裂機構について考察する。ここには広い未知の分野があるが、研究のきっかけはもう始まっている。

まず考えたいのは Giesbrecht らの10年余にわたる研究成果である (3, 4)。彼は *S. aureus* の一株とペニシリン G (PC-G) だけの関係で電子顕微鏡学的に解析を続けた。PC が臨床に応用されて50年経っても、何故 PC が細胞を殺すのか、その作用機構は明らかでなかった。しかし彼は、低濃度 (0.1 $\mu\text{g/ml}$) の PC が *S. aureus* を殺菌する時は直ちに死なず、次の分裂サイクルの開始点、つまり隔膜形成開始部位において、ミュロソーム (murosomes) による細胞壁のほころびのために細胞膜が膨化して破れ、死に至る事を電顕で示した。この細胞壁のほころびは、前の分裂面に直角につくられた円周に沿って、ミュロソームと名づけられた小胞が20個程並び、PC で分裂面での細胞壁の強度が阻害されるために、ミュロソームの内外で亀裂が生じて、一点から一気に細胞内容物が失われる現象である。このミュロソームの内容物が何なのか、どこからどのように作られてゆくのかはよくわかっていない。広島大の杉中グループは酵素学的な解析から、新しい分裂面に沿って細胞の外側にエンドペプチターゼ、N アセチルムラミダーゼが存在する事を免疫化学的に証明しているので、これがミュロソームの内容物と推定される (12)。

Giesbrecht ら (3) はこの他に、高濃度 (10 $\mu\text{g/ml}$) の PC を作用させた時には、その細胞集団の10%程では、次の分裂を待つまでもなく、直ちに細胞内容のほころびが始まり、それは隔膜形成の進行端であると述べた。彼らはこの細胞死を hidden death と言っている。PC 濃度が低い場合は、隔膜形成端では、進行が止まっても、破れを補強する物理的構造が残ると考えているが、その構造がいかなる物質によるのかは全くわかっていない。

Giesbrecht らの業績 (3, 4) に基づいて、私は図6に *S. aureus* の分裂機構のモデルを提唱したい。細胞分裂は細胞壁の倍化であると同時に遺伝子 DNA の複製であり、両者の機構はお互いに連関している筈である。ミュロソームの配列でも、酵素の配列でも、円周状に配列していることは知られているが、それにも始まりがある筈である。新しい隔壁面はその前の分裂面と直角に作られるが、新しい円周開始点に、ある特異性を与えるとすれば、それは DNA 複製開始点ではないだろうか。そこには DNA と結合した特殊なタンパクなり RNA なりがあるはずで、それらは複製開始と共に2つになるはずである。2つになった開始点と結合物は DNA の複製が進むと共に両極に分かれ、次の分裂面の開始点に移行するはずであるから、膜に結合したまま始めの分裂環より最も離れた場所に移行すればよい。次に隔壁が出来る為には円周状の位置を決める構造がなくてはならず、しかも新しい隔壁を2枚作るわけであるから、その構造物は円周状に2つ出来なくてはならない。幸いそのような構造はサルモネラの分裂面で、MacAlister ら (7) が1983年に隔壁周縁環として示した。彼らは連続切片の電顕像で、ムレインと細胞膜が付着した状態として明らかにしている。*S. aureus* でも同様にして、1点から始まる2つの輪としてムレインと細胞膜との付着線が作られ、そこには未知の構造タンパクが近接して存在するであろう。分裂面の最外部ではムレインの連続面が絶たれるのであるから、そこにミュロソームが存在するのであろう。ミュロソームが、如何に形成されるのかは不明である。

隔壁周縁環では、隔壁が同心円状に球菌の中心部に向かって次第に短くなる円周を作ってゆかね

ブドウ球菌の分裂機構

図6. ブドウ球菌の分裂機構

○：ミュロソーム，●：隔壁形成先端部酵素（群），▲：複製開始点結合タンパク（群），■：隔壁周縁環を位置づけるタンパク（群），□：複製フォークでのタンパク（群），◇：Grl (ParC) ほか，複製終了時に働くタンパク群。

ばならないから，今までのムレイン合成の方向性が直角に変化しなければならず，従ってムレイン合成酵素が例え同じものとしても，その方向性を直角に曲げる構造物が存在する筈である。また隔壁合成の先端部でも，ついには同心円が閉じるのであるから，そこにも特殊なタンパクがある筈である。

一方，DNA 複製の方では，環状 DNA が2分裂する最後に出来るカテナン構造を解きほぐすトポ IV が加藤らによって1990年発見された事は前述した。DNA 存在下でトポ IV 酵素 ParC は内膜に結合している事が知られている。Giesbrechtらの報告を始め，種々の電顕像を見れば，分裂状態の DNA は隔壁形成終了近くまで連続しており，隔壁形成終了と DNA 複製終了が同調している事を推定させる。とすると ParC は隔壁形成先端部と共に常に中心部に移行し，球菌の中心に於て最後に DNA が分離する時に働いているものと推定される。従って隔壁形成終了時には，それぞれの娘環状2重鎖 DNA は，次の複製開始点は隔

壁から最も離れた場所に，複製終了点は球心，すなわち球菌が2分裂後も開始点の対極に位置し，次の隔壁周縁環が前分裂面に直角である限り，いかなる場合も周縁環の双極でありうる事となる。ParC は DNA 複製終了近くに形質発現され，娘細胞に DNA と共に，それに結合したままで分配されるのであろう。*S. aureus* では球菌といえども，機能的には頭頂と底部が常に決まり，周縁環形成と共に左右（または前後）の位置関係が決めるものと考ええる。2つの隔壁が出来てしまえば，その間を切りさく機構はそれ以前程複雑ではないだろう。しかしその現象はもう菌体外部での出来事となる。菌体内で生産されるこれら細胞壁分解酵素が，どのような過程で隔壁面に集まるのか，それがミュロソームという，膜に包まれた形態をとる時，どのようにしてその小構造が作られるのか。またその中の諸酵素が何によって活性化して娘細胞の分離を促すのか。それら複雑な諸現象に関係する諸酵素やそれらを支配する遺伝子，またその発現の調節機構など，今後の解析を

待つ事はあまりにも多い。

あ と が き

以上は広島で行われた第40回ブドウ球菌研究会で私が講演した要旨である。本稿を書き終えた時に福岡で第69回日本細菌学会総会があり、私は日本の学会形成も、内容も大きく変わりつつあることに感動した。全員のポスター発表は、かえって話題の仕事を中心に人々の交歓を深め、シンポジウムも時代の動きを反映していた。

学会での第一のトピックスは、Viable but not culturable な状態の解析であろう。従来の細菌学が、栄養培地で育成した対数増殖期の菌を主に用いていた事の現実ばなれを深く考えさせられた。そもそも細菌学の出発は病原細菌を対象としたものであり、人命に脅威を与える“感染症”であった筈で、これを菌側からみれば人体というきびしい環境で如何に生き抜くかの戦いであった。医学も進歩したが菌側も進化する。私が薬剤耐性で論じたように菌側も多元的に総力をあげてヒトに対抗している。また病原性で論じたように菌に不利な環境に調節系を総合的に変化させて生存をはかる。そしてその主体である菌は頭もお尻もある一つの生物として独立した形態をもち、適当な部位に各酵素系を配置し、いかなる環境にも応じる構えをみせている。*in vitro* の解析と異なり、ヒトの体内で生きる *in vivo* 菌の世界は、常にヒトの理解を越える未知の分野を残している。ブドウ球菌だけを対象としても、細菌学は豊かな発展を約束するであろう。

最後に私の“虚実とりまぜた”講演を面白いと思い投稿を薦められた浜田茂幸編集委員長、またその講演のチャンスを作って下さった杉中秀寿教授に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) Balaban, N., Novick, R.P. (1995): Autocrine regulation of toxin synthesis by *Staphylococcus aureus*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **92**, 1619-1623.
- 2) Ferrero, L., Cameron, B., Manse, B., Lagneaux, D., Crouzet, J., Famechon, A., Blanche, F. (1994): Cloning and primary structure of *Staphylococcus aureus* DNA topoisomerase IV: a primary target of fluoroquinolones. Mol. Microbiol. **13**, 641-653.
- 3) Giesbrecht, P., Kersten, T., Maidhof, H., Kruger, D., Blumel, P., Grob, H., Wecke, J. (1994): A novel “hidden” penicillin-induced death of staphylococci at high drug-concentration, occurring earlier than murosomes-mediated killing processes. Arch. Microb. **161**, 370-383.
- 4) Giesbrecht, P., Kersten, T., Wecke, J. (1992): Fan-shaped ejections of regularly arranged murosomes involved in penicillin-induced death of staphylococci. J. Bacteriol. **174**, 2241-2252.
- 5) Kato, J., Suzuki, H., Ikeda, H. (1992): Purification and characterization of DNA topoisomerase-IV in *Escherichia coli*. J. Biol. Chem. **267**, 25676-25684.
- 6) Kornblum, J., Kreiswirth, B., Projan, S. J., Ross, H., Novick, R.P. (1990): Agr: a poly-cistronic locus regulating exoprotein synthesis in *Staphylococcus aureus*. p. 373-402, In Molecular Biology of the Staphylococci, Novick, R.P. (ed), VCH Publishers, N.Y.
- 7) MacAlister, T.J., Macdonald, B., Rothfield, L.L. (1983): The periseptal annulus: an organelle associated with cell division in Gram-negative bacteria. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **80**, 1372-1376.
- 8) Matsushashi, M., Song, M.D., Wachi, M., Maesaki, S., Ubukata, K., Konno, M. (1990): Molecular and genetic studies on methicillin resistance in Staphylococci. p. 457-470, In Molecular Biology of the Staphylococci, Novick, R.P. (ed), VCH Publishers, N.Y.
- 9) Murphy, E. (1990): Properties of the site-specific transposable element Tn554. p. 123-136, In Molecular biology of the Staphylococci. Novick, R.P. (ed), VCH Publishers, N.Y.
- 10) Novick, R.P. (1990): The *Staphylococcus* as a molecular genetic system. p. 1-37, In Molecular biology of the Staphylococci. Novick, R.P. (ed) VCH Publishers, N.Y.
- 11) Pattee, P.A. (1993) Genetic and physical map of *Staphylococcus aureus* NCTC 8325. p. 2106-2113, In Genetic maps, 6th ed. O'Brien, S.J. (ed).
- 12) Sugai, M., Komatsuzawa, H., Akiyama, T., Hong, Y.-M., Ohida, T., Miyake, Y., Yamaguchi, T., Suganaka, H. (1995): Identification of endo- β -N-acetylglucosaminidase as cluster-dispersing enzymes in *Staphylococcus aureus*. J. Bacteriol. **177**, 1491-1496.
- 13) Tomasz, A. (1990): Auxiliary genes assisting in

- the expression of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. p. 565-583, In *Molecular Biology of the Staphylococci*. Novick, R.P. (ed), VCH Publisher, N.Y.
- 14) Ubukata, K., Itoh, N-Y., Konno, M. (1989): Cloning and expression of the *norA* gene for fluoroquinolone resistance in *S. aureus*. *Antimicrob. Anticancer Chemother.* **33**, 1535-1539.
- 15) Yamaguchi, A., Ono, N., Akasaka, T., Noumi, T., Sawai, T. (1990): Metal-TC/H⁺ antiporter of *Escherichia coli* encoded by a transposon, Tn10. *J. Biol. Chem.* **265**, 15525-15530.