最後にもう一つ。精細管は精子形成に必須なのだろうか。In vitro 精子形成は可能になったが、その答えはお預けのままである。

- 1) T. Sato, K. Katagiri, A. Gohbara, K. Inoue, N. Ogonuki, A. Ogura, Y. Kubota & T. Ogawa: *Nature*, **471**, 504 (2011).
- 2) M. Kanatsu-Shinohara, N. Ogonuki, K. Inoue, H. Miki, A. Ogura, S. Toyokuni & T. Shinohara: *Biol. Reprod.*, **69**, 612 (2003).
- 3) A. Steinberger, E. Steinberger & W. H. Perloff: *Exp. Cell*

Res., **36**, 19 (1964).

- 4) A. Gohbara, K. Katagiri, T. Sato, Y. Kubota, H. Kagechika, Y. Araki, Y. Araki & T. Ogawa: *Biol. Reprod.*, **83**, 261 (2010).
- 5) T. Sato, K. Katagiri, T. Yokonishi, Y. Kubota, K. Inoue, N. Ogonuki, S. Matoba, A. Ogura & T. Ogawa: *Nature Commun.*, **2**, 472 (2011).

(小川毅彦, 横浜市立大学大学院医学研究科)

腸管常在性真菌が腸管に定着する仕組みを探る *Candida glabrata* の乳酸脱水素酵素 Cyb2 は腸管定着に必要な因子

Candida glabrata は、ヒトの腸管などに常在する病原性酵母である。免疫力が低下した患者においては、本菌が日和見感染することが知られており、全身感染（深在性カンジダ症）に至ると致死率が高い。化学療法について見ると、残念ながら抗真菌剤の種類は限られているのが現状である。耐性菌の出現も報告されていることから、新規作用機序をもった抗真菌剤の開発が望まれている。抗真菌剤の作用機序を考える上で重要なことは、細胞学的な観点で見れば酵母細胞もヒトの細胞と同様に真核細胞であるということだ。細胞の生育に必須な機能は、酵母にも保存されている場合が多い。そのため、ヒトの細胞に傷害を与えずに真菌特異的に殺菌する薬剤というのは開発が容易でない⁽¹⁾。

本菌の感染機序を理解することは、治療方法や予防方法の開発に重要な手がかりを提供し得る。感染機序の理解は、病原因子（感染の成立に関わる分子）の特定とその機能の解明に基づくと言えよう。では、どのような実験を行えば、病原因子を特定できるだろうか。それにはまず、病原因子をコードすると推定される遺伝子を欠落させた酵母細胞（欠損株）を人工的に作出し、欠損株の病原性が、欠損していない酵母細胞（野生株）に比べて抑制されるか否かを検証する必要がある。病原性の検証には齧歯類などの実験動物を用いた感染実験が必要になる。一般的には菌体をマウスの静脈に直接注入する方法（全身感染モデル）が採用されている。この方法で、多くの病原因子が特定されたが、この方法の欠点は、本菌が腸管などに常在している状態を観察できない点であり、腸管への定着に必要な病原因子（腸管定着因子）が特定できない点である。本菌が腸管常在菌であることを

踏まえると、その腸管定着の仕組みを探ることは、重要な研究課題の一つである。腸管に定着している状態を観察するには、腸管に菌体を接種する必要がある。実際には、ゾンテと呼ばれる金属製の細い管を胃まで挿管して胃内に菌体を接種する。このような方法（腸管感染モデル）で、腸管定着因子を報告した論文はこれまでに3報しかない⁽²⁾。以下に、筆者らのグループが発見した腸管定着因子 Cyb2 について紹介する。

C. glabrata が感染状態を維持するには宿主内での増殖が必須である。増殖するには栄養源が必要になるわけだが、宿主の中では何が栄養源なのか。*C. glabrata* を含む多くの微生物はグルコースを最良の栄養源としているが、宿主内では病原体は低グルコース状態に曝されている。宿主細胞も栄養源としてグルコースを要求することを考えると、病原体が利用できるグルコースが限られてしまうのは想像に難くない。有力な仮説の一つとして、病原体は、この低グルコース状態を克服するために、グリオキシル酸回路を利用した糖新生代謝が必要であると考えられている。これは、マウス全身感染モデルにおいて、グリオキシル酸回路を欠損した *Candida albicans* は病原性が低下するという知見から支持される⁽³⁾。グリオキシル酸回路は、有機酸を炭素源として外部から取り込んでグルコースを新生する代謝であるが、宿主内ではどのような有機酸を資化してグリオキシル酸回路を駆動させているのかは十分に理解されていない⁽⁴⁾。

では、腸管の中では何を栄養源としているのか。グルコースは、腸管から速やかに吸収されることに加えて、腸内微生物叢もグルコースを消費することから、*C. gla-*

図1 ■ 腸管における *C. glabrata* 乳酸資化モデル

腸管では、*C. glabrata* が利用できるグルコースが限られているので、代替炭素源として L-乳酸を資化し、貧栄養状態を克服している。低グルコース状態は、転写調節因子 Hap2 や Hap5 を誘導し、最終的には乳酸脱水素酵素 Cyb2 をはじめとする糖新生関連遺伝子の発現を活性化すると考えられる。

brata が利用できるグルコース量は限られていることが想像される。一方、有機酸は腸内微生物叢によって合成されることから腸管内に維持されている。この環境を考えると、有機酸を資化できない *C. glabrata* は、腸管内での生存が不利になる可能性が考えられる。筆者らのグループが見いだした腸管定着因子 Cyb2 は、有機酸の中でも乳酸を資化するのに必要なタンパク質（乳酸脱水素酵素）である⁽⁵⁾。Cyb2 の発現は、低グルコース状態を感知する転写調節因子 Hap2 や Hap5 で誘導され、各遺伝子の欠損株 $\Delta hap2$ 株、 $\Delta hap5$ 株も $\Delta cyb2$ 株と同様に乳酸資化性が低下することが明らかになっている。 $\Delta cyb2$ 株は、盲腸への定着菌数が約 100 分の 1 に減少するが、乳酸を資化できないだけでこれほどまでに生存に不利になるのは興味深い。*C. glabrata* は、乳酸に比べるとピルビン酸や酢酸を効率良く資化できないので、低グルコース環境では乳酸資化に依存するのも知れない。これらの知見から、腸管内における *C. glabrata* には、Cyb2 による乳酸資化が必要であるという新しい仮説が提唱されている（図1）。

腸管定着に関わる因子として、Cyb2 以外に知られているのは Efh1 と Gpi7 の 2 つのタンパク質である^(6,7)。これらの因子は *C. albicans* の研究で明らかにされた。前

者は転写調節因子を担うタンパク質であり、後者は膜タンパク質を細胞膜につなぎ止めておくために必要なグリコシルホスファチジルイノシトール残基（GPI アンカー）の合成に必要である。共通して言えることは、これらの因子の活性は別の複数の因子の活性に影響を与えるという点である。つまり、Efh1 が欠損すれば Efh1 に制御される遺伝子はすべて影響を受けるし、Gpi7 が欠損すれば GPI アンカー型の膜タンパク質の発現は減少する。したがって、これらの欠損株の腸管定着能が変化しても、どのような機序でそれが変化したのかは解明が難しい。それに対して、Cyb2 の発見は、腸管定着因子を特定したというだけでなく、腸管感染における乳酸資化の必要性を示唆し感染機序の一端を示した。そこに本発見の意義があると言えよう。

Cyb2 は、*C. glabrata* の研究で見いだされた腸管定着因子である。では、この生物学的現象は、腸管に定着する他の真菌にも存在するのか。カンジダ症の主要病原菌 *C. albicans* について考えてみる。*C. albicans* は、全身感染の場合、グリオキシル酸回路を活用しているので、腸管定着の際の貧栄養状態も同様の機序で克服している可能性が考えられる。ただし、*C. albicans* の場合は、乳酸以外の有機酸も積極的に利用できるもので、乳酸に依存せず複数の有機酸を臨機応変に利用している可能性も考えられる⁽⁴⁾。有機酸代謝に関わる遺伝子が、腸管感染時にどのように発現変動するかを調べれば、一歩先の手がかりが掴めるように思える。また、腸管における真菌の栄養獲得という視点から外れれば、真菌がどのように腸管細胞と接触しているのか、免疫による菌体排除作用をどのように回避しているのかなど、他にも多くの疑問が残されている。腸管常在性真菌の腸管定着因子の探索とその機能解析はまだ始まったばかりである。

- 1) 横村浩一：日本細菌学雑誌，**62**, 295 (2007)。
- 2) J.R. Naglik *et al.* : *FEMS Microbiol. Lett.*, **283**, 129 (2008)。
- 3) M.C. Lorenz *et al.* : *Eukaryot. Cell*, **1**, 657 (2002)。
- 4) N. Vieira *et al.* : *Mol. Microbiol.*, **75**, 1337 (2009)。
- 5) K. Ueno *et al.* : *PLoS ONE*, **6**, e24759 (2011)。
- 6) M. Richard *et al.* : *Mol. Microbiol.*, **44**, 841 (2002)。
- 7) S.J. White *et al.* : *PLoS Pathog.*, **3**, e184 (2007)。

(上野圭吾^{*1}，松本靖彦^{*2}，関水久^{*2}，金城雄樹^{*1}，知花博治^{*3}，^{*1}国立感染症研究所，^{*2}東京大学大学院薬学系研究科，^{*3}千葉大学真菌医学研究センター)