低分子量G蛋白質を標的とする細菌毒素

菅井基行, 最上 享, 畑崎清孝

ヒトや動物に感染する病原菌は、様々な毒素を産生する。近年、動物細胞のシグナル伝達系の研究が進み、細胞内には Ras をはじめとする分子量約 2~3 万の低分子量 G 蛋白質が多数存在し、シグナル伝達のトランスデューサーとして重要な役割を果たすことが明らかにされてきた。それとともに、細菌毒素の仲間ではこれら低分子量 G 蛋白質を修飾して毒性を発揮する毒素が次々と見いだされている。病原細菌は私達が知るずっと以前から、動物細胞のシグナル伝達について熟知していたに違いない。そう思えるほど、これらの病原細菌が産生する毒素は巧妙に作用する。

病原細菌は多くの毒素を産生することが知られている。毒素とは何であろうか？ きわめて微量で生体に害を及ぼす物質とでも言ったらよいであろうか。古くから知られているコレラ毒素やジフテリア毒素のように、原因と結果(表現型)が比較的はっきりしている毒素は教科書的にもよく知られている。コレラ毒素では下痢が起こるし、ジフテリア毒素は致死活性を有している。しかし毒素の中には、本当にヒトに(動物に)害を及ぼすかどうか、あるいはその毒素を産生する菌の病原性に貢献して

いるかどうかはわからないが、試験管やペトリディッシュの中で毒作用を示すために毒素と呼ばれているものもある。

毒素は、大きく蛋白質である外毒素とリポ多糖である内毒素に分けられるが、さらに外毒素はその作用の仕方によっていくつか分類されている^(1, 2)。これらは、①細胞膜外で標的蛋白質に作用するタイプ(スーパー抗原型)、②細胞質膜に働いてそこで細胞質膜内に存在する標的蛋白質に作用するタイプ、③細胞膜の透過性を変えてしまうタイプ、④細胞内に入り込んで細胞質に存在する標的蛋白質に作用するタイプ、⑤その他、となる。①の例としては、黄色ブドウ球菌が産生する毒素性ショック症候群毒素(TSST)が有名である。②の例としては、病原大腸菌が産生する熱安定性毒素STが細胞膜内のグアニル酸シクラーゼに働くのが知られている。③の例は比較的多く、膜に孔を開ける毒素、細胞溶解毒素あるいは標的細胞が赤血球の場合は溶血毒素、白血球の場合はロイコトキシンなどと呼ばれているグループである。④に属する毒素の多くは2種類のサブユニット蛋白質から構成され、俗にA-B毒素とも呼ばれている。

A-B毒素はA、B2つのコンポーネントからなり、Bサブユニットは宿主細胞に結合し、毒素を細胞内に送

Bacterial Toxins Targeting Small G Proteins
Motoyuki Sugai^{*1}, Akira Mogami^{*1, 2}, Kiyotaka Hatazaki^{*1},
^{*1}広島大学歯学部, ^{*2}広島大学医学部総合薬学科

り込む働きをする。A サブユニットは酵素活性をもち、いわゆる毒素活性の本態として働く。A-B 毒素は、その作用機序を考えると非常に合理的にできている。しかし、④に属する毒素がすべて A-B 毒素というわけではない。近年になって、後者のグループに属し低分子量 G 蛋白質を標的とする毒素が続々と見いだされてきた。今まで見いだされてきた低分子量 G 蛋白質を標的とする毒素はいずれも単量体で、A-B 毒素の形態をとっていない。本稿では、この低分子量 G 蛋白質を標的とする毒素について述べる。

低分子量 G 蛋白質⁽³⁾

G 蛋白質は GTP 結合型と GDP 結合型の 2 つの異なるコンフォーメーションの相互転換を行なっている(図 1)。GDP 結合型は不活性型であり、この不活性型に上流からシグナルが伝わると、GDP を解離して GTP が結合し、活性型に転換される^(4, 5)。活性型は標的蛋白質(エフェクター)を認識して相互作用を行なうことによりシグナルを下流に伝達し、結合 GTP の加水分解により不活性型に戻る。GDP 結合型から GTP 結合型への遷移はヌクレオチド交換反応によって行なわれ、GTP 結合型から GDP 結合型への変換は GTP 加水分解(GTPase) 反応によって行なわれることが、この反応機構の特徴である。G 蛋白質の種類は大きく①蛋白質合成に関与する転写開始因子、伸長因子などのグループ、②ヘテロ 3 量体 G 蛋白質、③低分子量単量体 G 蛋白質、④微小管の構成要素、チューブリン、⑤その他に分類される。この中でも特に①②の機能解析には G 蛋白質を

標的とする細菌毒素が大きく貢献してきた⁽⁶⁾。

コレラ菌の産生するコレラ毒素は細胞内の NAD を基質として、その ADP リボース部分を 3 量体 G 蛋白質 Gs の α サブユニットに転移させる(ADP リボシル化)。ADP リボシル化された α サブユニットは GTPase 活性が低下するため GTP 結合型の活性型で維持され、アデニル酸シクラーゼを活性化し続ける。このため、コレラ毒素の作用を受けた細胞では cAMP が蓄積される。一方、百日咳菌が産生する百日咳毒素は Gs とは異なる 3 量体 G 蛋白質の α サブユニットを ADP リボシル化し、受容体と共役して刺激を伝達する機能を消失させ、下流の効果器系の活性化や抑制が遮断される。このように細菌毒素の特異性を利用して、アデニル酸シクラーゼの活性化や、抑制化に Gi という 3 量体 G 蛋白質が介在することや、様々なシグナル伝達系において 3 量体 G 蛋白質が関与することが明らかにされてきた。ちなみに、両毒素はともに④に属する A-B 毒素である。

細胞内には 3 量体 G 蛋白質とは異なり、低分子量 G 蛋白質と呼ばれる G 蛋白質が存在する。低分子量 G 蛋白質の中で最初に発見されたのは Ras である。1981 年にラットの癌遺伝子として *Ras* 遺伝子が発見された。その後、Ras が G 蛋白質であり、細胞の増殖や分化の制御などの重要な細胞機能に関与していることが明らかにされた。Ras の発見後、生体内には Ras に類似した G 蛋白質が数多く存在していることが明らかにされてきた。これらの G 蛋白質は分子量が 2~3 万で、単量体で存在する。このような G 蛋白質は酵母から哺乳動物に至るまで、幅広く存在し、50 種類以上見いだされており、Ras スーパーファミリーと呼ばれている。このスーパーファミリーは、Ras, Rho, Rab, Arf その他のサブファミリーに分類され、それぞれが 3 量体 G 蛋白質と同様に、細胞間あるいは細胞内情報伝達において重要な役割を果たしていると考えられている。

低分子量 G 蛋白質はその一次構造上、4 個所にアミノ酸配列のモチーフを有する(図 2)。I, II は GTPase 触媒ドメイン、II, III, IV はグアニンヌクレオチド結合ドメインで、これらはすべての低分子量 G 蛋白質に共通して存在する。また、後述する Ras や Rho では I と II の間に標的蛋白質との相互作用に必要なエフェクタードメインが存在する。多くの低分子量 G 蛋白質で C 末端側は脂質修飾を受けており、この脂質修飾が低分子量 G 蛋白質の生理機能に重要であることが明らかにされている。低分子量 G 蛋白質も 3 量体 G 蛋白質と同様に、GDP 結合型の不活性型と GTP 結合型の活性型のサイクルを繰り返すことによってシグナルを効果器系へと効

図 1 ■ 低分子量 G 蛋白質の作用機構

図 2 ■低分子量 G 蛋白質のドメイン構造

Rho を例にとって低分子量 G 蛋白質のドメイン構造と各種毒素によって修飾を受けるアミノ酸残基を図示した。I, II : GTPase 触媒ドメイン, II, III, IV : GDP/GTP 結合ドメイン, E : エフェクタードメイン

率よく伝えている^(4, 5)。低分子量 G 蛋白質のこのサイクルは GDP 解離反応を促進する蛋白質 (GDP dissociation stimulator : GDS, GDP/GTP exchange protein : GEP と呼ばれる) や抑制する蛋白質 (GDP dissociation inhibitor : GDI と呼ばれる), GTPase 反応を促進する蛋白質 (GTPase activating protein : GAP と呼ばれる) によって制御されている⁽⁹⁾(図 1)。

Rho ファミリー (7~11)

今まで見いだされた低分子量 G 蛋白質を修飾する毒素の多くが, Rho ファミリーに属する低分子量 G 蛋白質を修飾することが明らかにされている。低分子量 G 蛋白質の中で Rho ファミリーに属するものは哺乳動物で少なくとも 12 種知られており, これらは構造的に約 50 % の相同性を有し, Ras とは約 30 % 以下の相同性を有する (Rho は Ras homologous に因んで命名された)。この中でも特に RhoA~C, Rac1, Rac2 そして Cdc42 がよく研究されている。

Rho ファミリーに属する G 蛋白質の機能として最もよく研究されているのが, 細胞骨格構築の制御による細胞接着, 細胞膜ラフリング, 細胞運動, 細胞分裂, 細胞増殖, 細胞凝集, 平滑筋収縮などの細胞機能の制御であろう。しかし, 最近の研究の結果, Rho はさらに幅広く, ホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ, ホスファチジルイノシトール 4 リン酸 5 キナーゼ, ホスホリパーゼ D などの活性を制御したり, インテグリンを介したシグナル伝達を制御したり, あるいは JNK, MAP キナーゼ系をコントロールして転写活性を制御している

ことが報告されている。また, Rac の場合は好中球や単球において NADPH オキシダーゼの制御に関わっていることが明らかにされている。このように, Rho ファミリーは動物細胞の重要な細胞機能に深く関わった必須のシグナルトランスデューサーということができる。

C3 酵素ファミリー

このような Rho の機能研究に, 細菌が産生する蛋白質が重要な役割を果たした。それはボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) が産生する C3 酵素である⁽¹²⁾(表 1)。C3 酵素は分子量 23 kDa の ADP リボシル化酵素である(図 3)。C3 酵素はボツリヌス菌が産生する毒素 C1 神経毒素, アクチンを ADP リボシル化する C2 毒素と区別するため C3 と命名された。

C3 酵素は Rho の 41 番目のアスパラギン残基を *N*-グリコシド結合を介して ADP リボシル化する⁽¹³⁾。C3 酵素の基質特異性は高く, 生理的条件下では RhoA, B, C は基質となるが Rac や Cdc42 は基質とならない。C3 酵素によって ADP リボシル化された Rho の GTP 結合活性, GAP 依存性, 非依存性の GTP 加水分解活性には変化がないことから, 41 番目のアスパラギンの ADP リボシル化は Rho の GTPase 活性そのものには影響しないと考えられている。41 番目のアスパラギンは, Ras での研究から Rho のエフェクタードメインに位置すると考えられ(図 2), ADP リボシル化された Rho はエフェクターと結合できずに, ドミナントネガティブとして作用すると考えられている。このため下流へのシグナル伝達が遮断され, 結果として細胞は Rho

表 1 ■ 低分子量 G 蛋白質を修飾する細菌毒素の標的蛋白質

毒素(酵素)	標的蛋白質			共基質	修飾形式および修飾領域	シグナルへの影響
	Rho, Rac, Cdc42 (その他)					+ : 活性化 - : 不活性化
<hr/>						
					ADP リボシル化	
<i>Clostridium botulinum</i> C3	○	×	×	NAD	⁴¹ Asn	-
<i>Staphylococcus aureus</i> EDIN	○	×	×	NAD	⁴¹ Asn	-
<i>C. limosum</i> トランスフェラーゼ	○	×	×	NAD	⁴¹ Asn	-
<i>Bacillus cereus</i> トランスフェラーゼ	○	×	×	NAD	⁴¹ Asn	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Exoenzyme S	×	×	×	NAD	?	?
	(Ras, Ral, Rap, Rab)					
<hr/>						
					グルコース付加	
<i>C. difficile</i> Toxin A, B	○	○	○	UDP-Glc	³⁷ Thr(Rho) ³⁵ Thr(Rac, Cdc42)	-
<i>C. sordellii</i> LT	×	○	○	UDP-Glc	³⁵ Thr(Rac, Cdc42)	-
	(Ras, Ral, Rap)					
<i>C. sordellii</i> HT	○	○	○	UDP-Glc	³⁷ Thr(Rho) ³⁵ Thr(Rac, Cdc42)	-
<hr/>						
					GlcNAc 付加	
<i>C. novyi</i> α-toxin	○	○	○	UDP-Glc	³⁷ Thr(Rho) ³⁵ Thr(Rac, Cdc42)	-
<hr/>						
					脱アミド化	
<i>Bordetella bronchiseptica</i> DNT	○	○	○	-	⁶³ Gln(Rho) ⁶¹ Gln(Rac, Cdc42)	+
<i>Escherichia coli</i> CNF1	○	△	○	-	⁶³ Gln(Rho) ⁶¹ Gln(Rac, Cdc42)	+
<i>E. coli</i> CNF2	○	○	△	-	⁶³ Gln(Rho) ⁶¹ Gln(Rac, Cdc42)	+

EDIN : epidermal cell differentiation inhibitor, LT : lethal toxin, HT : hemorrhagic toxin, DNT : dermonecrotic toxin, CNF : cytotoxic necrotizing factor, NAD : nicotinamide adenine dinucleotide, UDP-GlcNAc : uridine diphosphate-*N*-acetylglucosamine

図 3 ■ 現在明らかにされている低分子量 G 蛋白質を修飾する毒素の作用機構

SMG : 低分子量 G 蛋白質

が不活化された形質を呈する。最もよく知られているのは C3 酵素処理による F アクチン線維束の喪失である。このため、細胞は球形化したり、線維芽細胞様になることが知られている。

C3 酵素は単量体で存在し、構造上細胞への結合ドメインや細胞内へ侵入するシグナルなどは見いだされていない。そのためか、天然型の C3 酵素を用いて細胞を処理する場合は、細胞種によって多少異なるものの比較的大量を必要とする ($\mu\text{g/ml}$ のオーダー)。Aullo ら⁽¹⁴⁾ は C3 酵素にジフテリア毒素のレセプター結合ドメインを

融合した、組換え型のキメラ酵素を作製し、低濃度で細胞に効果を発揮させることに成功している。C3 酵素はその高い基質特異性のために低分子量 G 蛋白質研究において多くの研究者に利用され、結果として Rho 研究の発展に大きく貢献した。

筆者らは膿化疹患者から分離された黄色ブドウ球菌から培養表皮細胞の分化を抑制する活性を有する蛋白質を見だし、EDIN (epidermal cell differentiation inhibitor) と名づけた⁽¹⁵⁾。遺伝子クローニングの結果、EDIN が C3 酵素と 35% の相同性があり、EDIN が

ADP リボシル化酵素であることを明らかにした⁽¹⁶⁾。EDIN は分子量 27 kDa で、基質特異性、Rho を用いた ADP リボシル化のカイネティックスは C3 酵素ときわめてよく似ている。EDIN も C3 酵素と同様に、Rho の 41 番目のアスパラギン残基を ADP リボシル化する(表 1)。EDIN はヒトおよびマウスの表皮ケラチノサイトの *in vitro* での分化を抑制し、マウス皮内投与によって表皮に一過性の過形成を起こす。またウサギ背部皮内投与により壊死をひき起こす。これらのメカニズムにおける Rho の役割については明らかではない。C3 酵素、EDIN 以外にも *Clostridium limosum*, *Bacillus cereus* が同様な ADP リボシル化酵素を産生することが報告されている⁽¹²⁾(表 1)。

Exoenzyme S

緑膿菌は、抵抗力の弱ったヒトに感染発症するいわゆる日和見感染の原因菌として有名である。緑膿菌は 2 種類の Exoenzyme S と呼ぶ ADP リボシル化酵素を産生する⁽¹⁷⁻¹⁹⁾。両者は分子量で 49 kDa, 53 kDa で、アミノ酸配列で 76% の相同性を有する⁽²⁰⁾。49 kDa 蛋白質は強い ADP リボシル化活性を有し、53 kDa のそれはわずかに 49 kDa の 0.2 % にすぎない。両者は異なる遺伝子によってコードされている。Exoenzyme S の ADP リボシル化活性には動物細胞由来の FAS (factor activating exoenzyme S) が補助因子として必要とされる⁽²¹⁾。この因子は真核生物のシグナル伝達におけるアダプター分子として知られる 14-3-3 ファミリーに属する蛋白質である⁽²²⁾。Exoenzyme S は Ras, Rap1A, Rap2, Ral, Rab3, Rab4 を ADP リボシル化する⁽¹⁷⁾(表 1)。また低分子量 G 蛋白質以外の基質として単量体のビメンチンを ADP リボシル化する⁽²³⁾。

クロストリジウム属の高分子量細胞毒素

抗生物質を長期間服した際に、腸炎を起こすことがある。これは、腸管で抗生物質に弱い菌が減少し、耐性をもつ菌がそのテリトリーを増やすことから起こると考えられ、菌交代症と呼ばれている。*Clostridium difficile* はそのような菌交代症による偽膜性大腸炎を起こすことで知られるが、2 種類の毒素 Toxin A, Toxin B を産生する⁽²⁴⁾。これらの毒素は Rho ファミリーの低分子量 G 蛋白質を、UDP-グルコースを用いてグルコシル化するグルコシルトランスフェラーゼである⁽²⁵⁾(図 3, 表 1)。Toxin A, Toxin B は分子量がそれぞれ 308, 270

kDa と非常に大きな毒素である。両毒素は C3 酵素や EDIN と異なり、基質として Rho, Rac, Cdc42 のいずれのサブファミリーも修飾し、修飾部位は Rho では 37 番目のスレオニン、Rac, Cdc42 では 35 番目のスレオニンである(表 1)。Ras, Rab, Arf, Ran などの低分子量 G 蛋白質は基質とならない。このスレオニン残基は 41 番目のアスパラギン残基と同様に、エフェクタードメインに位置している(図 2)。Ras での研究から、この領域は結合するグアニンヌクレオチドによって大きくそのコンフォメーションが変わることが知られている。すなわち、GTP 結合型ではスレオニンの水酸基は蛋白質の内側に向き、GDP 結合型では外側に向く。このため GDP 結合型が毒素の基質となる。

Clostridium sordellii や *Clostridium novyi* は傷口から感染し、筋肉内や皮下組織で増えてガス壊疽をひき起こす。*Clostridium sordellii* が産生する高分子量細胞毒素(lethal toxin ; LT)は Toxin A, Toxin B と同様に低分子量 G 蛋白質をグルコシル化する⁽²⁶⁾(表 1)。基質は Ras, Rap, Rac, Ral で Rho ファミリーの Rho や Cdc42 は修飾されない(表 1)。Ras は 35 番目のスレオニンがグルコシル化されることが明らかにされている。LT の研究から、35 番目のスレオニンがグルコシル化されると Ras の GTP 結合能が落ちること、また GTPase 活性が落ちることが明らかにされた。GTPase 活性が落ちることは G 蛋白質が GTP 結合型に長く留まることを意味し、形質としては活性化された形質が出そうだが、実際はエフェクタードメインに修飾が入るために、先の C3 酵素と同じように、修飾された蛋白質はドミナントネガティブの形質をとる。したがって、Toxin A, Toxin B でグルコシル化された Rho を細胞に注入するとアクチン線維の消失、細胞の球形化が起こる⁽²⁵⁾。また、LT で細胞を処理すると MAP キナーゼ活性化が阻害され、*in vivo* で Ras 機能が阻害されることが明らかにされている⁽²⁶⁾。LT は Toxin B と 90 % の相同性を示す。

Clostridium sordellii は LT とは別に出血毒素(haemorrhagic toxin ; HT)を産生する。HT も高分子量で(300 kDa 以上) Toxin A, Toxin B と同様に Rho ファミリーのエフェクタードメインのスレオニン残基をグルコシル化する(表 1)。

Clostridium novyi が産生する α 毒素は UDP-グルコースではなく UDP-N-アセチルグルコサミンを用いて Rho ファミリーの低分子量 G 蛋白質に N-アセチルグルコサミンを付加する⁽²⁷⁾(図 3, 表 1)。基質特異性は Toxin A, Toxin B と同じで、Rho, Rac, Cdc42 のエフェクタードメインのスレオニン残基が修飾される(表

1).

DNT と CNF

百日咳を起こす百日咳菌をはじめとする *Bordetella* 属の菌は、易熱性壊死毒 (dermonecrotizing toxin; DNT) を産生する。百日咳菌の仲間では“鼻曲がり”と呼ばれる萎縮性鼻炎をひき起こす *Bordetella bronchiseptica* が産生する DNT は、分子量が 161 kDa、骨芽細胞系培養細胞 MC3T3-E1 の分化を抑制し、*in vivo* で骨形成不全から骨萎縮を起こす⁽²⁸⁾。阪大微研の堀口らは DNT が Rho の 63 番目のグルタミン残基を脱アミド化してグルタミン酸に変換することを明らかにした⁽²⁹⁾(図 3, 表 1)。63 番目のグルタミン残基は、Ras による研究からグアニンヌクレオチド結合領域および GTPase 触媒領域にあることが知られている(図 2)。やはり Ras による研究で、Rho の 63 番目に相当する 61 番目のグルタミン残基が他のアミノ酸に置換された Ras は、GTPase 活性が低下すると報告されている⁽³⁰⁾。また、Rho の 63 番目のグルタミン残基がロイシンに置換されたものでも GTPase 活性が低下し、GAP 依存性の GTPase 活性化も失われると報告されている⁽³¹⁾。確かに DNT による 63 番目のグルタミン残基の脱アミド化により Rho の GTPase 活性の著しい低下が明らかにされた⁽²⁹⁾。DNT の作用によって細胞は F アクチン線維束が増え、Rho が活性化された形質を示した⁽²⁹⁾。DNT は Rho ファミリーの Rho, Rac, Cdc42 を基質として脱アミド化することが示されている(表 1)。

一方、病原大腸菌のある種のもは細胞壊死因子 (cytotoxic necrotizing factor: CNF) と呼ばれる毒素を産生する。CNF には CNF1 と CNF2 の 2 種類があり、CNF1 遺伝子はクロモソームにコードされ、CNF2 遺伝子は大きな *Vir* と呼ばれるプラスミドに乗っている。CNF1 と CNF2 はともに分子量が約 115 kDa でアミノ酸配列で 85 % の相同性を有している。CNF は *in vivo* で壊死を起こし、培養細胞に投与した場合は細胞形態の変化、多核化、F アクチン線維束の増加をひき起こす^(32, 33)。CNF も Rho ファミリーに作用し、Rho の 63 番目のグルタミン残基を脱アミド化することが明らかとなった⁽³⁴⁻³⁶⁾(表 1)。CNF1 と CNF2 では基質特異性に差がみられ、CNF1 では Rho, Cdc42 が、CNF2 では Rho, Rac が主に作用を受ける(表 1)。63 番目のグルタミンがグルタミン酸になった Rho は、GAP 依存性の GTPase 活性が著しく低くなっている。このため Rho は、GTP を加水分解できず、GTP 結合

型の Rho が細胞内に増えることになる。すなわち、活性型の Rho が増えることから下流へのシグナルが増強される結果となる。筆者らは CNF 処理した培養細胞において、普通捉えることのできない GTP 結合型の Rho, Rac, Cdc42 が増加していることを最近明らかにした。DNT と CNF はその C 末端側で約 35% の相同性があり、この部分が脱アミド化反応に関わっていると考えられている⁽³⁷⁾。

病原性との関係

冒頭に病原性との関わりがよくわからない毒素もあると述べた。C3 酵素や EDIN は毒素と呼ばれることもあるが、その病原性との関わりは明らかではない。感染発症における役割については今後の課題である。低分子量 G 蛋白質を標的とする ADP リボシル化酵素としては唯一、緑膿菌の産生する Exoenzyme S が病原性に関与する報告がある。急性熱症ならびに慢性肺感染症モデルを用いて Exoenzyme S 産生株がトランスポゾン変異によって得た Exoenzyme S 非産生株に比べ、組織破壊ならびに菌の播種の点でより著しいことが明らかにされている^(38, 39)。しかし、この変異株ではトランスポゾンが毒素遺伝子そのものではなくて、毒素の分泌に関連する遺伝子に挿入されているので、本当に Exoenzyme S が病原性に関係するのかどうかは今後明らかになるとと思われる。

クロストリジウム属が産生する高分子量毒素としては、*Clostridium difficile* の Toxin A, Toxin B は腸管の透過性を上げ、Cl⁻ イオンの分泌を刺激することから、*Clostridium difficile* による下痢発症との関係が示唆されている⁽²⁴⁾。*Clostridium sordellii* の産生する HT, LT はヒツジやウシの *Clostridium sordellii* による下痢症の原因と考えられている⁽²⁴⁾。*Bordetella bronchiseptica* の産生する DNT はブタの鼻甲介骨組織における骨芽細胞の変性をひき起こし、鼻甲介の萎縮を伴う“鼻曲がり”に関与すると考えられている⁽²⁸⁾。病原大腸菌の産生する CNF は、ヒトや家畜の下痢症、ヒトの尿路感染症への関与が示唆されている。しかし通常、CNF は菌体外へ分泌されないこと、CNF 遺伝子は複数の病原因子遺伝子とクラスターを形成して pathogenic island を形成していることから、病原性における役割についてはまだ確定しているわけではない⁽⁴⁰⁾。

*

C3 酵素の発見に始まり、低分子量 G 蛋白質を標的と

図 4 ■ 低分子量 G 蛋白質を修飾する細菌毒素

する毒素が次々と見いだされてきた。図 4 に本稿で紹介した毒素をまとめた。3 量体 G 蛋白質を修飾する毒素がある一方で、低分子量 G 蛋白質の細胞機能における重要な役割が明らかになるにつれ、低分子量 G 蛋白質を標的とする毒素の存在は当たり前と言え言えなくもない。低分子量 G 蛋白質を標的とする毒素研究の進歩は細菌学が細胞生物学研究に貢献し、また逆に細胞生物学の進歩が細菌学の発展を促すという学際研究の成果と言えるのではなからうか。今後もこれらの毒素は細胞生物学研究のツールとして利用価値は高いと思われる。ここに紹介した細菌たちは、私たちが知ると以前から動物細胞のシグナル伝達系について、質量分析器も X 線結晶構造解析装置も用いずにその全貌を理解していたのであろうか。私たちにそう思わせるほど、彼らの使う手口(毒素)は巧妙にみえる。以前ニューズウィーク誌が、薬剤耐性菌がヒトの作り出す化学療法剤をあざ笑うかのようになつた耐性メカニズムを獲得していくのを評して、細菌の進歩にヒトが追いついていないと述べていたのを思い出す。私たちはまだまだこの小さな“進歩した”生き物から学ぶことがありそうだ。

謝辞：本稿執筆の機会を与えていただきました大阪大学工学部室岡義勝先生に御礼申し上げます。

文献

- 1) B.B. Finlay & P. Cossart : *Science*, **276**, 718 (1997).

- 2) B.B. Finlay & S. Falkow : *Microbiol. Mol. Biol. Review*, **61**, 136 (1997).
- 3) “GTP 結合蛋白質”，宇井理生，上代淑人(監修)，高井義美，堅田利明，成宮 周(編集)，実験医学増刊，羊土社，**14**，(1996)。
- 4) H.R. Bourne, D.A. Sanders & F. McCormick : *Nature*, **349**, 117 (1991).
- 5) H.R. Bourne, D.A. Sanders & F. McCormick : *Nature*, **348**, 125 (1991).
- 6) 増田美奈子，堀口安彦：日本細菌学雑誌，**52**，727 (1997)。
- 7) A. Hall : *Science*, **279**, 509 (1998)。
- 8) L.M. Machesky & A. Hall : *Trends Cell Biol.*, **6**, 304 (1996)。
- 9) C. Nobes & A. Hall : *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **4**, 77 (1994)。
- 10) M. Symons : *Trends Biochem. Sci.*, **21**, 178 (1996)。
- 11) Y. Takai *et al.* : *Trends Biochem. Sci.*, **20**, 227 (1995)。
- 12) K. Aktories, C. Mohr & G. Koch : *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **175**, 115 (1992)。
- 13) A. Sekine, M. Fujiwara & S. Narumiya : *J. Biol. Chem.*, **264**, 8602 (1989)。
- 14) P. Aulio *et al.* : *EMBO J.*, **12**, 921 (1993)。
- 15) M. Sugai *et al.* : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **173**, 92 (1990)。
- 16) M. Sugai *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **267**, 2600 (1992)。
- 17) J. Coburn : *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **175**, 133 (1992)。
- 18) D.W. Frank : *Mol. Microbiol.*, **26**, 621 (1997)。
- 19) B.H. Iglewski, J. Sadoff, M.J. Bjorn & E.S. Maxwell : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **75**, 3211 (1978)。
- 20) T.L. Yahr, J.T. Barbieri & D.W. Frank : *J. Bacteriol.*, **351**, 1412 (1996)。
- 21) J. Coburn, R.T. Wyatt, B.H. Iglewski & D.M. Gill : *J. Biol. Chem.*, **264**, 9004 (1989)。

- 22) H. Fu, J. Coburn & R.J. Collier : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 2320 (1993).
- 23) J. Coburn, S.T. Dillon, B.H. Iglewski & D.M. Gill : *Infect. Immun.*, **57**, 996 (1989).
- 24) K. Aktories : *Trends Microbiol.*, **5**, 282 (1997).
- 25) I. Just *et al.* : *Nature*, **375**, 500 (1995).
- 26) M.R. Popoff *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **271**, 10217 (1996).
- 27) J. Selzer *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **271**, 25173 (1996).
- 28) 堀口安彦 : 日本細菌学雑誌, **51**, 963 (1996).
- 29) Y. Horiguchi *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 11623 (1997).
- 30) T. Schweins *et al.* : *Nature Struct. Biology*, **2**, 36 (1995).
- 31) D. Diekman & A. Hall : *Methods Enzymol.*, **256**, 207 (1995).
- 32) E. Oswald *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 3814 (1994).
- 33) L. Falzano *et al.* : *Mol. Microbiol.*, **9**, 1247 (1993).
- 34) G. Schmidt *et al.* : *Nature*, **387**, 725 (1997).
- 35) G. Flatau *et al.* : *Nature*, **387**, 729 (1997).
- 36) M. Sugai *et al.* : submitted.
- 37) E. Lemichez, G. Flatau, M. Bruzzone, P. Boquet & M. Gauthier : *Mol. Microbiol.*, **24**, 1061 (1997).
- 38) T.I. Nicas & B.H. Iglewski : *Infect. Immun.*, **45**, 470 (1984).
- 39) T.I. Nicas & B.H. Iglewski : *Can. J. Microbiol.*, **31**, 387 (1985).
- 40) V. Falbo, M. Famiglietti & A. Caprioli : *Infect. Immun.*, **60**, 2182 (1992).

プロフィール

安達 健二 (Kenji Adachi) 昭和6年11月27日生<略歴>1956年横浜市立大学医学部医学科卒業/1957~61年米国ペンシルバニア大学, ポストン大学, シカゴ大学病理・皮膚科レジデント/1961~63年横浜市立大学, 東京医科歯科大学生化学教室助手/1964~72年米国オレゴン大学霊長類研究センター皮膚科準教授/1972~77年米国マイアミ大学皮膚科準教授/1977~85年同教授/1985年昭和大学医学部藤ヶ丘病院皮膚科客員教授, 現在にいたる<研究テーマと抱負>皮膚の生物学と生化学, 毛髪成長の生物学, 毛包脂腺系におけるアンドロジェン依存性遺伝子<趣味>テニス, スキー

阿部 知子 (Tomoko Abe) <略歴>平成元年東北大学大学院農学研究科農学専攻博士課程修了/同年日本学術振興会特別研究員/2年理化学研究所基礎科学特別研究員/3年同研究所研究員, 現在にいたる<研究テーマと抱負>生活に役立つ植物を育種したい<趣味>ペンギングッズ蒐集, 旅行

赤坂 一之 (Kazuyuki Akasaka) 昭和13年2月28日生<略歴>1960年大阪大学工学部応用化学科卒業/1965年京都大学大学院理学研究科修了(理博)後, 同理学部助手, 助教授を経て, 平成4年神戸大学教授, 現在にいたる<研究テーマと抱負>蛋白質立体構造のゆらぎ, 変性構造. 高圧NMR, 温度ジャンプNMR<趣味>かなり広いが浅い

井上 國世 (Kuniyo Inouye) Vol. 31, No. 9, p. 577 参照. 現在, 京都大学大学院農学研究科教授

大嶋 雄治 (Yuji Oshima) 昭和33年1月25日生<略歴>昭和55年九州大学農学部水産学科卒業/60年同大学大学院農学研究科博士課程修了/同年同農学部水産学科水産増殖環境学講座助手, 現在にいたる<研究テーマと抱負>環境汚染と水生生物. 特に生殖, 産卵, 行動に及ぼす影響<趣味>現在, ガーデニング(旧庭いじり)に凝っています

小林 邦男 (Kunio Kobayashi) 昭和3年7月21日生<略歴>昭和28年九州大学農学部水産学科卒業/33年同大学大学院研究奨学生修了/同年同大学農学部水産学科助手/43年同助教授/54年同教授/平成4年同大学名誉教授, 現在にいたる<研究テーマと抱負>水圏生態系に及ぼす環境化学物質の影響<趣味>ドライブ, 作陶

清水 史子 (Fumiko Shimizu) 昭和47年8月19日生<略歴>平成7年東京大学理学部生物学科卒業後, 同大学大学院総合文化研究科広域科学専攻修士課程修了, 同理学系研究科生物化学専攻博士課程入学, 現在にいたる<研究テーマと抱負>概日時計を司るニトリ松果体細胞におけるカルシウム情報伝達経路の解析<趣味>音楽, 映画鑑賞, テニス

島田 秀夫 (Hideo Shimada) <略歴>現在, 慶應義塾大学医学部医化学教室助教授<研究テーマと抱負>P450による酸素活性化. 活性化とプロトン輸送が関連していることを見だし, そこを出発点として, 現在シトクロム酸化酵素のプロトン輸送に興味をもっている

祥雲 弘文 (Hirofumi Shoun) 昭和20年11月26日生<略歴>1969年東京大学農学部農芸化学科卒業/1973年同大学大学院農学系研究科博士課程中退/同年同農学部助手/1987年筑波大学応用生物化学系助教授/1993年同教授, 現在にいたる<研究テーマと抱負>テーマ:
①カビ, 酵母, 放線菌などの新規脱窒系の分子機構解明, 進化的考察と水処理への利用, ②シトクロム P450 など金属タンパク質の構造と機能. 抱負・興味: 応用研究と基礎研究の橋渡し, ミトコンドリア嫌気(硝酸)呼吸系の進化的考察<趣味>囲碁, テニス, 古寺巡礼

城 宜嗣 (Yoshitsugu Shiro) 昭和31年11月6日生<略歴>昭和55年京都大学工学部石油化学科卒業/60年同大学大学院工学研究科修了/同年学術振興会特別研究員/62年理化学研究所研究員/平成5年同副主任研究員, 現在にいたる<研究テーマと抱負>生体内の金属, 特に金属酵素の特異な反応性・機能を, 構造を基に理解したい