



国立大学法人 千葉大学  
National University Corporation  
Chiba University

ニュースリリース

平成22年12月 6日  
千葉大学大学院薬学研究院

## 平成23年度日本細菌学会賞「浅川賞」の受賞決定

千葉大学大学院薬学研究院（大学院薬学研究院長：西田篤司）では、分子医薬科学講座（微生物薬品化学研究室）の山本友子教授が、日本細菌学会（理事長：野田公俊）平成23年度日本細菌学会賞「浅川賞」の受賞が決定いたしました。

日本細菌学会賞「浅川賞」は、細菌学及び関連領域の研究において創造的かつ主導的な研究を行い、学会の発展に顕著な貢献をした研究者を顕彰するもので、同学会では最も権威のある賞であり、女性では2人目の受賞者となります。

本受賞の対象となった研究業績は、「細胞内寄生性細菌のストレス応答と病原性発現制御機構に関する研究」です。

本研究成果は、サルモネラ属細菌の感染分子機構を解明したもので、独創性の高い体系的な研究が国際的に高い評価を受けています。

受賞式は、平成23年9月に札幌市で開催予定の第84回日本細菌学会総会において行われます。

なお、業績名、業績概要及び履歴については、別紙によりご案内いたします。

本件に関するお問い合わせ先

千葉大学大学院薬学研究院  
分子医薬科学講座 微生物薬品化学研究室  
准教授・高屋 明子  
Tel : 043-290-2929 Fax : 043-290-2929

## 平成23年度 日本細菌学会賞「浅川賞」

受賞者 山<sup>やま</sup>本<sup>もと</sup>友<sup>とも</sup>子<sup>こ</sup> (61歳)

業績名 「細胞内寄生性細菌のストレス応答と病原性発現制御機構に関する研究」

### 業績概要

私はこの20年余にわたり、ストレス応答の概念を導入した細胞内寄生性細菌の病原性発現制御機構の研究に取り組んできた。研究の原点は、ファージ感染により誘発される大腸菌のストレス蛋白質 DnaK/DnaJ の研究にあった。ここでは、DnaK/DnaJ が蛋白質高次複合体の構築と部分的な解きほぐしを行ってファージDNA複製を開始させることを証明した。これは後に分子シャペロンと呼ばれるようになった機能を生化学的に証明した最初の報告であった。DnaK/DnaJ は同時にストレス応答 autoregulation の中核を担う分子である。このような DnaK/DnaJ とストレス応答の研究を行う中で「生体防御機構がストレスとなり病原細菌のストレス蛋白質が誘発され、それらは細菌病原因子として機能する」という仮説を提唱するに至った。この仮説は、*Yersinia enterocolitica* がマクロファージに貪食された後にストレス蛋白質を誘発することを見出すことでその一端を証明することができた。さらに *Y. enterocolitica* のマクロファージ増殖に必須となるストレス蛋白質遺伝子 *gsrA* を同定して(論文1)、上記の仮説を証明した。その後、研究対象を *Listeria monocytogenes* や *Salmonella enterica* serovar Typhimurium に広げ、ストレス蛋白質病原性機能の普遍性を示した。とりわけ以下に述べるように *S. enterica* serovar Typhimurium においてストレス蛋白質による病原性発現制御機構を分子レベルで解明することができた。

*S. enterica* serovar Typhimurium のほぼすべてのストレス蛋白質遺伝子を破壊し、マウス感染実験を用いて全身感染におけるストレス蛋白質の essentiality を検討し、最初に ClpXP プロテアーゼが病原必須因子であることを見出した(論文2)。これはストレス蛋白質がサルモネラ病原因子として機能することが証明された最初の報告であった。続いて Lon プロテアーゼ、DnaK/DnaJ 分子シャペロン(論文8)が *S. enterica* serovar Typhimurium 全身感染の必須因子であることを明らかにした。

Lon は腸管上皮細胞侵入の制御、マクロファージ細胞死誘導の制御と細胞内増殖必須因子として *S. enterica* serovar Typhimurium 病原性に関わることを明らかにした(論文5,7)。細胞侵入とマクロファージ細胞死誘導には *Salmonella* Pathogenicity Island 1 (SPI1) にコードされる Type 3 secretion system (T3SS) が関与する。SPI1 発現制御機構の解明に取り組み、Lon は約40個の遺伝子からなる SPI1 転写階層の最上位に位置する転写活性化因子 HilC, HilD を特異的に認識・分解することによりその細胞内量を一定に保ち、SPI1 全遺伝子発現を制御することを明らかにした(論文6)。一方、Lon 欠損株がマクロファージに Caspase-3 依存的なアポトーシスを誘発することを見出した。通常 *S. enterica* serovar Typhimurium 感染初期にはマクロファージの炎症反応を伴う細胞死(ピロトーシス)が起こりアポトーシスは観察されない。野生株の SPI1 転写がマクロ

ファージ食食後直ちに shut-off されるのに対し、Lon 欠損株では連続して起こり、SPII エフェクターが蓄積し Caspase-3 の活性化を促すことを明らかにした (論文 7)。ピロトーシスの誘発は初期の感染拡大に大きく寄与するが、アポトーシス等の過剰な細胞死は細菌自身の増殖の場 (マクロファージ) を失うこととなる。従って食食された *S. enterica* serovar Typhimurium は食細胞内増殖関連遺伝子が十分に発現されるまでの間、マクロファージ細胞死誘導を適切にコントロールする必要がある。マクロファージ内で誘導合成される Lon は SPII 発現の時空制御因子として、*S. enterica* serovar Typhimurium 感染初期の重要な病原因子であるといえる。この論文は、Cellular Microbiology 7 巻 1 号の表紙を飾った。その後、*S. enterica* serovar Typhimurium 野生株感染マクロファージで Caspase-8 が活性化されること発見し、活性化に関与する新規エフェクター GogA の同定に成功した (投稿中)。

ClpXP はべん毛合成制御、マクロファージ細胞死誘導の制御、細胞内増殖必須因子 (論文 2) として *S. enterica* serovar Typhimurium 病原性に関わることを明らかにした。べん毛は宿主細胞の Toll-like receptor 5 のリガンドとして自然免疫応答を誘導することから、べん毛数を一定に保つことは細菌感染を成立させる上で重要な意義を持つ。ClpXP は約 50 の遺伝子から構成されるべん毛レギュロンカスケードの最上位に位置する転写因子 FlhD・FlhC を特異的に認識・分解することによりレギュロン全体の発現を制御することを証明した (論文 3)。べん毛形成に関わる Flagellar T3SS は SPII-T3SS と同一の起源から進化したと考えられている。ClpXP が両 T3SS の発現を共役的に制御することを明らかにした。すなわち SPII 最上位の転写活性化因子 HilD が、べん毛レギュロン Class 2 に属する FlhZ によって post-transcriptional control を受けることを明らかにし、FlhZ と HilD によって連結された 2 つの T3SS の共役発現制御機構を解明することができた (論文 4)。

DnaK/DnaJ はべん毛合成、腸管上皮細胞侵入、マクロファージ細胞内増殖の必須因子として *S. enterica* serovar Typhimurium の病原性に関与することを明らかにした (論文 8)。DnaK/DnaJ は FlhD<sub>2</sub>C<sub>2</sub> 複合体を活性化して転写因子に変換させ、べん毛レギュロン全体の転写を可能にすることを明らかにした (論文 9)。この論文は、DnaK がすでに高次構造体に形成された蛋白質複合体 (ここでは FlhD<sub>2</sub>C<sub>2</sub>) に特異的に結合し、構造体を活性体に変換することを初めて証明したものであり、DnaK 分子シャペロンの新しい機能を見出したとしても評価された。

DnaK/DnaJ による SPII-T3SS と Flagellar T3SS 発現制御機構を研究する中で、両 T3SS の発現が DnaK/DnaJ を中心にした  $\sigma^{32}$  ストレスネットワーク上で制御されていることを明らかにした (論文 10)。その概要を図 1 に示した。 $\sigma^{32}$  はストレス応答の誘導因子である。DnaK/DnaJ は  $\sigma^{32}$  によって誘発されるが、同時に  $\sigma^{32}$  に結合してストレス誘発を抑制する。すなわち DnaK/DnaJ はストレス応答 autoregulation の中核をなす分子である。 $\sigma^{32}$  により誘発された Lon プロテアーゼは SPII-T3SS 制御の実行因子 (論文 5, 6) として、ClpXP プロテアーゼは Flagellar T3SS 制御の実行因子として機能する (論文 3)。DnaK/DnaJ は  $\sigma^{32}$  レギュロンの negative modulator として 2 つの T3SS の発現に関わるといえる。*S. enterica* serovar Typhimurium 感染の成立には、宿主の過剰な炎症反応誘導と過剰なマクロファージ細胞死の誘導を避けるために SPII-TTSS と Flagellar TTSS の発現を適正レベルに制御することが不可欠となる。これらの制御が  $\sigma^{32}$  ストレスネットワーク上

で、さらに複数のストレス蛋白質の特異的な機能を介して行われることを明らかにすることができた。

以上の研究は、細胞内寄生性細菌の病原性発現機構にストレス応答の概念を導入した独自のアイデアに基づいて展開され、とりわけ *S. enterica* serovar Typhimurium において、菌種特異的な病原分子とストレス蛋白質の分子間相互作用に基づく病原性発現制御の分子メカニズムを初めて解明したものとして意義あるものと考えている。

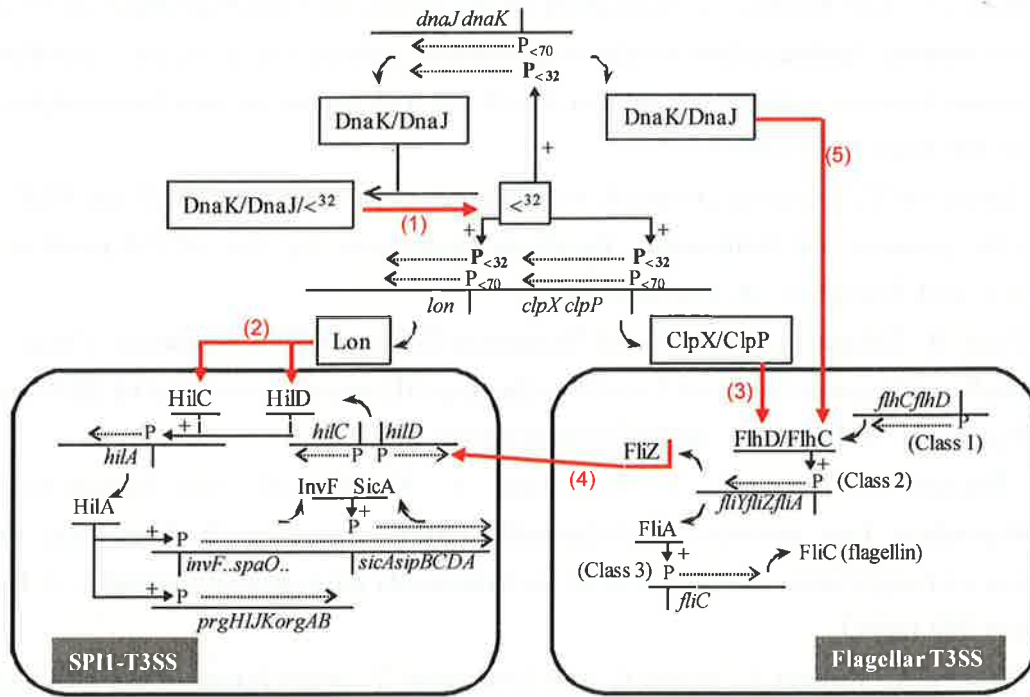


図1 ストレス蛋白質によるSPI1-T3SSとFlagellar T3SS発現制御の分子機構

- (1)  $s^{32}$ -ストレスネットワークにおけるT3SS制御
- (2) LonによるHilC, HilD のpost-translational control (特異的分解)
- (3) ClpXPによるFlhD/FlhC のpost-translational control (特異的分解)
- (4) FliZによる *hilD* mRNAのpost-transcriptional regulation
- (5) DnaK/DnaJによるFlhD/FlhC のpost-translational control (FlhD<sub>2</sub>C<sub>2</sub> 複合体の転写因子への変換)

\*本研究で明らかになった制御経路は → で示した。

## 論文

- (1) Yamamoto T., Hanawa T., Ogata S. and Kamiya S. Identification and characterization of the *Yersinia enterocolitica* *gsrA* gene, which protectively responds to intracellular stress induced by macrophage phagocytosis and to extracellular environmental stress. *Infect. Immun.* 64: 2980-2987 (1996)
- (2) Yamamoto T., Sashinami H., Takaya A., Tomoyasu T., Matsui H., Kikuchi Y., Hanawa T., Kamiya S. and Nakane A. Disruption of the genes for ClpXP protease in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium results in persistent infection in mice, and development of persistence requires endogenous gamma interferon and tumor necrosis factor alpha. *Infect. Immun.* 69: 3164-3174 (2001)
- (3) Tomoyasu T., Takaya A., Isogai E. and Yamamoto T. Turnover of FlhD and FlhC, master regulator proteins for *Salmonella* flagellum biogenesis, by the ATP-dependent ClpXP protease. *Mol. Microbiol.* 48: 443-452 (2003)
- (4) Kage H., Takaya A., Ohya M. and Yamamoto T. Coordinated regulation of expression of *Salmonella* pathogenicity island 1 and flagellar type III secretion systems by ATP-dependent ClpXP protease. *J. Bacteriol.* 190: 2470-2478 (2008)
- (5) Takaya A., Tomoyasu T., Tokumitsu A., Morioka M. and Yamamoto T. The ATP-dependent Lon protease of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium regulates invasion and expression of genes carried on *Salmonella* pathogenicity island 1. *J. Bacteriol.* 184: 224-232 (2002)
- (6) Takaya A., Kubota Y., Isogai E. and Yamamoto T. Degradation of the HilC and HilD regulator proteins by ATP-dependent Lon protease leads to downregulation of *Salmonella* pathogenicity island 1 gene expression. *Mol. Microbiol.* 55: 839-852 (2005)
- (7) Takaya A., Suzuki A., Kikuchi Y., Eguchi M., Isogai E., Tomoyasu T. and Yamamoto T. De-repression of *Salmonella* pathogenicity island 1 genes within macrophages leads to rapid apoptosis via caspase-1- and caspase-3-dependent pathways. *Cell. Microbiol.* 7: 79-90 (2005)
- (8) Takaya A., Tomoyasu T., Matsui H. and Yamamoto T. The DnaK/DnaJ chaperone machinery of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is essential for invasion of epithelial cells and survival within macrophages, leading to systemic infection. *Infect. Immun.* 72: 1364-1373 (2004)
- (9) Takaya A., Matsui M., Tomoyasu T., Kaya M. and Yamamoto T. The DnaK chaperone machinery converts the native FlhD2C2 hetero-tetramer into a functional transcriptional regulator of flagellar regulon expression in *Salmonella*. *Mol. Microbiol.* 59: 1327-1340 (2006)
- (10) Matsui M., Takaya A. and Yamamoto T.  $\sigma^{32}$ -mediated negative regulation of *Salmonella* pathogenicity island 1 expression. *J. Bacteriol.* 190: 6636-6645 (2008)