

病原分子制御学

(旧・微生物学第二講座)

野田 公俊

千葉大学医学部創立135周年記念誌に当教室を紹介する機会を与えていただき、関係者各位に心より御礼を申し上げます。

当教室では細菌感染症の病態発症における細菌側の病原因子，特に蛋白性のトキシンの果たす役割を解明する為に，その作用機構を分子レベルで研究しています。微生物学は科学技術の発展とともに細菌学，ウイルス学，真菌学などに細分化され，その専門性も急速に高まってきています。さらに，その守備範囲も広範囲になり，それぞれの学問の社会的重要性が日増しに強まっています。千葉大学医学部の学生教育および大学院の研究活動においても，それぞれの領域で高い専門的知識を有する教官の確保が必要になり，長い伝統のある微生物学講座が1982年に発展的に二分され，ウイルス学を担当する微生物学第一講座に加え，新たに細菌学を担当する微生物学第二講座が開設されました。微生物学第二講座は，2001年に千葉大学大学院医学研究院への移行に伴って，病原分子制御学と改名されて現在に至っています。1982年3月に微生物学第二講座の初代教授として千葉大学医学部附属病院中央検査部細菌部門の小林章男助教授が就任され，臨床に直結した細菌学を目指されましたが，就任まもない1982年5月に若くしてご逝去されました。その後，1983年4月に東京大学医科学研究所細菌感染研究部教授の加藤巖先生が第二代教授として就任されました。加藤教授は千葉大学医学部に移られる際に，文部省の特定研究Ⅰ“生物トキシン”を立ち上げたところでした。そして，そのプロジェクトをそのまま千葉大学に移され，日本の細菌毒素学の研究者約100名からなる班の班長として，日本の細菌毒素学の研究を世界的なレベルにまで引き上げる大きな功績を残されました。また，千葉大学医学部の微生物学第二講座を細菌学専門の教室に立ち上げるという大きな貢献をなさいました。教室員の補充等も積極的に進め，東京大学医科学研究所細菌感染研究部時代の門下生であり，米国NIHにポスドクとして留学中であった東京大学助手の野田公俊が，1988年7月に微生物学第二講座に助教授として加わりました。加藤教授は1989年3月に第62回日本細菌学会総会長として，年次総会を見事に成功させました。そして，1990年3月に

加藤教授は定年退官し，1990年11月に野田公俊が第三代教授に就任し現在に至っています。2000年6月に教室の盛永直子講師が助教授に昇進し，2006年4月に筑波大学医学部から清水健講師が赴任しました。2010年3月に盛永直子准教授が定年退官し，2010年4月から清水健講師が准教授に昇任し，米国NIHから津々木博康ポスドクが助教として着任しました。また，千葉大学の「優れた若手研究型教員の人材育成システム」プログラムの八尋錦之助特任准教授が2009年2月に米国NIHから赴任し，当教室の研究グループに参加しており，さらに2010年4月に京都大学大学院から小倉康平ポスドクも当教室に参加しています。この他に技術補佐員として木内綾子，則武ちあきの2名の非常勤職員がいます。

野田公俊は2009年1月から日本細菌学会理事長として，積極的に日本の細菌学会発展のための学会活動を展開しています。さらに2004年から全国の小中高校生を対象とした無料出張講演（千葉大学医学部と日本細菌学会の共催）を行っており，次世代の人材育成活動をも熱心に進めています。2010年4月現在，野田の担当した無料出張講演は全国の220校以上で実施され，受講生は約45,000人に達しています。この講演活動により，野田は平成20年度科学技術分野の文部科学大臣表彰科学技術賞（理解増進部門）「小中高校生等への微生物学の最新知識の紹介とその理解増進」を受賞しています。

細菌は我々を取り巻く環境の至る所に存在しているだけではなく，我々の体内にも常在菌として住み着いています。これらの細菌の中にはヒトに有用な細菌もありますが，逆にヒトに対して強い病原性を発揮するものもあります。近年，医療の進歩に伴って多くの患者の延命が可能となる一方，健康人には病気を起こさない病原性の比較的弱い細菌による日和見感染が重要視されるようになってきました。細菌感染成立に関与している因子としては，生体側の生体防御因子と細菌側の病原性因子とがありますが，当研究室では代表的な病原性因子のひとつである蛋白性のトキシンに着目し，新規なトキシンの探索やその作用機構の解明，さらにはそのトキシンの毒性を制御する物質の検索などを中心に研究を進めています。

ます。次に当研究室の代表的なプロジェクトを紹介します。

1. 腸管出血性大腸菌の産生する新規トキシン Subtilase cytotoxin (SubAB) に関する研究

SubABは2004年にオーストラリアの研究グループにより腸管出血性大腸菌O113:H21 98NK 2株で見いだされた新しいトキシンです。SubABは標的細胞のシャペロン蛋白質であるBiPを特異的に切断し，ERストレスを引き起こします。当教室ではSubABを千葉大学医学部附属病院で分離された腸管出血性大腸菌からクローニングに成功し，SubABの性状を解析するために精製を行い，その抗体を作製しました。これまで，SubABによるERストレスに起因した一過性の蛋白質合成阻害現象，細胞の形態変化，細胞周期の停止，細胞死（アポトーシス）に関する新知見を多数報告しています。また，Vero細胞を用いた研究により，SubABの宿主受容体がインテグリン $\alpha 2\beta 1$ であること，そして，この受容体刺激がSubABによる細胞の形態変化に寄与していることを明らかにしました。現在，このSubABのヒト細胞に対する致死作用に関して，その作用メカニズムを受容体刺激の角度から詳細に研究中です。さらに，SubABの個体レベルでの病態発現機序を解析する目的で，学内外の多くの研究室と共同研究を実施しています。

2. 腸管出血性大腸菌O157の産生する志賀トキシンに関する研究

腸管出血性大腸菌O157は主要な病原因子として志賀トキシン（ペロトキシン）を産生します。志賀トキシンには構造的にも機能的にもよく似た志賀トキシン1（Stx1）と志賀トキシン2（Stx2）が存在します。疫学的な解析から，Stx2を産生する腸管出血性大腸菌の方が，Stx2を産生しない腸管出血性大腸菌よりも重症化に関係しているという示唆があります。このことは各々のトキシン活性，あるいは腸管出血性大腸菌によるトキシンの産生量とその産生のタイミング，産生されたトキシンの菌体外への放出メカニズムなどに違いがあり，それがStx2を産生する腸管出血性大腸菌のより高い病原性に関与していると推察されますが，詳細はまだ解明されていません。Stx1は菌体内で合成されても，そのまま菌体内に留まり，菌体外には分泌されません。一方，Stx2は菌体外に出て行く事が分かっています。当教室では，Stx2が菌体外に出て行くメカニズムには大

きく2種類の様式が存在する事を初めて明らかにしました。現在，この2種類の特異的なStx2放出機構の解析をおこない，重症化との関連性を詳細に研究中です。

3. 腸管出血性大腸菌O157の感染成立に関わる病原因子の研究

腸管出血性大腸菌O157は，他の大腸菌に比較して，非常に少ない菌数で感染が成立することが知られています。このことは外部環境に応じて，細菌自体がその時々に応じて適切な遺伝子を選択して発現し，病原性を効果的に発揮している可能性が考えられます。しかし，その詳細はまだ分かっていません。腸管出血性大腸菌の感染成立に重要なステップの1つとして，この細菌が有する三型分泌機構という腸管上皮細胞との特徴的な接着現象があります。我々は，この腸管出血性大腸菌が標的細胞との接着時に，通常よりも志賀トキシンの産生量を上昇させている事を発見しました。現在，この現象が起こるメカニズムの解析を行っており，この現象をコントロールする新たな因子の解析も行っています。

4. コレラ菌が産生する Cholix トキシンのADP-リボシル化に関する研究

細菌の産生するトキシンの中にはNADを基質としてNADからADP-リボースを切りだして特定の蛋白質に共有結合させるADP-リボシル化活性を持つものが知られています。この反応は前教授の加藤巖先生たちにより，ジフテリア毒素において初めて報告されたものです。その後，相次いでコレラトキシン，百日咳トキシン等の重要なトキシンがこの活性を持っていることが報告されました。細菌のトキシンによるADP-リボシル化は全てモノADP-リボシル化反応ですが，生体内においては内在性のポリADP-リボシル化反応も存在します。これらの反応は蛋白の翻訳後修飾として代表的なリン酸化と並び注目されています。最近，コレラ菌の中からコレラトキシンとは異なる新たなADP-リボシル化活性をもつCholixという新規トキシンが発見されました。Cholixはその結晶構造解析から緑膿菌の産生するExotoxin Aと非常によく似た立体構造をとり，蛋白質合成に必須なeEF2をADP-リボシル化することで，細胞の蛋白質合成を阻害して細胞死に誘導することがマウスの細胞を用いた実験で報告されました。当研究室では，Cholixのヒト細胞における作用機序を解明することを目的としてクローニングし，その抗体を作製しました。現在，Cholixのヒ

ト細胞に対する細胞致死作用のメカニズム，受容体の同定，蛋白質合成阻害により誘導される細胞内のmRNAの変化をマイクロアレイ等を用いて詳細に解析しており，コレラの病態への関与を研究中です。

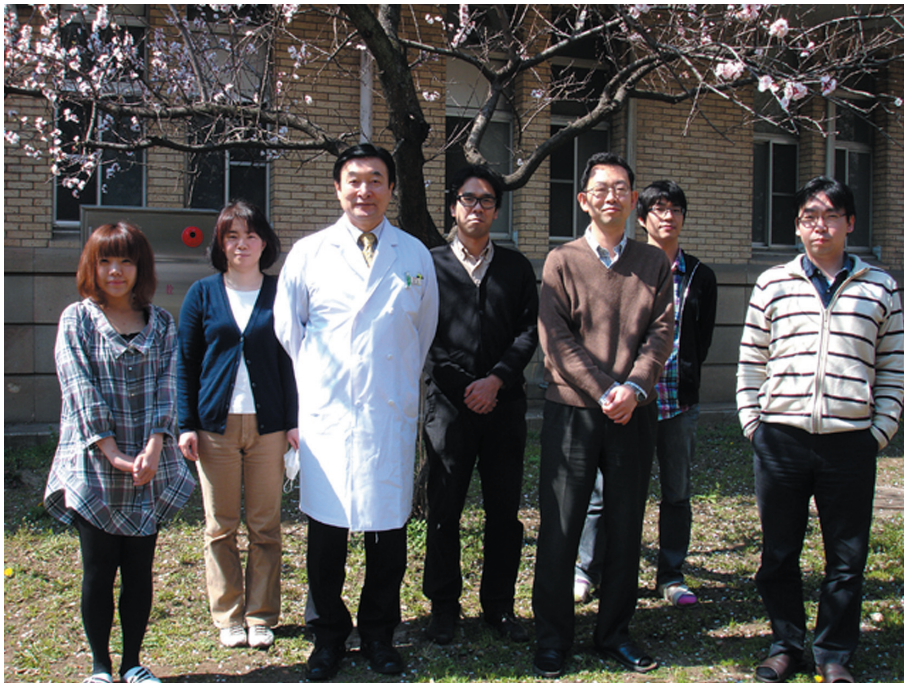
5. ヘリコバクター・ピロリの産生するトキシンの研究

ヘリコバクター・ピロリはヒトの胃に生息するらせん状のグラム陰性桿菌であり，胃炎，胃潰瘍，更には胃癌の病原因子として注目されています。当研究室ではピロリ菌の産生する空胞化致死トキシン（VacA）に関する研究を長崎大学熱帯医学研究所細

菌学分野との共同研究で進めてきました。これまで，VacAの宿主受容体の同定に成功し，ポリフェノールによる毒性中和にも成功し報告してきました。現在，VacAとは異なるヘリコバクター・ピロリの新たな病原因子の検索を進行中です。

以上が当教室の主なプロジェクトです。これまでと同様に学内外，国内外の優秀な大学院生諸君の参加をお待ちしています。また，基礎と臨床の連携にさらに一層努力し，社会的なニーズにも積極的に対応して行くつもりでありますので，今後ともどうぞ宜しくお願いいたします。

（のだ まさとし）



病原分子制御学 スタッフ一同 2011年3月 医学部本館前にて