

繊毛虫は環境由来バクテリアを非常食として利用するために放出する

北条 史

杏林大学大学院医学研究科実験動物施設

杏林大学医学部感染症学

原生動物（原虫）Protozoa は動物性の単細胞真核生物である。鞭毛虫であるトリパノソーマ *Trypanosoma*, リーシュマニア *Leishmania*, 胞子虫であるクリプトスポリジウム *Cryptosporidium*, マラリア *Plasmodium* などその病原性から有名であるが, その他にも肉様虫や繊毛虫などに属する原虫が存在する。これら原生動物は環境中に普遍的に分布しており, 細菌や真菌, 多細胞生物とともに微小な生態系を構成している。細菌は通常, 原生動物の体内にファゴサイトーシスによって形成されるファゴソームという細胞内小胞に取り込まれる。このファゴソームは加水分解酵素を含むリソソームと融合し, ファゴソーム内の細菌は分解・消化される。

近年ある特定の病原細菌が原生動物体内で生存・増殖していることが明らかになりつつある。レジオネラ *Legionella* は在郷軍人病, ポンティアック熱の起因菌であるが, *Acanthamoeba* の体内で生存・増殖していることが知られている¹⁾。近年の研究においてこの生存には *Legionella* のタイプIV分泌装置関連遺伝子 Dot/Icm が不可欠であることが明らかになっている²⁾。これまでに *Legionella* は *Acanthamoeba* 以外の原生動物として繊毛虫である *Tetrahymena*³⁾, 細胞性粘菌である *Dictyostelium*⁴⁾ の細胞内で生存, 増殖することが分かっている *Legionella* はタイプIV分泌装置によって宿主原生動物にはたらきかけ, ファゴソームとリソソームの融合を阻害する。その結果消化に関わる酵素がリソソームからファゴソーム内に移行せず, *Legionella* は原生動物のファゴソームの中で生存, 増殖するのである。このファゴソームは小胞ペレットとして原生動物の外に放出されるが, その放出の意義については明らかにされていなかった。

そこで筆者らは *Legionella* と *Tetrahymena* を共培養させた際に放出される小胞ペレットがどのような条件で最もよく放出されるか, そして放出された小胞ペレットが

Tetrahymena の増殖にどのような影響を与えるかについて検討を行った。

環境分離株の *Legionella* を *Tetrahymena* と共培養させた際, 培養開始2日後に最も多く小胞ペレットを放出した。熱処理した細菌を用いた場合は小胞ペレットの放出は観察できず, 細菌株および原生動物株による差は観察されなかった。小胞ペレット中の細菌は多重の脂質膜によって密にパックされており, 内部で菌体の損傷や溶菌が見られないにもかかわらず, その培養性は低下した。この小胞ペレットと未感染の *Tetrahymena* を共培養した際, *Tetrahymena* の生存は維持され, 小胞ペレット無しで培養した際と比較して増殖性が向上した。臨床分離株の *Legionella* を *Tetrahymena* と共培養させた際においては, *Legionella* はタイプIV分泌装置関連遺伝子 Dot/Icm 依存性に *Tetrahymena* を殺し, 環境分離株と対照的であった⁵⁾。 *Legionella* は菌株によってはタイプIV分泌装置のエフェクター蛋白質発現に差があるという報告があり^{6,7)}, 今回使用した環境分離株は臨床分離株よりも環境における細胞内共存に適合した株であったと考えられる。

小胞ペレットの放出は今まで細菌の生存戦略として考えられており, 片利共生であるとされてきたが, 今回の結果は, 宿主も細菌をパックした小胞ペレットをいわば非常食のように利用できることを示唆し, 二者の関係は「相利共生」にあると考えられた。このように宿主と細菌の相互作用をテーマとする研究は細菌と宿主双方からのアプローチが可能であり, 今後も各方面より多様多彩な知見がもたらされるものと期待される。

文 献

1. Rowbotham TJ: Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae. *J. clin. Pathol.* 1980. 33(12):1179-1183

2. Hilibi H, Segal G, Shuman HA: Icm/dot-dependent upregulation of phagocytosis by *Legionella pneumophila*. *Mol. Microbiol.* 2001. 42:603-617
3. Fields BS, Shotts EB Jr, Feeley JC, Gorman GW, Martin WT: Proliferation of *Legionella pneumophila* as an intracellular parasite of the ciliated protozoan *Tetrahymena pyriformis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1984. 47(3):467-471
4. Solomon JM, Rupper A, Cardelli JA, Isberg RR: Intracellular growth of *Legionella pneumophila* in *Dictyostelium discoideum*, a system for genetic analysis of host-pathogen interactions. *Infect. Immun.* 2000. 68(5):2939-2947
5. Hojo F, Sato D, Matsuo J, Miyake M, Nakamura S, Kunichika M, Hayashi Y, Yoshida M, Takahashi K, Takemura H, Kamiya S, Yamaguchi H: Ciliates Expel Environmental *Legionella*-Laden Pellets to Stockpile Food. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012. 78(15):5247-5257
6. Cazalet C, Rusniok C, Brüggemann H, Zidane N, Magnier A, Ma L, Tichit M, Jarraud S, Bouchier C, Vandenesch F, Kunst F, Etienne J, Glaser P, Buchrieser C: Evidence in the *Legionella pneumophila* genome for exploitation of host cell functions and high genome plasticity. *Nat. Genet.* 2004. 36:1165-1173
7. Chien M, Morozova I, Shi S, Sheng H, Chen J, Gomez SM, Asamani G, Hill K, Nuara J, Feder M, Rineer J, Greenberg JJ, Steshenko V, Park SH, Zhao B, Teplitskaya E, Edwards JR, Pampou S, Georghiou A, Chou IC, Iannuccilli W, Ulz ME, Kim DH, Geringer-Sameth A, Goldsberry C, Morozov P, Fischer SG, Segal G, Qu X, Rzhetsky A, Zhang P, Cayanis E, De Jong PJ, Ju J, Kalachikov S, Shuman HA, Russo JJ: The genomic sequence of the accidental pathogen *Legionella pneumophila*. *Science.* 2004. 305:1966-1968