

細菌の細胞が破裂して社会性を発揮する仕組みを発見
～細菌の集合体形成、相互作用、病原性の鍵となる機構を解明～

研究成果のポイント

1. 細菌は相互に作用しあい、個性や社会性を発揮します。本研究は一部の細胞が破裂することで、細胞外 DNA や膜小胞(MV)^{※1)}を提供することを発見しました。
2. 従来は生細胞の膜が出芽するような形で MV が形成されると考えられていましたが、世界で初めて細胞が破裂して MV が形成される瞬間を動画撮影することに成功し、全く異なるメカニズムを発見しました。
3. 本メカニズムは、それをターゲットにした新奇薬剤開発や MV を利用したワクチン開発に応用されることが期待されます。

国立大学法人筑波大学 生命環境系 豊福雅典助教(チューリッヒ大学客員研究員兼任)、野村暢彦教授らの研究グループは、チューリッヒ大学Leo Eberl 教授、スイス連邦工科大学チューリッヒ校 Christian Ahrens 研究員、シドニー工科大学 Cynthia Whitchurch 助教らとの共同研究により、細菌外に DNAやMVを放出する新奇機構 explosive cell lysisを発見し、それが引き起こされるメカニズムを解明しました。

多くの細菌は、集合体を形成するにあたって細菌外DNAを“つなぎ”として利用し、MVを介してシグナル物質、病原性因子、遺伝子などを他の細胞に輸送することで高度な生存戦略をとっています。そのため、細胞外DNAやMVの放出は生物学的にも細菌制御の観点からも重要です。しかし、そのメカニズムはこれまでほとんど未解明でした。

本研究では、緑膿菌^{※2)}の集団中で一部の細胞が破裂 (explosive cell lysisと命名)^{※3)}してDNAやMVが提供されることを解明し、他の生細胞がその恩恵にあずかることを示しました。

これまでMV形成については、細胞膜が外側にたわんで形成されると考えられていました。本研究では、細胞が破裂してMVが形成される様子を世界で初めて動画撮影することに成功し、従来の考えとは根本的に異なるメカニズムを提唱しました。

本研究の成果は、2016年04月14日10時(日本時間同日18時)付でNature 出版グループのオンライン専門誌「Nature Communications」でオンライン公開される予定です。

* 本研究は、科学研究費若手研究(A)(豊福)、基盤研究(A)、ALCA、CREST、ERATO(以上、野村)の助成によって実施されました。

研究の背景

細菌は集合体(バイオフィルム)^{注4)}を形成して個性や社会性を発揮することで、多細胞生物的な挙動を示し、高度な生存戦略をとります。バイオフィルムの形成は抗生物質耐性の向上といった感染症の慢性化などに繋がるため、その制御方法についての研究が世界中で実施されています。細菌がバイオフィルムを形成するにあたり、細胞間の“つなぎ”が必要になりますが、その一部の役割は細胞外に放出されたDNAが果たします。ただし、細菌集団中でのような細胞間相互作用が起こっているのかについては、未解明の部分が多く残されています。そのなかにあって、相互作用の担い手として近年注目を浴びているのが、細菌が放出する30-400nm程度の膜小胞(MV)です。MVは細胞膜によって形成された袋状の構造体で、その中に様々な物質を取り込むことで、輸送体の役割を果たします。例えば、細菌間で遺伝子や情報伝達物質を輸送するのにMVが利用されるほか、感染症においては病原性因子を宿主細胞に輸送する役割を担っていることが明らかとなってきています。

細胞外DNAやMVの放出は細胞の主成分を外に放出するという点で共通しており、細胞にとっては大きな負担になります。そこで、細胞外DNAやMVはどのようにして放出されるのか長い間疑問とされてきました。

研究内容と成果

本研究では、集団中の一部の細胞が破裂することで細胞外DNAとMVを提供することを明らかにしました(図1)。

緑膿菌のバイオフィルム形成を観察する過程で、一部の細胞が破裂して細胞外にDNAとMVを放出することが観察されました。放出されたDNAは他の細胞によって利用され、高次構造形成に関与します。

細胞の破裂は、ストレスによって強く誘導されたため、ストレス応答遺伝子群を調べた結果、ファージの放出に関わる遺伝子(*lys*)が同定されました。さらに、MV形成時に発現している遺伝子を同定するために、MVに含まれるmRNAを解析したところ、同じく*lys*が同定されました。*Lys*は細菌の細胞壁を分解する酵素で、遺伝子欠損株を用いた実験などから、*Lys*及びその細胞壁分解活性が細胞の破裂を誘導するのに必須であることが明らかとなりました(図2)。超解像顕微鏡を用いた動画撮影により、細胞壁を分解された細胞が形を保てなくなって破裂する様子が観察されました。細胞が破裂する様子から、この現象をexplosive cell lysisと命名しました。破裂した細胞の膜は断片化したのちに、再構成されてMVを形成し、その際に放出されたDNAの一部を取り込みます。これまでもMVにDNAが含まれることは知られていましたが、既存のMV形成モデルではDNAがどのようにして取り込まれるのかを説明できませんでした。本研究はそのメカニズムの解明にも繋がりました。

今後の展開

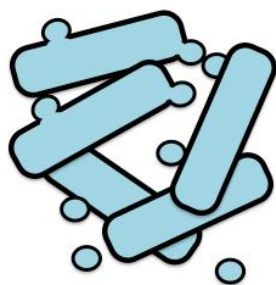
緑膿菌を用いた本研究で同定された、explosive cell lysisを引き起こす遺伝子は、細菌間で最もよく保存されている遺伝子の一つであるため、explosive cell lysisは細胞外DNAやMV放出に関わる細菌共通のシステムである可能性が高いことがうかがわれます。

多細胞生物では、一部の細胞がプログラム細胞死^{注5)}を引き起こすことで正常な発生や恒常性を維持しています。本研究は、単細胞生物である細菌も個性を発揮してプログラム細胞死を引き起こすことで、より高次の構造体を形成し、多細胞性を発現することを示唆します。細菌の社会性と個性の発現の理解は、細菌の真の姿を理解し、それを応用するのに役立ちます。

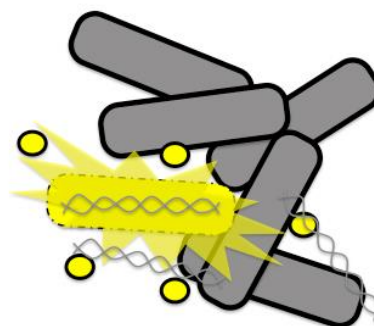
MVのワクチン利用がすでにヨーロッパ等で始まっていますが、これまでMVを生産するシステムが確立されていませんでした。本研究成果はMVの効率的な生産方法の確立に応用できます。

参考図

出芽モデルによるMV形成



細胞破裂によるMV形成



同時に放出されるDNAは
バイオフィーム形成などに使用される

図1 細胞破裂 (explosive cell lysis) による、MV・DNA の放出。これまで、MV は細胞が出芽するような形で放出されると思われていた (左図)。本研究では、一部の細菌が破裂して MV を放出することを発見した (右図)。その際、DNA も放出されて、バイオフィーム形成などに用いられる。

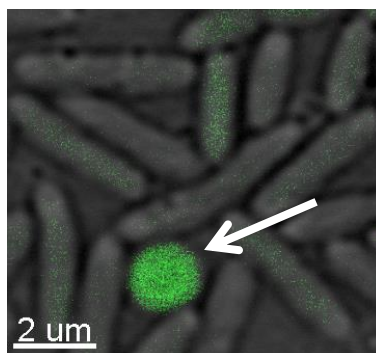


図2 破裂する寸前の緑膿菌。緑色蛍光は *lys* 遺伝子を発現した細胞を示す。*lys* 遺伝子を発現して丸まった細胞 (矢印) は数秒後に破裂して、細胞外に MV や DNA を放出する。

用語解説

注1) 膜小胞

メンブランベシクル (MV) ともいう。細菌が外に放出する 30–400nm 程度の、細胞膜によって包まれた袋上の構造体。タンパク、核酸、生理活性物質などを含み、細胞間で輸送される。細胞間の情報伝達、遺伝子の伝播にも関与し、動物細胞に対して毒性を示す MV も報告されるなど、多様な機能が報告されている。ほとんどの細菌が生産すると言われているが、その生産機構は多くが未解明だった。

注2) 緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)

日和見感染菌としてしばしば問題になるグラム陰性細菌。世界中でバイオフィーム、細菌間相互作用、MV 形成などのモデル細菌として研究されている。

注3) Explosive cell lysis

破裂を伴う細菌の細胞死。細菌の細胞壁が分解されることで、細胞が自身の内圧に耐えられなくなり、破裂する。その際、DNA など細胞内の構成成分を放出する。破裂した細胞の膜は再構成し、MV を形成する。膜の再構成が自然に起こるのか、制御されたプロセスなのかはまだ解明されていない。

注4) バイオフィルム

細菌の集合体。多くの細菌は集合し、高次構造を形成する。高次構造を形成するために細菌は細胞外マトリックスと呼ばれる接着因子を生産し、細菌どうしや細菌と基質を繋ぎ止める。自然環境中ではほとんどの細菌がバイオフィルム状態で生息する。バイオフィルムが形成されると、抗生物質耐性が向上するなどして、感染症の慢性化を引き起こす。排水処理で利用される活性汚泥や口腔内に形成されるプラークもバイオフィルムの一種である。

注5) プログラム細胞死

細胞の計画的な死。多細胞生物において個体の発生や恒常性に関わる。細菌におけるプログラム細胞死は提唱され始めているが、ほとんど分かっていない。

掲載論文

【題名】 Explosive cell lysis is a novel mechanism for the biogenesis of bacterial membrane vesicles and biofilm (細菌の細胞破裂によりメンブランベシクルとバイオフィルムが形成される)

【著者名】Turnbull, L.^{1†}, M. Toyofuku^{2, 3†}, A. L. Hynen¹, M. Kurosawa², G. Pessi³, N. K. Petty¹, S. R. Osvath¹, G. Cárcamo-Oyarce³, E. S. Gloag¹, R. Shimoni¹, U. Omasits⁴, S. Ito², X. Yap¹, L. G. Monahan¹, R. Cavaliere¹, C. H. Ahrens⁵, I. G. Charles¹, N. Nomura², L. Eberl³ and C. B. Whitchurch¹

¹ The ithree institute, University of Technology Sydney, Ultimo, Australia.

² Department of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Japan.

³ Department of Plant and Microbial Biology, University of Zurich, Switzerland.

⁴ Institute of Molecular Systems Biology, ETH Zurich, Switzerland.

⁵ Agroscope, Institute for Plant Production Sciences, Research Group Molecular Diagnostics, Genomics and Bioinformatics, & Swiss Institute of Bioinformatics (SIB), Switzerland.

【掲載誌】 Nature Communications

DOI: 10.1038/ncomms11220

問い合わせ先

豊福 雅典(とよふく まさのり)

筑波大学 生命環境系(国際テニユアトラック助教)、チューリッヒ大学客員研究員兼任(同大学滞在中)

野村 暢彦(のむら のぶひこ)

筑波大学 生命環境系 教授