

---

**総 説**

---

**病原性グラム陰性菌のⅢ型分泌**

—V抗原ワクチン・抗体療法の開発—

佐 和 貞 治\*

京都府立医科大学大学院医学研究科麻酔科学

**The Type Ⅲ Secretion of Pathogenic  
Gram-negative Bacteria and V-antigens**

—Development of a V-antigen Vaccine &amp; an Anti-V-antigen Therapy—

Teiji Sawa

*Department of Anesthesiology, Kyoto Prefectural University of Medicine***抄 録**

1980年代後半に病原性グラム陰性菌がタンパク毒素を直接、標的細胞に分泌装置を用いて打ち込むことで病原性を発揮していることが示唆され、その分泌様式は新しくⅢ型分泌システムと名付けられた。ペスト菌黒死病モデルにおいて免疫効果があると報告されてきたエルシニアV抗原LcrVは、このⅢ型分泌システムの毒素転移に関わるタンパクであることがのちに判明した。一方で、緑膿菌においてその外毒素であるexoenzyme Sに関わる制御遺伝子領域に、エルシニアV抗原と相同タンパクであるPcrVが発見された。緑膿菌感染の動物モデルにおいてPcrVには能動免疫効果が認められ、また抗PcrV抗体には受動免疫効果があることが判明した。他の病原性グラム陰性菌においても、V抗原と相同もしくは類似タンパクが発見されており、V抗原はこれらの細菌感染に対する新しい治療のターゲットとして捉えられる。

キーワード：グラム陰性菌，Ⅲ型分泌システム，緑膿菌，V抗原。

**Abstract**

The type Ⅲ secretion system, discovered in *Yersinia* in the late 1980s, enables bacteria to translocate their toxins directly into the eukaryotic cells. The V-antigen of *Yersinia* has been reported as a protective antigen in animal models for plague and has been redefined as a translocational component of the type Ⅲ secretion. In *Pseudomonas aeruginosa*, the exoenzyme S regulon was discovered to encode genes for the type Ⅲ secretion system. Among the proteins encoded by exoenzyme S regulon, PcrV, a V-antigen homologue, was discovered as a protein required by the type Ⅲ secretion system in *P. aeruginosa*. PcrV vaccine and anti-PcrV-antigen antibodies have been reported to be protective against lethal *P. aeruginosa* infections in animal models. PcrV plays a key role in causing lethal *P. aeruginosa* infections and is a

---

平成23年7月6日受付

\*連絡先 佐和貞治 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町465番地  
anesth@koto.kpu-m.ac.jp

potential therapeutic target for virulence blockage. Many other gram-negative bacteria share V-antigen homologues and V-antigen homologue-like proteins. These V-antigens and their homologues are under investigation as potential vaccines and therapeutic reagents against lethal bacterial infections.

**Key Words:** Gram-negative bacteria, Type III secretion system, *Pseudomonas aeruginosa*, V-antigen.

## はじめに

細菌感染症に対する抗生物質の汎用は、より高度な耐性菌の出現と救命困難な致死性の感染の発生をもたらしてきた。特に多剤耐性菌による重症感染症に対する予防・治療戦略は、近年の高齢化社会、高度な医療処置に基づく免疫不全患者の増加などにより、年々その重要性を増している。病原性細菌に対して、従来の抗生物質には頼らない方法で、免疫力を高める新しい予防法や、病原性メカニズムに対抗できる新しい治療法の開発が求められている。なかでも20世紀末には多剤耐性菌の出現が予想され、特に重症化しやすいといわれる緑膿菌感染については、21世紀に入り国内外での多剤耐性緑膿菌(Multi-Drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: MDRP)による院内集団感染による死亡例も多数報告されて社会問題化している。著者らは、これまで高い死亡率を示す緑膿菌性肺炎や敗血症について、炎症性サイトカインや細菌病原性メカニズムとの関わりの中で、重症化に関わる未知の病態メカニズムについて研究を進めてきた<sup>1-12)</sup>。

近年のゲノム・タンパク分析学と分子細菌学の進歩により、緑膿菌を含む多くの病原性グラム陰性桿菌が新たに同定された毒素分泌メカニズムを用いて、病原性を発揮していることがしだいに明らかになってきた。従来までに同定・分類されてきたI型およびII型分泌システムとは異なり、この新しく定義されたものはIII型ないしIV型の毒素分泌システムと呼ばれる<sup>1-5)</sup>。これらのシステムでは、細菌はなんらかの酵素作用を持ったエフェクターと呼ばれるタンパク毒素を、特殊な分泌装置を用いて、直接、標的となる真核細胞の細胞質へ転移させる(図1)。この

III型分泌システムは、エルシニア菌、サルモネラ菌、赤痢菌、病原性大腸菌、腸炎ビブリオ菌、クラミジア菌など、多くの主要病原性グラム陰性菌において、非常に相同性の高いシステムとしてその存在が確認されてきた<sup>10)11)12)</sup>。特に、著者らの研究を中心に、エルシニア菌や緑膿菌においてはIII型分泌システムに関する病原性に対抗できる分子標的として「V抗原」の存在が明らかになり、予防法、治療法の応用が期待されている<sup>13)</sup>。本稿では、これらの研究成果についての知見を整理する。

## 病原性グラム陰性菌III分泌システム

1980年代後半に微生物学者らは、エルシニア菌の病原性に深く関わるYop (*Yersinia outer proteins*)virulonの研究を進めるなかで、エルシニア菌が従来までに報告されてきたタンパク分泌システム、つまりI型およびII型とは異なる方法で、標的となる真核細胞の細胞質にその外毒素(YopE, YopH, YopJ, YopK, YopM)らを作動させていることを発見した<sup>11)</sup>。この新しく同定された分泌システムは、従来のタンパク分泌システムであるI型、II型と区別され、新たにIII型と呼ばれるに至った。I型およびII型では、病原菌はそのタンパク毒素をグラム陰性菌の二重膜を横切る分泌装置を通じて一旦菌体外環境へ運び、運ばれた毒素タンパクは標的細胞の細胞膜表面上の受容体などを通じて毒性作用を発揮する(図1)<sup>1-5)</sup>。一方、新しく発見されたIII型分泌では、毒素は鞭毛から進化したと考えられる複雑なニードル状の分泌装置を通じて、直接、標的細胞の細胞質内に注入される(図1)<sup>1-5)</sup>。このことは、1990年代のグラム陰性菌の病原性に関する研究の中で最大級の発見であり、エルシニア菌のみならず、サルモネラ菌、赤痢菌、

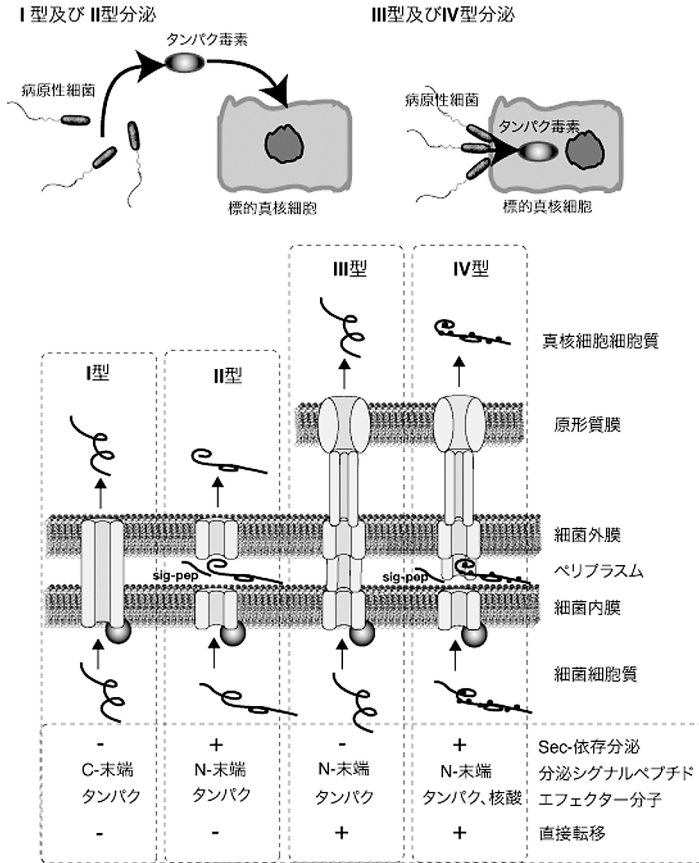


図1 病原性グラム陰性菌の旧型および新型タンパク毒素分泌

上図：従来から同定されていたⅠ型およびⅡ型では、毒素タンパクは一旦菌体外環境に分泌された後に標的的真核細胞表面に達して毒性を発揮する。一方、新しく同定されたⅢ型およびⅣ型では、毒素タンパクは特殊な分泌装置を通じて細菌菌体内から直接、標的的真核細胞の細胞質に転移される。下図：Ⅰ型分泌は単純な分泌装置を用いたアルカリフォスファターゼなどに対する特定の分泌タンパク装置である。Ⅱ型分泌は、真核生物のサイトカインなどと同様の分泌容姿であり、分泌タンパクのN末端に存在するシグナルペプチドが菌体内からペリプラスムへの輸送には必要であり、ペリプラスムで切断され、C末端側が菌体外環境へ分泌される。Ⅲ型およびⅣ型分泌では、シグナルペプチドは存在せず、分泌タンパクは複雑な分泌装置により直接、標的細胞の細胞質内へ転移される。Ⅲ型は鞭毛、Ⅳ型では接合装置から進化したと考えられている。Ⅳ型では核酸の転移も起こる。

病原性大腸菌，緑膿菌，腸炎ビブリオ菌，百日咳菌など多くの細菌が遺伝子レベルで非常に高い相同性を持つⅢ型分泌システムを用いてその病原性を発揮していることが解明されてきた(表1)。

著者らが研究を進めてきた緑膿菌では、従来からⅡ型分泌外毒素として捉えられてきた

Exoenzyme Sが実はⅢ型分泌タンパクであることが判明し、それとともに関連する四つのⅢ型分泌毒素(ExoS, ExoT, ExoU, ExoY)が同定されるに至った(表2)<sup>8)11)</sup>。また同時期には、ピロリ菌、レジオネラ菌などでは、Ⅲ型分泌と同様に毒素を細菌菌体から直接標的的真核細胞の細胞質内へ転移させる接合伝達装置から進化したⅣ

表1 病原性グラム陰性菌旧型（I型とII型）と新型（III型とIV型）分泌毒

病原性グラム陰性桿菌	旧型分泌毒（I型とII型）	新型分泌毒（III型とIV型）
ボルデテラ（百日咳菌）	百日咳毒素 アデニル酸シクラーゼ毒素	III型（Bop）
病原性大腸菌	易熱性エンテロトキシン(LT) 耐熱性エンテロトキシン(ST) ペロ毒素	III型（Esp、Tir）
赤痢菌	志賀毒素	III型（Ipa）
サルモネラ菌		III型（Sop, Sip）
腸炎ビブリオ	耐熱性溶血毒	III型（Vop）
エルシニア菌		III型（Yop）
ピロリ菌		IV型（CagA）
レジオネラ菌		IV型（Dot/Icm）
緑膿菌	エクソトキシン A	III型（Exo）
クラミジア		III型（Cop/IncA）

型分泌システムが同定されるに至った（図1）。III型およびIV型分泌においては、毒素タンパクが細菌側の二重膜（外膜、内膜）を越えるメカニズムを「分泌 secretion」と呼び、一方、標的眞核細胞の細胞膜を越えるメカニズムを「転移 translocation」と呼ぶ（図1）。のちの研究で、本稿のテーマであるV抗原は、エルシニア菌や

緑膿菌をはじめとする細菌において、III型分泌毒素の「転移」に関わるタンパクであることが示されてきた<sup>11)</sup>。

### 病原性グラム陰性菌V抗原

V抗原は、1950年代に英国において、ペスト菌 (*Yersinia pestis*) 感染マウスモデルにおいて、

表2 緑膿菌の外毒素タンパクの酵素活性とその作用

外毒素	酵素活性	作用	
Exotoxin A	ADP-リボシル基転移活性	抗食能, 細胞毒	
エラスターゼ	弾性線維分解	組織破壊	
アルカリプロテアーゼ	蛋白分解活性	補体, IgG の分解	
ホスフォリパーゼC	細胞膜脂質分解活性	細胞膜リン脂質分解	
III型 分泌毒素	ExoS	FAS 依存性 ADP-リボシル基転移活性	抗食能、エンドサイトーシス阻害
	ExoT	sGTPase 活性化	損傷修復阻害
	ExoU	ホスフォリパーゼA 活性	細胞毒、細胞膜リン脂質分解
	ExoY	アデニレートシクラーゼ活性	浮腫誘導、抗炎症

感染予防・免疫効果を導くペスト菌抗原として初めて報告された<sup>11)</sup>。その後、1980年代にペスト菌を含むエルシニア属(ペスト菌 *Yersinia pestis*, 腸炎エルシニア *Yersinia enterocolitica*, 仮性結核菌 *Yersinia pseudotuberculosis*) をカルシウムイオンが欠損した環境で培養すると、V抗原を含むYopと名づけられたタンパク群が培養液中に分泌されることが報告され、この現象はLow-calcium response (LCR) と名づけられた<sup>11)</sup>。このLCR現象は、ペスト菌プラスミッドpCD1に代表されるエルシニア属の持つおよそ70-kbpの病原性プラスミッド遺伝子の保有と正の関係にあった。1980年代にpCD1の遺伝子解析が進められ、その結果、V抗原はこのプラスミッド遺伝子にエンコードされているYop virulonの遺伝子産物の一つであるLcrVであると同定された<sup>11)</sup>。一方、著者らは1990年代前半より、肺傷害の病態<sup>14-17)</sup>、日和見感、重症肺炎、熱傷感染、敗血症などの起炎菌である緑膿菌による急性肺傷害<sup>18-27)</sup>、遺伝子導入を含む新しい

肺傷害への治療法<sup>28-31)</sup>、緑膿菌の外毒素であるExoenzyme Sに関わる病原性についての研究<sup>32,43)</sup>を行ってきた。その過程で、緑膿菌の外毒素Exoenzyme Sの制御遺伝子領域Exoenzyme S regulonには、エルシニア属Yop virulonと遺伝子的に極めて高い相同性があること、さらにエルシニア菌LcrVの相同タンパクであるV抗原PcrV遺伝子が存在することが判明してきた(図2)<sup>11,13)</sup>。加えて、遺伝子組換えPcrVや抗PcrV抗体を作成し、それらに緑膿菌感染に対する免疫効果があることを発見した<sup>13)</sup>。

### 緑膿菌Ⅲ型分泌システムと肺傷害

細菌性肺炎は集中治療が必要な重症疾患患者において高罹患率の合併症であるが、そのなかでも緑膿菌は高頻度の起炎菌である。特に人工呼吸中の患者における肺炎の合併は、ventilator-associated pneumonia (VAP) と呼ばれて高い死亡率を伴うが、VAPの起炎菌が緑膿菌である場合には死亡率がさらに上昇すると報告されてい

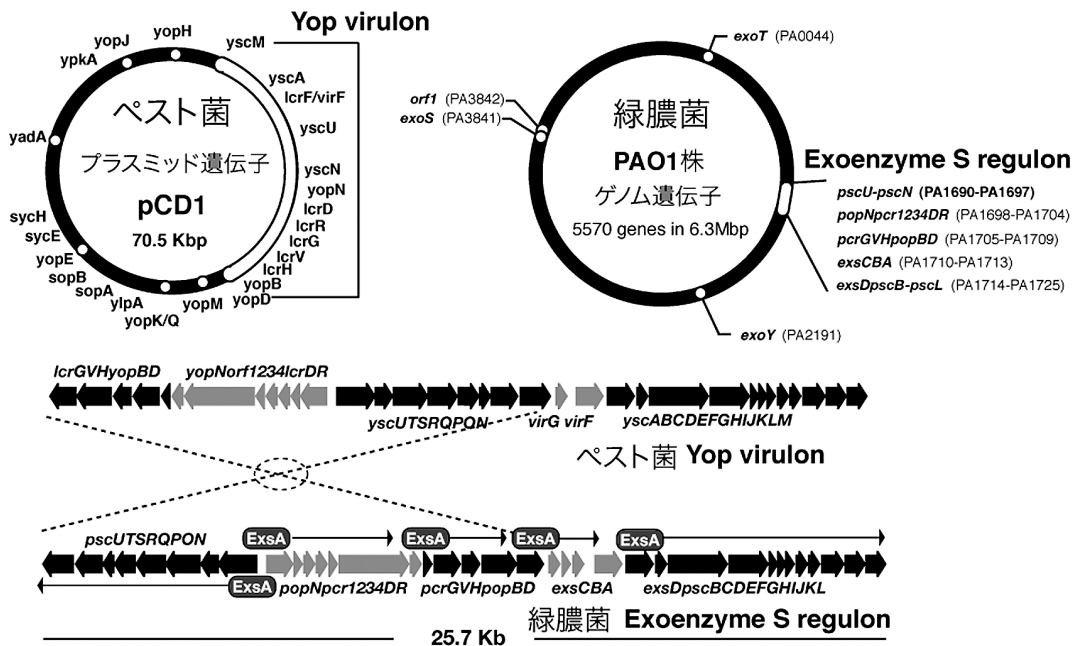


図2 ペスト菌プラスミッドpCD1とYop virulon, 緑膿菌PAO1ゲノムとExoenzyme S regulon. ペスト菌はその70～kbのプラスミッドpCD1にⅢ型分泌システムに関わる毒素タンパク及び分泌装置, 制御装置の遺伝子群を持つ。一方, 緑膿菌PAO1のゲノムには, ペスト菌Yop virulonと相同領域が25.7kbのExoenzyme S regulonとして発見され, この領域が緑膿菌Ⅲ型分泌に関わる。緑膿菌では, Ⅲ分泌タンパク毒素の遺伝子 (*exoS*, *exoT*, *exoU*, *exoY*) は, ゲノム上に散在する。ExsAは緑膿菌Ⅲ型分泌システムの転写活性因子であり, 複数の結合部位がExoenzyme S regulonや毒素タンパクのプロモーター上に存在する。

る。高い死亡率につながる病因として, それに続く敗血症状態が強く関与している。この続発性敗血症の病態形成には, 緑膿菌のもつ多剤耐性の特徴に加えて, そのⅢ型分泌システムが深く関与している。

著者らは, これまで急性肺損傷・続発性敗血症を引き起こす緑膿菌の毒性因子を同定する研究を行ってきた<sup>18-27</sup>。Ⅱ型分泌タンパクであると考えられてきた緑膿菌外毒素Exoenzyme Sは, 実は二つの独立した遺伝子にコードされている二種類の近縁Ⅲ型分泌タンパクであることが判明し, それぞれExoSとExoTと名付けられた<sup>32</sup>。加えて, 緑膿菌性肺炎における主要な肺障害因子であると同定に至ったⅢ型分泌毒素ExoUの発見に至り, その酵素作用はフォスホリパーゼA2であることを同定した<sup>34-38</sup>。緑膿菌はエルシニア菌と高い相同性をもつⅢ型分泌システムを保持し, 特に細胞毒性の強い表現系を示す株

は, このシステムを用いて真核細胞に直接, 外毒素を打ち込み細胞壊死を誘発することを突き止めた。緑膿菌性肺炎における急性肺上皮障害, およびそれに続く菌血症・敗血症のメカニズムについて, 動物モデルや臨床分離株の分析を用いて以下のことを解明した。まず緑膿菌臨床分離株には, その分泌する毒素の種類によって様々な株が存在するが, 上述のexoenzymeの遺伝子・表現型にも変異があった<sup>39-42</sup>。動物モデルにおいて急性肺障害およびそれに続発する菌血症を誘発する株は, Ⅲ型分泌システムの分泌タンパクであるExoUを発現している。ExoU遺伝子のノックアウト変異株や, その表現系がnegativeな株では, 急性肺損傷・菌血症は起こらない。つまり, 緑膿菌性肺炎による急性肺障害とそれに続発する菌血症のメカニズムとして, 細菌のⅢ型分泌システムにより肺上皮細胞内に直接転移された分泌毒素が, 肺上皮細胞の壊死



を起こし、肺上皮バリアーを破壊し、急速な細菌の全身播種が発生する。肺上皮バリアーの破壊は、細菌の全身性播種のみならず、肺腔側に誘導・蓄積された腫瘍壊死因子 (TNF) やインターロイキン等の炎症性メディエーターの肺から全身循環への急速な移動を誘発し、全身性炎症性症候群 (Systemic inflammatory response syndrome, SIRS) の病態形成に関わる<sup>35)</sup>。

緑膿菌のⅢ型分泌システムの概略を図4に示す。このシステムは、従来の細菌の系統生物学における分類を越えて、エルシニア菌のⅢ型分泌システムと高い相同性を持つ。分泌タンパクとしては、従来の外分泌性毒素と考えられてきたADP-ribosylate activityをもつExoenzyme S (ExoS), このExoSと相同性のある同じくADP-ribosylate activityをもつExoT, 急性肺損傷のもっとも主要な緑膿菌毒素と同一したExoU, そしてadenylate cyclaseの作用をもつExoY, 以上4つが同一化されている<sup>1-5)</sup>。緑膿菌のⅢ型分泌装置は、エルシニア菌のYscに相当するPsc

(*Pseudomonas secretion system*) タンパク群で構成される。また真核細胞の細胞膜上のポアー (pore) 形成に関わるPopBおよびPopD (エルシニア菌のYopBおよびYopDに相同) などが同一化されている。緑膿菌は真核細胞への接触に続いて、ExoS, ExoT, ExoUそしてExoY等の分泌タンパクの生合成を急速に誘導し、そしてPscで構成される細菌膜状のポアーに加えて、同時に誘導されるPopB, PopDを分泌し、細菌内膜、外膜、真核細胞原形質膜の三重膜トンネルを形成し、直接分泌タンパクを真核細胞の細胞質内へ送り込む。

### V 抗原の機能とワクチン効果

14世紀に黒死病の脅威にさらされ、当時の全人口の3割を失ったヨーロッパでは、伝統的にペスト菌の研究が積極的に進められてきた。上述したように、ペスト菌V抗原については20世紀半ばに、英国の研究者らによりそのワクチン効果について報告がされていた。その後の

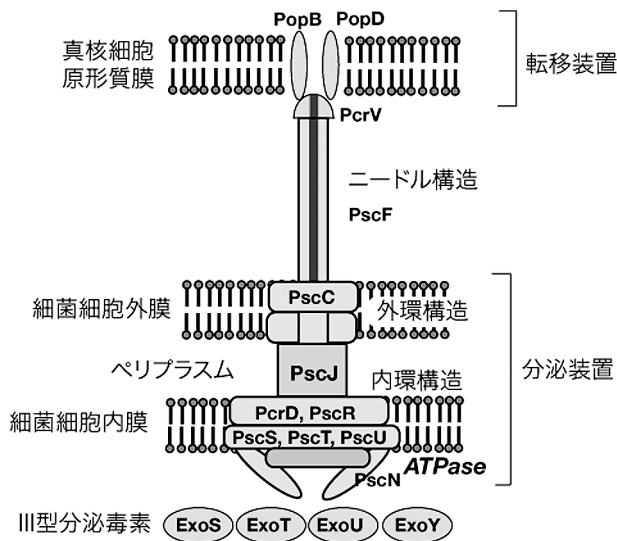


図3 緑膿菌Ⅲ型分泌システムの概要

4つのエフェクタータンパク (Ⅲ型分泌毒素), ExoS, ExoT, ExoU, ExoYは、Pscらで構成される複雑な分泌装置により細菌側の二重膜を越えて分泌され、さらにPscFとPcrVで構成されるニードル状の構造を通じて、標的細胞の細胞膜上にPopB, PopDにより形成されたポアーを通じて、その細胞質内に転移されて、酵素作用を発現することで病原性を発揮する。

1980年代の研究で、V抗原がYop virulonのLcrVタンパクであると同定され、加えて20世紀末期にペスト菌がバイオテロリズムに利用される可能性も高まり、英国や米国においてこのV抗原をワクチン・抗体療法に臨床応用する研究が急速に進められてきた<sup>11)</sup>。一方、著者らは緑膿菌におけるExoenzyme SらとⅢ型分泌システムの研究を進め、ペスト菌LcrVの緑膿菌相同タンパクPcrVに緑膿菌感染に対する予防効果があることを発見するに至った<sup>13)</sup>。

ペスト菌を含むエルシニア菌では、Ⅲ型分泌システムに関わる遺伝子群は、Yop VirulonとしてⅢ型分泌タンパク毒素(YopE, YopH, YopJ, YopK, YopMなど)の遺伝子らとともにプラスミッド遺伝子上に存在している(図2)<sup>11)</sup>。そのなかでⅢ型分泌システムの転移に関わる遺伝子群は*lcrGVHpopBD* オペロンとして、5つのタンパク(LcrG, LcrV, LcrH, YopB, YopD)をエンコードしている。一方、緑膿菌では、染色体ゲノム上にExoenzyme S regulonと名づけられた領域にⅢ型分泌システム遺伝子群存在し、転移に関わる遺伝子群は*pcrGVHpopBD* オペロンとして5つのタンパク(PcrG, PcrV, PcrH, PopB, PopD)をエンコードしている<sup>11)</sup>。エルシニア菌において、LcrGはLcrVと結合性を持ち、LcrHはシャペロンとしてYopB, YopDと結合して分泌制御に関わる。緑膿菌の5つの相同タンパクも同様の役割を担うと考えられる<sup>11)43)</sup>。YopB・YopDやPopB・PopDは、標的真核細胞の原形質膜でのポアーを形成するタンパクと同定されてきたが、V抗原であるLcrV, PcrVに関しては、そのワクチンとしての作用やそれらに対する抗体の効果などから、毒素の転移に重要な役割を担うであろうと考えられてきたが、そのより詳しい機能的な役割については最近まで不明であった。一方、日本の研究者らにより、サルモネラ菌のⅢ型分泌装置の電子顕微鏡写真が報告され、injectisomeと呼ばれるニードル上のタンパク構造体の形体が明らかにされた<sup>2,3)</sup>。それらの結果を受けて、エルシニア菌や赤痢菌、病原性大腸菌などにおいても、同様のⅢ型分泌装置の構造が次々に明らかにされてきた。緑膿菌のⅢ型分泌システム

の分泌装置は、他の細菌における分泌装置との相同性から、PscFタンパクから構成されるニードル状の構造をもつと考えられる(図3)。これまでの研究では、PcrVの役割は、このPscFで構成されるニードルロッドとPopB/PopDで構成されるポアーを接続するような役割を担っていることが想像される。近年、電子顕微鏡で、V抗原はニードル先端部分のキノコ上のキャップ構造を構成するタンパクであることが報告された<sup>4)</sup>。その2次元構造から、鞭毛のFliDタンパクと起源をとにもするものであると考える。抗体がどのようにして、Ⅲ型分泌の転移をブロックするのは現時点では不明である。PscFとPcrVの構造をブロックするのか、PcrVの重合をブロックするのか、それともPopB, PopDにより標的細胞膜上に形成されたポアーとPcrVとの連結をブロックするなどがメカニズムとして想像される。

著者らは、緑膿菌V抗原の緑膿菌感染症に対するワクチン効果、および抗V抗原抗体の開発を行ってきた<sup>13)44-50)</sup>。まず、重症緑膿菌肺炎に対する大腸菌遺伝子組換えPcrVによる能動免疫の効果、さらにウサギ由来抗PcrVポリクローナル抗体による受動免疫効果を報告した<sup>13)44)</sup>。次に、マウス由来抗PcrVモノクローナル抗体にスクリーニングを行い、Ⅲ型分泌システムに対する強力な中和抗体であるmab166を単離した<sup>45)</sup>。これらのウサギ由来抗PcrVポリクローナル抗体も、マウス由来抗PcrVモノクローナル抗体mab166も、Fab部分だけで感染治療効果を持つことを報告し、この抗体がⅢ型分泌システム関連の毒性に対するブロッキング抗体であることを報告した<sup>44)46)</sup>。これらの抗体は、敗血症モデル、熱傷後の感染モデルや慢性感染モデルなどで治療効果を示した<sup>47)48)</sup>。mab166の遺伝子をマウスハイブリドーマ細胞ゲノム遺伝子よりクローニングし、遺伝子組み換えおよび細胞培養技術を用いて開発精製された遺伝子組み換え抗PcrVキメラ抗体は、mab166同様の予防・治療効果を発揮した。さらに、米国ベンチャー企業とともに、大腸菌ファージ・ディスプレイと遺伝子シャッフリングの技術を用いて



開発したヒト化 (humanization) 抗 PcrV 抗体においても, mab166 同様の予防・治療効果が認められた<sup>49)</sup>. このヒト化モノクローナル抗体は, 現在, 臨床応用に向けた研究が進められている.

### V 抗原を取り巻く今後の研究

緑膿菌 V 抗原 PcrV は, 294 個のアミノ酸で形成されるタンパク質で, Ⅲ型分泌に対抗する強いワクチン効果を持つ部分は, 中央部分から C 末端寄りに位置するおよそ 120 個のアミノ酸で構成される領域である<sup>50)</sup>. タンパク 2 次構造的には, 中央 N 末端寄りに認めるコイル領域と C 末端側のコイル領域が存在し, LcrV の結晶解析のデータから, これらの 2 つのコイル領域が, coiled-coil 3 次構造を形成して, 全体としてダンベル状の構造を持つと推測される. プロッ

キング抗体により結合される領域は, ワクチン効果の認められる中央からやや C 末端側のダンベル状構造の中の突起部分に位置する<sup>50)</sup>. これらの領域を含めて, 緑膿菌 PcrV は, 各種緑膿菌株間においてそのアミノ酸配列に変異は少ない<sup>40)</sup>. その後の様々な病原性細菌の遺伝子解析が進んだ結果, V 抗原の相同体はエルシニア菌, 緑膿菌以外に, *Photobacterium luminescens*, エアロモナス属 (*Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila*), ビブリオ属 (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio Harveyi*) などで見つかり, また病原性大腸菌の EspA, 赤痢菌の IpaD, サルモネラ菌の SseB, SipD などが近縁にあたると思われる (表 3).

緑膿菌およびエルシニア菌を含めて, V 抗原の機能上および解剖学上の役割や, 真核細胞の

表 3 病原性グラム陰性菌とⅢ型分泌システムおよび V 抗原とその相同体

菌種名	Ⅲ型分泌システム	V 抗原 もしくは相同体
ペスト菌 ( <i>Yersinia pestis</i> )		
仮性結核菌 ( <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> )	Yop	LcrV
腸炎エルシニア菌 ( <i>Yersinia enterocolitica</i> )		
緑膿菌 ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> )	Pop/Exo	PcrV
フォトラバダス菌 ( <i>Photobacterium luminescens</i> )	Lop	LssV
エアロモナスヒドロフィラ菌 ( <i>Aeromonas hydrophila</i> )	Aop	AcrV
せつそう病原菌 ( <i>Aeromonas salmonicida</i> )		
腸炎ビブリオ菌 ( <i>Vibrio parahaemolyticus</i> )	Vop	VerV
ビブリオ・ハーベイ菌 ( <i>Vibrio harveyi</i> )		
病原性大腸菌 ( <i>E. coli</i> O157:H7)	Esp/Tir	EspA
サルモネラ菌 ( <i>Salmonella typhimurium</i> )	Sop, Sip	SipD, SseB
赤痢菌 ( <i>Shigella flexneri</i> )	Ipa	IpaD

原形質膜状でポアーを形成するタンパク群（エルシニア菌 YopB, YopD と緑膿菌 PopB, PopD）との関連などについてはいまだ解明されていない部分も多く、さらなる研究が必要である。今後、臨床的にはⅢ型分泌システムに関連した病原性が、実際にどのように緑膿菌感染症の病状

や経過に関わっているのかを研究を深める必要性がある。またエルシニア菌、緑膿菌におけるV抗原の知見が、同じくⅢ型分泌にその病原性を依存する病原性大腸菌や赤痢菌、サルモネラ菌などによる感染症などに対して応用可能であるのかなど、今後の研究成果が期待される。

## 文 献

- 1) 佐和貞治. 緑膿菌性肺炎・敗血症とⅢ型分泌システム. 日集中医会誌 2001; 8: 305-310.
- 2) 森山 潔, 佐和貞治. グラム陰性菌の毒素について—緑膿菌Ⅲ型分泌毒素を中心に— 臨麻 2005; 29: 1279-1286.
- 3) 佐和貞治, 森山 潔. 特集 細菌感染症への新たな治療戦略. 緑膿菌Ⅲ型分泌毒素に対する治療戦略. 化療の領域 2007; 23: 1265-1272.
- 4) 佐和貞治. 緑膿菌ワクチンおよび抗緑膿菌抗体の開発. 緑膿菌感染症研究会講演記録 2007; 41: 27-33.
- 5) 佐和貞治. 慢性気道感染症—緑膿菌性肺炎における臨床分離株の比較検討—. 化療の領域 2008; 24: 373-379.
- 6) Sawa T, Gropper MA, Wiener-Kronish JP. Injury and inflammation. In: Miller RD, editor. Atlas of anesthesia. Volume II. Philadelphia: Current Medicine, 1998; 10.1-10.16.
- 7) Wiener-Kronish JP, Sawa T, Kurahashi K, Ohara M, Gropper MA. Pulmonary edema associated with bacterial pneumonia. In: Matthay MA, Ingbar DH, editors. Pulmonary edema. New York: Marcel Dekker, Inc, 1998; 247-267.
- 8) Wiener-Kronish JP, Frank DW, Sawa T. Mechanisms of lung epithelial cell injury by acute by *Pseudomonas aeruginosa*. In: Clark RSB, Carcillo JA, editors. Molecular biology of acute lung injury. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2001; 149-161.
- 9) Shimabukuro DW, Sawa T, Gropper MA. Injury and repair in lung and airways. Crit Care Med 2003; 31: S524-S531.
- 10) Rumbaugh KP, Sawa T, Wiener-Kronish JP. New perspectives on prevention and management of *Pseudomonas aeruginosa* infections. In: Hauser AR, Rello J, editors. In: Severe infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2003; 183-199.
- 11) Sawa T, Wiener-Kronish JP. A therapeutic strategy against the shared virulence mechanism utilized by both *Yersinia pestis* and *Pseudomonas aeruginosa*. Anesthesiol Clin North America 2004; 22: 591-606.
- 12) Kipnis E, Sawa T, Wiener-Kronish JP. Targeting mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. Med Mal Infect 2006; 36: 78-91.
- 13) Sawa T, Yahr TL, Ohara M, Kurahashi K, Gropper MA, Wiener-Kronish JP, Frank DW. Active and passive immunization with the *Pseudomonas* V antigen protects against type III intoxication and lung injury. Nature Med 1999; 5: 392-398.
- 14) McElroy MC, Wiener-Kronish JP, Miyazaki H, Sawa T, Modelska K, Dobbs LG, & Pittet JF: Nitric oxide attenuates lung endothelial injury caused by sublethal hyperoxia in rats. Am J Physiol 1997; 272: L631-L638.
- 15) Ohara M, Sawa T, Kurahashi K, Wiener-Kronish JP, Doshi V, Kudoh I, Gropper MA. Induction of cyclooxygenase-2 (COX-2) in alveolar macrophages after acid aspiration —selective COX-2 blockade reduces interleukin-6 production.— Anesthesiol 1998; 88: 1014-1022.
- 16) Vanderbilt JN, Mager EM, Allen L, Sawa T, Wiener-Kronish J, Gonzalez R, Dobbs LG. CXC chemokines and their receptors are expressed in type II cells and upregulated following lung injury. Am J Respir Cell Mol Biol 2003; 29: 661-668.
- 17) Kipnis E, Hansen K, Sawa T, Moriyama K, Zurawel A, Ishizaka A, Wiener-Kronish JP. Proteomic analysis of undiluted lung epithelial lining fluid. Chest 2008; 134: 338-345.
- 18) Sawa T, Corry D, Gropper M, Ohara M, Wiener-Kronish J. IL-10 improves lung injury and survival in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. J Immunol 1997; 159: 2858-2866.
- 19) Kooguchi K, Hashimoto S, Kobayashi A, Kitamura Y, Kudoh I, Wiener-Kronish JP, Sawa T. Role of alveolar macrophages in initiation and regulation of inflamma-

- tion in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. Infect Immun 1998; 66: 3164-3169.
- 20) Miyazaki H, Broaddus VC, Wiener-Kronish JP, Sawa T, Pittet J-F, Kravchenko V, Mathison JC, Nishizawa H, Hattori S, Yamakawa T, Yamada H, Kudoh I. The effects of two antiinflammatory pretreatments on bacterial-induced lung injury. Anesthesiol 1999; 90: 1950-1662.
  - 21) Sawa T, Kurahashi K, Ohara M, Gropper MA, Doshi V, Larrick JW, Wiener-Kronish JP. Evaluation of antimicrobial and lipopolysaccharide-neutralizing effects of a synthetic CAP18 fragment against *Pseudomonas aeruginosa* in a mouse model. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 3269-3275.
  - 22) Ernst EJ, Hashimoto S, Guglielmo J, Sawa T, Pittet JF, Kropp H, Jackson JJ, Wiener-Kronish JP. Effects of antibiotic therapy on *Pseudomonas aeruginosa*-induced lung injury in a rat model. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 2389-2394.
  - 23) Fujimoto J, Wiener-Kronish JP, Hashimoto S, Sawa T. Effects of Cl2MDP-encapsulating liposomes in a murine model of *Pseudomonas aeruginosa*-induced sepsis. J Liposome Res 2002; 12: 239-257.
  - 24) Swanson B, Savel R, Szoka F, Sawa T, Wiener-Kronish J. Development of a high throughput *Pseudomonas aeruginosa* epithelial cell adhesion assay. J Microbiol Methods 2003; 52: 361-366.
  - 25) Faure K, Sawa T, Ajayi T, Fujimoto J, Moriyama K, Shime N, Wiener-Kronish JP. TLR4 signaling is essential for survival in acute lung injury induced by virulent *Pseudomonas aeruginosa* secreting type III secretory toxins. Respir Res 2004; 5: 1(1-10).
  - 26) Giannoni E, Sawa T, Allen L, Wiener-Kronish JP, Hawgood S. Surfactant proteins A and D enhance pulmonary clearance of *Pseudomonas aeruginosa*. Am J Respir Cell Mol Biol 2006; 34: 704-710.
  - 27) Kurahashi K, Sawa T, Ota M, Kajikawa O, Hong K, Martin TR, Wiener-Kronish JP. Depletion of phagocytes in the reticuloendothelial system causes increased inflammation and mortality in rabbits with *P. aeruginosa* pneumonia. Am J Physiol (Lung Cell Mol Physiol) 2008; 296: L198-209.
  - 28) Sawa T, Miyazaki H, Pittet JF, Widdicombe JH, Gropper MA, Hashimoto S, Conrad DJ, Folkesson HG, Debs R, Forsayeth JR, Fox B, Wiener-Kronish JP. Intraluminal water increases expression of plasmid DNA in rat lung. Human Gene Ther 1996; 7: 933-941.
  - 29) Gorman CM, Nguyen H, Lapuz C, Fox E, Michaud B, Aikawa M, Roche E, Fox B, Sawa T, Wiener-Kronish JP. Efficient in vitro and in vivo delivery of DNA to pulmonary cells using the novel lipid EDMPC. Gene Ther 1997; 4: 983-992.
  - 30) Goncz KK, Colosimo A, Dallapiccola B, Gagne L, Hong K, Novelli G, Papahadjopoulos D, Sawa T, Schreier H, Wiener-Kronish J, Xu Z, Gruenert DC. Expression of DF508 CFTR in normal mouse lung after site-specific modification of CFTR sequences by SFHR. Gene Ther 2001; 8: 961-965.
  - 31) Deshpande D, Blanchard J, Srinivasan S, Fairbanks D, Fujimoto J, Sawa T, Wiener-Kronish J, Schreier H, Gonda I. Aerosolization of lipoplexes using AERx pulmonary delivery system. AAPS PharmSci 2002; 4: E13.
  - 32) Fleiszig SMJ, Wiener-Kronish JP, Miyazaki H, Vallas V, Mostov KE, Kanada D, Sawa T, Benedict Y, Frank DW. *Pseudomonas aeruginosa*-mediated cytotoxicity and invasion correlate with distinct genotypes at the loci encoding exoenzyme S. Infect Immun 1997; 65: 579-586.
  - 33) Sawa T, Ohara M, Kurahashi K, Twining S, Frank DW, Droques DB, Long T, Gropper MA, Wiener-Kronish JP. In vitro cellular cytotoxicity predicts *Pseudomonas aeruginosa* virulence in lung infections. Infect Immun 1998; 66: 3242-3249.
  - 34) Finck-Barbancon V, Goranson J, Zhu L, Sawa T, Wiener-Kronish JP, Fleiszig SMJ, Wu C, Mende-Mueller L, Frank DW. ExoU expression by *Pseudomonas aeruginosa* correlates with acute cytotoxicity and epithelial injury. Mol Microbiol 1997; 25: 547-557.
  - 35) Kurahashi K, Kajikawa O, Sawa T, Ohara M, Gropper MA, Frank DW, Martin TR, Wiener-Kronish JP. Pathogenesis of septic shock in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. J Clin Invest 1999; 104: 743-750.
  - 36) Sato H, Frank DW, Cecilia J, Hillard, Pankhaniya R, Moriyama K, Finck-Barbancon V, Buchaklian A, Lei M, Long RM, Wiener-Kronish JP, Sawa T. The mechanism of action of the *Pseudomonas aeruginosa*-encoded type III cytotoxin ExoU. EMBO J 2003; 22: 2959-2969.
  - 37) Tamura M, Ajayi T, Allmond LR, Moriyama K, Wiener-Kronish JP, Sawa T. Lysophospholipase A activity of *Pseudomonas aeruginosa* type III secretory toxin ExoU. Biochem Biophys Res Commun 2004;

- 316: 323-31.
- 38) Pankhaniya RR, Tamura M, Allmond LR, Moriyama K, Ajayi T, Wiener-Kronish JP, Sawa T. *Pseudomonas aeruginosa* causes acute lung injury via the catalytic activity of the patatin-like phospholipase domain of ExoU. *Crit Care Med* 2004; 32: 2293-2299.
- 39) Roy-Burman A, Savel RH, Racine S, Swanson BL, Revadigar NS, Fujimoto J, Sawa T, Frank DW, Wiener-Kronish JP. Type III protein secretion is associated with death in lower respiratory and systemic *Pseudomonas aeruginosa* infection. *J Infect Dis* 2001; 183: 1767-1764.
- 40) Ajayi T, Allmond LR, Sawa T, Wiener-Kronish JP. Single nucleotide polymorphism mapping of the *P. aeruginosa* type III secretion toxins for the development of a diagnostic multiplex PCR system. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3526-3531.
- 41) Faure K, Shimabukuro DW, Ajayi T, Allmond LR, Sawa T, Wiener-Kronish JP. O-Antigen serotypes and type III secretory toxins in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 2158-2160.
- 42) Allmond LR, Ajayi T, Moriyama K, Wiener-Kronish JP, Sawa T. V-antigen genotype and phenotype analyses of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3857-3860.
- 43) Allmond LR, Karaca TJ, Nguyen VN, Nguyen T, Wiener-Kronish JP, Sawa T. Protein binding between PcrG-PcrV and PcrH-PopB/PopD encoded by the pcrGVH-popBD Operon of the *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion system. *Infect Immun* 2003; 71: 2230-2233.
- 44) Shime N, Sawa T, Fujimoto J, Faure K, Allmond LR, Karaca T, Swanson BL, Spack EG, Wiener-Kronish JP. Therapeutic administration of anti-PcrV F(ab')<sub>2</sub> in sepsis associated with *Pseudomonas aeruginosa*. *J Immunol* 2001; 167: 5880-5886.
- 45) Frank DW, Vallis A, Wiener-Kronish JP, Roy-Burman A, Spack EG, Mullaney BP, Megdoud M, Marks JD, Fritz R, Sawa T. Generation and characterization of a protective monoclonal antibody to *Pseudomonas aeruginosa* PcrV. *J Infect Dis* 2002; 186: 64-73.
- 46) Faure K, Fujimoto J, Shimabukuro DW, Ajayi T, Shime N, Moriyama K, Spack EG, Wiener-Kronish JP, Sawa T. Effects of monoclonal anti-PcrV antibody on *Pseudomonas aeruginosa*-induced acute lung injury in a rat model. *J Immune Based Ther Vaccines* 2003; 1: 2(1-9).
- 47) Neely AN, Holder IA, Wiener-Kronish JP, Sawa T. Passive anti-PcrV treatment protects burned mice against *Pseudomonas aeruginosa* challenge. *Burns* 2005; 31: 153-158.
- 48) Imamura Y, Yanagihara K, Fukuda Y, Kaneko Y, Seki M, Izumikawa K, Miyazaki Y, Hirakata Y, Sawa T, Wiener-Kronish JP, Kohno S. Effect of anti-PcrV antibody in a murine chronic airway *Pseudomonas aeruginosa* infection model. *Eur Respir J* 2007; 29: 965-968.
- 49) Bear M, Sawa T, Flynn P, Luehrsen K, Martinez D, Wiener-Kronish JP, Yarranton G, Bebbington C. An engineered human antibody Fab fragment specific for *Pseudomonas aeruginosa* PcrV antigen has potent antibacterial activity. *Infect Immun* 2008; 77: 1083-1090.
- 50) Moriyama K, Wiener-Kronish JP, Sawa T. Protective effects of affinity-purified antibody and truncated vaccines against *Pseudomonas aeruginosa* V-antigen in neutropenic mice. *Microbiol Immunol* 2009; 53: 587-594.
- 51) Lynch SV, Flanagan JL, Sawa T, Fang A, Baek MS, Rubio-Mills A, Ajayi T, Yanagihara K, Hirakata Y, Kohno S, Missel B, Nguyen JC, Wiener-Kronish JP. Polymorphisms in the *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion protein, PcrV - implications for anti-PcrV immunotherapy. *Microb Pathog* 2010; 48: 197-204.

## 著者プロフィール



佐和 貞治 Teiji Sawa

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科麻醉科学・教授

略 歴：1985年3月 京都府立医科大学医学部医学科卒業

1985年4月 京都府立医科大学附属病院麻醉科研修医

1988年7月 京都府立医科大学麻醉学教室助手

1994年7月 カリフォルニア大学サンフランシスコ校心臓血管研究所研究員

1999年6月 カリフォルニア大学サンフランシスコ校麻醉周術期科助教授

2002年7月 カリフォルニア大学サンフランシスコ校麻醉周術期科準教授

2005年4月 京都第一赤十字病院麻醉科副部長(カリフォルニア大学サンフランシスコ校麻醉周術期科準教授兼務)

2006年1月 京都第一赤十字病院麻醉科部長

2010年7月～現職

専門分野：麻醉学，集中治療医学

主な業績：1. Sawa T, et al. *Nature Med* 1999; 5: 392-398.2. Baer M, et al. *Infect Immun* 2008; 77: 1083-1090.3. Moriyama K, et al. *Microbiol Immunol* 2009; 53: 587-594.