

細菌における多様な鉄獲得機構について

松山大学薬学部衛生化学研究室 舟橋 達也

【はじめに】

当研究室では細菌における多様な鉄獲得機構を解明すべく、主に分子生物学的な手法を用いて解析を行っている。研究対象は主に日和見感染菌であるアシネトバクター属細菌や食中毒起因菌であるエロモナス属細菌である。なぜ鉄についての研究？と思われる方も多いと思われるので、この場をお借りして細菌の鉄獲得機構の概要とアシネトバクター属細菌の鉄獲得機構について解説したい。

鉄はほぼ全ての生物にとって必須の元素であり、生体内で電子伝達系や核酸合成などに関与する酵素、あるいはヘモグロビンの構成成分として酸素運搬に関与している。鉄の安定な化学形態には二価鉄 (Fe^{2+}) と三価鉄 (Fe^{3+}) があるが、好気的環境下である自然環境下では二価鉄は三価鉄へと酸化され、さらに水と速やかに反応して水酸化第二鉄 [$\text{Fe}(\text{OH})_3$] を形成する。水酸化第二鉄の溶解度は pH7.0 では約 10^{-18} mol/L であり、弱塩基性では、その溶解度はさらに低下することから、自然環境下における鉄の生物学的利用能は極めて低い。そのため、鉄は地球上（地殻内）で4番目に豊富な元素であるにもかかわらず、自然環境下において生物は鉄欠乏ストレスにさらされている。

一方で、過剰の鉄は生体内で Haber-Weiss/Fenton 反応を誘発し、極めて反応性の高い活性酸素種であるヒドロキシルラジカルを産生し、DNA や生体膜などに対して障害を与える。そのため、生物は鉄を積極的に吸収する機構と同時に体内の鉄濃度やその化学形態を調節する機構も有しており、哺乳類における血清中の遊離鉄濃度は 10^{-26} mol/L という極めて低いレベルに保持され、かつ厳密にコントロールされている。

したがって、ヒトに感染した細菌や真菌などの病原体は常に鉄欠乏状態にさらされることになる。これらの病原体は、宿主体内での鉄欠乏条件下で生存、増殖するために鉄キレート分子であるシデロフォア (siderophore) を介する系を含む多様な鉄獲得機構を発達させており、ヒトもまたシデロフォアを捕捉する分子リポカリン2によりシデロフォア産生に対抗するなどの手段を発達させている。そのため、多くの病原体において鉄獲得機構は病原因子の1つと考えられている。

シデロフォアは微生物が産生する三価鉄キレート分子（分子量 500 ~ 1500）の総称であり、これまでに様々な細菌や真菌から 500 種類以上が単離されている。シデロフォアは三価鉄をキレート化する際に用いられる官能基により、大きくカテコール型、ヒドロキサム酸型、ヒドロキシ酸型の3種に分類されている。シデロフォアの三価鉄に対する結合定数は $10^{21} \sim 10^{52} (\text{mol/L})^{-1}$ の範囲であり、この結合定数はトランスフェリン、ラクトフェリン、フェリチンのような生体内鉄結合タンパク質の結合定数と同等もしくはそれ以上であるため、これら鉄結合性タンパク質から三価鉄を奪取することができる。

グラム陰性細菌は三価鉄とシデロフォアの複合体 (ferric siderophore: 鉄シデロフォア) を菌体内に取り込むために、特異的な鉄制御外膜受容体を発現させ、それを介して鉄シデロフォアを外膜通過させる。鉄シデロフォアが受容体を通過するためにはエネルギーが必要であるが、外膜上では ATP や GTP のようなエネルギー源が利用できない。そのためグラム陰性細菌は、細胞膜のプロトン駆動力により鉄シデロフォアの外膜通過に必要なエネルギーを得ている。このエネルギーを供給する装置は TonB, ExbB, ExbD で構成されており、TonB システムと呼ばれている。外膜を通過し、ペリプラズムに輸送された鉄シデロフォアは、ATP binding cassette (ABC) 輸送体により細胞質膜を通過する。

また、シデロフォアを介する鉄獲得機構以外にヘム鉄を介する系も存在しており、多くの病原細菌はヘムやヘモグロビンをシデロフォアと類似した機構で鉄源として利用することができる。

【アシネトバクテリヤ属細菌の鉄獲得機構】

アシネトバクテリヤ (*Acinetobacter*) は、土壌等の自然環境中に常在するグラム陰性の偏性好気性細菌である。また、健康なヒトの皮膚でも検出されることがあり、日和見感染症の原因菌とされている。近年、多剤耐性アシネトバクテリヤが院内感染の原因菌として報告されるなどその感染動向が注目されている。アシネトバクテリヤ属細菌の中でも、アシネトバクテリヤ・バウマニ (*Acinetobacter baumannii*) による感染例が、アシネトバクテリヤ感染症報告例の約8割を占めるとされている。他に、アシネトバクテリヤ・ルオフィイ (*Acinetobacter lwoffii*) やアシネトバクテリヤ・ヘモリテリカス (*Acinetobacter haemolyticus*) などが分離されている。

アシネトバクテリヤ・バウマニの基準株である ATCC19606 は鉄欠乏ストレスに応答してカテコール型シデロフォア、アシネトバクチン (*Acinetobactin*) を産生する。アシネトバクチンは三価鉄をキレート化し、鉄欠乏条件下にのみ発現する特異的な外膜受容体 BauA を介して菌体内へ輸送される。アシネトバクチンはヒスチジンとコリスミ酸から合成される経路が明らかにされ、それら生合成遺伝子の転写は鉄濃度により制御されている。鉄獲得に関連する遺伝子はリプレッサータンパク質である Fur (ferric uptake regulator) によって制御されている。鉄豊富下において、Fur は二価鉄と結合し、Fur-Fe²⁺ 複合体 (holo-Fur) の二量体として標的遺伝子のプロモーター領域に存在する Fur box と呼ばれる特徴的な塩基配列に結合することで、当該遺伝子の転写を抑制する。一方、鉄欠乏条件では二価鉄と結合しない Fur (apo-Fur) となり、Fur box に対する親和性が低下するために、当該遺伝子の転写抑制は解除される。また、本菌は他菌種が産生するシデロフォア (外因性シデロフォア) を鉄源として利用する系も有している¹⁾。放線菌が産生するシデロフォアとしてフェリクロムやフェリオキサミン B (デフェロキサミンメシル酸塩として鉄排泄を目的に臨床で使用されている) が知られているが、本菌では外因性シデロフォアとしてそれらの鉄シデロフォアは外膜受容体 PhuE を介して菌体内に輸送される。外因性シデロフォアの利用は、様々な環境や宿主内での他菌種との生存競争において有利に働くと考えられる。アシネトバクテリヤ・バウマニでは他の菌株においてアシネトバクチン以外のシデロフォアの産生も報告されており、多様な鉄獲得機構が存在している。

アシネトバクテリヤ・ヘモリテリカスの基準株である ATCC17906 は鉄欠乏ストレスに応答してアシネトバクチンだけでなく、ヒドロキサム酸型シデロフォア、アシネトフェリン (*Acinetoferrin*) を産生する²⁾。アシネトフェリン生合成遺伝子を同定し、各遺伝子変異株の解析により 1,3-ジアミノプロパンから生合成される経路が明らかとなった。三価鉄とキレート化したアシネトフェリンは特異的な外膜受容体である ActA を介して菌体内に輸送され鉄源として利用される。

【おわりに】

シデロフォアには鉄排泄剤としてデフェロキサミンメシル酸塩 (デスフェール) として臨床で使用されているものも存在するが、近年、国内外において“トロイの木馬型”感染症治療薬の開発が進められている。ギリシャ神話のトロイの木馬はトロイア戦争において、ギリシャ兵が中に隠れている木馬を、それと知らずにトロイア人が城内に運び込み、敵が退却したと油断したトロイア人が木馬の中に隠れていたギリシャ兵に滅ぼされるという話である。シデロフォアを放出し、外膜受容体を介して鉄を取り込むという輸送経路を利用して、シデロフォアと結合させた抗菌剤を菌体内に取り込ませることで薬効を示すという戦略では、シデロフォアがトロイの木馬、抗菌剤がギリシャ兵ということになる。

2014年には塩野義製薬から注射用シデロフォアセファロスポリン系抗菌剤 S-649266 が多剤耐性菌に対して高い有効性を示したことが報告され、2015年には第3相臨床試験に入るとの予定も発表された。カルバペネム系を含む複数の抗菌剤に対して耐性を示すβ-ラクタマーゼ産生グラム陰性菌、特にカルバペネム分解酵素 (カルバペネマーゼ) 産生肺炎桿菌に対して高い抗菌活性が報告されている。今後ますます鉄獲得機構をターゲットにした新薬の開発が促進されることを期待している。

【引用文献】

- 1) Funahashi T., Tanabe T., Mihara K., Miyamoto K., Tsujibo H., Yamamoto S. Identification and characterization of an outer membrane receptor gene in *Acinetobacter baumannii* required for utilization of desferricoprogen, rhodotorulic acid, and desferrioxamine B as xenosiderophores. *Biol. Pharm. Bull.* (2012) 35, 753-760.
- 2) Funahashi T., Tanabe T., Maki J., Miyamoto K., Tsujibo H., Yamamoto S. Identification and characterization of a cluster of genes involved in biosynthesis and transport of acinetoferrin, a siderophore produced by *Acinetobacter haemolyticus* ATCC17906^T. *Microbiology* (2013) 159, 678-690.

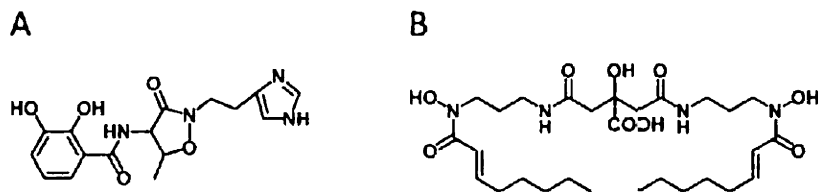


図. Acinetobactin(A) と acinetoferrin(B) の化学構造