

2021年1月12日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学  
大阪市立大学  
国立研究開発法人科学技術振興機構

## 微生物が多様な膜小胞を作る仕組みを解明

微生物は、細胞膜と同じ成分からなる多様な小胞(膜小胞)を細胞外に放出することが知られており、近年、それらの膜小胞が、医療やバイオテクノロジーをはじめとする様々な分野に応用できる可能性を秘めていることが明らかになっています。しかし、膜小胞の多様性が生じる仕組みについては、いまだに多くの謎が残されています。特に、病原性の高い結核菌などが含まれる「ミコール酸含有細菌」と呼ばれる菌群が作る膜小胞は、病原性に関わる重要な機能を持つことが報告されていますが、それらの膜小胞ができる仕組みは未解明のままです。

本研究では、ミコール酸含有細菌が、自らの置かれた状況に応じて、様々な組成の膜小胞を作り分ける仕組みを明らかにしました。ミコール酸含有細菌の中でも無毒株として知られるコリネ菌に、いくつかの異なるストレスを与えたところ、①DNAの複製が阻害された時、②細胞壁の合成が阻害された時、③細胞膜の合成に必須なビオチン(ビタミンの一種)が少なくなった時、の三つの場合に膜小胞が放出されることが明らかになりました。それぞれの場合で、作られる膜小胞の構造や化学的な組成は異なっており、かつ微生物由来の膜小胞としては非常にユニークな特徴(入れ子構造や鎖状構造)を有していました。また、同様の仕組みは、コリネ菌以外のミコール酸含有細菌にも保存されていることが分かりました。

このような、微生物が膜小胞を作り分ける仕組みに関する知見は、膜小胞由来の安全なワクチン開発などにも役立つことが期待されます。

### 研究代表者

筑波大学 生命環境系

豊福 雅典 准教授

野村 暢彦 教授

大阪市立大学 理学研究科

宮田 真人 教授

## 研究の背景

生物膜に由来する小胞(膜小胞)は、生体内で重要な役割を果たすことが知られています。例えば、ヒトなどの動物の神経細胞が形成する膜小胞は、神経伝達を担う重要な物質です。単細胞の微生物も、同様に、膜小胞を形成・放出することが明らかにされており、これらの膜小胞には、外部環境からの栄養獲得や細胞間のコミュニケーションの仲介といった、様々な機能があることも分かってきました。さらに、微生物が作る膜小胞の機能を、医療やバイオテクノロジーに応用するための研究も盛んに行われています。中でも、病原性の微生物が放出する膜小胞は、ヒトなどの宿主の免疫系を効果的に活性化する機能を持ちながらも、細胞のように増殖することがなく、新たなワクチン基盤としての有用性が注目されています。

一方、一つの微生物は、様々な機能や組成の膜小胞を作ります。その多様性を生む仕組みが分かれば、目的に応じた膜小胞を微生物に作らせることができるようになり、さらなる応用研究が期待できますが、これについてはいまだ多くの謎が残されています。本研究グループでは、これまでに、グラム陽性菌とグラム陰性菌という二つの主な微生物群で、細胞死を伴って膜小胞が放出される仕組みを発見しています。しかし、病原性の高い結核菌などを含む「ミコール酸含有細菌<sup>注1)</sup>」という菌群については、他の微生物と比べて細胞表層の構造が複雑であることから(図1)、どのように膜小胞が形成・放出されるのか、よく分かっていませんでした。

## 研究内容と成果

そこで本研究グループは、最先端の観察技術を用いて、ミコール酸含有細菌の中でも無毒株として知られる *Corynebacterium glutamicum* (コリネ菌) が、膜小胞を形成・放出する様子を詳細に観察することに成功しました。その結果、コリネ菌は、① DNA の複製が阻害された時に、細胞が死んでいく過程で膜小胞を放出する、② 細胞壁の合成が阻害された時に、増殖しなくなった(明らかな生死の区別がつかない)細胞の特定の部位から膜小胞を放出する、③ ビタミン B<sub>7</sub>としても知られるビオチン<sup>注2)</sup> が少なくなった時に、増殖可能な生きている細胞から膜小胞を放出する、という三つの経路があることを発見しました(図2)。また、細胞の微細構造を高分解能で観察したところ、それぞれの経路で放出された膜小胞は、ユニークな構造(入れ子構造、鎖状構造)を持っていました(図3)。さらに、ミコール酸含有細菌の細胞を構成する二種類の膜(図1)のうち、どちらから膜小胞が生じるかを明らかにするため、膜小胞の構成成分を詳細に解析し、②と③の経路では細胞の外側の膜から膜小胞が形成されている一方で、①の経路では主に内側の膜から形成されていることを見いだしました。また、結核菌の近縁種である *Mycobacterium smegmatis* を含む他のミコール酸含有細菌においても、上記の三つの放出経路が保存されていることが分かりました。ミコール酸含有細菌が膜小胞を放出する現象自体は、以前から知られていましたが、本研究は、その形成メカニズムと多様さを明らかにした初めての例です。

## 今後の展開

過去、コリネ菌と同じミコール酸含有細菌に属する結核菌が、膜小胞を放出し、それがヒト免疫を誘導することが発見され、新たなワクチン基盤として注目を集めてきました。しかし、これまでは、その膜小胞が作られる仕組みが分かっておらず、膜小胞の「質」をコントロールすることが困難でした。本研究成果を応用することで、結核菌のような病原菌の膜小胞の組成を変えることが可能になり、より安全・効果的なワクチン基盤を構築できると期待されます。

参考図

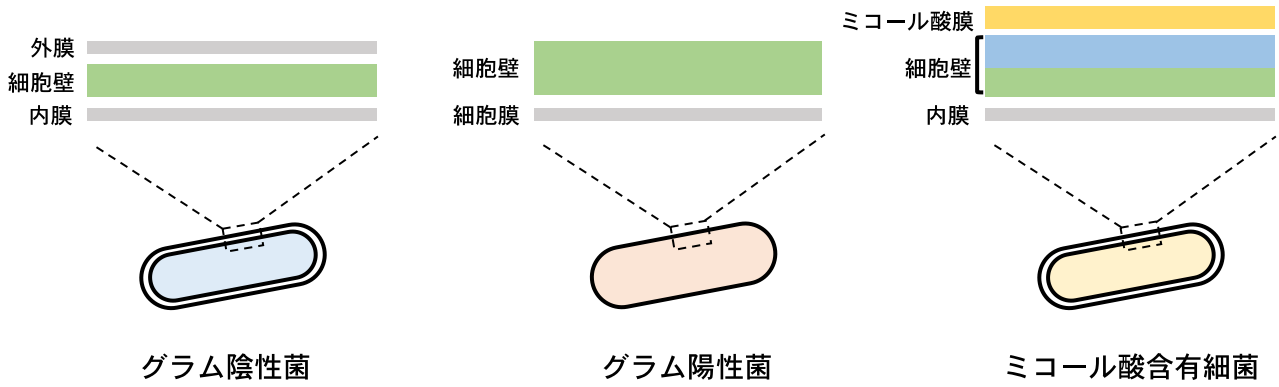


図1 代表的な微生物の細胞表層の構造

大腸菌などのグラム陰性菌の細胞には、内膜と外膜があり、その間に薄い細胞壁を有している。枯草菌などのグラム陽性菌は、細胞膜の外側に厚い細胞壁を有している。ミコール酸含有細菌は、グラム陽性菌と同様に厚い細胞壁を有し、さらにその外側にミコール酸を主成分とする外膜構造がある。

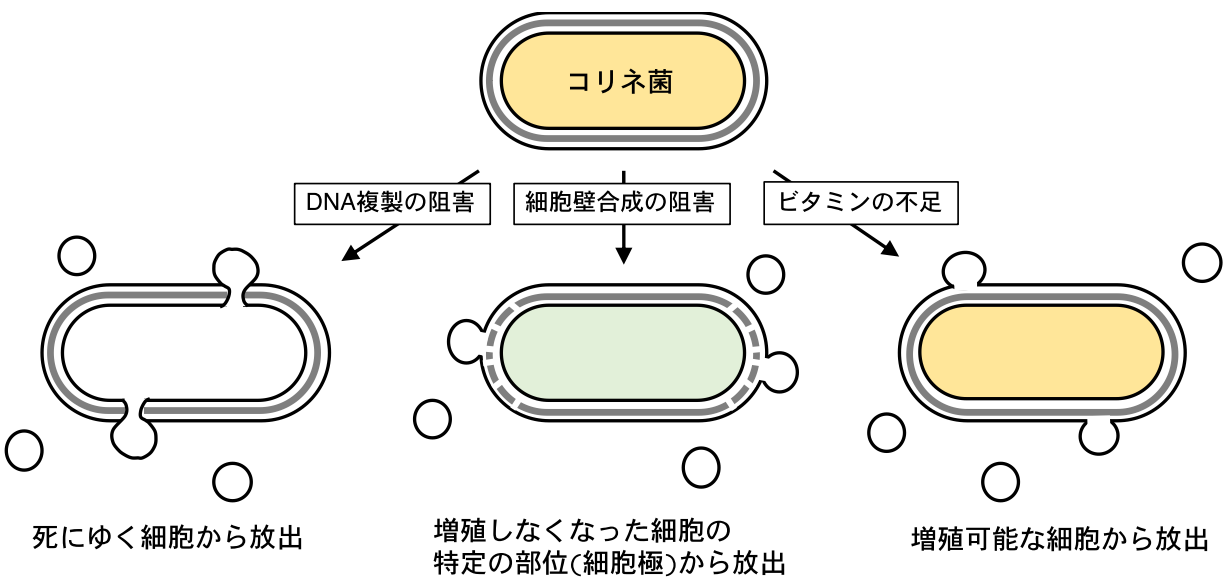


図2 コリネ菌が有する三つの膜小胞放出経路

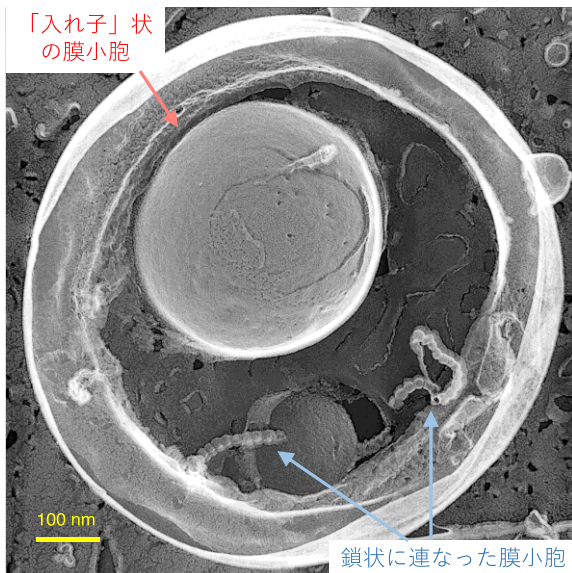


図3 コリネ菌が作る膜小胞のユニークな構造

多くの細菌の膜小胞は一層の膜によって形成されるが、コリネ菌の場合は、膜小胞の内側に、さらに小さな膜小胞と鎖状に連なった膜小胞を有する、複雑な膜構造が観察された。この膜小胞構造は、急速凍結レプリカ電子顕微鏡法という特殊な電子顕微鏡技術を用いることにより、初めて明らかになった。

#### 用語解説

注1) ミコール酸含有細菌

他の微生物には見られない「ミコール酸」という特徴的な脂肪酸を合成する微生物群。細胞の表層に、主にミコール酸から構成される脂質膜(ミコール酸膜)を有する。よく知られている種としては、結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*)や、ジフテリア菌(*Corynebacterium diphtheriae*)などが挙げられる。

注2) ビオチン

ヒトを含む多くの生物にとって重要なビタミンの一種。コリネ菌が脂肪酸を合成する過程において必須の物質だが、コリネ菌自身はビオチンを合成することができないため、細胞の外から取り込む必要がある。

#### 研究資金

本研究は、科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 ERATO 野村集団微生物制御プロジェクトおよび科学研究費助成事業の一環として実施されました。

#### 掲載論文

【題名】 Mycolic acid-containing bacteria trigger distinct types of membrane vesicles through different routes.

(ミコール酸含有細菌は異なる経路で性質の異なる膜小胞を形成する)

【著者名】 Toshiki Nagakubo, Yuhei O Tahara, Makoto Miyata, Nobuhiko Nomura, Masanori Toyofuku

【掲載誌】 iScience

【掲載日】 2021年1月14日

【DOI】 10.1016/j.isci.2020.102015

## 問い合わせ先

### 【研究に関すること】

豊福 雅典（とよふく まさのり）

筑波大学生命環境系／微生物サステイナビリティ研究センター 准教授

TEL: 029-853-5079

Email: [toyofuku.masanori.gf@u.tsukuba.ac.jp](mailto:toyofuku.masanori.gf@u.tsukuba.ac.jp)

URL: <http://www.envr.tsukuba.ac.jp/~microbio/>

### 【取材・報道に関すること】

筑波大学広報室

TEL: 029-853-2040

E-mail: [kohositu@un.tsukuba.ac.jp](mailto:kohositu@un.tsukuba.ac.jp)

大阪市立大学 広報課

TEL: 06-6605-3411

E-mail: [t-koho@ado.osaka-cu.ac.jp](mailto:t-koho@ado.osaka-cu.ac.jp)

科学技術振興機構 広報課

TEL: 03-5214-8404

E-mail: [jstkoho@jst.go.jp](mailto:jstkoho@jst.go.jp)

### 【JST事業に関すること】

科学技術振興機構 研究プロジェクト推進部

内田 信裕（うちだ のぶひろ）

TEL: 03-3152-3528

E-mail: [eratowww@jst.go.jp](mailto:eratowww@jst.go.jp)