

発疹チフスの起因菌 *Rickettsia prowazekii* の全塩基配列決定 病原体および共生体としての意義

小川基彦・平井克哉

はじめに 発疹チフス (epidemic typhus) は、戦争、ヒトの移動、社会的動乱などに伴う貧困・栄養失調や衛生状態の悪化などの要因により流行した、とくに“戦争病”ともよばれ、ナポレオン軍がロシア軍に敗戦した際や第一次および第二次世界大戦の際に多数の感染者や死亡者を出した話などは有名である。わが国では、第二次世界大戦後、帰還兵が保菌媒介昆虫のコロモジラミ (*Pedidulus humanus corporis*) をもち帰り大流行がみられたが、1957 年以降は発生していない。世界各国でも生活レベルの向上から発生がほとんどなくなったが、アフリカや南アメリカなどの一部の地域には現在でも発生し、アフリカのブルンジでは 1998 年の内戦に伴う難民の増加により大流行した例がある。したがって、本症は過去の疾病ではなく、現在でも再興感染症として重要である。

1998 年 11 月、本症の起因菌 *Rickettsia prowazekii* の全塩基配列が解読されたことから¹⁾、本菌の分子遺伝学的研究の発展ばかりでなく、他のリケッチア研究の進展にも大きなインパクトが与えられた。また、本菌は太古に真核細胞の共生体になったと考えられているミトコンドリアに近縁であることが明らかになり、本菌の共生体としての意義も興味深い。

I. *R. prowazekii* のゲノムとおもな遺伝子

1. 全体像

R. prowazekii はグラム陰性の短桿ないし球桿状の偏性細胞内寄生性細菌で、ゲノムは 1,111,523 bp、G+C 含量が 29.1%で、834 個のオープンリーディングフレームから構成されている (表 1)。

2. 非コード領域 (non coding region)

現在までに全塩基配列が決定されている細菌のコード領域が平均 91% (87~94%) であるのに対し、本菌の全ゲノムの 24%は非コード領域からなる。この非コード領域のうち、0.9%が偽遺伝子、0.2%がくり返し配列、残り 22.9%がスパーサー領域である。また、非コード領域は G+C 含量が低い。

3. 複製開始点

複製開始点は未解明であるが、*dnaA* 遺伝子 (開始点に結合する蛋白質をコード) が存在する。その付近には短い *dnaA* 結合モチーフもある。また、GC-skew (= G-C/G+C) 値の変化がコード遺伝子の存在する傾向とよく一致するので、遺伝子番号の開始点はこの値の大きく変化する部位に決められている。

Motohiko Ogawa, 国立感染症研究所ウイルス第一部リケッチア・クラミジア室 (〒162-8640 東京都新宿区戸山 1-23-1) [Laboratory of Rickettsia and Chlamydia, Department of Virology 1, National Institute of Infectious Diseases, Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan] E-mail: ogawam@nih.go.jp

Katsuya Hirai, 岐阜大学農学部獣医学科家畜微生物学 (〒511-1192 岐阜市柳戸 1-1) [Department of Veterinary Microbiology, Faculty of Agriculture, Gifu University, Yanagido, Gifu City, Gifu 511-1192, Japan]

The Complete Genome Sequence of Rickettsia prowazekii, the Etiological Agent of Epidemic Typhus: Significance as Pathogen and Symbiont

表 1 機能別のおもな遺伝子数の比較

機 能	<i>Rickettsia prowazekii</i> Madrid E ¹⁾	<i>Chlamydia trachomatis</i> D ²⁾	<i>Helicobacter pylori</i> 26695 株 ³⁾	<i>Haemophilus influenzae</i> Rd KW20 ⁴⁾	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> M129 ⁵⁾	<i>Mycoplasma genitalium</i> G-37 ⁶⁾
アミノ酸合成	6 (0.7)	18 (2.0)	42 (2.6)	68 (3.9)	0	0
補助因子	25 (3.0)	27 (3.0)	59 (3.7)	54 (3.1)	8 (1.2)	8 (1.7)
核酸の代謝	14 (1.7)	14 (1.6)	38 (2.4)	64 (3.7)	19 (2.8)	19 (4.0)
細胞外膜	59 (7.0)	44 (4.9)	143 (9.0)	84 (4.8)	54 (8.0)	30 (6.3)
セルプロセス	44 (5.2)	47 (5.3)	87 (5.5)	53 (3.0)	20 (2.9)	20 (4.2)
[シャペロン]	[12 (1.4)]	[8 (0.9)]	[7 (0.4)]	[6 (0.3)]	[7 (1.0)]	[7 (1.5)]
[分泌]	[13 (1.5)]	[29 (3.2)]	[10 (0.7)]	[15 (8.6)]	[9 (1.3)]	[9 (1.9)]
中間代謝	0	12 (1.3)	24 (1.5)	30 (1.7)	6 (0.9)	5 (1.0)
エネルギー代謝	67 (7.9)	56 (6.3)	96 (6.0)	105 (6.0)	39 (5.7)	32 (6.7)
脂肪酸とリン脂質合成	25 (3.0)	28 (3.1)	25 (1.6)	25 (1.4)	9 (1.3)	8 (1.7)
制御	14 (1.7)	12 (1.3)	24 (1.5)	53 (3.0)	8 (1.2)	8 (1.7)
複製, 修飾, 組換え, 修復	46 (5.4)	48 (5.4)	88 (5.5)	87 (5.0)	46 (6.8)	32 (6.7)
転写	20 (2.4)	18 (2.0)	10 (0.6)	27 (1.5)	13 (1.9)	13 (2.7)
翻訳	118 (13.9)	131 (14.7)	122 (7.7)	141 (8.1)	99 (14.6)	99 (20.6)
膜輸送	38 (4.5)	58 (6.5)	85 (5.3)	123 (7.1)	44 (6.5)	34 (7.1)
その他	162 (19.1)	126 (14.1)	248 (15.6)	93 (5.3)	191 (28.2)	176 (36.7)
不明	208 (24.6)	255 (28.5)	499 (31.4)	736 (42.5)	120 (17.7)	11 (2.3)
合計	846*	894	1,590	1,743	676	495

() 内は%を示す。*偽遺伝子を含む。

4. 生合成系

アミノ酸の合成や転換などに関与する遺伝子は存在するが、他の細菌と比較すると一部欠損している。また、ヌクレオシド合成の遺伝子は存在せず、宿主細胞から供給され利用していることが推察される。しかし、ヌクレオシドやヌクレオチドの変換に必要な遺伝子は存在する。

5. エネルギー代謝

TCA サイクル, 呼吸鎖複合体, ATP/ADP トランスロカーゼなどの ATP の合成と輸送に関する一連の遺伝子が存在し、感染初期には膜結合性 ATP/ADP トランスロカーゼの作用で宿主細胞内の ATP を利用し、宿主細胞内の ATP が枯渇すると、自ら ATP を合成し利用する。しかし、嫌氣的解糖系は存在しない。ピルビン酸デヒドロゲナーゼは、細胞質から直接ミトコンドリアに輸送されたピルビン酸をアセチル CoA に変換する酵素である。本菌のピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体は 3 つの部分 E1~E3 から構成されている。ピルビン酸デヒドロゲナーゼをコードする E1 は、 α および β のサブユニットから構成され、ミトコンドリアやグラム陽性菌などと同じであるが、*Escherichia coli* (大腸菌), *Haemophilus influenzae* (インフルエンザ菌) および *Helicobacter pylori* (ピロリ菌) は 1 つのサブユニットから構成され、相同性が低い。デヒドロリポアミドヒ

ドロゲナーゼ (E3) のパラログには、ミトコンドリアおよび他の細菌に相同性の高い遺伝子が混在する。

6. 複製, 修復および組換え

DNA の修復に関与する遺伝子は存在するが、他の細菌のそれより数は少ない。UV 照射によって生じたチミン 2 量体の修復に関する *uvrA*~D の 4 つの遺伝子が存在する。*uvrA* はエンドヌクレアーゼの ATP 成分をコードし、サブユニットをコードする *uvrB* とともに損傷部位の認識や修復の開始に関与する。また、サブユニットをコードする *uvrC* は損傷の両側にニック(切れ目)を入れる。*uvrD* は DNA ヘリカーゼをコードする。DNA 除去修復に関与する一連の遺伝子が存在する。障害部位の両側にニックを入れるエンドヌクレアーゼ III や除去した部分に新しい DNA を合成する DNA ポリメラーゼ I や最終的にニックを埋め DNA を結合させる DNA リガーゼも存在する。しかし、ミトコンドリアのようにエキソヌクレアーゼは存在せず、修復機能が制限されていることが推察される。また、DNA のミスマッチ修復に関与する遺伝子も存在するが、他の細菌と比較すると一部欠損している。

7. tRNA および rRNA

tRNA をコードする 33 の遺伝子が存在し、32 の異なる tRNA がコードされている。この数は *Mycoplasma*

pneumoniae (肺炎マイコプラズマ) の 33 個, *H. pylori* の 36 個とほぼ同数であるが, *H. influenzae* の 54 個や *E. coli* の 60 個と比較するとかなり少ない。また 3 種の rRNA 遺伝子も存在する。

8. パラログ

147 の遺伝子産物をコードする 54 のパラログ遺伝子群が存在する。そのほとんどが輸送蛋白質をコードしている。

9. 転写および翻訳

RNA ポリメラーゼのコア酵素の 3 つのサブユニット (α , β , β') が存在する。また, σ 因子として一般の転写に関与する $\sigma 70$, および *E. coli* の熱ショック応答に関与する $\sigma 32$ が存在する。 $\sigma 32$ は, 比較的ゲノムの小さい *Borrelia burgdorferi* (ライム病菌), *H. pyroli*, *Mycoplasma genitalium* (マイコプラズマ) および *Chlamydia trachomatis* (トラコーマクラミジア菌) には存在しない。転写の伸長と終結に必要な遺伝子 *nusA*, *nusB*, *nusG*, *greA* および *rho* が存在する。RNA 分解酵素は他の細菌より多い。そのうち 4 つ (ポリリボヌクレオチドヌクレオチジルトランスフェラーゼ, リボヌクレアーゼ HII, III, P) は一般細菌と同じで, さらに 4 つ (リボヌクレアーゼ D, E, HI, PH) が存在する。tRNA のほとんどは同一のアミノ酸をコードする 4 種類のコドンのうち, 2 種類あるが, プロリンとバリンは 1 種類しかない。また, *B. burgdorferi*, *H. pyroli* および *C. trachomatis* の tRNA 修飾遺伝子 (*tgt*, *queA*, *trmD*, *truA*, *truB*, *miaA*) も存在する。

10. 制御系

制御に関与する遺伝子は少なく, その機能が制限されていることが推察される。しかし, 細菌によくみられる環境応答・細胞内情報伝達機構である二成分制御系の遺伝子 (*barA*, *envZ*, *ntrY*, *ntrX*, *ompR*, *phoR*) が存在する。また, 緊縮調整 (stringent control) に関与する *spoT* 遺伝子が *B. burgdorferi*, *H. pyroli* および *M. genitalium* で見いだされているが, *R. prowazekii* では *spoT* や *relA* (rRNA など RNA の合成の制御に関与) と似た遺伝子の名残りしか存在しない。

11. 細胞分裂および蛋白質分泌

細胞分裂および蛋白質分泌に関与する遺伝子は他の細菌と似ており, 一般細菌のシャペロン (*dnaK*, *dnaJ*,

hslU, *hslV*, *groEL*, *groES*, *htpG*) および *secA* 依存性分泌系 (*secABCDEFGHIY*, *ffH*, *ftsY*) が存在する。ペプチド分泌に関して, *R. prowazekii* は *M. genitalium* より多くの遺伝子群をもっている。

本菌の同定やワクチン開発などのために外膜蛋白質 *ompA* および *ompB* などの研究が盛んに行なわれ, RFLP (restriction fragment length polymorphism) による型別に応用されている。また, *R. prowazekii* の病原性を考えるうえで重要なリポ多糖は, オリゴ糖から構成され, リピド A に共有結合している。このリピド A は *lpxABCD* 遺伝子の産物によって代謝され合成されるが, これらすべての遺伝子は, *E. coli* ではクラスターを形成しているのに対し, 本菌では *lpxA* と D のペアおよび *lpxB* と C のペアがそれぞれ離れた位置に存在する。KDO (3-deoxy-D-manno-octulosonic acid) の生合成に必要な遺伝子 *kdsA*, *kdsB* および *kdtA*, 多糖の生合成に関与する *rfaJ* 遺伝子, およびペプチドグリカンの構成成分であるムレインやジアミノピメリン酸の生合成に関与する遺伝子群 (*fabDFGHI*, *cdsA*, *pssA*, *pgsA* など) が存在する。

12. 病原性遺伝子

他の細菌で見いだされている病原性支配遺伝子が本菌にも認められている。植物に腫瘍をひき起こすグラム陰性の土壌細菌 *Agrobacterium tumefaciens* で発見された *virB* オペロンのホモログが本菌にも存在する。この遺伝子は細菌のゲノムに存在する T-DNA を T-DNA 蛋白質複合体として細菌の膜を通して直接植物の核に挿入する一連の過程に関与している。*R. prowazekii* は, *virB4* のホモログを 2 つ, *virB8*, *virB9*, *virB10*, *virB11* および *virD4* のホモログを 1 つずつもつ。これらは, *A. tumefaciens* の接合に関与する *trbG* とともにクラスターを形成している。1 本鎖 DNA 結合蛋白質のホモログである *virD2* および *virE2* は存在しない。*A. tumefaciens* ではこれらの蛋白質は移入された T-DNA に結合する。実際に, *Bordetella pertussis* (百日咳菌) の毒素に関与する PT1 輸送機構と同様, *virB* 蛋白質は *E. coli* のプラスミド輸送系のコンポーネントである。また, *virB4* をコードする遺伝子群と別の *virB* 蛋白質は *H. pylori* の *cagA* 関連遺伝子の中に存在する。*virB* 蛋白質は胃炎を誘発するインターロイキン 8 の分泌を誘導する因子の輸送を促進する。

II. 病原体としての *R. prowazekii*

古くから歴史を変えるほどの猛威をふるい、リケッチアの横綱格として研究されてきた本菌の全塩基配列が決定されながら、未解明な点も多く残されている。以下に、病原体としての特徴および興味深い点について他のリケッチアと比較し、紹介する。

1. 感染および感染環

本菌の感染環はおもにヒト-シラミ-ヒトで維持されている。感染源のコロモジラミはヒトのみを吸血し有毒シラミになる。この有毒シラミはヒトを吸血しても感染しない。また、本菌は満腹の有毒シラミで感染性を持ち、飢餓(腹ぺこ)有毒シラミでは感染性をもたない。この現象は、センサー蛋白質などの環境応答系と密接な関係があることを示しているかもしれない。吸血後シラミの中腸腺で増殖、その後感染細胞は破裂し糞便中に大量の菌を排泄しヒトへの感染源になる。シラミは遅くとも14日後に死亡し、継卵感染も起こらず長期間の感染源にはならない。ヒトは、おもにシラミの刺咬による傷や皮膚の擦過傷に汚染糞便や有毒シラミを擦り込み感染する。一方、他のリケッチアはグニやノミなどに感染しても殺すことはなく、共生体として継卵感染によって維持され感染源になる。また、リケッチアの種によって、感染あるいは共生する昆虫が異なるのは興味深い。

R. prowazekii はヒトに感染後、血管内皮細胞でおもに増殖する。細胞表面のレセプター(未解明)に吸着後、エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれる。この取り込みは死菌では起こらず、生菌の何らかの因子が必要であると示唆される。取り込まれた菌は、リソソームとの融合前にファゴソームからホスホリパーゼなどの作用で細胞質中に逃れ、細胞の殺菌作用を回避する。その後二分裂によって増殖し、細胞の破裂後他の細胞に感染する。本菌は増殖速度が遅く、世代時間は約10時間を要する。リボソーム遺伝子の数は他の細菌とほぼ同じで、増殖の遅いことと無関係であることが示唆されている⁹⁾。 *H. pylori* の増殖速度の遅い原因として tRNA の少ないことがあげられており⁷⁾、 *R. prowazekii* の増殖も tRNA の数と密接な関係があるのかもしれない。今後の解明が期待される。

他の多くのリケッチアも同様に血管内皮細胞に感染・増殖する。トロピズムを決定する共通の因子がリケッ

チアに存在する可能性が推察されている。しかし、他のリケッチアでは細胞破壊されるまでは出芽によって菌が放出され、*R. prowazekii* と異なり、病原性を考えるうえで非常に興味深い。また、Q熱の起因菌 *Coxiella burnetii* は細胞内に取り込まれてから細胞質内に逃れず、ファゴリソソーム内酸性下で活性化され増殖するという特徴をもっており⁸⁾、*R. prowazekii* を含めた他のリケッチアと異なり興味深い。

2. 病原性

一般のリケッチアの病原性は毒素によるのではなく、菌の増殖と宿主の免疫応答によると推察される。しかし、*R. prowazekii* には、細胞毒であるヘモリシン、病原性に関与する遺伝子、蛋白質の輸送に関係する *virB*、*Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌) の病原性に関与する夾膜遺伝子 (*capD* および *capM*) などが存在し、病原性との関係が指摘されている。これらの病原性支配因子が発疹チフス以外の未知の病態をひき起こす可能性もある。実際、肺炎をひき起こす *Chlamydia pneumoniae* (肺炎クラミジア菌) が心筋梗塞に⁹⁾、熱性呼吸器疾患をひき起こす *C. burnetii* が小脳炎¹⁰⁾ や大動脈瘤形成¹¹⁾ に関与するなど、多くの病原体と新しい病態との因果関係が示唆されており、今後注目されるであろう。

III. 共生体としての *R. prowazekii*

遺伝子配列からみると *R. prowazekii* は、太古に真核生物の共生体となったミトコンドリアに他の細菌よりも近縁であることが明らかになった。以下に、ミトコンドリアと比較した *R. prowazekii* の特徴および共生体としての側面について紹介する。

1. ミトコンドリアとの相似点

ミトコンドリアは真核細胞にみられるオルガネラで、物質の酸化によるエネルギーを用いて ATP を合成する酸化的リン酸化を主要な機能としている。このなかには TCA サイクルが含まれ、さらに呼吸鎖が連動して、流れ作業的に酸化的リン酸化によって ATP が産生される。また、ミトコンドリアには固有のミトコンドリア DNA、リボソームおよび tRNA が存在し、独自の複製・転写・翻訳系を形成している。このようなミトコンドリアの機能や特徴は、*R. prowazekii* が TCA サイクル、呼吸鎖および固有の DNA 複製系をもつが解糖系

をもたないことと非常によく似ている。

また、ミトコンドリアは進化の過程でコードしていた遺伝子の大部分を核 DNA に移行して縮小化してきたと考えられており、ミトコンドリア由来と考えられる DNA 断片が、核ゲノム中に多数見いだされている。マメ科の植物では、通常ミトコンドリア DNA にコードされている遺伝子が、ある種ではゲノムに存在し、またある種ではゲノムとミトコンドリア DNA の双方に存在しゲノムの遺伝子だけが機能している¹²⁾。これらのことは、まさにミトコンドリアからゲノムへの遺伝子移行が進行中であることを示唆している。細胞内寄生性細菌においても、ある遺伝子の機能が宿主に依存あるいは移行した結果不必要になり、その遺伝子が偽遺伝子となり機能を失ったり、さらには欠損したりする現象がしばしば認められる。実際、*R. prowazekii* にも偽遺伝子や大きな非コード領域が存在し、宿主細胞ゲノムへ遺伝子が移行中であることを示しているのかもしれない。

ミトコンドリア DNA は環状 2 本鎖 DNA であり、後生動物（脊椎動物、節足動物など）と植物では若干異なっている。大きさは、後生動物では 14,000~18,000 塩基対、一方植物では 200,000~2,400,000 塩基対である。また、後生動物では、イントロンがなく、転写されない領域がきわめて少なく節約された構造をしており、一方植物ではイントロンがあり、構造遺伝子以外の非転写領域が多く、複数のくり返し配列が存在する。このような性状からみると、*R. prowazekii* は後生動物のミトコンドリアより、むしろ植物のミトコンドリアに似ており、たいへん興味深い。

2. 共生体としての側面

R. prowazekii は、ヒトやシラミへの病原性からみると、共生体とは考えにくい。あえて共生体として考えられるのは、再発型の発疹チフスである Brill Zinsser 病発症前の長い潜伏期間においてである。Brill Zinsser 病は、発疹チフスの最初の感染から 10~20 年後、リンパ節に潜んでいた *R. prowazekii* がストレスや免疫力の低下などに伴い再活性化されて血中に出現するため起こるとされている。長い非流行期間後の大流行の感染源となる可能性がありたいへん注目されている。この潜伏感染の遺伝子レベルでの解明は、本病の発症メカニズムの解明だけでなく、共生生物としてのリケッチアの解明や宿主である細胞のメカニズムの解明につながるかもしれない。

おわりに 今回紹介した *R. prowazekii* のゲノムには未知の蛋白質をコードする遺伝子が多数存在する。今後、未知遺伝子を含めた機能解析が進み、本菌の病原体および共生体としての遺伝子レベルでの性状がさらに明らかになることを期待する。また、本菌のゲノムをもとに他のリケッチアの解析に拍車がかかることが期待される。とくにわが国で最近注目されている Q 熱の起因菌 *C. burnetii* はリポ多糖をもち血管内皮細胞で増殖するなど *R. prowazekii* との共通点も多く、さらにリポ多糖の相変異や芽胞様の形態など独特な特徴もある^{13,14)}。これらの特徴を今回のデータと比較・解析し、遺伝子レベルで解明することは実に興味深い。

文 献

- 1) Andersson, S. G., Zomorodipour, A., Andersson, J. O. *et al.* : *Nature*, **396**, 133-140 (1998)
- 2) Chlamydia genome project : <http://chlamydia-berkeley.edu:4231/index.html>
- 3) Tomb, J. F., White, O., Kerlavage, A. R. *et al.* : *Nature*, **388**, 539-547 (1997)
- 4) Fleischmann, R. D., Adams, M. D., White, O. *et al.* : *Science*, **269**, 496-512 (1995)
- 5) Himmelreich, R., Plagens, H., Hilbert, H. *et al.* : *Nucl. Acids Res.*, **25**, 701-712 (1997)
- 6) Winkler, H. H. : *Trends Microbiol.*, **3**, 196-198 (1995)
- 7) 中澤晶子 : 蛋白質 核酸 酵素, **43**, 81-85 (1998)
- 8) Marrie, T. J. : Q fever, Vol. I and II, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida (1990)
- 9) Fagerberg, B., Gnarp, J., Gnarp, H. *et al.* : *Stroke*, **30**, 299-305 (1999)
- 10) 平井克哉 : 日本獣医師会雑誌, **52**, 77-83 (1999)
- 11) Fournier, P. E., Casalta, J. P., Piquet, P.,ournigand, P., Branchereau, A., Raoult, D. : *Clin. Infect. Dis.*, **26**, 116-121 (1998)
- 12) Covello, P. S., Gray, M. W. : *EMBO J.*, **11**, 3815-3820 (1992)
- 13) 小田 紘・吉家清貴 : 日本細菌学雑誌, **50**, 703-715 (1995)
- 14) Hirai, K., To, H. : *J. Vet. Med. Sci.*, **60**, 781-790 (1998)

小川基彦

略歴：1999年3月 岐阜大学連合大学院連合獣医学研究科修了。その間、国立感染症研究所リケッチア・クラミジア室の研究生としてリケッチアの基礎研究にも参加、1999年4月より同職員となる。研究テーマ：リケッチア症の分子疫学および病原性発現機構の解明。関心事：アジアおよび東南アジアのリケッチア症の実態およびその解明。