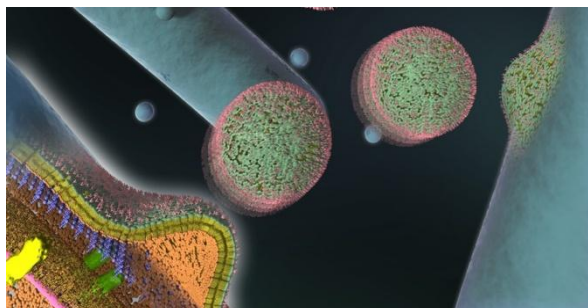


細胞壁の分解によって駆動される細菌の細胞質間分子輸送

筑波大学 生命環境系 豊福雅典

細菌は、これまで互いに干渉せずに生きていたと考えられてきました。しかしながら近年、化合物を介して互いにコミュニケーションをとることや、バイオフィームと呼ばれる集合体を形成し、多細胞生物的な振る舞いを示すことが明らかになってきています。このような細菌集団としての振る舞いや細胞間相互作用を理解する上で、近年注目を集めているのが、細胞外に放出される膜小胞（メンブレンベシクル：MVs）です。MVsは直径約40～400 nmの小胞であり、細菌の細胞膜によって構成されています。そのため、膜近傍に局在する生体分子に加え、核酸などの細胞内（細胞質内）分子も運搬されていることが明らかになっています。一方で、従来の研究では、MVsは細胞膜のたわみによって形成されると考えられてきました。しかし、このMVs形成モデルでは、どのようにして細胞内分子がMVsに搭載されるのかを十分に説明することができません。さらに、MVsがどのようなメカニズムによって積荷を選別し、標的となる細菌に取り込まれ、その積荷が細胞質にまで到達するのかについても、これまでほとんど知見が得られていませんでした。そこで本研究では、「MVsによる積荷の輸送機構はどのように行われているのか」という問いに取り組みました。



MVsによる積荷の輸送機構を考えるにあたり、細胞質内分子を他の細胞へ届ける際には、細胞壁が大きな物理的障壁となります。我々のこれまでの研究により、細胞壁の分解によって細胞壁を失った細胞が一過的に出現し、それらの一部が破裂することでMVsが形成されることが明らかになりました。これらの結果は、細胞壁の分解が細胞質内分子の受け渡しにおいて重要な役割を担っている可能性を示唆しています。そこで本研究では、細菌において細胞壁分解がMVsによる細胞質内分子輸送に重要な役割を果たす可能性を検証するとともに、MVsの形成、機能、受け取りに至る一連の過程を理解することにより、MVsを介した輸送機構の全体像の解明に挑んでいます。

MVsを介した輸送機構の解明に向けては、まずMVs形成機構の理解が出発点となると考えています。MVs形成に関して、これまでに我々は、細胞壁を分解する酵素として、細菌に感染するウイルス（ファージ）由来の酵素が関与していることを明らかにしてきました。さらに、細菌がもともと保持している細胞壁分解酵素についても、MVs形成を誘発することを見いだしました。これらの細胞壁分解酵素は、一般に細菌の分裂に必須な役割を果たすことが知られていますが、本研究により、MVs形成における役割が示されました。ミュータンス菌（*Streptococcus mutans*）においては、これらの酵素の発現が細菌間コミュニケーションによって制御されています。そこで我々は、細菌間コミュニケーションによってMVs形成が調節されているのではないかと仮説を立て、研究を進めました。その結果、細菌間コミュニケーションにより、集団の一部の細胞が細胞死を伴いながらMVsを放出することを明らかにしました¹⁾。これまで、細胞死を伴うMVs形成がどのように集団レベルで制御されているのか

については不明な点が多く残されていましたが、ミュータンス菌においては、細菌間コミュニケーションがその制御に関与していることが明らかとなりました。

細胞外に放出された MVs は、それを受け取った細胞に対して、何らかの作用を及ぼすと考えられます。この点を理解することで、MVs の機能や、さらにその機能を発揮する分子がどのような経路で輸送されているのかが明らかになります。そこで、形態的な特徴が異なる複数の細菌種を用いて MVs の機能解析を進めたところ、MVs は誘導される条件に応じて、その機能が変化することが示されました。ミュータンス菌においては、イメージング技術を用いた解析により、MVs がバイオフィーム形成に関わる細胞外マトリックスの合成に寄与することで、バイオフィーム形成を促進することが明らかとなりました。MVs の機能の多様性については、現時点ではその一端が明らかになったにすぎませんが、環境条件や、細胞のどの部位から MVs が形成されるかによって、その内容物が変化し、それが機能の多様性につながっていることが示されつつあります。こうした知見は、複雑な細胞膜や壁の構造を有するコリネ菌 (*Corynebacterium glutamicum*) を用いた研究においても確認されました。コリネ菌では、新たに MVs が鉄の運搬に関与していることを明らかにするとともに、MVs の積荷の受け取りには細胞特異性が存在する可能性が示唆されました²⁾。さらに、研究を進める過程で予期せぬ発見も得られています。MVs を精製する過程において、ファージの尾部に起源をもつ細菌の新奇ナノマシンを見だし、その機能の一端を解明しました³⁾。

MVs の機能が明らかになるにつれ、その機能が発揮されるために、活性を有する生体分子がどのようにして細菌によって MVs から取り込まれているのかを理解することが不可欠となっています。我々は、MVs を介して物質が濃縮された状態で運搬される現象を「bacterial quantal secretion」と名付けました⁴⁾。このメカニズムを明らかにするため、これまでに見いだした MVs の活性を指標とした解析手法に加え、MVs に搭載される積荷を改変する技術を構築しました。これにより、MVs に搭載された積荷が、どのようにして受け取り側の細胞に取り込まれるのかを、積荷ごとに解析することが可能となってきました。これらの手法を活用することで、MVs を介した物質輸送プロセスの全容解明につながると考えています。

- 1) Nagasawa, R *et al.* Membrane vesicle production via cell-to-cell communication-induced autolysis in *Streptococcus mutans*. *Microbiol Spectr* **13**, e0033425 (2025)
- 2) Kawashima, K, Nagakubo, T, Nomura, N & Toyofuku, M. Iron Delivery through Membrane Vesicles in *Corynebacterium glutamicum*. *Microbiol Spectr* **11**, e0122223 (2023)
- 3) Nagakubo, T, Nishiyama, T, Yamamoto, T, Nomura, N & Toyofuku, M. Contractile injection systems facilitate sporogenic differentiation of *Streptomyces davawensis* through the action of a phage tapemeasure protein-related effector. *Nat Commun* **15**, 4442 (2024)
- 4) Toyofuku, M, Schild, S, Kaparakis-Liaskos, M & Eberl, L. Composition and functions of bacterial membrane vesicles. *Nature reviews. Microbiology* (2023)