

Campylobacter fetusの病原因子 : Surface Layer

藤本, 秀士
九州大学医療技術短期大学部衛生技術学科

<https://doi.org/10.15017/302>

出版情報 : 九州大学医療技術短期大学部紀要. 28, pp.107-115, 2001-02. Kyushu University School of Health Sciences Fukuoka, Japan

バージョン :

権利関係 :

Campylobacter fetus の病原因子 : Surface Layer

藤本 秀士 (九州大学医療技術短期大学部衛生技術学科)

Role of Surface Layer in *Campylobacter fetus* Infection.

Shuji Fujimoto

Key words: *Campylobacter fetus*, Surface layer (S-layer), virulence factor, DNA rearrangement

I. はじめに

Campylobacter 属は、人畜共通感染症を引き起こすグラム陰性、微好気性の捻れた菌体を持つ桿菌である。この属の中で *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*), *Campylobacter coli* (*C. coli*), *Campylobacter fetus* (*C. fetus*) 等の菌種がヒトに対する病原菌として知られている。*C. jejuni*, *C. coli* は、カンピロバクター腸炎の原因菌で、下痢、食中毒などを起こすが、敗血症や髄膜炎などの全身感染を起こすことは希である。一方、*C. fetus* subsp. *fetus* は、しばしば免疫不全者や新生児に敗血症や髄膜炎、心内膜炎、関節炎などの感染症を起こし、現在、問題になっている⁽¹⁻³⁾。一般に、髄膜炎や敗血症のような侵入性の病気を起こす病原細菌の多くは、その菌体表層に宿主の感染防御機構に対して抵抗する因子を有している。その代表的なものは莢膜で、肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*), 肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*) や髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*) 感染などでは重要な病原因子である。以前より *C. fetus* にも菌体保護因子が存在することが示唆されていたが⁽⁴⁻⁶⁾、電子顕微鏡観察で莢膜構造は見られず、その病原因子は不明であった。そして1989年に著者ら⁽⁷⁾により、生体内で増殖した *C. fetus* の菌体表面に crystalline surface layer (以下 S-layer と略す) という構造物が最外側(細菌外膜のさらに外側)に存在することが明らかにされた。S-layer は、Surface array protein: SAP (以下 S 蛋白と略す) と呼ばれるサブユニットが菌

体表層に規則的に配列している蛋白の層である。S-layer は、グラム陰性、陽性を問わず多くの菌に見いだされていたが、非病原菌がほとんどの為、その感染における意義についてはあきらかにされていなかった。しかし近年の研究によって *C. fetus* 感染において S-layer は血清抵抗性 (serum resistant) ならびに白血球の貪食に抵抗する作用 (anti-phagocytic effect) を担うことで、菌体を感染防御機構より守り、全身感染を可能にして、病原性に深く関与することが明らかになった。著者らは、1987年から、新生児髄膜炎患児⁽¹⁾より分離した *C. fetus* subsp. *fetus* 菌株を用いて S-layer について研究し、電顕観察により初めて S-layer の形態変化を報告し、それに伴う抗原変化と分子生物学的側面について研究してきた⁽⁷⁻¹⁵⁾。その結果、*C. fetus* には、S-layer の抗原性を変化させて宿主免疫から逃れて生存を助ける機構が存在することが判明した。*C. fetus* の S-layer については、ここ10年間で多くの知見が得られ、S-layer の発現調節メカニズムなど、その全貌が明らかになりつつある。しかも、これらの知見は、細菌の構造機能解析における新しいパラダイムを示すものである。ここでは、*C. fetus* S-layer を中心に、その形態、機能、抗原変異とその発現におけるプログラムされた遺伝子再配機構 (programmed gene rearrangement) について解説する。

II. S-layer

グラム陽性菌、陰性菌を問わず、300以上の菌種

において、その表層に四角形状 (square, もしくは tetragonal), 六角形状 (hexagonal) または平行線状 (oblique) を呈する規則的配列構造 (S-layer) が電子顕微鏡により観察される⁽¹⁶⁻¹⁸⁾ (図 1 A)。S-layer は, regular array (RA) と呼ばれ, 蛋白もしくは糖蛋白のサブユニット：S 蛋白が, 菌体構造物 (リポ多糖：LPS など) に非共有結合し, 菌体表層に規則的に配列したもので, 一般に, グラム陰性菌では, S-layer は外膜のさらに外側に付加層 (additional layer) として存在する (図 1 B)。配列の規則性は, S 蛋白それ自身に組立 (self assemble) 機能がある。S-layer は菌全体を覆うため, それを構成する S 蛋白は細菌総蛋白の最大15%を占めるほどになる。S-layer の存在はかなり以前より知られていたが, 全ての菌種に共通した機能はなく, それぞれの菌種で, 菌の形の保持, 環境との高分子物質の交換の調節や菌

体保護機能などが挙げられている⁽¹⁶⁾。しかし, その病原性における意義は不明であった。1982年, 魚の病原菌である *Aeromonas salmonicida* において S-layer 消失により病原性が消失すること⁽¹⁹⁾から, S-layer の病原因子としての役割が注目され, 以後, *Treponema*, *Rickettsia*, *Clostridium*, *Bacteroides*, *C. fetus* などにおいて, S-layer の病原性への関与が報告されている⁽¹⁷⁾。

III. *C. fetus* 感染症

Campylobacter 属は1963年に *Vibrio* 属より独立した。元来, 家畜や家禽の腸管や生殖器に感染する微好気性菌で, ウシ, ブタ, ヒツジ, ニワトリ, イヌなどが保菌することが多く, 古くから獣医学領域で, *Vibrio fetus* として, 家畜の流産, 腸炎の原因菌として研究されてきた。1957年に King らは, *Vibrio fetus* のなかに発育温度の異なる 2 グループが存在することを指摘し, 42°C で発育可能で, ヒトの下痢と関連があるグループを 'related vibrios' (現在の *C. jejuni/coli*) と呼び, 家畜の流産やヒトの全身感染を起こす従来の *Vibrio fetus* (現在の *C. fetus*) と区別した。*C. fetus* は, 形態学的には *C. jejuni* よりらせんの波長が長く, 菌体の球状化 (coccoïd form) もない。*C. fetus* は, 生化学的性状などにより, 亜種 *fetus* と亜種 *venerealis* に分けられ^(20,21), いずれも家畜の伝染性流産, 不妊の原因菌であるが⁽²²⁾, ヒトに病原性を示すのは, 亜種 *fetus* である。*C. fetus* subsp. *fetus* は, 有蹄動物, 鳥類, は虫類など幅広い動物宿主の腸管に分布し⁽²⁰⁾, ヒトへの感染は, 本菌に汚染された水や食品 (生レバーなど) を経口摂取することで起こる。腸管感染後, 血中に侵入して菌血症となる。そして, まれであるが, 基礎疾患 (特に肝機能障害や免疫低下) のある宿主では各臓器に運ばれて炎症を起こし, 発病^(3,23)していると考えられる (図 2)。

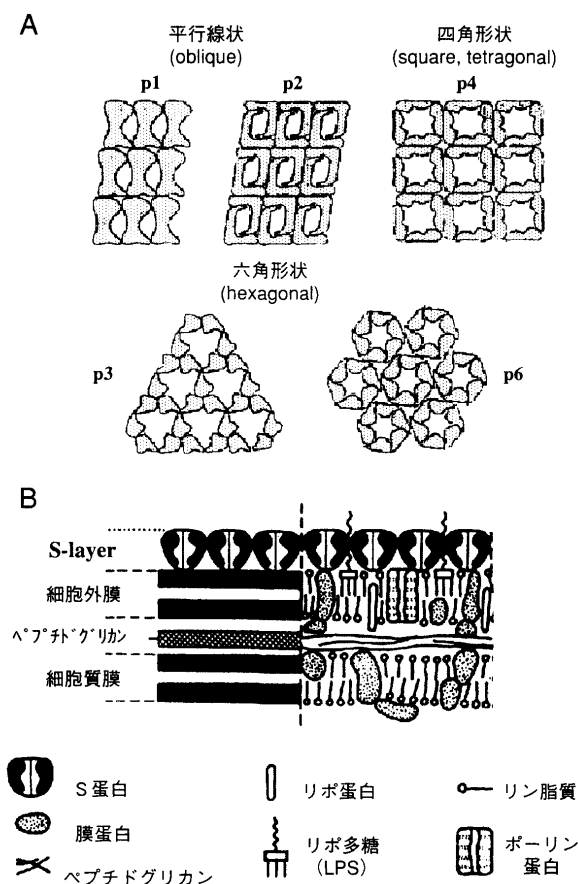


図 1 S-layer の 3 種類の形状(A)とグラム陰性菌の断面(B)模式図

- (A) S 蛋白サブユニットは, 規則的に配列する。例えば p6 では, 6 個が集合して基本形をつくり, さらに大きな配列をつくる。
 (B) S 蛋白が外膜に結合して, 菌体全面を覆う膜を形成する。(文献, 16, 18より改変)

IV. *C. fetus* の S-layer

A. 機能

患者から分離直後の *C. fetus* 菌株 (野生株) は, 全株が S 蛋白を産生し (S+), 菌体は S-layer に

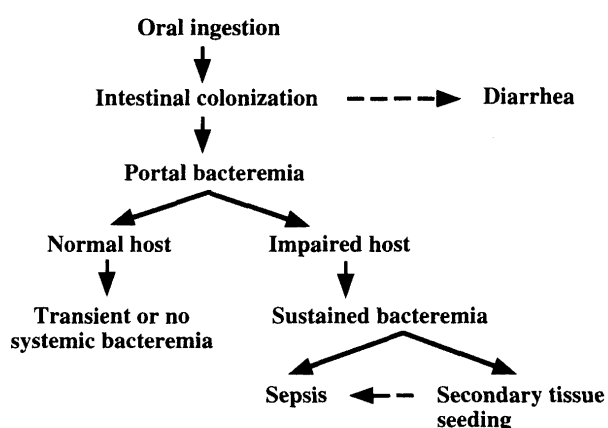


図2 ヒトにおける *C.fetus subsp. fetus* の感染機序
動物から汚染された飲食物の経口摂取により、*C. fetus* は腸管に定着する。大部分では胃腸症状はないが、場合によっては下痢が起きる(破線矢印)。腸管に定着した *C. fetus* は、門脈循環に入り、菌血症を起こす。その後、正常免疫宿主では除去されるが、免疫や肝機能が低下した状態の宿主では、感染が拡大・進行する。(文献3より改変)

覆われている⁽⁷⁾。一方、S+株を人工培地で繰り返し継代培養すると、S蛋白産生が減少し、S-layer欠損(S-)株になる(図3)。そしてS-株を経口投与した乳飲みマウスの肝臓から分離した菌株(動物通過株)はS+に変化しており⁽⁷⁾(図3)、*C. fetus* 感染におけるS-layerの役割の重要性が伺える。マウスでの実験⁽⁶⁾では、S+株(23D)がS-株(23B)に比べて、約10倍の菌血症率を示している(表1)。それは、S+菌株は、正常血清の殺菌能および食細胞の貪食に抵抗性を示すのに対し、S-菌株は、血清抵抗性も貪食細胞抵抗性も失っており、それに伴って病原性が低下する為であ

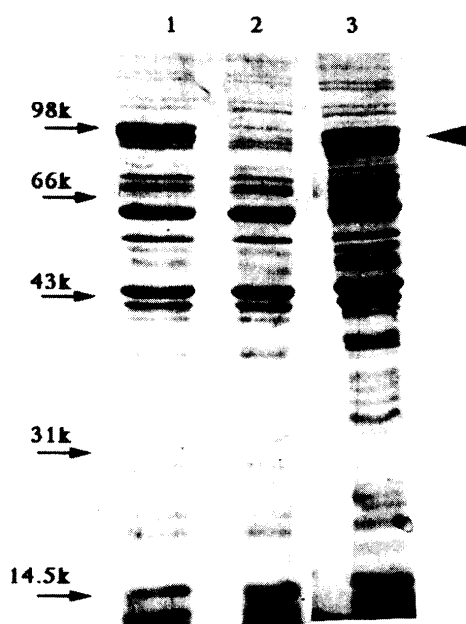


図3 S-layerの継代培養による消失と動物通過後の復活

レーン1:患者より分離直後(S+),レーン2:人工培地での継代培養後(S-),レーン3:レーン2の菌を乳のみマウスに飲ませ、その肝臓から分離した動物通過菌(S+)。継代培養によりS蛋白(太矢印)が消失し、動物通過後復活している。(文献4より改変)

る^(24,25)。

C. fetus 感染において、S-layerは、抗原性の高い菌体構造物や補体の標的であるLPSを覆う被膜として働く。補体成分C3bの菌体への結合を、ラジオアイソトープ(¹²⁵I)でラベルした補体を用いて調べると、S+菌体への結合はS-株に比べて強く抑制されている(表1)。この結果、C5-C9の膜傷害複合体(membrane attack complex)が

表1 *C. fetus* 菌株の血清抵抗性、C3結合能と菌血症との相関

菌株	産生される主なS蛋白分子量(kDa)	血清抵抗性(log ₁₀ Kill)	[¹²⁵ I]-C3結合(c.p.m.)	マウス感染実験		
				投与匹数	菌血症率(%)	血中菌レベル(cfu/ml)
23D	97	0.03±0.02	158±60	15	66.7	926±227
23B	- ^a	3.88±0.26	2939±632	15	6.7	20
23D:401:5	50 ^b	1.11±0.17	2875±376	15	26.7	18±3
23D:401:5-55	95	0.23±0.09	267±203	35 ^c	34.3	125±56
:5-31	97	0.39±0.26	268±155			
:5-71	127	0.32±0.11	203±127	30 ^d	60.0	255±118
:5-37	17	0.39±0.11	ND			
:5-32	149	0.46±0.13	ND	35 ^e	42.9	108±34
:5-9	149	0.41±0.13	431±431			

ND, not determined.

a. S蛋白を産生しない。

b. truncated S蛋白で菌体外に分泌されない。

c, d, e. 23D:401:5-55と:5-31、:5-71と:5-37、:5-32と:5-9の結果を合計。

(文献8より改変)

形成されないため血清抵抗性となる。この血清ならびに貪食細胞に対する抵抗性は、S-layer に対する特異抗体によって消失する⁽²⁴⁾。つまり、宿主が S-layer に対する抗体を産生するようになれば、それが S+株に対する感染防御抗体となる。一方、S-layer を構成する S 蛋白自体は免疫原性が高く、しかも多量に産生されて菌体表層に配置されるため、そのままでは菌が免疫機構から逃れるには不利である。しかし、これをカバーするように、S 蛋白の抗原変異によって、この表層抗原の変化が起きることが試験管内実験ならびに動物実験により明らかになった⁽⁹⁾ (後述)。

B. 構造

菌体と S 蛋白との結合は強固なものではなく、蒸留水で抽出できる。抽出した S 蛋白は、Ca²⁺ など 2 価の陽イオン存在下で、S-の菌体に再付着が可能である⁽¹⁵⁾。この再付着は、S 蛋白抽出菌株と再付着させる S-菌株の血清型に左右される。*C. fetus* には、LPS の抗原性により、二つの主要な血清型 (type A と type B) がある^(26,27)。同じ血清型 (type A もしくは type B どうし) であれば、S 蛋白の分子量に関係なく再付着する。しかし、異なる血清型間では、再構築できない⁽¹⁵⁾。このことから、*C. fetus* の S 蛋白は菌体の LPS に結合しており、2 価の陽イオンは LPS 側鎖の架橋

形成に関与すると考えられている (図 4)。*C. fetus* の S 蛋白は、糖や脂質の修飾を受けておらず^(28,29)、下に位置する LPS 分子とは、直接、ポリペプチドが結合すると思われる。type A 菌からの精製 S 蛋白の解析から、同一血清型の異なる菌株の S 蛋白でも含有アミノ酸組成や等電点が類似していて、特に N 末端のアミノ酸配列は同一であることがわかった⁽²⁹⁾。また、type B の S 蛋白は、N 末端のアミノ酸配列が、同一血清型の異なる菌株の S 蛋白とは共通であるが、type A のものとは異なることから、S 蛋白の N 末部分が LPS との結合に関与していると考えられる。

C. fetus は、その血清型別に関わらず、SDS-PAGE (ポリアクリルアミド電気泳動) において、98、127 及び 149 キロダルトン (kDa) の 3 種類の分子量の S 蛋白が存在し⁽²⁸⁻³⁰⁾、野生株では、そのうち 1 種類が主要なものとなる (図 5 矢印、表 2)。この 3 種類の S 蛋白の形成する S-layer の形態を電子顕微鏡で観察すると、98kDa の S 蛋白を持つ株では中心間距離 24nm の六角形状を、127 kDa、149kDa では中心間距離 8 nm の四角形状を呈して分子量と形態に密接な関連が見られる^(7,9)(表 2)。また、各菌株の主要 S 蛋白の共通抗原性をそれぞれの抗 S 蛋白抗体で調べると 149 kDa と 98kDa の S 蛋白は共通抗原性を示した (表

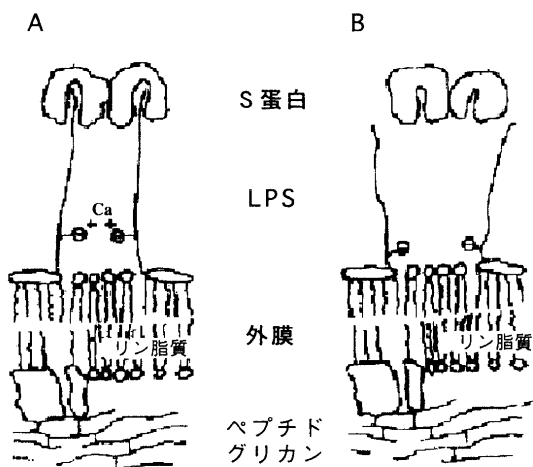


図 4 *C. fetus* S 蛋白、Ca²⁺ と LPS との関係 (仮説)
(A) 脂質二重膜中の LPS 分子の側鎖の負荷電部分が 2 価のイオンの働きで架橋を形成する。架橋により LPS 側鎖が S 蛋白の二量体形成に適した間隔に並び、S-layer が形成される。(B) 2 価イオンがない場合、LPS 側鎖の間隔が広すぎて、S-layer が形成されない。(文献 15 より改変)

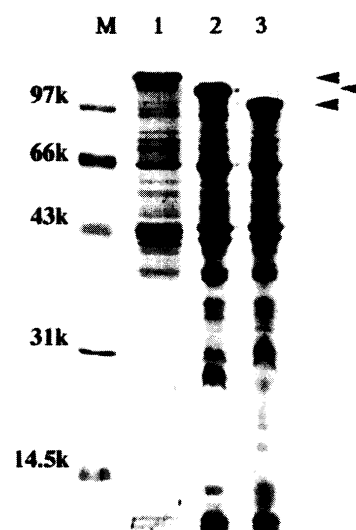


図 5 各菌株の菌体全蛋白の SDS-PAGE.
レーン 1~3 は、84-112, M, TK 株, M: 分子量マーカー各菌株が異なった分子量の S 蛋白 (149k, 127k, 98k) を産生している (矢印)。(文献 9 より改変)。

表2 *C. fetus* 菌株の S-layer の形状と S 蛋白の分子量との相関ならびにその抗原性

菌株	S-layer 形状	産生される 主な S 蛋白 分子量(kDa)	抗血清との反応性 ^a		
			抗TK	抗M	抗84-112
TK	六角形	98	+	-	+
M	四角形	127	-	+	-
84-112	四角形	149	+	-	+
84-112AP3	六角形	98	+	-	+
82-40LP	六角形	98	+	-	+
82-40LP3	四角形	127	+	+	-

^a + は反応性あり, - は無し.

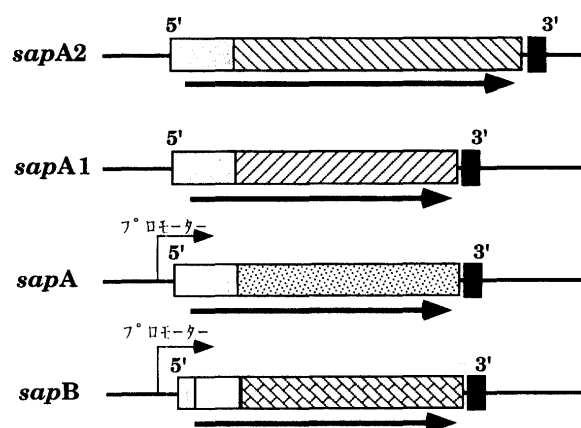
(文献9より改変)

2参照)。一方, 127kDa の S 蛋白は抗84-112抗体 (149kDa S 蛋白に対する抗体), 抗 TK 抗体 (98 kDa S 蛋白に対する抗体) のいずれとも反応せず, 共通な抗原が認められなかった⁽⁹⁾。これらの結果から, S 蛋白の抗原性は同一ではなく, 複数のバリエーションがあることがわかる。

C. S 蛋白遺伝子 (sap gene)

C. fetus type A 菌からクローニングされた97 kDa および127kDa の S 蛋白をコードする3つの遺伝子 (*sapA*, *sapA1*, *sapA2*) の比較から, S 蛋白遺伝子には, ニヶ所の保存領域 (conserved region) が存在することがわかった (図6)。一ヶ所は, 5'末端保存領域で, 読みとり枠 (open reading frame: ORF) の74base pair (bp) 上流から始まり ORF 内552bp までの領域で, S 蛋白N末の184個のアミノ酸をコードする。この領域は, type B の菌の S 蛋白遺伝子 (*sapB*) では, *sapA* と異なっている (図6)。つまり, この領域は, 同一血清型菌では共通だが, 異なる血清型の菌株間では異なることから LPS と結合するポリペプチド部分をコードすると考えられ, 前述の精製 S 蛋白の解析結果と一致する。もう一ヶ所は, ORF の下流から始まる 3' 保存領域である^(31,32)。この領域は, S 蛋白をコードしてはおらず, 異なる血清型の菌株でも共通している。現在, その機能は研究中有るが, 遺伝子の相互組換えに関与している可能性がある (後述)。5'保存領域以外の S 蛋白構造遺伝子は, 各々異なっており, 異なったアミノ酸組成で違う長さの C 末部分が形成される (図6)。

D. 発現調節機構 (sap プロモーターと染色体の rearrangement)

図6 *C. fetus* S 蛋白遺伝子ホモログ (sap gene homolog) の比較模式図

type A (*sapA*, *sapA1*, *sapA2*) と type B (*sapB*) では, 5'保存領域が異なっている。sap ホモログ下の矢印は, S 蛋白構造遺伝子の存在と転写方向を示す。sap A 2 は, 127kDa の S 蛋白を, その他は98kDa の S 蛋白をコードしている。(論文40より改変)

C. fetus を動物通過や継代培養すると, 発現 S 蛋白の分子量と抗原性の両方が様々に変化した変異株が得られる^(9,30)。例えば, 149kDa の S 蛋白を持つ84-112株を動物通過させて得られた84-112 AP3株は98kDa の S 蛋白を発現している (表2)。同様に82-40LP3株は親株の82-40LPが98 kDa の S 蛋白を持つのに対し127kDa の S 蛋白を産生している。82-40LP と82-40LP3の S 蛋白の抗原性を比較すると, 82-40LP の主要 S 蛋白 (98 kDa) は他株の127kDa S 蛋白に対する抗体とは反応しないが, 変異株である82-40LP3の主要 S 蛋白である127kDa タンパクはこの抗体と反応する。これらの菌では, S 蛋白分子量の変化に伴い S-layer は形態も異なっており, 親株82-40LP (98 kDa) の S-layer が六角形状であるのに対し82-40LP3 (127kDa) の S-layer は四角形状である。一方, 84-112AP3の98kDa の S 蛋白は親株の84-112の149kDa S 蛋白が四角形状の S-layer を形成するのにに対し, 六角形状の S-layer を形成した⁽⁹⁾。このような細胞表層器官の変化は, 集団の一部を変化させて環境変化や免疫機構から逃れて生き残る機構としてよく見られる現象である。

この S 蛋白発現の変化は 10^{-3} とかなり高い頻度で起きていて, *sapA* プロモーターの 3' 末側 (下流) の S 蛋白遺伝子が別なものと変わることにより起きる⁽⁸⁾。前述の 5' 保存領域をプローブとした

サザンハイブリダイゼーションの結果から、S 蛋白遺伝子は染色体上に複数（8 個ないし 9 個）存在することが判明した^(11,33)。パルスフィールド電気泳動による解析から、これらの遺伝子ホモログ (gene homolog) は、染色体の 8% にあたる 93kb 内の領域に集中してクラスターを形成していることがわかった^(11,31)。これらの S 蛋白遺伝子ホモログは、各々、5' 保存領域以降は異なっており、異なった長さの C 末部分が形成される。そして、それぞれの ORF は S 蛋白の全長をコードしていることから、分子量の異なる S 蛋白は、別々にコードされた小さな断片から組み立てられたり、mRNA から翻訳後に蛋白が修飾を受けて出来るのではないことが推察された。

C. fetus の typeA 菌では、*sapA* 遺伝子の上流にある $\sigma 70$ プロモーターが唯一機能している S 蛋白のプロモーター (active promoter) であり、この単一プロモーターにより S 蛋白の発現が制御されていると考えられる。その根拠は、1) *sapA* のプロモーターをプローブにしたサザンハイブリダイゼーションでは、調べた菌株には染色体遺伝子上に 1 コピーしか見られていない^(2,33)、2) 2 つの発現していない S 蛋白遺伝子ホモログの上流にはプロモーターと推定される配列がノーザンハイブリダイゼーションで証明できない^(31,32)、3) S-変異株では、プロモーターを含む 9 kb の領域が欠損していて^(10,31,33)、S+を誘導するべく調べたいかなる条件でも S-layer を発現することがなかったことである。

複数の遺伝子ホモログが単一プロモーターにより発現制御されている例は、淋菌の線毛⁽³⁴⁾など、いくつかの病原細菌で報告されている。淋菌の場合は、活性 (active) プロモーターの下流に位置する線毛蛋白カセットが遺伝子の組換えにより入れ替わることで発現される線毛分子が変化する⁽³⁴⁾。一方、*C. fetus* では、これとは異なる機構で発現制御していることが Dworkin ら⁽³⁵⁾の実験で明らかになった (図 7 A)。彼らは、プロモーターを削除したカナマイシン耐性遺伝子 (Km) で S 蛋白遺伝子を置き換えた変異株を作り、カナマイシン添加状態もしくは血清添加状態で選択をかけた。カナ

マイシン添加培地で生き残る菌は、*sap* プロモーターの下流に Km が存在する。次に、この菌を血清にさらすと、 10^{-3} ~ 10^{-4} の血清抵抗性の菌が生き残り、調べると *sap* プロモーターの下流には S 蛋白遺伝子が存在している。再度、カナマイシンで選択すると、逆の現象が起きる。これらの現象は、プロモーターを含む 6.2kb の長い DNA 断片が反転 (inversion) して、その両脇にある遺伝子 (この場合は、S 蛋白遺伝子とカナマイシン耐性遺伝子) の発現を制御していることにより起きる⁽³⁵⁾ (図 7 B)。これまで知られている DNA inversion system は、二つの固定された遺伝子の間で起こり、プロモーターの向きによって、どちらか一方が発現されるのみであった^(36,37)。つまり選択枝は二つしかない。しかし、*C. fetus* の場合、反転する *sap* プロモーターの両脇の S 蛋白遺伝子を破壊した変異株を作製し、血清添加条件においたところ、

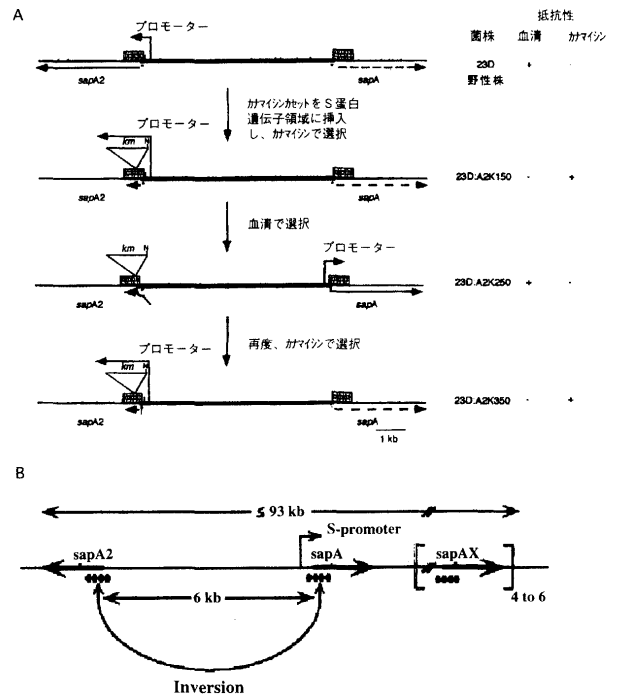


図 7 *C. fetus* S 蛋白遺伝子の発現調節機構

(A)カナマイシンと血清による選択実験。野生株(23D)の S 蛋白遺伝子 *sapA2* にカナマイシン耐性遺伝子 (Km) を挿入した変異株を血清で選択すると S 蛋白を発現するようになり、S 蛋白遺伝子ホモログ (*sapA*) の上流にプロモーターが移動している。再度、カナマイシンで選択すると、また反転する。(B) DNA inversion system の模式図。プロモーターを含む約 6 kb の DNA 断片が反転することにより、両脇の *sapA* または *sapA2* の転写が制御される。その他、93kb 以内に 4~6 の S 蛋白遺伝子ホモログが存在し、*sapA* または *sapA2* と組換えられる可能性がある。(文献35より改変)

10^{-4} ~ 10^{-5} の頻度でS+株が得られている^(35,38)。得られた株では, sap プロモーター下流に新たなS蛋白遺伝子ホモログが存在していた。つまり, sap 領域に存在する8つのS蛋白遺伝子ホモログの全てが発現する可能性が示されたわけである。どの様な機序で反転断片の両脇の遺伝子が別なものと置き換わるのかは未だ明らかではないが, 相同組換えに (homologous recombination) による可能性が高い。一般に, DNA inversion system では, 反転領域を囲むように inverted repeat (IR) 配列が両端にある⁽³⁹⁾。IR は, 部位特異的 (site specific) 反転酵素 (Rec A など) が認識し作用する配列である。そして, Rec A は, 一般的な相同組換えにも関与しており, S蛋白遺伝子の5'末側, 3'末側の二カ所の保存領域で相同組換えを起こして反転領域の両脇のS蛋白遺伝子ホモログを交換している可能性がある。

V. 結 語

C. fetus の S-layer は, DNA inversion system と遺伝子組換え (recombination) を組み合わせたこれまでにない機構によって調節され, 巧みにその抗原性と形態を変化させていることが明らかになった。今後, より正確なS蛋白遺伝子ホモログの配置, LPS との結合部位の詳細な情報, 規則的配列を決定する情報がS蛋白のどの部分にあるのか, などが明らかになっていくことであろう。また, S蛋白の菌体外への分泌機構についても詳細を明らかにすべきである。

病原因子としての解析以外に, S-layer には, バイオテクノロジーへの応用の可能性が示唆されている⁽¹⁸⁾。S蛋白は, 条件が整えば菌体がなくてもそれ自身で層を形成する。この性質を利用して, 超微細な濾過膜 (ultra-filtration membrane) としての利用が検討されている。また, S蛋白遺伝子の一部に目的遺伝子を組み込んで発現させれば, 細菌が大量に産生して, しかも菌体表層に配置してくれる。ワクチンなどの医療分野のみならず, 様々な分野で応用が期待される。

参考文献

- 1) Morooka T, Takeo H, Yasumoto S, et al.: Nosocomial meningitis due to *Campylobacter fetus* subspecies fetus in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatrica Japonica* 34 : 530-533, 1992
- 2) Ichiyama S, Hirai S, Minami T, et al.: *Campylobacter fetus* subspecies fetus cellulitis associated with bacteremia in debilitated hosts. *Clinical Infectious Diseases* 27 : 252-255, 1998
- 3) Blaser MJ: *Campylobacter fetus*—emerging infection and model system for bacterial pathogenesis at mucosal surfaces. *Clinical Infectious Diseases* 27 : 256-258, 1998
- 4) McCoy EC, Doyle D, Burda K, Corbeil LB, and Winter AJ: Superficial antigens of *Campylobacter (Vibrio) fetus*: characterization of antiphagocytic component. *Infection & Immunity* 11 : 517-525, 1975
- 5) McCoy EC, Wiltberger HA, and Winter J: Major outer membrane protein of *Campylobacter fetus*: physical and immunological characterization. *Infection & Immunity* 13 : 1258-1265, 1976
- 6) Winter AJ, McCoy EC, Fullmer CS, Burda K, and Bier PJ: Microcapsule of *Campylobacter fetus*: chemical and physical characterization. *Infection & Immunity* 22 : 963-971, 1978
- 7) Fujimoto S, Umeda A, Takade A, Murata K, and Amako K: Hexagonal surface layer of *Campylobacter fetus* isolated from humans. *Infection & Immunity* 57 : 2563-2565, 1989
- 8) Blaser MJ, Wang E, Tummuru MK, et al.: High-frequency S-layer protein variation in *Campylobacter fetus* revealed by sapA mutagenesis. *Molecular Microbiology* 14 : 453-462, 1994
- 9) Fujimoto S, Takade A, Amako K, and Blaser MJ: Correlation between molecular

- size of the surface array protein and morphology and antigenicity of the *Campylobacter fetus* S layer. *Infection & Immunity* 59 : 2017-2022, 1991
- 10) Fujita M and Amako K: Localization of the sapA gene on a physical map of *Campylobacter fetus* chromosomal DNA. *Archives of Microbiology* 162 : 375-380, 1994
 - 11) Fujita M, Morooka T, Fujimoto S, Moriya T, and Amako K: Southern blotting analyses of strains of *Campylobacter fetus* using the conserved region of sapA. *Archives of Microbiology* 164 : 444-447, 1995
 - 12) Fujita M, Fujimoto S, Morooka T, and Amako K: Analysis of strains of *Campylobacter fetus* by pulsed-field gel electrophoresis. *Journal of Clinical Microbiology* 33 : 1676-1678, 1995
 - 13) Fujita M, Moriya T, Fujimoto S, Hara N, and Amako K: A deletion in the sapA homologue cluster is responsible for the loss of the S-layer in *Campylobacter fetus* strain TK. *Archives of Microbiology* 167 : 196-201, 1997
 - 14) Morooka T, Umeda A, Fujita M, et al.: Epidemiologic application of pulsed-field gel electrophoresis to an outbreak of *Campylobacter fetus* meningitis in a neonatal intensive care unit. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 28 : 269-270, 1996
 - 15) Yang LY, Pei ZH, Fujimoto S, and Blaser MJ: Reattachment of surface array proteins to *Campylobacter fetus* cells. *Journal of Bacteriology* 174 : 1258-1267, 1992
 - 16) Sleytr UB and Messner P: Crystalline surface layers on bacteria. *Annual Review of Microbiology* 37 : 311-339, 1983
 - 17) Sleytr UB, Messner P, Pum D, and Sara M: Crystalline bacterial cell surface layers. *Molecular Microbiology* 10 : 911-916, 1993
 - 18) Sleytr UB and Sara M: Bacterial and archaeal S-layer proteins: structure-function relationships and their biotechnological applications. *Trends in Biotechnology* 15 : 20-26, 1997
 - 19) Munn CB, Ishiguro EE, Kay WW, and Trust TJ: Role of surface components in serum resistance of virulent *Aeromonas salmonicida*. *Infection & Immunity* 36 : 1069-1075, 1982
 - 20) Smibert RM: The genus *Campylobacter*. *Annual Review of Microbiology* 32 : 673-709, 1978
 - 21) Salama SM, Garcia MM, and Taylor DE: Differentiation of the subspecies of *Campylobacter fetus* by genomic sizing. *International Journal of Systematic Bacteriology* 42 : 446-450, 1992
 - 22) Schurig GD, Hall CE, Burda K, et al.: Persistent genital tract infection with *Vibrio fetus* intestinalis associated with serotypic alteration of the infecting strain. *American Journal of Veterinary Research* 34 : 1399-1403, 1973
 - 23) Francioli P, Herzstein J, Grob JP, et al.: *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* bacteremia. *Archives of Internal Medicine* 145 : 289-292, 1985
 - 24) Pei Z and Blaser MJ: Pathogenesis of *Campylobacter fetus* infections. Role of surface array proteins in virulence in a mouse model. *Journal of Clinical Investigation* 85 : 1036-1043, 1990
 - 25) Blaser MJ and Pei Z: Pathogenesis of *Campylobacter fetus* infections: critical role of high-molecular-weight S-layer proteins in virulence. *Journal of Infectious Diseases* 167 : 372-377, 1993
 - 26) Perez-Perez GI, Blaser MJ, and Bryner JH: Lipopolysaccharide structures of *Campylobacter fetus* are related to heat-stable serogroups. *Infection & Immunity* 51 :

- 209-212, 1986
- 27) Moran AP, O'Malley DT, Kosunen TU, and Helander IM: Biochemical characterization of *Campylobacter fetus* lipopolysaccharides. *Infection & Immunity* 62 : 3922-3929, 1994
- 28) Dubreuil JD, Logan SM, Cabbage S, et al.: Structural and biochemical analyses of a surface array protein of *Campylobacter fetus*. *Journal of Bacteriology* 170 : 4165-4173, 1988
- 29) Pei Z, Ellison RTd, Lewis RV, and Blaser MJ: Purification and characterization of a family of high molecular weight surface-array proteins from *Campylobacter fetus*. *Journal of Biological Chemistry* 263 : 6416-6420, 1988
- 30) Dubreuil JD, Kostrzynska M, Austin JW, and Trust TJ: Antigenic differences among *Campylobacter fetus* S-layer proteins. *Journal of Bacteriology* 172 : 5035-5043, 1990
- 31) Dworkin J, Tummuru MK, and Blaser MJ: A lipopolysaccharide-binding domain of the *Campylobacter fetus* S-layer protein resides within the conserved N terminus of a family of silent and divergent homologs. *Journal of Bacteriology* 177 : 1734-1741, 1995
- 32) Tummuru MK and Blaser MJ: Rearrangement of sapA homologs with conserved and variable regions in *Campylobacter fetus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 : 7265-7269, 1993
- 33) Tummuru MK and Blaser MJ: Characterization of the *Campylobacter fetus* sapA promoter: evidence that the sapA promoter is deleted in spontaneous mutant strains. *Journal of Bacteriology* 174 : 5916-5922, 1992
- 34) Zhang QY, DeRyckere D, Lauer P, and Koomey M: Gene conversion in *Neisseria gonorrhoeae*: evidence for its role in pilus antigenic variation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89 : 5366-5370, 1992
- 35) Dworkin J and Blaser MJ: Generation of *Campylobacter fetus* S-layer protein diversity utilizes a single promoter on an invertible DNA segment. *Molecular Microbiology* 19 : 1241-1253, 1996
- 36) Silverman M, Zieg J, Hilmen M, and Simon M: Phase variation in *Salmonella*: genetic analysis of a recombinational switch. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76 : 391-395, 1979
- 37) Abraham JM, Freitag CS, Clements JR, and Eisenstein BI: An invertible element of DNA controls phase variation of type 1 fimbriae of *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 82 : 5724-5727, 1985
- 38) Dworkin J and Blaser MJ: Nested DNA inversion as a paradigm of programmed gene rearrangement. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94 : 985-990, 1997
- 39) van de Putte P and Goosen N: DNA inversions in phages and bacteria. *Trends in Genetics* 8 : 457-462, 1992
- 40) Dworkin J, Tummuru MK, and Blaser MJ: Segmental conservation of sapA sequences in type B *Campylobacter fetus* cells. *Journal of Biological Chemistry* 270 : 15093-15101, 1995