

綜 説

緑膿菌とその遺伝学

松 本 顕 樹

信州大学医学部細菌学教室

Pseudomonas aeruginosa and its Genetics

Hideki MATSUMOTO

Department of Bacteriology, Shinshu University School of Medicine

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, infection, drug resistance, bacterial genetics

緑膿菌, 感染, 薬剤耐性, 細菌遺伝学

I 緑膿菌の発見から現在までの歴史

緑膿菌はこの20年程前から医療の世界で非常に厄介な存在となっている。この菌は100年程前にフランスの細菌学者, Gessard¹⁾によって緑色の膿から発見されたのであるが, 実はこの発見のずっと以前から臨床医はこの「緑色の膿」を予後不良の1つの徴候と考えていたようである。Gessardはこの菌を *Bacillus pyocyaneus* と命名したが, 種名の *pyocyaneus* の *pyo* は膿を意味するギリシャ語の名詞, *pyum*, そして *cyaneus* の方は「青色の」を意味する。この菌は緑色の色素, ピオシアニン(第1図)を産生するので, 感染巣から緑色を呈する膿が排出されることがあり, Gessardの *B. pyocyaneus*, そして本菌の和名「緑膿菌」もこの性状に由来する。緑膿菌の現在の学名は *Pseudomonas aeruginosa* である。*Pseudomonas* の *Pseudo-* は「にせの」とか「偽りの」を意味し, *-monas* は小桿菌のことである。*Aeruginosa* は銅の錆(緑青)で充ちているとのラテン語由来で, これも緑色を意味する。「緑色の偽りの菌」の名からは, 昔の学者が間違っこの菌を本当の細菌とは考えていなかったことが想像される。なお, 菌名に拘り申し訳ないが, 諏訪湖で夏期に発生するアオコ(らん藻類の1種)の学名も *Microcystis aeruginosa* であると知り, 著者は興味を感じたことがある。

緑膿菌が発見された1882年(明治15年)—100年前で

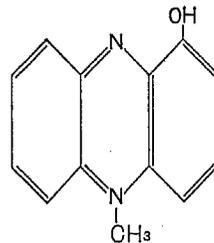


図1 ピオシアニンの化学構造

ある—は細菌学の歴史のなかでどのような年であったろうか。その頃はパスツールやコッホによって細菌学の基礎が築かれて間もなく, 現在知られている多くの病原菌, たとえば結核菌(1882), コレラ菌(1884), 溶血性レンサ球菌(1884), 肺炎球菌(1884), 腸チフス菌(1886)などが続々と発見されていた輝かしい時代であり, その意味では緑膿菌は決して新顔の病原菌ではない。しかし, 同じ1882年に発見された結核菌と緑膿菌とその後を比較すれば明らかのように, 緑膿菌の方は長い間病原菌としては影の存在であった。少なくとも先進国では緑膿菌が感染症の起炎菌の主役となったのは, 結核菌が主役の座を退いてからである。主役交替の背景を図2を見ながら考察してみよう。

この現象には化学療法の実験が密接に関係している。緑膿菌が発見されてから現在までに100年が経過したが, その丁度中頃の1933年に Domagk によってサルファ剤が発見された。

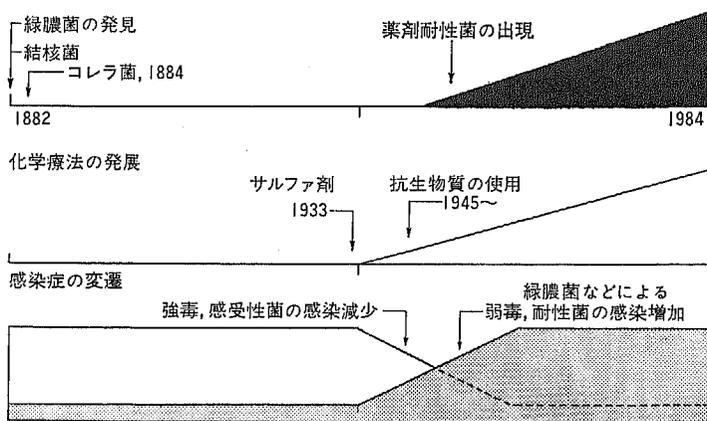


図2 緑膿菌の歴史

サルファ剤は広い範囲の病原菌に効く画期的な化学療法剤であった。そして1940年代の後半からはペニシリン類、ストレプトマイシン、クロラムフェニコール、テトラサイクリン、マクロライド類などの抗生物質が多用されるようになると、感染症はその数が減少してゆくとともにその様相も変化してゆく。起炎菌の側から見れば、薬剤耐性菌や、本来、薬剤が無効である菌種の出現と増加であり、感染症の方でもそのような菌種によるものの比率が上昇してゆく。この関係を図示すると（生活環境の変化は無視し、割り切った表現であるが）図2のようになる。過去の感染症が「強毒で、薬剤の効く菌」によるものが主流であったのに対し、今日の感染症は「弱毒ではあるが、薬が効きにくい菌」によるものが主流になったが、実は緑膿菌はそのような感染症の起炎菌の代表格なのである。

II 緑膿菌の感染

よく知られているように緑膿菌の感染様式や臨床症状は多様であり、特定の臓器が高い頻度で感染巣となる訳でもない。尿路感染における2次感染菌として出現する緑膿菌のように、2次感染菌としての意義も重要であるが、ここではこの菌の特性を説明するために、著者に印象的であったいかにも緑膿菌の感染らしい少数例を挙げてみる。

A ある病院の新生児室で新生児に緑膿菌による中耳炎が多発したが、その分離株はすべて同一の血清型（血清型については後述する）であった。この感染原は水道の蛇口に着けたガーゼで増殖した菌であった²⁾。

B ある眼科医で角膜異物除去を受けた患者に緑膿菌による感染、角膜膿瘍が続発した³⁾。

分離株についての実験成績からの推定であるが、感染は診断時の検査に使用したフルオレスチン液中で増殖した菌によると考えられた（田村茂博，私信）。コンタクトレンズの保存液中での緑膿菌の汚染も警告されている。

C ある神経外科で脊椎手術を受けた患者が続けて7名とも緑膿菌による髄膜炎を発症した。分離株はすべて同一の血清-ピオン型（ピオン型については後述する）であった。感染原は剃毛に使用した shaving brush での菌増殖であった。この論文を読み感心したのは、問題の緑膿菌がその病院の他の病棟から移ってきた1人の看護婦のスリッパに付いてきたことまで疫学調査で明らかにされていたことである⁴⁾。

D 火傷患者の火傷部位での緑膿菌の感染、そして敗血症にと進むのも緑膿菌のよく知られている感染例である⁵⁾。

E 薬物中毒者の使用する注射器などの緑膿菌の汚染による感染の増加も報告されている⁶⁾。

この種の感染例は枚挙にいとまないが、これだけの少数例からでも緑膿菌特有の感染様式が浮かび上がってくる。まず強調したいことは緑膿菌が自然界に広く分布しており、わずかな栄養があれば増殖できること、次には感染を受けた宿主側も何らかの理由で感染に対する抵抗力が弱化していたという事実である。この場合、抵抗力とは種々の因子からなる総合戦力であり、具体的には年齢、基礎疾患（癌など）の有無、免疫不全（先天的なものだけでなく、後天的なもの、たとえば臓器移植後の免疫抑制剤を投与中などの者を含む）、術後であること、火傷部位があること、そして化学療法剤の長期使用による菌交代症などである。著者は日

本で初めての心臓移植を受けた患者の死因は緑膿菌感染であったと聞いている。なお、欧米の文献によく見られる cystic fibrosis 患者の肺での緑膿菌感染は、この疾患の発生が特定の人種（コーカサス人種）に限られ⁷⁾、日本での発生は皆無に等しいとのことであるが、緑膿菌の病原性を考える際には重要な問題である。

緑膿菌の病原性と関係ある因子として数種類の菌体外毒素 (exotoxin) の存在が挙げられている。この菌の場合、内毒素 (endotoxin) は病原性因子の主役とは考えられていない⁸⁾。菌体外毒素としては exotoxin A, 各種の proteolytic enzyme, 特に elastase, phospholipase, hemolytic glycolipid⁸⁾, leucocidin⁹⁾ などであるが、最も重要なもの (lethal toxin として) は exotoxin A である。Exotoxin A は分子量約60,000の、酸性のアミノ酸に富む等電点5.1の蛋白質である。この毒素の細胞に対する作用は1種の酵素作用であり、リボソームで行われる蛋白質合成 (ペプチドの伸長の過程) の際に必要な EF (elongation factor) 2 因子に、NAD の ADP-ribosyl 基を転移することにある。その結果、EF 2 因子は不活化されて蛋白質合成が阻害される¹⁰⁾。非常に興味のあることは、この exotoxin A の作用はジフテリア菌の産生するジフテリア毒素のそれとまったく同一である。しかし、これらの2種の蛋白質は血清学的には共通した抗原性はない。

緑膿菌の病原性因子の研究 (動物実験も含めて) の難点は、個々の菌株ごとに産生する各毒素の量にかなりの違いがあることである⁸⁾。この事実は今後の病原性の研究において十分に注意する必要がある。

III 緑膿菌の薬剤感受性

緑膿菌感染の問題の1つはその化学療法の問題性であり、緑膿菌が厄介がられる最大の理由もここに基因するのであろう。今日の抗生物質のホープとされている第3世代のセファロスポリン類のいずれもが緑膿菌に対する著効を強調していることでも明らかのように、緑膿菌に対する化学療法剤はそう数の多いものではない。また、緑膿菌感染時の化学療法では宿主の側にもこれを困難にしている場合が多いと思うが、ここでは菌側から薬剤感受性について考察したい。

一般に細菌の薬剤耐性は、その菌種が本来の性質として特定の薬剤に対して保持しているものと、もう1つは何らかの遺伝学的メカニズムで、本来は感受性であった薬剤に対して新しく耐性を獲得する場合とがあ

る。緑膿菌の場合にはそれらの両者とも問題となる。

前者の「本来具えている薬剤耐性」とは、正確には不感受性 (insensitive) と称すべきものであり、その菌種のすべての株に認められる。緑膿菌では第1世代のセファロスポリン類 (セファロジン, セファレキシン, セファゾリン) やナリジクス酸などに対する耐性がこれに相当する。これらの薬剤耐性は、その耐性機構は何であれ、その性質を支配して遺伝子が菌の染色体上に存在し、増殖に際して間違いなく子孫の菌細胞に伝えられてゆく。

これに対して、後者の「新しく獲得される耐性」について緑膿菌での例を挙げれば、カルベニシリンやゲンタミシンに対する耐性などである。これらの耐性のほとんどはRプラスミドの保持によって発現される。実は日本で緑膿菌のRプラスミドが初めて検出されたのは、1972年にほかでもない本医学部附属病院においてである¹¹⁾。その時まで、日本では多剤耐性の緑膿菌が分離されるのにRプラスミドは証明できなかった。著者らは日本の緑膿菌のRプラスミドが、欧米での緑膿菌のRプラスミドとは異なり、大腸菌には移れず、緑膿菌相互の間でしか伝達できないことに気付いて、従来の大腸菌を使う検出法を緑膿菌に代えてみたところ、緑膿菌のRプラスミドは容易に証明されるようになった。この発見が1つの契機となり、日本の緑膿菌にも本当は高い頻度でRプラスミドが存在していることが明らかにされた¹²⁾。Rプラスミドは染色体とは別の、独立した複製機構を持つ遺伝因子 (genetic element) であり、これを持つ菌と未だ持っていない菌との細胞間での接合によって伝達され、新しくこれを獲得した耐性菌は自然界、医療の世界にと拡がってゆく。問題は複数の薬剤に対して同時に耐性となることである。緑膿菌のRプラスミドによって支配される薬剤耐性は、 β -ラクタム剤 (カルベニシリンなど)、アミノ配糖体抗生物質 (カナマイシン, アミカシン, ジベカシン, トブラマイシン, ゲンタミシン, ストレプトマイシンなど), テトラサイクリン, クロラムフェニコール, サルファ剤などである。また、化学療法剤とは関係ないが、水銀イオン (Hg^{++}) などの重金属イオンに対する耐性を支配する遺伝子もRプラスミド上に薬剤耐性遺伝子と共存していることが緑膿菌ではまれでない¹³⁾。

緑膿菌の薬剤耐性機構のすべてが解明されていないが、少なくとも細胞膜での薬剤透過性 (permeability) と、菌体内での薬剤の不活化 (inactivation) が

重要な役を演じている。透過性は薬剤自体の化学的構造(分子量, 疎(親)水性, 荷電の状態など)と細胞膜のどの部分を通して菌体内に penetrate するのかなどの因子で決まる¹⁴⁾。不活化は染色体またはRプラスミド上の遺伝子の支配で産生される不活化酵素による抗生物質の加水分解とか化学的修飾(chemical modification)である。具体的には、 β -ラクタム剤であれば、それは β -ラクタマーゼによる β -ラクタム環の開裂であり、アミノ酸糖体抗生物質の場合にはアセチル化、リン酸化またはアデニル化である¹⁵⁾。緑膿菌に特徴的なこととしては、これらの不活化酵素の1つ、リン酸化酵素(APH(3'')-II)は緑膿菌では染色体上にこの酵素の産生を支配する遺伝子が存在するが¹⁶⁾、大腸菌などではこれに相当する遺伝子はRプラスミド上にある。

また、リン酸化酵素(APH(3'')-III)は本医学部附属病院で1975年に分離された緑膿菌から発見されたこと¹⁷⁾を附記したい。

ところで、切実な問題であるが第3世代のセファロスポリン耐性の緑膿菌が頻度は低いですがすでに出現している。これらの菌株の耐性機構の生化学的、遺伝学的な解析は始められたばかりである。これらの薬剤に対する耐性機構は現在のところ、①薬剤に対する透過性の変化(低下)が主役で、 β -ラクタマーゼによる分解はたいした役を演じていないという考え方¹⁸⁾と、②変異によって大量に β -ラクタマーゼを産生するようになった株では、この酵素が β -ラクタム剤(基質)を分解するのではなく、結合するだけで抗菌力を阻止する(trapping)ことが耐性の本体であるという考え方¹⁹⁾もある。著者ら(未発表)は緑膿菌の染色体組み換えによって大量に β -ラクタマーゼを産生する株を作ってみたところ、第3世代セファロスポリン類に対するMIC(最少発育阻止濃度)が明らかに上昇することを観察している。しかし何よりも臨床由来の耐性株についての検討が必要である。

緑膿菌の感染防止で重要なことの1つは適切な消毒薬の使用である。この目的のために使用されているクロルヘキシジン(ヒピテン)の高い有効性はよく知られているが、本医学部附属病院で使用している各種の消毒薬の特性や汚染状況などについては全田と太田²⁰⁾の綜説を参照されたい。消毒薬に対する緑膿菌の耐性機構の知見は不足している。興味ある研究として、Faveroら²¹⁾の報告を挙げたい。彼らは自然界(栄養成分の濃度がきわめて低い水)で増殖した緑膿菌の菌

細胞は、これを栄養に富む人工培地で一度増殖させた菌細胞よりも消毒薬(過酸化塩素水, 第四級アンモニウム塩, グルタルアルデヒド)に対して著しく高い抵抗性を示したという。理由は不明ながら、この事実は消毒薬の汚染や、さらには消毒薬の効果の検定に際して留意すべきことであろう。なお、緑膿菌に著効を示すクロルヘキシジンに耐性である *Pseudomonas cepacia* による感染が増加しているのは警戒すべき現象である。

IV 緑膿菌感染の疫学調査と型別

ある病院での緑膿菌の感染に際して、感染原が同一なのか、あるいは各診療科によって異なるのか、さらにはある特定の患者より緑膿菌の検出が続く場合に、同じ菌株が定着しているのか、別の株と代わることがあるのか、などの問題を調べたい時には血清型、ピオシン型およびファージ型を調べるとよい。

緑膿菌は腸内細菌などの他のグラム陰性桿菌と同様に、凝集反応によるO抗原の分類が可能である²²⁾。従来、各国の研究者がそれぞれ独自に実施してきた分類法を比較、検討して国際的に統一しようとする試みが1971年以来行われてきた。その結果、国際的に統一された命名が提案された²³⁾。これには17種のO抗原群(O1~O17)が含まれており、この血清型別の目的に使える凝集反応用の抗血清も発売されている。

そのほか、緑膿菌の型別法としては、緑膿菌の産生する殺菌性物質であるピオシンを使うピオシン型別(pyocin typing)および緑膿菌のバクテリオファージ(細菌に感染するウイルス)を使うファージ型別(phage typing)がある²⁴⁾。

血清型別法、ピオシン型別法およびファージ型別法は相互に独立した型別法であるから、これらを適当に組み合わせて型別を行うと、かなりの高い精度で緑膿菌株を多数の型に型別が可能である。古いデータ(1968)であるが著者らが主として本医学部附属病院で分離された緑膿菌について行った血清-ピオシン型別の成績がある²⁵⁾。感染原の追求と処理が緑膿菌の感染防止に重要であることを改めて強調したい。

V 緑膿菌の生化学的な特性

前述の緑膿菌感染の項で本菌が自然界に広く分布していることを述べたが、この事実は緑膿菌が自然界で生存してゆくために必要な生理的および生化学的活性を具えていることを示している。緑膿菌は10°C~42°C

緑膿菌とその遺伝学

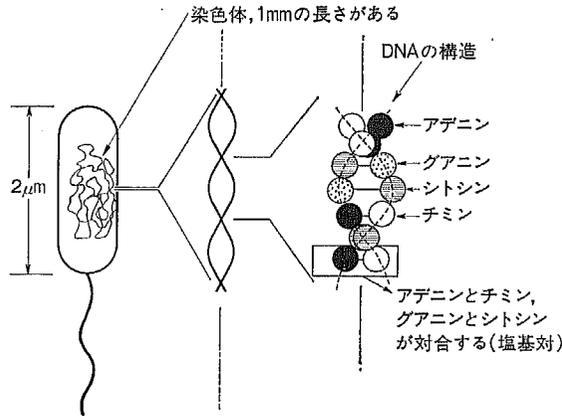


図3 緑膿菌と染色体

Cで発育するが至適温度は37°Cである。無機の窒素原(NH₃)と適当な炭素原とがあれば、発育に必要なすべてのアミノ酸、ビタミン類、プリンおよびピリミジン塩基などを自ら合成して増殖する。「適当な炭素原」と書いたがこれが問題で、緑膿菌を含む *Pseudomonas* 属の菌種は一般に非常に多種の物質を菌体内にとり込み、これらを炭素原およびエネルギー原とできるのが大きな特性である²⁶⁾²⁷⁾。この理由から、医学面を離れても、この特性は古くから生化学者の研究の対象となってきたし、また最近では微生物による環境浄化という面から注目されている。緑膿菌は各種の芳香族化合物(マンデル酸、キヌレニン、アントラニル酸、安息香酸、パラヒドロキシ安息香酸、カテコール、プロトカテキユ酸、キナ酸、シキミ酸、ワニリン酸)、芳香族アミノ酸(トリプトファン、チロシン)、アミノ酸(アルギニン、オルニチン、ヒスチジン、ロイシン、プロリン、ヒドロキシプロリン、リジン、β-アラニン、その他)、アミン(ヒスタミン、プトレスシン、スベルミン、アグマチン)、カルノシン、プリンおよびピリミジン塩基類、ブドウ糖を初め各種の炭水化物、エタノール、グアニジノプロピオン酸、コリンなど実に多岐にわたる。これらの物質の多くについては、すでにその分解経路が明らかにされている²⁸⁾。なお、著者らは臨床由来の緑膿菌のある株がサリチル酸を分解できることを報告した²⁹⁾。緑膿菌はまた、ゼラチン、カゼインなどを分解する蛋白質分解酵素を持ち、硝酸塩(NO₃)はN₂ガスにまで還元される。このような生化学的活性、特にその高いcatabolism能力が緑膿菌の自然界での栄養状態の厳しいところでの増殖を可能にし、また消毒剤などにも抵抗できる要因であろう。

VI 緑膿菌の遺伝学

今までに述べてきた緑膿菌の種々の特性も、この菌の染色体上にある遺伝子が整然と働いて発揮される訳である。緑膿菌はグラム陰性桿菌の1種で、大きさは2μm × 0.5μm程度で、細菌としては普通の大さきである。この2μmの菌体のなかに、菌の長さの500倍もある約1mmのヒモ状の染色体がグルグルと折りたたまれた状態が入っている。細菌のような原核細胞(prokaryote)では、真核細胞(eucaryote)の染色体のように核膜に包まれて存在するということはない。緑膿菌の場合、染色体の分子量は2.1 × 10⁹ daltonである(人間の染色体の約1/1,000)。また、細菌の染色体数は、人間が46、アサガオが30というような数え方をするならば、1つである。染色体の本体であるDNAに植め込まれている遺伝情報は、人間であれ緑膿菌であれ4種の塩基(アデニン、グアニン、チミン、シトシン)の配列で決められている(図3)。塩基の種類は4種だけであるが、それらの並び方はほとんど無数に近くある訳で、緑膿菌の場合には塩基対の数は3.5 × 10⁹位である。平均、1,000~2,000個の塩基対から1つの遺伝子が構成されるとすれば、緑膿菌の染色体上には理論的に2,500~3,000の数の遺伝子があることになる。細菌は二分裂を繰り返しながら増殖するが、有糸分裂のような過程はない。染色体の倍化に伴い細菌細胞は二分裂する。これに要する時間(世代時間)は、細菌の種類と培養条件によるが、20分~40分である。突然変異(mutation)がおきなければ親と同じ細胞だけが無限に増えてゆく訳であるが、細菌では自然突然変異が10⁷の塩基対当たり1つの率でおきる。突

然変異体 (mutant) は、ある1つの遺伝形質が何コの遺伝子の働きによって発現されているかによるが、たとえば緑膿菌のストレプトマイシン耐性変異株は $10^8 \sim 10^9$ の細胞当たり1コの率で検出される。この率は日本人のなかの誰か1人にだけあることがおきる確率に近く、 10^8 に1つといえば地球上で1~4人である。しかし、細菌は何よりも世代時間が短かく、また非常に多数の個体を容易に扱えるから、この程度の頻度で出現する mutant でも検出することが可能であるので、細菌は遺伝学研究のよい材料の1つとなっている。

細菌は2分裂で増殖している限り、高等生物でいう意味の性、有性生殖は存在しない。しかし、約40年程前に Lederberg は大腸菌のある株 (K12株) を使った実験で、細菌でも遺伝子の交換がおきることを発見した。この事実は相互に遺伝的特性の異なる2種の菌株を混合培養すると、それらの両者の特性の一部づつを併せ持つ雑種 (hybrid) が出現することから証明された³⁰⁾。この大腸菌での遺伝子組み換えには菌細胞間での接合 (conjugation) が必要であり、その後の研究から染色体伝達は一方の側の菌、donor から他方の菌、recipient にと一方向に向かってだけおき、この donor には recipient では認められない、Fプラスミドと呼ばれている特殊な遺伝因子が存在することが明らかとなった。FプラスミドのFは fertility に由来し、以前はF因子 (factor) と呼ばれていたし、sex factor とも称されていた。この現象を利用すると、種々の変異株を組み合わせて、どのような組換え体 (recombinant) が現れるかを調べることにより、ある変異が染色体の何処でおきたかを知ることができるし、その種のデータを集積すると染色体地図の作製が可能である。どのような理由で Lederberg がK12株を彼らの実験に使ったのかは知らないが、実はこれは本当に幸運なことであった、というのはFプラスミドのような遺伝因子を持つ大腸菌は自然界にはむしろまれな存在なのである。こうして始められた細菌遺伝学の研究は急速に進み、遺伝学、分子生物学、生化学などの分野に多数の貴重な知見を提供することになる。今日よく耳にする biotechnology とか遺伝子のクローニングといった先端技術も、細菌遺伝学で築かれた基礎知識の上に立っていると申しても過言ではない。

その後、緑膿菌でも大腸菌と類似した染色体の組み換えの現象がおきる事がオーストラリアの Holloway によって1955年に報告された³¹⁾。緑膿菌でも大腸菌のFプラスミドに相当する遺伝因子が認められ、

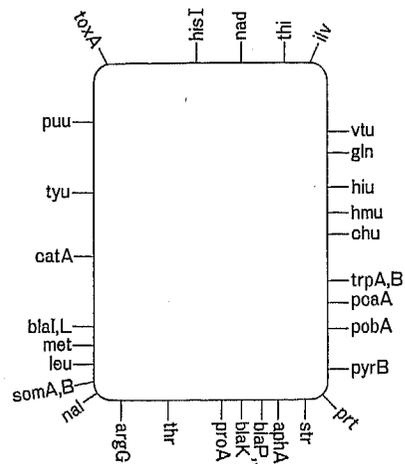


図4 緑膿菌の染色体地図 (抜粋したもの)

最新の緑膿菌の染色体地図³²⁾には約200の遺伝子座が示されており、この図はその抜粋である。遺伝子記号の意味は次のとおりである。

his ヒスチジン生合成, *nad* ニコチン酸生合成, *thi* チアミン生合成, *vtu* ワニリン酸分解, *gln* グルタミン生合成, *hmu* ヒスタミン分解, *hiu* ヒスチジン分解, *chu* コリン分解, *trp* トリプトファン生合成, *pca* プロトカテキユ酸分解, *pob* パラヒドロキノン酸分解, *pyr* ビリミジン生合成, *prt* ビオニン産生, *str* ストレプトマイシン耐性, *aph* アミノ配糖体リン酸化酵素, *bla* β-ラクタマーゼ産生, *pro* プロリン生合成, *thr* スレオニン生合成, *arg* アルギニン生合成, *nal* ナリジキノン酸耐性, *som* O抗原形成, *leu* ロイシン生合成, *met* メチオニン生合成, *cat* カテコール分解, *tyu* チロシン分解, *puu* プリン塩基分解, *tox* exotoxin A 産生, *ilv* イソロイシン・バリン生合成

この方は *Pseudomonas* に因んで FP と命名された。途中の経過は省略するが、現在までに明らかにされている緑膿菌の染色体地図を図4に掲げてみた。本誌の読者には細菌の染色体の地図に接するのは初めての方も多いと思うが、大腸菌の染色体地図の場合には約1,000の遺伝子座が示されている精緻なものであり、黄色ブドウ球菌やリン菌のものもある³²⁾。これは著者の考えであるが、将来はある細菌の研究を行う際には、まずその菌の染色体地図を調べて、研究目的に適した菌株を選ぶ時代が来ると思う。

この染色体地図を眺めながら、先に述べてきた緑膿菌の特性に関係した著者らの遺伝学的研究についてふ

れてみたい。

著者らも1970年頃から緑膿菌の遺伝実験を始めた。最初に手掛けたのは緑膿菌の血清型（O抗原の血清学的特異性）を決定している遺伝子の検索であった。これは当時、緑膿菌の血清型は継代培養で変化する不安定なものであるという説があり、そのことを遺伝学的に調べてみようと考えたからである。この説が本当であれば疫学調査に血清型別を行う意義は薄れる訳である。その研究の結果、緑膿菌の血清型を決めている遺伝子は、腸内細菌（サルモネラなど）と同じように染色体上に存在し、関係した2種の遺伝子 *som A* と *som B* の位置も明らかになり、血清型は安定した遺伝学的性状の1つであることが確認された³⁵⁾。この実験の過程で著者らは Holloway 博士の FP2 プラスミドとは別の新しい FP プラスミド、FP5 プラスミドを発見した³⁴⁾。この FP5 プラスミドは、染色体の伝達頻度が FP2 プラスミドより高く、FP2 プラスミドを使ったときは難しかった領域の解析に役立つことになった³⁵⁾。

次に著者らは緑膿菌の特性の1つである「種々の物質を分解できる性状」すなわち catabolism に関係している遺伝子の mapping を試みた。

実は *Pseudomonas* 属菌種では catabolism に関係する遺伝子は染色体のある特定の狭い領域に集中して存在しているという Wheelis の有名な説³⁶⁾があった。そうだとすると、その染色体領域には特定の遺伝子が集中しやすい特殊な塩基配列が存在するのかも知れないし、またその領域は将来、種々の物質の catabolism に有用な遺伝子のクローニングを試みる際にも注目すべき領域ということになる。しかし、Wheelis の説は不十分なデータに基づいているとも考えられた。種々の芳香族化合物、アミノ酸類、アミン類、ジカルボン酸類、プリン塩基などの分解に関係している遺伝子の mapping の成績³⁷⁾⁻³⁹⁾からは、それらの遺伝子は染色体上に広く散在していることが明らかとなった。したがって Wheelis の説は少なくとも緑膿菌に関する限りは正しくないと考えられる。

緑膿菌は第1世代のセファロスポリン類に耐性であ

るが、それはこの菌の染色体上にある *bla* と呼ばれる遺伝子の支配で産生されている β -ラクタマーゼ（セファロスポリナーゼ）による薬剤の分解が主な理由であると考えられてきた¹⁵⁾。この酵素は基質（ β -ラクタム剤）の存在下でのみ産生される、1種の誘導酵素であるが、その産生の制御機構は未だ不明である。著者らはこの β -ラクタマーゼ産生の遺伝機構を調べているが、現在までに5種の *bla* 遺伝子 (*bla P, J, I, K, L*) が2群に分かれて染色体上に存在することを確認した⁴⁰⁾。

続いての実験では、種々の *bla* 変異を持つ株を染色体の組み換えで作ってみて——ここが細菌遺伝実験のよい点の1つで、自分の希望する遺伝子を持つ株をかなり自由に作れる——*blaP* は β -ラクタマーゼそのものをコードしている構造遺伝子であり、*blaJ* は *blaP* の operator 遺伝子、そして残りの3種が誘導に関係している制御遺伝子であること、そして *blaI* と *blaK* 遺伝子産物は *blaJ* に作用する repressor 様の物質であろうこと、誘導物質（この場合は β -ラクタム剤）に反応するのは *blaI* と *blaK* 遺伝子産物ではなく、*blaL* の遺伝子産物であろう、という複雑な制御機構のモデルが浮かび上がってきた。

VII おわりに

著者はこの綜説で、緑膿菌の特性、特に感染と関係ある性質を述べ、次いで自分の研究分野である緑膿菌の遺伝学について述べてみた。これはいきなり緑膿菌の遺伝学の話をするより、むしろ今日の感染症で重要な起炎菌である緑膿菌の特性をまず強調したかったからである。しかし、どちらも中途半端になった感じが否めないのは残念である。緑膿菌で代表されるような菌種による感染は、高齢化社会の到来、臓器移植患者の増加、化学療法剤やステロイド剤の多用といった背景を考えると、今後とも重要な問題であろう。また観点を変えると、緑膿菌は物質代謝、特に catabolism に有用な遺伝子のクローニングなどに利用できる菌でもある。今後、この菌について各方面からの研究が望まれる。

文 献

- 1) Gessard, C. : Sur le colorations bleue et verte des linges à pansements. C R Acad Sci (D) (Paris), 94 : 536-538, 1882
- 2) 徐慶一郎, 街風喜雄, 三辺武右衛門, 飯田広美 : 緑膿菌感染症に関する研究. (1) 新生児中耳炎の多発について. Chemotherapy, 14 : 313-318, 1966
- 3) 田村茂博, 小谷幸雄 : 緑膿菌による角膜膿瘍の5例. 臨床眼科, 19 : 107-111, 1965

- 4) Ayliffe, G.A., Lowbury, E.J., Hamilton, G.J., Small, J.M., Ashshov, E.A. and Parker, M. T. : Hospital infection with *Pseudomonas aeruginosa* in neurosurgery. *Lancet*, 2 : 365-368, 1965
- 5) Pruitt, B.A. Jr. and Lindberg, R.B. : *Pseudomonas aeruginosa* infections in burn patients. In : Doggett, R.G. (ed.), *Pseudomonas aeruginosa*; Clinical Manifestations of Infection and Current Therapy, pp.339-366, Academic Press, New York, 1979
- 6) Levin, R.A., Weinstein, C.N., Selander, R.K., Ochman, H. and Kabins, S.A. : Association of infection caused by *Pseudomonas aeruginosa* Serotype O11 with intravenous abuse of pen-tazocin mixed with tripeleennamine. *J Clin Microbiol*, 20 : 758-762, 1984
- 7) Huang, N.N. and Doggett, R.G. : Antibiotic therapy of *Pseudomonas* infection in patients with cystic fibrosis. In : Doggett, G.R. (ed.), *Pseudomonas aeruginosa*; Clinical Manifestations of Infection and Current Therapy, pp.409-444, Academic Press, New York, 1979
- 8) Liu, P.V. : Toxins of *Pseudomonas aeruginosa*. In : Doggett, G.R. (ed.), *Pseudomonas aeruginosa*; Clinical Manifestations of Infection and Current Therapy, pp. 63-88, Academic Press, New York, 1979
- 9) 平山寿哉, 野田公俊 : 緑膿菌ならびにブドウ球菌ロイコシジンに関する研究. *日本細菌学雑誌*, 39 : 849-863, 1984
- 10) Igléwsky, B.H. and Kabat, D. : NAD-dependent inhibition of protein synthesis by *Pseudomonas aeruginosa* toxin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 72 : 2284-2288, 1975
- 11) Kawakami, Y., Mikoshiba, F., Nagasaki, S., Matsumoto, H. and Tazaki, T. : Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* possessing R factor in a hospital. *J Antibiot (Tokyo)*, 25 : 607-609, 1972
- 12) Iyobe, S., Hasuda, K., Fuse, I. and Mitsuhashi, S. : Demonstration of R factors from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 5 : 547-552, 1974
- 13) Jacoby, G.A. : Plasmids of *Pseudomonas aeruginosa*. In : Doggett, G.R. (ed.), *Pseudomonas aeruginosa*; Clinical Manifestations of Infection and Current Therapy. pp. 271-307, Academic Press, New York, 1979
- 14) Hancock, R.E.W. : Alterations in outer membrane permeability. *Ann Rev Microbiol*, 38 : 237-264, 1984
- 15) Bryan, L.E. : Resistance to antimicrobial agents : The general nature of the problem and the basis of resistance. In : Doggett, G.R. (ed.), *Pseudomonas aeruginosa*; Clinical Manifestations of Infection and Current Therapy. pp. 219-270, Academic Press, New York,
- 16) Okii, S., Iyibe, S. and Mitsuhashi, S. : Mapping of the gene specifying aminoglycoside 3'-phosphotransferase II on the *Pseudomonas aeruginosa* chromosome. *J Bacteriol*, 155 : 643-649, 1983
- 17) Umezawa, Y., Yagisawa, M., Sawa, T., Tekeuchi, T., Umezawa, H., Matsumoto, H. and Tazaki, T. : Aminoglycoside 3'-phosphotransferase III, a new phosphotransferase ; resistance mechanism. *J Antibiot (Tokyo)*, 28 : 845-853, 1975
- 18) Godfrey, A.J. and Bryan, L.E. : Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to new β -lactamase resistant β -lactams. *Antimicrob Agent Chemother*, 26 : 485-488, 1984
- 19) Seeberg, A.H., Tolxdorff-Neutzling, R.M. and Wiedemann, B. : Chromosomal β -lactamases of *Enterobacter cloacae* are responsible for resistance to third-generation cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother*, 23 : 918-925, 1983
- 20) 全田 浩, 太田 伸 : 最近の院内消毒薬の効果について. *臨床泌尿器科*, 35 : 627-636, 1981
- 21) Favero, M.S., Carspn, L.A., Bond, W.W. and Petersen, N.J. : *Pseudomonas aeruginosa* : Growth in distilled water from hospital. *Science*, 173 : 836-838, 1971
- 22) 松本顯樹 : 緑膿菌の血清型別. *臨床と細菌*, 4 : 203-209, 1977
- 23) Liu, P.V., Matsumoto, H., Kusama, H. and Bergan, T. : Survey of heat-stable, major somatic antigens of *Pseudomonas aeruginosa*. *Intern J Syst Bacteriol*, 33 : 256-264, 1983
- 24) Brokopp, C. and Farmer III, J.J. : Typing methods for *Pseudomonas aeruginosa*. In : Doggett,

- G.R. (ed.), *Pseudomonas aeruginosa*; Clinical Manifestations of Infection and Current Therapy, pp. 89-133, Academic Press, New York, 1979
- 25) Matsumoto, H., Tazaki, T. and Kato, T. : Serological and pyocin types of *Pseudomonas aeruginosa* from various sources. *Jpn J Microbiol*, 12 : 111-119, 1968
 - 26) Stanier, R. Y., Palleroni, N. J. and Doudoroff, M. : The aerobic Pseudomonads ; a taxonomic study. *J Gen Microbiol*, 43 : 159-271, 1966
 - 27) Palleroni, N. J. : Gram-negative aerobic rods and cocci; Family I. *Pseudomonaceae*. In : Krieg, N. R. and Holt, J. G. (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, pp. 141-211, Williams and Wilkins, Baltimore, 1984
 - 28) Clarke, P. H. and Ornston, L. N. : Metabolic pathways and regulation I, and II. In : Clarke, P. H. and Richmond, M. H. (eds.), *Genetics and Biochemistry of Pseudomonas*, pp. 191-340, John Wiley and Sons, London, 1975
 - 29) Ohta, S., Matsumoto, H. and Terawaki, Y. : Clinical isolate of *Pseudomonas aeruginosa* that degrades salicylate by the *ortho* pathway. *Appl Environ Microbiol*, 41 : 312-314, 1981
 - 30) Lederberg, J. : Gene recombination and linked segregations in *Escherichia coli*. *Genetics*, 32 : 505-525, 1947
 - 31) Holloway, B. W. : Genetic recombination in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Gen Microbiol*, 13 : 572-581, 1955
 - 32) O'Brien, S. J. (ed.) : Genetic Maps, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, 1984 を参照されたい。この本にはウイルス、細菌、植物、動物（昆虫、魚類、ネコ、犬、人間など）の最新の染色体地図が網羅されている。
 - 33) Matsumoto, H. and Hashimoto, T. : Serotypic recombination in *Pseudomonas aeruginosa*. In : Mitsuhashi, S. and Hashimoto, H. (eds.), *Microbial Drug Resistance*, pp. 281-290, University of Tokyo Press, Tokyo, 1975
 - 34) Matsumoto, H. and Tazaki, T. : FP5 factor, an undescribed sex factor of *Pseudomonas aeruginosa*. *Jpn J Microbiol*, 17 : 409-417, 1973
 - 35) Royle, P., Matsumoto, H. and Holloway, B. W. : Genetic circularity of the *Pseudomonas aeruginosa* PAO chromosome. *J Bacteriol*, 145 : 145-155, 1981
 - 36) Wheelis, M. L. : The genetics of dissimilatory pathway in *Pseudomonas*. *Ann Rev Microbiol*, 29 : 505-524, 1975
 - 37) Matsumoto, H., Ohta, S., Kobayashi, R. and Terawaki, Y. : Chromosomal location of genes participating in the degradation of purines in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Gen Genet*, 167 : 165-176, 1978
 - 38) Matsumoto, H., Nakazawa, T., Ohta, S. and Terawaki, Y. : Chromosomal locations of *catA*, *pobA*, *pcaA*, *dcu* and *chu* genes in *Pseudomonas aeruginosa*. *Genet Res*, 38 : 251-266, 1981
 - 39) Haas, D., Matsumoto, H., Moretti, P., Stalon, V. and Mercenier, A. : Arginine degradation in *Pseudomonas aeruginosa* mutants blocked in two arginine catabolic pathways. *Mol Gen Genet*, 193 : 437-444, 1984
 - 40) Matsumoto, H. and Terawaki, Y. : Chromosomal location of the genes participating in the formation of β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. In : Mitsuhashi, S. (ed.), *Drug Resistance in Bacteria*, pp. 207-211, Japan Scientific Society Press, Tokyo, 1982

(59. 12. 24 受稿)