

クラミジアの持続感染と宿主アポトーシス制御、そして多様な慢性感染症

東 慶直

要旨

クラミジアはヒトをはじめとする動物細胞中でのみ増殖可能な偏性細胞内寄生性細菌で、ヒトにおける多様な疾患の原因・増悪要因となる。たとえば、肺炎クラミジアは世界的に成人の60%以上が罹患歴を持ち、その持続感染は喘息や動脈硬化症の発症・増悪の原因となる。また、クラミジア・トラコマティスは先進国において成人の数%が性器感染しており、その慢性感染は子宮外妊娠や不妊症の原因となる。さらに、トラコマティスは眼結膜炎を引き起こし、その慢性化が原因となり発展途上国では年間数百万人が失明している。このようにクラミジアは宿主動物の免疫系によって駆逐されず、また宿主を直接的に死に至らしめることもなく感染と増殖を繰り返している。この巧みな感染機構の解明をめざし、生化学解析やゲノム解析が進められている。ここでは、クラミジアの持続感染と、その持続感染に重要な意味を持つ宿主アポトーシスの制御に関する研究を紹介する。

キーワード

クラミジア、持続感染、アポトーシス、動脈硬化、慢性感染症

1. クラミジアについて

クラミジア科細菌は主に哺乳動物や鳥類から分離されており、現在認知されている1属9種全てが偏性細胞内寄生性細菌である(図1、注1)(1)。特に、肺炎クラミジアは宿主域が広く、ヒト以外にカエルなどの両生類や、カメやヘビ、イグアナ、カメレオンなどは虫類、コアラ、ウマからの分離報告がある(2)。ヒトへの感染が問題となるおもなクラミジアとしては表1に示すように、性行為感染症クラミジア(*Chlamydia trachomatis*、以下、トラコマティス)、オウム病クラミジア(*Chlamydia psittaci*)、肺炎クラミジア(*Chlamydia pneumoniae*)の3菌が挙げられる。トラコマティスは世界中で性行為感染症の最も重大な原因菌であり、その慢性感染は骨盤内炎症性疾患や不妊の原因ともなる(3)。また、眼結膜炎の起炎菌であり、発展途上国ではその慢性感染が失明の重大原因ともなっている(4)。オウム病クラミジアは鳥類では不顕性であることも多いが、ヒトでは感染鳥類の排泄物や羽毛の中の菌の吸入により感染し、間質性肺炎などオウム病の原因菌となる(5)。肺炎クラミジアは1989年に同定された新しい細菌種だが、多くの国で成人の50%以上(6)が抗血清を保有する風邪や肺炎の原因菌で、その持続感染は喘息や動脈硬化などの発症・増悪に関与する(7)。

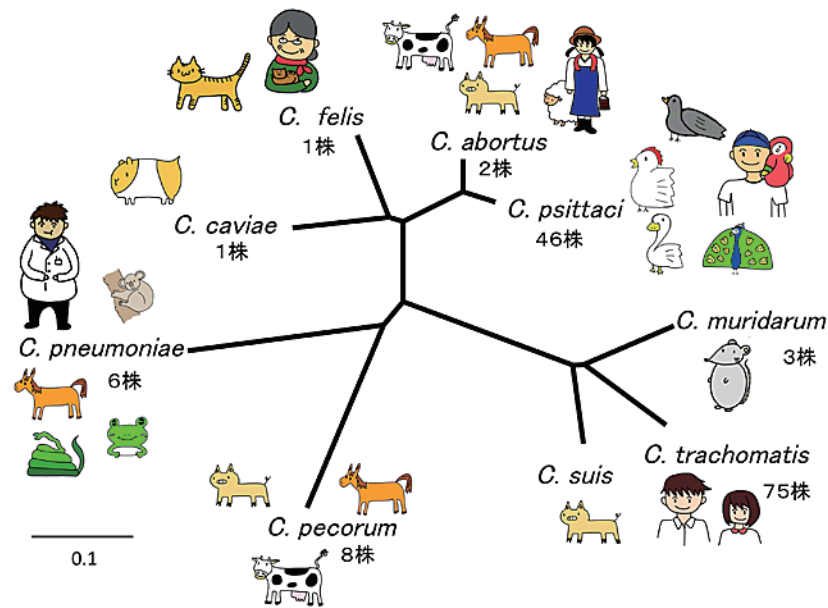


図1 クラミジア科細菌（1属9種）のリボソームオペロンのDNA配列に基づく進化系統図と宿主動物（宿主動物のイラストは、著者研究室に所属する大学4年生の西村芽伊、野田麻友による。）

表1 クラミジアの種類と疾患

学名・通称名	ヒトでの 急性疾患	慢性疾患・関連疾患	特徴
<i>C. pneumoniae</i> 肺炎クラミジア	カゼ 気管支炎 肺炎	動脈硬化症・虚血性心疾患 喘息、関節炎 慢性閉塞性肺疾患	成人の約60%が抗体保有。 1989年新種として確立。 全肺炎の約10%に関与。
<i>C. trachomatis</i> トラコマティス 性行為感染症 クラミジア	性行為感染症 結膜炎 新生児肺炎	不妊症、子宮外妊娠 鼠径リンパ肉腫芽 骨盤内感染症 失明	女性では自覚症状に乏しい。 健康妊婦の約5%が保有。 HIV感染を3-4倍に増加。 発展途上国での失明の第一原因。
<i>C. psittaci</i> オウム病クラミジア	カゼ、肺炎 結膜炎	心筋炎、髄膜炎	高齢者の致命率が高い。 人畜共通感染症。
<i>C. felis</i> ネコ・クラミジア	肺炎	心筋炎	ネコ結膜炎の代表原因菌。 ヒトには低病原性。

注1) クラミジアの分類体系について歴史的もしくは研究背景に従って正確に記載すると極めて煩雑になり、クラミジア研究者もしくは微生物の分類学研究者以外にはほとんど意味をなさない。ここでは簡単に紹介する。1900年代初め頃に結膜炎やオウム病（現在のクラミジア病）の病原体の存在が科学的に認知され、その大きさと細胞内寄生性であることからその病原体はウイルスの一種として分類された。当時、野口英世もこの結膜炎の病原体を研究対象としている。1966年にこの病原体は細菌であることが明らかになり *Chlamydia* という属名が与えられ、*Chlamydia trachomatis* と *Chlamydia psittaci* が種として認知された。その後、Everett らはリボソーム RNA 遺伝子の配列解析に従いそれまでの *Chlamydia* 属を、*C. trachomatis* を含む *Chlamydia* 属と *C. psittaci* や *C. pneumoniae* を含む *Chlamydia* 属に分割することを提案した(10)。しかし、そもそも *Chlamydia* 属菌の性状や病理的所見に共通点の多いことから、この2属は2009年にふたたび1属に統合する提案がなされた。現在では多くのクラミジア研究者がこの *Chlamydia* 属の1属分類法を踏襲している(11)。2010年にEverett らの反論も発表され、近い将来にさらに分類方法が変更される可能性もある。

2. クラミジアの生活環

細胞内寄生性であるクラミジアは、感染宿主細胞内環境と外環境で異なる形態・機能を示し、特徴的な二相性生活環を持つ(図2)(8)。まず、代謝能は持たないが感染性の elementary body (EB)が宿主細胞に定着し、宿主の食作用や飲作用によって受動的に宿主細胞に取り込まれることから感染が開始する。そのEBの大きさは約 $0.2 \sim 0.4 \mu\text{m}$ で、細胞質には凝縮したヌクレオイドと大量のリボソームを含み、内外2重の膜に覆われている。ペプチドグリカン層は電子顕微鏡では観察されない。感染後約2-3時間で、食胞中のEBは、感染性は持たないが増殖性を有する大きさ約 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$ の reticulate body (RB)へ形態変化をする。この時、食胞膜はクラミジアの封入体膜タンパク質によって封入体膜として再構築される。その封入体膜はリソソームの融合を阻害し、ゴルジ体からの小胞によってエネルギーや膜成分の供給を受ける。RBは2分裂増殖を行い、封入体あたり約1000菌体数にまで増殖する。それに伴い封入体も巨大化し、宿主の核と同等の大きさになる。増殖阻害などのストレスがない場合は、RBは再び形態変化を行いEBとなる。EBは、宿主細胞および封入体の崩壊に従って放散されるか、封入体が出芽するように宿主細胞から放出され、次の感染に向かう(9)。性行為感染症クラミジアではこの感染の1サイクルが約2日間、肺炎クラミジアの場合は約3日間である。

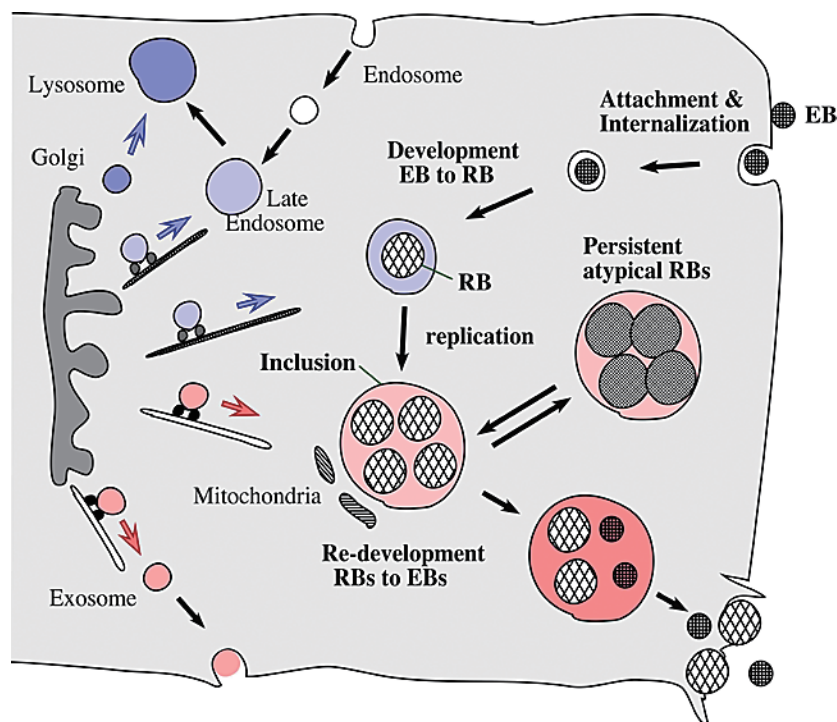


図2 クラミジアの宿主細胞内での生活環における形態変化の模式図

3. クラミジアの持続感染

微生物の感染が長期にわたって続く場合、特に急性感染と比較して、その感染状態を慢性感染 (chronic infection)、潜伏感染 (latent infection)、持続感染 (persistent infection)と表現することがある。これらの感染状態の明確な定義はなく、クラミジアの感染においても混乱して用いられている場合がある (12)。クラミジ

アの研究において慢性感染は、トラコマティスによる失明に至る眼結膜炎 (13)や新生児肺炎 (14)における感染状態の表現に使用されてきた。潜伏感染は、オウム病クラミジアの保菌鳥類での感染が不顕性であることが多いのに比較して、ペットから感染を受けた人が重篤な疾患を示すことから、その保菌動物におけるクラミジアの感染状態を示す言葉として使用された (15)。一方、持続感染は、マウスの L 細胞を用いた *in vitro* の感染実験系において、当時の技術では検出不可能な感染状態を表現するために使用された (16)。現在では、長期感染による病態を表現する際に「慢性感染」が、細胞内での非増殖の感染状態を「持続感染」とすることが多い。ただし、クラミジアの場合には感染の終息後に再感染することが多く、その感染と再感染までの期間に外部からの感染を受けていないと考えられる際には、その不顕性感染期間を持続感染していたと表現することもある。

1970 年に松本らはクラミジアの *in vitro* 感染実験系にペニシリンを添加するとクラミジアの増殖は停止し、RB が非典型的な大きな RB (aRB) に形態変化することを電子顕微鏡観察によって明らかにした (図 2) (17)。その後、二分増殖期にインターフェロン- γ (IFN- γ) (18)や TNF- α などの添加、もしくは鉄イオンなどの栄養を枯渇 (19)するによってもクラミジアの増殖が停止し、RB は同様に非典型的な巨大な aRB に形態変化することが示された。これらの抗生剤やサイトカインを除去することにより、aRB は典型的な RB に形態変化し二分増殖を再開する。この「非典型的な大きな RB への形態変化と増殖の停止」が、*in vitro* 感染実験系における持続感染として広く認知されるようになった (18)。クラミジアの種類や宿主細胞の種類、感染のコンディションによっては、増殖が停止する場合の封入体や RB の形態には多様性があることも示され、持続感染の定義づけはなされていない。また、人の疾患における急性感染と対比される長期間の感染状態を模倣するモデル実験系であるかどうか議論の余地がある (12)。

4. 肺炎クラミジアと動脈硬化

肺炎クラミジアは世界的に広がる軽度な風邪や肺炎の起炎菌であり、感染者から飛沫により感染が広がる (図 3)。市中肺炎の約 10%の原因となる以外に、喘息や慢性閉塞性肺疾患 (COPD) などの慢性呼吸器疾患の増悪にも関与することが知られている。また、健常者においても成人の 50%以上が罹患経験を持つ (6)。肺炎クラミジアはこれら呼吸器疾患の原因となるだけでなく、動脈硬化症や虚血性心疾患 (20)、心筋炎 (21)、多発性硬化症 (22)、アルツハイマー症 (23)などの発症や増悪因子でもある。呼吸器でのクラミジア感染が全身に広がる機構や動脈硬化との関係は未だ不明な点も多いが、以下に示す学術的知見から図 3 に示すようなストーリーが描かれている。まず、呼吸器でクラミジアの感染除去に働いたマクロファージがその一部の消化に失敗し、クラミジアがマクロファージ中で持続感染を成立する。そのマクロファージが動脈の損傷部位などに誘導された時、クラミジア感染を血管内皮細胞や平滑筋細胞に広げ、動脈硬化の原因となる。

学術的知見としては、まず、大規模疫学調査によって肺炎クラミジアと動脈硬化の発症・悪化の強い相関が示され (24)、動脈硬化部位における肺炎クラミジアの観察 (25)や菌の分離同定 (26)、動物をもちいた感染発症実験 (27)などにより肺炎クラミジア感染と虚血性心疾患の関連が実証された (20)。筆者らも 100 人の心筋梗塞の患者から得られた動脈硬化巣の試料を分析し、その全てで著しいクラミジア感染を確認している (結果の一部を、図 3 右下に示す)。さらに、肺炎クラミジアは動脈硬化に関係する単球やマクロフ

マクロファージ、大動脈平滑筋細胞、血管上皮細胞に感染する (28)。その細胞感染は炎症性サイトカインの分泌を促進し (29)、さらに肺炎クラミジアの感染はマクロファージによる脂質の取り込みと泡沫細胞化を促進することが報告されている (30)。それを受け欧米を中心に抗生物質投与による虚血性心疾患の大規模予防調査 (WIZAD, PROVEIT, ACES 等) が行われた。抗生物質投与による虚血性心疾患のリスク低減が可能とする報告もあるが (31)、現在のところ概ね無効であることが結論づけられている (32)。同時期に現在広く使用されている抗生剤は肺炎などのクラミジアの急性感染には有効であるが持続感染 (慢性感染) には無効であること示された (33)。クラミジアの持続感染の抑制に有効な抗生剤の新規開発が必要とされている。

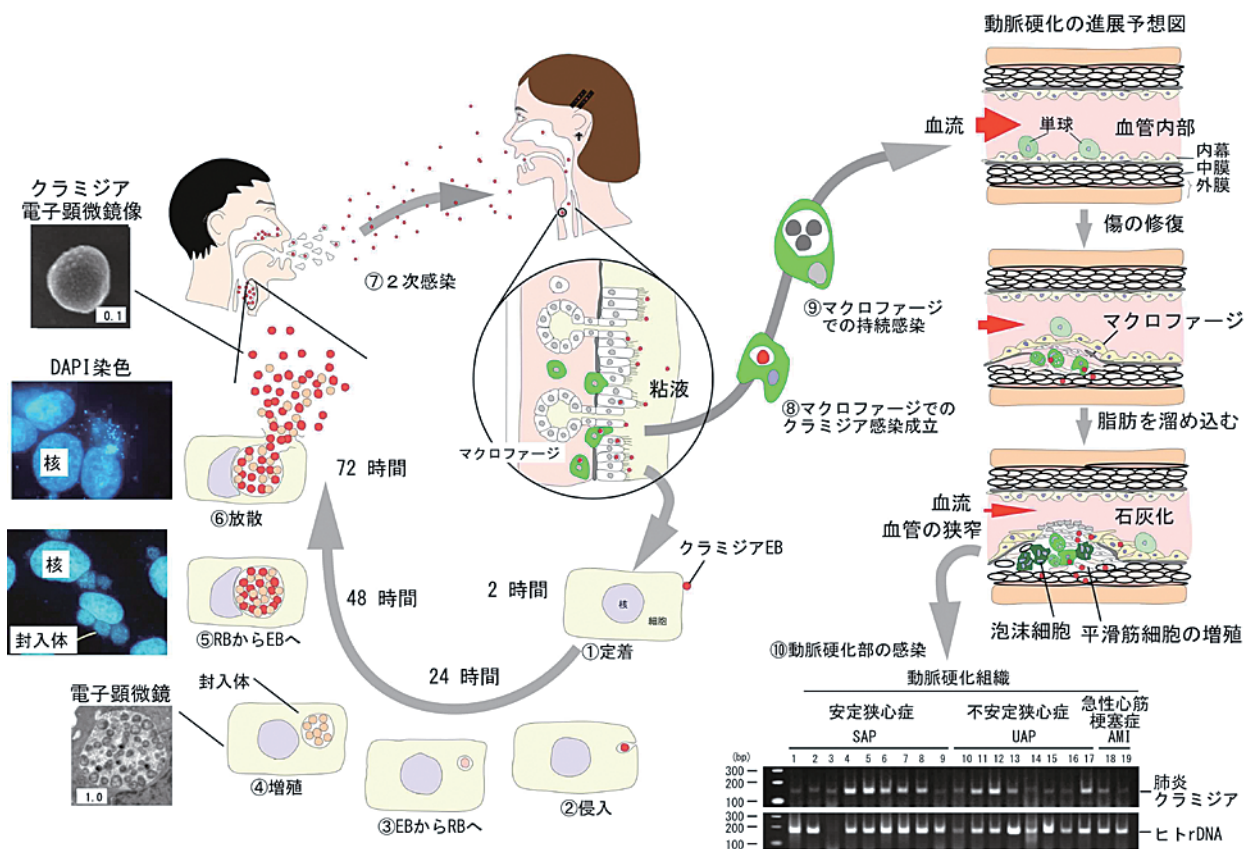


図3 肺炎クラミジアの急性感染とマクロファージへの持続感染を経由する動脈硬化巣でのクラミジア感染の模式図。

5. クラミジア感染における宿主アポトーシス動態

アポトーシスは不可逆的に進行する管理・プログラムされた細胞死の一種で、多細胞生物の個体の恒常性維持のために、細胞内外からの物理的・生理的な様々な刺激に対して積極的に引き起こされる。アポトーシス進行時の細胞の形態的特徴として、細胞の収縮、核の凝縮、DNA断片化、アポトーシス小胞の形成 (細胞膜の小胞化) があり、最終的に細胞はマクロファージに貪食される (34)。アポトーシスには主に2つの経路が存在し、それぞれの経路で異なるカスパーゼがシグナルに反応して活性化し、下流に位置する不活性型のカスパーゼ3を活性化することでシグナルが伝達される (図4)。TNFなどのサイトカインもしくはFasリガンドなどに反応する外因性シグナル経路 (extrinsic pathway) では、受容体の活性化に従いカス

パーゼ8とカスパーゼ10が活性化され、不活性型カスパーゼ3を活性化する。もう一方のミトコンドリアの異常を起点とする内因性シグナル経路 (intrinsic pathway) では、ミトコンドリアから細胞質に漏出したシトクロムCとApaf-1が不活性型カスパーゼ9とアポトソームを形成し、カスパーゼ9が活性化される。この活性化カスパーゼ9が不活性型カスパーゼ3を活性化する (35)。この他、細胞傷害性T細胞がターゲットとする細胞にグランザイムBを注入し、カスパーゼ-3などを直接活性化される経路も存在する。活性化カスパーゼ3は、さらにカスパーゼ6や7を活性化するとともに、核内のラミンやDNA分解酵素CADを抑制するICAD/DFF45、DNAの修復に係わるポリ(ADP)リボースポリメラーゼ (PARP)などの様々なタンパク質の分解を実行し、核の凝縮やDNA断片化などのアポトーシスを進行させる (36)。

多くの病原性細菌にとって宿主細胞のもつアポトーシス機能を改編することは、宿主の免疫系を回避するために重要である。サルモネラや赤痢菌ではマクロファージに捕食された場合にマクロファージのアポトーシスを誘導し、結果的にマクロファージによる消化を回避している (37)。一方で、多くのウイルスが宿主のアポトーシスを阻害することが知られており、そのアポトーシス阻害に関与する多くの遺伝子も同定されている (38)。ウイルスと同様に偏性細胞内寄生性細菌であるクラミジアやリケッチアでは、宿主細胞のアポトーシスを抑制することにより免疫系を回避している (39)。宿主のアポトーシスを阻害することで、2-3日を要する細胞内での増殖を達成し、さらに免疫細胞による感染細胞の除去からも逃れていると考えられる。ただし、クラミジアの場合、宿主とクラミジアの種類や感染条件によっては、アポトーシスを促進する例も多数報告されており、カスパーゼ非依存的アポトーシスが促進されるケースも示されている (40)。

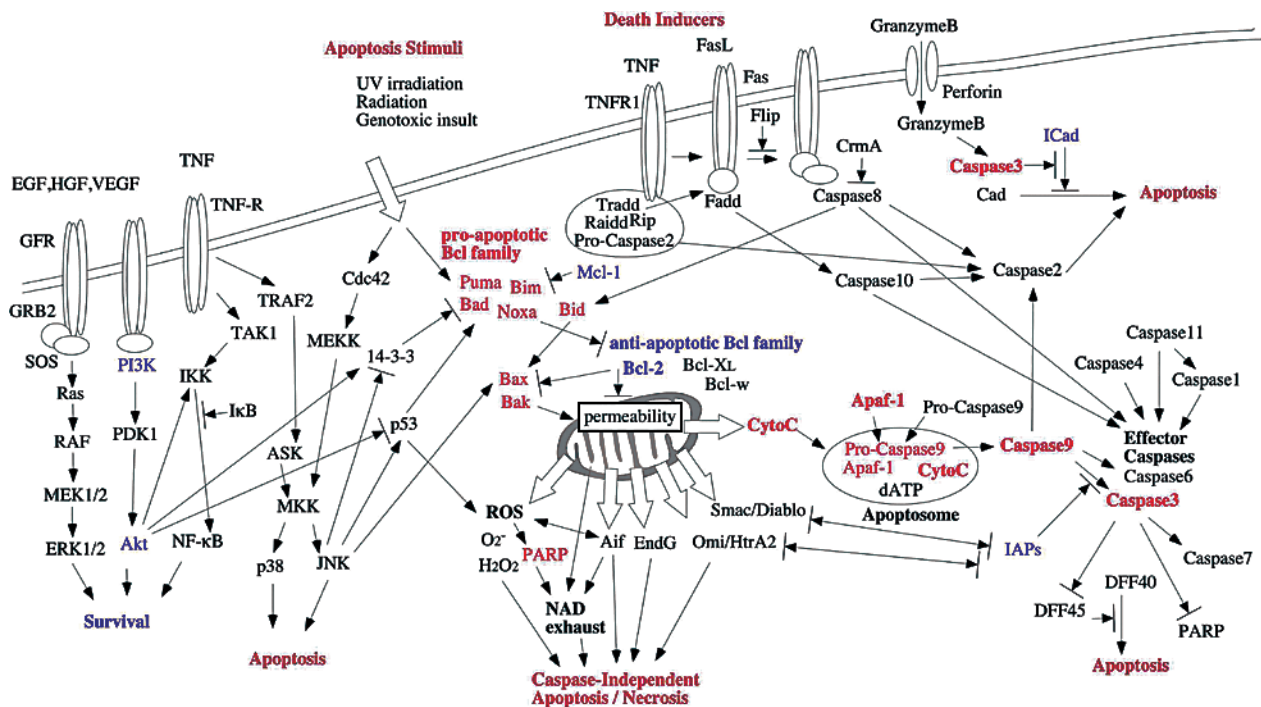


図4 ヒトのアポトーシス経路とその制御系の模式図

6. 肺炎クラミジア感染における宿主アポトーシス関連因子の動態

肺炎クラミジアは IFN- γ や抗生剤に暴露した際に、急性感染の状態から持続感染に感染形態を変化させる (18)。クラミジアによる宿主細胞のアポトーシス制御機構の理解が、この感染状態の変化を制御する機構の理解に繋がると考えられ、多くの研究グループでアポトーシス制御の研究が進められた。その多くの場合、スタウロスポリンなどの様々なアポトーシス促進物質の添加に対して、クラミジア感染がアポトーシスを阻害することが観察され、関連因子の同定が進められた。

クラミジア感染により、アポトーシスを抑制し細胞の増殖を誘導する MAPK/ERK (Raf/MEK/ERK) 経路と PI3K/AKT 経路が活性化され、それによりアポトーシス阻害に働く Bcl-2 ファミリーの Mcl-1 が安定化し、アポトーシスは阻害される (41)。また、Raf/MEK/MAPK/ERK 経路の活性化が、アポトーシス阻害に働く Bag-1 の発現を誘導することも示された (42)。これとは別に、アポトーシス誘導に働く Bcl-2 ファミリーの BH3-only タンパク質(Bik, Puma, Bim, Bad, Bmf, Noxa, Bid)が、クラミジア感染による分解も示されている (43-45)。アポトーシス阻害に働く因子の活性化とアポトーシス誘導に働く因子の分解により、シトクロム c のミトコンドリアからの漏出が阻害され (46)、結果としてアポトーシスが阻害されると考えられる。

一方、肺炎クラミジアの単球への感染で、ミトコンドリアの下流域で機能するアポトーシス阻害因子 cIAP-2 の発現が促進され、アポトーシスが抑制されることも明らかとなった (47)。このとき、cIAP-2、cIAP-1、x-linked IAP のヘテロ複合体が、肺炎クラミジアの感染時のアポトーシス阻害に重要であることも示されている(48)。最後に、癌細胞などでアポトーシスの誘導に寄与する核局在のジンクフィンガータンパク質である ZNF23 がクラミジア感染により封入体内部に輸送されることが示され、クラミジア感染によるアポトーシス阻害の一因となることが示唆された (49)。

7. クラミジアのゲノム解析

偏性細胞内寄生性細菌であるクラミジアの研究には、従来の遺伝学や生化学の手法の適用が困難であり、そのゲノム解析からクラミジアの理解が進められた。まず、世界各地で分離された肺炎クラミジアのうち、ヒトでの肺炎の起炎菌3株 (AR39 (50)、CWL029 (51)、J138 (52)) についてその詳細なゲノムDNA配列が決定され報告されている。その4株間には300ヶ所程度の挿入・欠落配列や1塩基変異が検出されるが、全体として1%以下の違いしかなく極めて類似している (53)。日本で分離されたJ138株では、ゲノムDNAは約123万塩基対からなり、1070タンパク質遺伝子をコードしている。クラミジア属細菌のゲノムサイズは、リケッチア属細菌と同様に細菌のなかでも非常に小さな部類に属し (54)、大腸菌の約4分の1であり、遺伝子数も約4分の1である (52)。

クラミジアのゲノムから特徴的な膜関連の遺伝子として、30-40の外膜タンパク質遺伝子と、50-70の封入体タンパク質遺伝子が同定され、宿主細胞を制御する機能や、免疫からの回避に重要な遺伝子であることが示唆されている。また、病原性因子の分泌に関与するIII型分泌系装置の遺伝子がゲノム上の数カ所にクラスターを形成して存在していた。これは、松本らが電子顕微鏡観察によって示したクラミジアEBの表層に存在するスパイク状の構造物をよく説明するものである (55)。また、クラミジアやウイルス、腫瘍細胞の増殖などに対する生体防御因子であるIFN- γ は、トリプトファン代謝酵素 (IDO)を誘導し、トリプトファンの存在量を一時的に低下させるにより、病原体の増殖抑制を実行するとされている。このIFN- γ は、肺

炎クラミジアには有効であるが、ネコ・クラミジアは抵抗性を示した (56)。ゲノム解析から、肺炎クラミジアではトリプトファン合成系遺伝子群が完全に欠落しているが、ネコ・クラミジアでこの遺伝子群を有していた。独自にトリプトファンを合成できる能力がIFN- γ に対する抵抗性として表現されていると考えられる (56,57)。各種クラミジアが有する遺伝子レパートリーや共通遺伝子の発現プロファイルを比較することにより、クラミジアの宿主特異性や症状の特異性を決定する遺伝子、もしくは持続感染を制御する遺伝子の同定が期待されているが、現在のところ明白になった例は多くなく、今後の重大な研究課題となっている。

8. 宿主アポトーシス制御に係わるクラミジア因子

宿主細胞のアポトーシス制御系のうち、クラミジア感染によって制御を受ける宿主因子の探索と同時に、その制御を実行するクラミジア因子の探索も様々な方法で進められている (58)。まず、宿主との相互作用に関与する因子は宿主生体内で抗原となると考えられることから、ヒトを含めたクラミジア感染動物の血清を用いてその抗原の同定が進められた。この成果は、複数の封入体膜タンパク質の同定に繋がった。また、細胞内寄生性細菌であるクラミジアでは非常に困難な手法ではあるが、クラミジアの外膜を分画し、膜タンパク質を精製する方法により、複数の外膜タンパク質の同定がなされた。さらに、クラミジアのゲノム DNA 配列情報が得られると、それら膜タンパク質に共通する特徴から、網羅的に遺伝子の同定が進み、生化学的な解析が行われた。一方、ゲノム解析によりクラミジアには III 型分泌系が存在することが示され、その系で分泌されるエフェクター探索も行われている。これらの研究成果は、細胞接着や細胞内の封入体の形成に係わる因子の同定に表れている (59)。

これとは別に、クラミジア感染によってIFN- γ 依存の主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) クラスIIの発現が阻害され、そのMHCクラスIIの発現に関与する転写因子CIITAの発現調節因子であるUSF-1のタンパク質存在量も低下することが発見された (60)。この場合、IFN発現調節因子IRF-1や血管内皮細胞表面のインテグリンリガンドICAM-1には影響がないことから、USF-1や同様にMHCクラスIIの発現調節因子であるRFX5を基質として、クラミジア感染細胞からのタンパク質分解酵素の探索が行われ、chlamydial protease- or proteasome-like activity factor (クラミジア特異的タンパク質分解酵素、CPAF)が同定された (61)。このCPAFはクラミジア科細菌にのみ保存されたセリンプロテアーゼであり (62)、クラミジア感染細胞では宿主細胞の細胞質中に分泌されていることが示された (60)。この発見の後急速に30種類くらいの宿主タンパク質がCPAFによって特異的に分解されることが報告され、CPAFは宿主の様々な機能の制御に関与することが示唆された (63)。たとえば、USF-1やRFX5と同様に、免疫反応において中心的役割を果たす転写因子NF κ Bのサブユニットであるp65/RelAも分解基質となり、炎症性サイトカイン (IL-1, IL-6)の発現阻害やマクロファージ中でのクラミジア増殖を抑制する誘導型一酸化窒素合成酵素の発現阻害に関与すると考えられた (64)。前項で記述したアポトーシス促進Bcl-2ファミリーのBH3-only protein (Bim, Puma, Bik)も基質となることが示され、クラミジア感染による宿主アポトーシスの制御の重要因子だと考えられた (65)。さらに、ゴルジ体タンパク質のgolgin-84 (66)、アクチンや中間径フィラメントタンパク質 (67)も基質となり、クラミジアが実行する細胞内寄生のための宿主細胞骨格の再構築を担うと考えられた。

しかし、基質候補が増加するにつれてCPAFの特異性が怪しくなると、宿主細胞中で管理されないタンパク質分解酵素の存在は異常だと考えられることもあり (68)、複数の研究室でCPAFの生理的な意味の再解析がなされた (69,70)。その解析の結果さえも食い違っている点があるが、概ねすべての基質候補はin vitroの実験条件、つまり細胞の可溶化の際の手技に依存するものであり、生理的な条件でのタンパク質分解は確認されなかった (69)。ただし、CPAF遺伝子の変異体では正常なEBの再生産が阻害されたこと、さらに中間径フィラメントであるビメンチンと核ラミン結合タンパク質 (LAP1) が基質となり得ることから、感染の後期もしくはRBからEBへの形態変化の時期にCPAFは一定の役割を担っていることが示唆された (70)。

以上のように、クラミジア感染における持続感染もしくは宿主細胞のアポトーシス抑制に関与するクラミジア因子は依然として未同定のままであり、ゲノム解析からも候補因子の同定は進んでおらず、今後の生化学的解析を待つことになる。

9. おわりに

肺炎クラミジアの感染症においては、抗生剤などの適切な投与により治癒可能な急性疾患である「呼吸器疾患」と治癒が極めて困難な「喘息」や「動脈硬化症」と結びつけるキーワードが「持続感染」だと考えられている。しかし、分子レベルでの関係解明には至っていない。トラコマティスの場合も同様で、治癒可能な急性疾患である「眼結膜炎」や「性器感染症」と「失明」や「子宮外妊娠」、「不妊」に至る慢性化の機構については不明な点だらけである。さらに、それらの病態を試験管内で模倣することが試みられているが、クラミジアや宿主細胞の種類、感染の条件によって感染状態が異なることから定式化できていない。

一方、クラミジアによる持続感染の成立にはクラミジアによる宿主アポトーシスの制御が重要な要素であり、複数のアポトーシス経路においてその抑制が観察されている。しかし、それで全てかどうか不明であり、今後も新たな制御系が発見されるかも知れない。さらに、それぞれのアポトーシス抑制が、実際にクラミジアの持続感染にどの程度寄与するのか不明である。クラミジア感染におけるアポトーシス阻害や炎症抑制に関与するクラミジア因子の同定に関しては、クラミジア特異的なプロテアーゼである CPAF が一手に担っているかのような研究報告が続いたが、近年報告されたように CPAF の機能が感染後期の EB の細胞からの放出に係わる程度である場合、改めてクラミジアの宿主制御因子の探索が必要となっている。クラミジアのゲノム情報はすでに十分報告されており、その約 1000 遺伝子の中に、クラミジアの極めて巧妙な感染・増殖を支える遺伝子が存在するはずであり、それら遺伝子の同定と疾患抑制のための利用が発展しなければならない。

10. 文献

- (1) Voigt, A., Schofl, G. and Saluz, H.P. (2012) The *Chlamydia psittaci* genome: a comparative analysis of intracellular pathogens. *PloS one*. **7**, e35097.
- (2) Bodetti, T.J., Jacobson, E., Wan, C., Hafner, L., Pospischil, A., Rose, K. and Timms, P. (2002) Molecular evidence to support the expansion of the hostrange of *Chlamydophila pneumoniae* to include reptiles as well as humans, horses, koalas and amphibians. *Systematic and applied microbiology*. **25**, 146-152.
- (3) Sherman, K.J., Daling, J.R., Stergachis, A., Weiss, N.S., Foy, H.M., Wang, S.P. and Grayston, J.T. (1990) Sexually transmitted diseases and tubal pregnancy. *Sexually transmitted diseases*. **17**, 115-121.
- (4) Taylor, H.R., Johnson, S.L., Schachter, J., Caldwell, H.D. and Prendergast, R.A. (1987) Pathogenesis of

- trachoma: the stimulus for inflammation. *Journal of immunology*. **138**, 3023-3027.
- (5) Beeckman, D.S. and Vanrompay, D.C. (2009) Zoonotic *Chlamydomphila psittaci* infections from a clinical perspective. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. **15**, 11-17.
 - (6) Grayston, J.T. (2000) Background and current knowledge of *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis. *The Journal of infectious diseases*. **181 Suppl 3**, S402-410.
 - (7) Godzik, K.L., O'Brien, E.R., Wang, S.K. and Kuo, C.C. (1995) In vitro susceptibility of human vascular wall cells to infection with *Chlamydia pneumoniae*. *Journal of clinical microbiology*. **33**, 2411-2414.
 - (8) Hackstadt, T., Fischer, E.R., Scidmore, M.A., Rockey, D.D. and Heinzen, R.A. (1997) Origins and functions of the chlamydial inclusion. *Trends in microbiology*. **5**, 288-293.
 - (9) Hybiske, K. and Stephens, R.S. (2007) Mechanisms of host cell exit by the intracellular bacterium *Chlamydia*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **104**, 11430-11435.
 - (10) Everett, K.D., Bush, R.M. and Andersen, A.A. (1999) Emended description of the order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *Int J Syst Bacteriol*. **49 Pt 2**, 415-440.
 - (11) Stephens, R.S., Myers, G., Eppinger, M. and Bavoil, P.M. (2009) Divergence without difference: phylogenetics and taxonomy of *Chlamydia* resolved. *FEMS immunology and medical microbiology*. **55**, 115-119.
 - (12) Bavoil, P.M. (2014) What's in a word: the use, misuse, and abuse of the word "persistence" in *Chlamydia* biology. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. **4**, 27.
 - (13) Bobo, L.D., Novak, N., Munoz, B., Hsieh, Y.H., Quinn, T.C. and West, S. (1997) Severe disease in children with trachoma is associated with persistent *Chlamydia trachomatis* infection. *The Journal of infectious diseases*. **176**, 1524-1530.
 - (14) Beem, M.O. and Saxon, E.M. (1977) Respiratory-tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. *The New England journal of medicine*. **296**, 306-310.
 - (15) Meyer, K.F., Eddie, B. and Stevens, I.M. (1935) Recent Studies on Psittacosis. *American journal of public health and the nation's health*. **25**, 571-579.
 - (16) Moulder, J.W., Levy, N.J. and Schulman, L.P. (1980) Persistent infection of mouse fibroblasts (L cells) with *Chlamydia psittaci*: evidence for a cryptic chlamydial form. *Infection and immunity*. **30**, 874-883.
 - (17) Matsumoto, A. and Manire, G.P. (1970) Electron microscopic observations on the effects of penicillin on the morphology of *Chlamydia psittaci*. *J Bacteriol*. **101**, 278-285.
 - (18) Beatty, W.L., Byrne, G.I. and Morrison, R.P. (1993) Morphologic and antigenic characterization of interferon gamma-mediated persistent *Chlamydia trachomatis* infection in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **90**, 3998-4002.
 - (19) Al-Younes, H.M., Rudel, T., Brinkmann, V., Szczepek, A.J. and Meyer, T.F. (2001) Low iron availability modulates the course of *Chlamydia pneumoniae* infection. *Cellular microbiology*. **3**, 427-437.
 - (20) Saikku, P., Leinonen, M., Mattila, K., Ekman, M.R., Nieminen, M.S., Makela, P.H., Huttunen, J.K. and Valtonen, V. (1988) Serological evidence of an association of a novel *Chlamydia*, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet*. **2**, 983-986.
 - (21) Wesslen, L., Pahlson, C., Friman, G., Fohlman, J., Lindquist, O. and Johansson, C. (1992) Myocarditis caused by *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) and sudden unexpected death in a Swedish elite orienteer. *Lancet*. **340**, 427-428.
 - (22) Sriram, S., Mitchell, W. and Stratton, C. (1998) Multiple sclerosis associated with *Chlamydia pneumoniae* infection of the CNS. *Neurology*. **50**, 571-572.
 - (23) Balin, B.J., Gerard, H.C., Arking, E.J., Appelt, D.M., Branigan, P.J., Abrams, J.T., Whittum-Hudson, J.A. and Hudson, A.P. (1998) Identification and localization of *Chlamydia pneumoniae* in the Alzheimer's brain. *Medical microbiology and immunology*. **187**, 23-42.
 - (24) Saikku, P., Leinonen, M., Tenkanen, L., Linnanmaki, E., Ekman, M.R., Manninen, V., Manttari, M., Frick, M.H. and Huttunen, J.K. (1992) Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Annals of internal medicine*. **116**, 273-278.
 - (25) Shor, A., Kuo, C.C. and Patton, D.L. (1992) Detection of *Chlamydia pneumoniae* in coronary arterial fatty streaks and atheromatous plaques. *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*. **82**, 158-161.
 - (26) Jackson, L.A., Campbell, L.A., Kuo, C.C., Rodriguez, D.I., Lee, A. and Grayston, J.T. (1997) Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from a carotid endarterectomy specimen. *The Journal of infectious diseases*. **176**, 292-295.
 - (27) Muhlestein, J.B., Anderson, J.L., Hammond, E.H., Zhao, L., Trehan, S., Schwobe, E.P. and Carlquist, J.F. (1998) Infection with *Chlamydia pneumoniae* accelerates the development of atherosclerosis and treatment with azithromycin prevents it in a rabbit model. *Circulation*. **97**, 633-636.

- (28) Gaydos, C.A., Summersgill, J.T., Sahney, N.N., Ramirez, J.A. and Quinn, T.C. (1996) Replication of *Chlamydia pneumoniae* in vitro in human macrophages, endothelial cells, and aortic artery smooth muscle cells. *Infection and immunity*. **64**, 1614-1620.
- (29) Kaukoranta-Tolvanen, S.S., Teppo, A.M., Laitinen, K., Saikku, P., Linnavuori, K. and Leinonen, M. (1996) Growth of *Chlamydia pneumoniae* in cultured human peripheral blood mononuclear cells and induction of a cytokine response. *Microbial pathogenesis*. **21**, 215-221.
- (30) Kalayoglu, M.V. and Byrne, G.I. (1998) Induction of macrophage foam cell formation by *Chlamydia pneumoniae*. *The Journal of infectious diseases*. **177**, 725-729.
- (31) Gupta, S., Leatham, E.W., Carrington, D., Mendall, M.A., Kaski, J.C. and Camm, A.J. (1997) Elevated *Chlamydia pneumoniae* antibodies, cardiovascular events, and azithromycin in male survivors of myocardial infarction. *Circulation*. **96**, 404-407.
- (32) Grayston, J.T., Kronmal, R.A., Jackson, L.A., Parisi, A.F., Muhlestein, J.B., Cohen, J.D., Rogers, W.J., Crouse, J.R., Borrowdale, S.L., Schron, E. *et al.* (2005) Azithromycin for the secondary prevention of coronary events. *The New England journal of medicine*. **352**, 1637-1645.
- (33) Yamaguchi, H., Friedman, H., Yamamoto, M., Yasuda, K. and Yamamoto, Y. (2003) *Chlamydia pneumoniae* resists antibiotics in lymphocytes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. **47**, 1972-1975.
- (34) Kerr, J.F., Wyllie, A.H. and Currie, A.R. (1972) Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British journal of cancer*. **26**, 239-257.
- (35) Salvesen, G.S. and Dixit, V.M. (1997) Caspases: intracellular signaling by proteolysis. *Cell*. **91**, 443-446.
- (36) Webb, S.J., Harrison, D.J. and Wyllie, A.H. (1997) Apoptosis: an overview of the process and its relevance in disease. *Advances in pharmacology*. **41**, 1-34.
- (37) Giogha, C., Lung, T.W., Pearson, J.S. and Hartland, E.L. (2014) Inhibition of death receptor signaling by bacterial gut pathogens. *Cytokine & growth factor reviews*. **25**, 235-243.
- (38) Teodoro, J.G. and Branton, P.E. (1997) Regulation of apoptosis by viral gene products. *Journal of virology*. **71**, 1739-1746.
- (39) Clifton, D.R., Goss, R.A., Sahni, S.K., van Antwerp, D., Baggs, R.B., Marder, V.J., Silverman, D.J. and Sporn, L.A. (1998) NF-kappa B-dependent inhibition of apoptosis is essential for host cell survival during *Rickettsia rickettsii* infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **95**, 4646-4651.
- (40) Perfettini, J.L., Reed, J.C., Israel, N., Martinou, J.C., Dautry-Varsat, A. and Ojcius, D.M. (2002) Role of Bcl-2 family members in caspase-independent apoptosis during *Chlamydia* infection. *Infect Immun*. **70**, 55-61.
- (41) Rajalingam, K., Sharma, M., Lohmann, C., Oswald, M., Thieck, O., Froelich, C.J. and Rudel, T. (2008) Mcl-1 is a key regulator of apoptosis resistance in *Chlamydia trachomatis*-infected cells. *PloS one*. **3**, e3102.
- (42) Kun, D., Xiang-Lin, C., Ming, Z. and Qi, L. (2013) *Chlamydia* inhibit host cell apoptosis by inducing Bag-1 via the MAPK/ERK survival pathway. *Apoptosis : an international journal on programmed cell death*. **18**, 1083-1092.
- (43) Ying, S., Seiffert, B.M., Hacker, G. and Fischer, S.F. (2005) Broad degradation of proapoptotic proteins with the conserved Bcl-2 homology domain 3 during infection with *Chlamydia trachomatis*. *Infection and immunity*. **73**, 1399-1403.
- (44) Fischer, S.F., Vier, J., Kirschnek, S., Klos, A., Hess, S., Ying, S. and Hacker, G. (2004) *Chlamydia* inhibit host cell apoptosis by degradation of proapoptotic BH3-only proteins. *J Exp Med*. **200**, 905-916.
- (45) Dong, F., Piribhai, M., Xiao, Y., Zhong, Y., Wu, Y. and Zhong, G. (2005) Degradation of the proapoptotic proteins Bik, Puma, and Bim with Bcl-2 domain 3 homology in *Chlamydia trachomatis*-infected cells. *Infection and immunity*. **73**, 1861-1864.
- (46) Fan, T., Lu, H., Hu, H., Shi, L., McClarty, G.A., Nance, D.M., Greenberg, A.H. and Zhong, G. (1998) Inhibition of apoptosis in chlamydia-infected cells: blockade of mitochondrial cytochrome c release and caspase activation. *J. Exp. Med.*, **187**, 487-496.
- (47) Wahl, C., Maier, S., Marre, R. and Essig, A. (2003) *Chlamydia pneumoniae* induces the expression of inhibitor of apoptosis 2 (c-IAP2) in a human monocytic cell line by an NF-kappaB-dependent pathway. *Int J Med Microbiol*. **293**, 377-381.
- (48) Verbeke, P., Welter-Stahl, L., Ying, S., Hansen, J., Hacker, G., Darville, T. and Ojcius, D.M. (2006) Recruitment of BAD by the *Chlamydia trachomatis* vacuole correlates with host-cell survival. *PLoS pathogens*. **2**, e45.
- (49) Soupene, E., Rothschild, J., Kuypers, F.A. and Dean, D. (2012) Eukaryotic protein recruitment into the *Chlamydia* inclusion: implications for survival and growth. *PloS one*. **7**, e36843.
- (50) Read, T.D., Brunham, R.C., Shen, C., Gill, S.R., Heidelberg, J.F., White, O., Hickey, E.K., Peterson, J., Utterback, T., Berry, K. *et al.* (2000) Genome sequences of *Chlamydia trachomatis* MoPn and *Chlamydia pneumoniae* AR39. *Nucleic acids research*. **28**, 1397-1406.
- (51) Kalman, S., Mitchell, W., Marathe, R., Lammel, C., Fan, J., Hyman, R.W., Olinger, L., Grimwood, J., Davis, R.W. and Stephens, R.S. (1999) Comparative genomes of *Chlamydia pneumoniae* and *C. trachomatis*. *Nat*

- Genet.* **21**, 385-389.
- (52) Shirai, M., Hirakawa, H., Kimoto, M., Tabuchi, M., Kishi, F., Ouchi, K., Shiba, T., Ishii, K., Hattori, M., Kuhara, S. *et al.* (2000) Comparison of whole genome sequences of *Chlamydia pneumoniae* J138 from Japan and CWL029 from USA. *Nucleic Acids Res.* **28**, 2311-2314.
- (53) Rattei, T., Ott, S., Gutacker, M., Rupp, J., Maass, M., Schreiber, S., Solbach, W., Wirth, T. and Gieffers, J. (2007) Genetic diversity of the obligate intracellular bacterium *Chlamydophila pneumoniae* by genome-wide analysis of single nucleotide polymorphisms: evidence for highly clonal population structure. *BMC genomics.* **8**, 355.
- (54) Matsutani, M., Ogawa, M., Takaoka, N., Hanaoka, N., Toh, H., Yamashita, A., Oshima, K., Hirakawa, H., Kuhara, S., Suzuki, H. *et al.* (2013) Complete genomic DNA sequence of the East Asian spotted fever disease agent *Rickettsia japonica*. *PLoS one.* **8**, e71861.
- (55) Matsumoto, A. and Manire, G.P. (1970) Electron Microscopic Observations on the Fine Structure of Cell Walls of *Chlamydia psittaci*. *Journal of bacteriology.* **104**, 1332-1337.
- (56) Rahman, M.A., Azuma, Y., Fukunaga, H., Murakami, T., Sugi, K., Fukushi, H., Miura, K., Suzuki, H. and Shirai, M. (2005) Serotonin and melatonin, neurohormones for homeostasis, as novel inhibitors of infections by the intracellular parasite *Chlamydia*. *J Antimicrob Chemother.* **56**, 861-868.
- (57) Azuma, Y., Hirakawa, H., Yamashita, A., Cai, Y., Rahman, M.A., Suzuki, H., Mitaku, S., Toh, H., Goto, S., Murakami, T. *et al.* (2006) Genome sequence of the cat pathogen, *Chlamydophila felis*. *DNA Res.* **13**, 15-23.
- (58) Tan, M. and Bauvoil, P. (2012) *Intracellular Pathogens I: Chlamydiales*. ASM Press, Washington DC.
- (59) Mehlitz, A. and Rudel, T. (2013) Modulation of host signaling and cellular responses by *Chlamydia*. *Cell communication and signaling : CCS.* **11**, 90.
- (60) Zhong, G., Fan, T. and Liu, L. (1999) *Chlamydia* inhibits interferon gamma-inducible major histocompatibility complex class II expression by degradation of upstream stimulatory factor 1. *The Journal of experimental medicine.* **189**, 1931-1938.
- (61) Zhong, G., Fan, P., Ji, H., Dong, F. and Huang, Y. (2001) Identification of a chlamydial protease-like activity factor responsible for the degradation of host transcription factors. *The Journal of experimental medicine.* **193**, 935-942.
- (62) Dong, F., Zhong, Y., Arulanandam, B. and Zhong, G. (2005) Production of a proteolytically active protein, chlamydial protease/proteasome-like activity factor, by five different *Chlamydia* species. *Infection and immunity.* **73**, 1868-1872.
- (63) Zhong, G. (2009) Killing me softly: chlamydial use of proteolysis for evading host defenses. *Trends in microbiology.* **17**, 467-474.
- (64) Christian, J., Vier, J., Paschen, S.A. and Hacker, G. (2010) Cleavage of the NF-kappaB family protein p65/RelA by the chlamydial protease-like activity factor (CPAF) impairs proinflammatory signaling in cells infected with Chlamydiae. *The Journal of biological chemistry.* **285**, 41320-41327.
- (65) Pirbhai, M., Dong, F., Zhong, Y., Pan, K.Z. and Zhong, G. (2006) The secreted protease factor CPAF is responsible for degrading pro-apoptotic BH3-only proteins in *Chlamydia trachomatis*-infected cells. *The Journal of biological chemistry.* **281**, 31495-31501.
- (66) Heuer, D., Rejman Lipinski, A., Machuy, N., Karlas, A., Wehrens, A., Siedler, F., Brinkmann, V. and Meyer, T.F. (2009) *Chlamydia* causes fragmentation of the Golgi compartment to ensure reproduction. *Nature.* **457**, 731-735.
- (67) Kumar, Y. and Valdivia, R.H. (2008) Actin and intermediate filaments stabilize the *Chlamydia trachomatis* vacuole by forming dynamic structural scaffolds. *Cell host & microbe.* **4**, 159-169.
- (68) Hacker, G. (2014) The chlamydial protease CPAF: important or not, important for what? *Microbes and infection / Institut Pasteur.* **16**, 367-370.
- (69) Chen, A.L., Johnson, K.A., Lee, J.K., Sutterlin, C. and Tan, M. (2012) CPAF: a Chlamydial protease in search of an authentic substrate. *PLoS pathogens.* **8**, e1002842.
- (70) Snavely, E.A., Kokes, M., Dunn, J.D., Saka, H.A., Nguyen, B.D., Bastidas, R.J., McCafferty, D.G. and Valdivia, R.H. (2014) Reassessing the role of the secreted protease CPAF in *Chlamydia trachomatis* infection through genetic approaches. *Pathogens and disease.* (in printing)

英文抄録

Persistent infection and host apoptosis regulation by *Chlamydia*

Yoshinao Azuma

Abstract

Chlamydiae are Gram-negative and obligate intracellular parasitic bacteria responsible for a wide range of diseases causing severe clinical and public health problems. *Chlamydia pneumoniae* is known as a leading cause of respiratory tract infections and its persistent infection has been shown to relate to atherosclerosis in the last two decades. *Chlamydia trachomatis* is the most common sexually transmitted bacterial pathogen worldwide, and its chronic infection increased risk of ectopic pregnancy, chronic pelvic pain and infertility. Chlamydial ways of killing host cells tenderly must be attributed to molecular mechanisms, by which *Chlamydia* modifies intracellular environments to scrape off nutrients but maintain the integrity of the host cells. One of the most focused topics is the prevention of the host cells from undergoing apoptosis induced by intracellular stress for its long-term multiplication or persistence. The main aim of this review is to summarize the data illustrating persistent infection and host apoptosis regulation by *Chlamydia*.

Keywords;

Chlamydia, persistent infection, chronic infection, apoptosis, atherosclerosis

