

## 今村賞受賞記念講演

## 組織脂質の動態よりみた結核感染

近 藤 瑩 子

国立予防衛生研究所結核部

受付 昭和 54 年 8 月 14 日

Commemorative Lecture of Receiving Imamura Memorial Prize

TUBERCULOUS INFECTION AS VIEWED FROM  
THE TURNOVER OF HOST CELL LIPIDS

Eiko KONDO\*

(Received for publication August 14, 1979)

Microbial surfaces are one of the important determinants for their pathogenicity in relation with the interaction with the surface of host cells. In intracellular infections such as tuberculosis, the interaction between the membrane structure of phagocytes and the surface of ingested bacteria will be causally related with the development of infection. We had a particular interest in a possibility that hydrophobic mycobacterial surface due to the high content of lipids has a strong affinity to the lipid bilayer of the phagocytic cell membrane to induce the change of lipid metabolism there.

To examine this possibility, a biochemical and bacteriological study has been conducted with the cell and tissue materials from normal and infected mice and guinea pigs. The results indicated that the active turnover of fatty acids in the membrane of host cells is resulted from the interaction with the bacilli, most probably starting from the activation of the membrane-bound phospholipase A<sub>2</sub>. Cholesterol and cholesterol esterase in the membrane as well as mycobacterial lipids and enzymes were found to be participating in the above turnover. Released fatty acids in free form, at least in part, were suggested to play a dual activity to promote or inhibit mycobacterial growth depending upon their concentration in situ and the environmental condition, particularly at the site of close contact between the cell membrane and the bacillus.

## I. 目 的

菌体成分の40%にも及ぶ脂質をもつ疎水性の結核菌は、宿主食細胞膜の脂質二重層と親和性をもち、この菌と膜との相互作用は、結核感染の成立発展に重要な一要因をなすものと考えて、実験的研究を行なった。

## II. 研究方法

マウス、モルモットを用い、それらの感染組織、細胞、

あるいは感染組織から機械的に分離、純化した“*in vivo* 菌”についても脂質分析を行なった。また腹腔渗出細胞の膜分画、時には人工膜としてのリポソームを用いて *in vitro* での菌との相互作用を検討した。以上の脂質分析の成績に加え、細菌学的検討と電顕を用いた形態学的観察を行なって、結核感染における宿主脂質の意義について総合的な理解を求めた。

\* From the Department of Tuberculosis, National Institute of Health, Kamiosaki 2-10-35, Shinagawa-ku, Tokyo 141 Japan.

### III. 観 察

1) 感染の進展に伴つてマウスの肺には細胞集積があり、肉芽を形成して腫大し、総脂質量は増大する。しかし、各脂質の百分率をみると、エステル型コレステロールの増量のみが特異的である。この肺ホモジネイトから菌を収獲精製すると、菌が純化されるにつれて、宿主特異的脂質であるコレステロールエステルのみは逆に濃縮されて、エステル化が菌体に則して起こっている可能性が示唆された。この現象が食細胞内での反応であることは、感染肺より分離した硝子親和性細胞での分析成績、また *in vitro* で腹腔マクロファージと菌とを混合インキュベイトした実験結果、そして、結核菌自体がコレステロールをエステル化する酵素をもつことを示す観察によつて支持された。

この現象は菌と宿主細胞膜との相互作用を示す一つの指標で、膜りん脂質の分解からはじまる脂肪酸動態の一局面とみるべきである。したがつて、*in vivo* 菌の表層には、その他、ゆうりコレステロール、レンチン、スヒンゴミエリンなども検出される。この菌体を90%アセトンで抽出すると、これらの脂質は容易に除去されるが、コレステロールエステルのみ依然として菌体にのこり、すでに菌体成分として内部に取り込まれている可能性も否定できない。更にまた、フチオセロールジマイコセロセイトのような菌体脂質と融合して、菌体周辺に防御層を形成している可能性も動物実験で示唆された。

2) 食細胞膜脂質はレンチン、スヒンゴミエリン、ホスハチジルエタノールアミン、コレステロールが主要な組成で、またレンチンは結核菌分離用培地の卵黄の主成分でもあるので、レンチンとコレステロールで人工膜をつくり、菌発育支持の効果について検討した。組成を制限した合成培地に人工膜を添加して菌を接種すると、3~4週後には、添加なしの対照にはみられない菌の増加が認められた。卵黄レンチンや牛肝レンチンのほかに、夾雑物のない合成品のステアレートやパルミテート、オレートなども用いたが、いずれも発育を支持した。この培養系においても、レンチンの分解とコレステロールのエステル化が観察された。

3) しかし一方では、感染組織において、ゆうりの脂肪酸が感染防御機構に関与している可能性も古くから指摘されてきた。私たちは脂肪酸が組織液蛋白の中和作用を免れて感染菌に直接作用しうる条件として、宿主細胞膜と菌との密着、それによる膜ホスホリパーゼAの活性化を想定し、まず、人工膜を用いてのモデル実験をこころみた。リポソームを buffer (pH 5.6) 中で菌と接触せしめたところへホスホリパーゼ A<sub>2</sub> (PLase) を添加し、一定時間後の反応混液をキルヒナー寒天培地 (5%に血清加) に接種し、残存菌数を測定した。これは PLase 添加

によつてレンチンから遊離した脂肪酸の抗菌活性を期待したもので、レンチンの量、酵素量、反応時間に比例して、抗菌力の発現をみた。またこの活性は血清蛋白により阻害をうけた。

脂肪酸はそれぞれのもつ構造に従つて、その抗菌力を異にしているので、人工膜中のレンチンの構成脂肪酸を換えて検討したところ、結果は脂肪酸のもつ抗菌活性と一致していた。キルヒナー半流動寒天にあらかじめ倍数希釈で PLase を加え、ここに菌とリポソームの混液を接種し、静菌テストも試みたが、殺菌テストと同じく、レンチン中の脂肪酸の種類と酵素量に依存して発育阻止がみられた。

これらの抗菌テストをモルモットの腹腔滲出細胞の膜分画を用いて行なつた。カゼイン誘出腹腔細胞を音波処理後、分別遠沈によつて膜分画を調製した。これを基質としての PLase 添加による実験では、強い抗菌活性がみられ、反応後の混液中のホスハチジルエタノールアミンとレンチンのほとんどが分解をうけていた。これらりん脂質中の脂肪酸は殺菌力の強いリノール酸を主に、不飽和脂肪酸が50%強含まれていた。更にこの反応系にコレステロールエステラーゼを加えると活性は一層強く発揮された。これはりん脂質由来の脂肪酸が菌によつて近接したコレステロールのエステル化に用いられ、その結果殺菌力を一たん失うが、添加コレステロールエステラーゼによつて再び脂肪酸がゆうりし、活性を発現したものと考える。

4) 私たちは更に標識化合物を用いることによつて上述の食細胞膜分画に endogenous の PLase 活性やコレステロールエステラーゼのあること、また菌にはコレステロールをエステル化する酵素活性の存在を証明した。その PLase は菌の添加によつて活性が上昇することも認められた。したがつて 3) で述べた実験モデルは、*in vivo* の感染の場において本来これら endogenous の酵素によつて成立すべき現象を誇張した表現でみたことになろう。

### IV. 結 論

結核感染において、食細胞膜と菌との接触によつて膜の脂質代謝に変化が招来され、その動態の中心にあるものは、りん脂質由来の脂肪酸で、直接、間接に感染の過程に影響することが示唆された。

### 文 献

- 1) Kanai, K. and Kondo, E.: Japan. J. Med. Sci. Biol., 25: 133, 1972.
- 2) Kanai, K. and Kondo, E.: Japan. J. Med. Sci. Biol., 27: 135, 1974.
- 3) Kanai, K. and Kondo, E.: Japan. J. Med. Sci. Biol., 32: 135, 1979.