

## 28P1-am203

レジオネラのマクロファージ内におけるファゴソーム成熟阻害について

○三宅 正紀<sup>1</sup>, 菅谷 則子<sup>1</sup>, 今井 康之<sup>1</sup>(<sup>1</sup>静岡県大薬)

レジオネラ症の主要起因病原体である *Legionella pneumophila* (*Lp*) は、細胞内寄生細菌であり、そのヒトへの感染では主にマクロファージ (M) が宿主となる。M 内における *Lp* は、小胞体、リボソームなどのオルガネラが周囲へ集積し、小胞体類似の膜構造をもつ特殊なファゴソームを形成し、その中で増殖する。エンドサイトーシス経路の追跡に使用される蛍光標識オプアルブミンによりヒト M 様細胞 U937 を前処理 (貪食) 後、*Lp* を感染させ、オプアルブミン含有ファゴソーム及び菌含有ファゴソームの局在を共焦点レーザー蛍光顕微鏡にて観察した。その結果、*Lp* 野生株あるいは細胞内増殖性欠損株を問わず、菌感染後 4 時間では菌及びオプアルブミンの局在の一致性が非常に低く、感染後 12 時間でそれらが共局在している割合が増加した。これは M による *Lp* 取り込み後のエンドサイトーシス経路で、その初期過程が通常の異物貪食時と異なることを示すものであった。また、ファゴソーム内の酸性度を蛍光強度の変化として捕らえることができるトレーサー試薬 LysoSensor を用いて、*Lp* 野生株あるいは細胞内増殖性欠損株を含むファゴソームの酸性度を経時的に調べた。細胞内増殖性欠損株含有ファゴソームの酸性化の度合は、感染早期である感染後 1 時間および 4 時間の時点で、すでに野生株含有ファゴソームと比較して高いことが分かった。一方、野生株含有ファゴソームでは感染後 1 時間から徐々に酸性化の度合が進み、感染後 12 時間において細胞内増殖性欠損株含有ファゴソームと同程度の酸性度を示した。それぞれのファゴソームにおけるプロトンポンプ V-ATPase の局在について調べたところ、感染後 1 時間および 4 時間の細胞内増殖性欠損株含有ファゴソームには高率に V-ATPase が局在したが、野生株含有ファゴソームにおけるその局在性は低いことがわかった。よって、野生株の形成するファゴソームではその内腔 pH の酸性化遅延が起こり、その原因が初期ファゴソーム膜における V-ATPase 集積阻害あるいは排除にあることが明らかとなった。