

大腸菌薬剤排出ポンプ制御における NlpE の役割

○山崎 聖司^{1,2}, 西野 美都子¹, 山口 明人^{1,3}, 西野 邦彦^{1,4} (¹阪大産研, ²阪大薬, ³阪大院薬, ⁴科技振さきがけ)

【目的】薬剤排出ポンプは細菌多剤耐性化に関与し、近年感染症治療の場において大きな問題となっている。現在、私達は薬剤排出ポンプの制御機構解明を目的として研究を進めている。今回、外膜リポ蛋白である NlpE が、ポンプの発現誘導により耐性化を引き起こすという新たな機構を発見したのでここに報告する。

【方法】多剤耐性因子同定のために、プラスミドライブラリーを用いてランダムスクリーニングを行い、その結果に基づいて作製した様々な菌株の薬剤感受性を測定した。arabinose 濃度により発現誘導の調節が可能である P_{BAD} promoter を用いて、NlpE の発現量と多剤耐性との関連性を調べた。NlpE 過剰発現が薬剤排出ポンプの発現量に与える影響を調べるため、q-PCR により mRNA 量の変化を測定した。

【結果】スクリーニングの結果、β-ラクタム系抗菌薬耐性因子として NlpE が見出され、過剰発現株は oxacillin、cloxacillin、nafcillin、cefamandole、aztreonam、novobiocin、deoxycholate、kanamycin に対する多剤耐性を示した。その耐性化は、二成分情報伝達系の CpxAR または外膜チャネルの TolC 遺伝子を欠損させることで完全に抑えられた。TolC は様々な薬剤排出ポンプと相互作用する外膜輸送蛋白質である。q-PCR の結果から、NlpE は薬剤排出ポンプをコードする AcrD、MdtABC 遺伝子発現を上昇させることが示され、その両遺伝子を欠損させることでも NlpE 過剰発現による耐性化が完全に抑えられることが判明した。さらに、NlpE はその発現量依存的に大腸菌を多剤耐性化させた。

【考察】以上の結果から、NlpE はその発現量依存的に、薬剤排出ポンプをコードする AcrD、MdtABC 遺伝子発現を上昇させることで、大腸菌の多剤耐性化を引き起こすことが明らかとなった。