

30E06-am08S

緑膿菌のムチン層透過機構の解析

○林 直樹¹, 堀西 祐多¹, 松川 真理子¹, 庄司 愛¹, 皆川 周¹, 奥田 潤¹,
後藤 直正¹(¹京都薬大 微生物・感染制御学)

【目的】 *Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌)は、組織上皮細胞層やそれをおおうムチン層といった障壁を越えて生体内に侵入(トランスロケーション)することがあり、免疫不全患者では糞便中の本菌の監視培養が積極的に行なわれている。本研究では、緑膿菌のトランスロケーションの初期段階に相当するムチン層透過機構の解析を試みた。

【方法】 緑膿菌PAO1株の鞭毛繊維タンパク質(FliC)および鞭毛繊維分子が重合するために機能するキャップタンパク質(FliD)をコードする遺伝子欠損株を作製後、①swimmingおよびswarming活性、②Caco-2細胞モノレイヤ付着および透過活性、③ウシ顎下腺由来ムチン層透過活性を測定した。また、緑膿菌感染によるCaco-2細胞ムチン層の変化は、periodic acid-Schiff base (PAS)染色法およびムチンコアタンパク質MUC2特異抗体を用いたイムノブロット法によって調べた。

【結果・考察】 *fliC*および*fliD*遺伝子の欠損は、既報のように鞭毛依存性のswimmingおよびswarming運動性を消失させた。次に、緑膿菌のCaco-2細胞モノレイヤ透過および付着菌量を測定したところ、両遺伝子欠損株ともに野生株と比べて透過および付着菌量が減少した。さらに両鞭毛遺伝子の欠損は、本菌のウシムチン層透過性を低下させた。これらのことから、緑膿菌のムチン層透過において鞭毛運動が必要であることが示唆された。また、PAS染色およびMUC2特異的なイムノブロットから、野生株および鞭毛遺伝子欠損株の両方がCaco-2細胞ムチン層を同程度減少させることが分かった。緑膿菌のムチン分解能は他の研究グループによって示されていることから、この減少は緑膿菌がムチンを分解した結果であることが推察される。これらのことから、緑膿菌のムチン層透過は鞭毛運動のみならず、ムチンを分解する機構にも起因することが考えられる。現在、緑膿菌PAO1株のムチン分解遺伝子の探索を、*in silico*解析を用いて行なっている。