

鉄獲得系遺伝子 *pvdE* を介したカイコ致死活性におけるタイプ III エフェクター ExoS の役割

○奥田 潤<sup>1</sup>, 岡本 将志<sup>1</sup>, 林 直樹<sup>1</sup>, 皆川 周<sup>1</sup>, 後藤 直正<sup>1</sup> (<sup>1</sup>京都薬大 微生物・感染制御学)

【目的】緑膿菌は免疫力の低下した患者の呼吸器や尿路などに定着し、定着した組織上皮細胞層から侵入した後、敗血症などの重篤な症状を引き起こすことがある。これらの病態を引き起こす因子の 1 つとして、エキソトキシン A、プロテアーゼ、ExoS などの病原因子の発現が知られている。緑膿菌はピオベルジンと Fe<sup>3+</sup> との複合体を菌体内に取り込むことにより鉄を獲得し、病原因子の発現制御を行っているが、鉄獲得系と組織上皮細胞層侵入活性の関連は明らかとなっていない。そこで本研究では、カイコを用いた野生株およびピオベルジン合成遺伝子欠損株 ( $\Delta pvdE$ ) の致死活性評価を行い、さらに株化上皮細胞層透過活性評価を組み合わせることにより、鉄獲得系の腸管経由血液感染への関与を明らかにする。【方法】緑膿菌をカイコ中腸やヘモリンフに接種し、致死活性を評価した。また、中腸接種後、ヘモリンフ内に移行した菌数を測定し、カイコ腸管上皮バリア透過活性を評価した。上皮細胞層透過活性は、Caco-2 細胞モノレイヤーを用いて評価した。Caco-2 細胞感染時の緑膿菌から total RNA を抽出し、タイプ III 分泌機構関連遺伝子の発現解析を半定量 RT-PCR 法により行った。【結果と考察】(1)  $\Delta pvdE$  では、親株の PAOI と比べて、カイコ致死活性、上皮細胞層透過活性、ヘモリンフ内での増殖性が減弱した。(2)  $\Delta pvdE$  では、PAOI に比べて、*exoS* 遺伝子の発現が低下した。(3)  $\Delta pvdE$  に *pvdE* 遺伝子を相補するとカイコ致死活性、上皮細胞層透過活性およびヘモリンフ内での増殖性の復帰が見られたが、 $\Delta pvdE$  に *exoS* 遺伝子を相補しても、上皮細胞層透過活性の復帰しか見られなかった。以上の結果から、緑膿菌の *pvdE* 遺伝子を介したカイコ致死活性には、ExoS 依存的な上皮細胞層透過活性と ExoS 非依存的なヘモリンフ内での増殖性の両者が関連していることが示唆された。