

30R-pm21

Pseudomonas aeruginosa は鞭毛運動および MucD プロテアーゼによって宿主細胞ムチン層を透過する

○林 直樹¹, 松川 真理子¹, 堀西 祐多¹, 中井 勝也¹, 庄司 愛¹, 吉田 奈緒美¹, 米子 佳希¹, 皆川 周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、ムチンに覆われた腸管上皮細胞層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、重篤な疾患の防止のために免疫不全患者で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であるムチン層透過機構について解析した。

【方法】①Caco-2細胞付着菌数の測定: ヒト結腸癌由来Caco-2細胞モノレイヤのapical側に緑膿菌を接種後、Caco-2細胞の表面に付着した菌数を測定した; ②ムチン層透過菌数の測定: ウシ顎下腺由来ムチンを充填したTranswell[®]上に緑膿菌を接種後、下層に透過した菌数を測定した; ③Caco-2細胞ムチン層の分解: PAS染色およびCaco-2細胞が分泌する主要なムチンタンパク質であるMUC2特異抗体を用いたイムノブロットによって検出した。

【結果・考察】鞭毛運動性の欠損によって、緑膿菌PAO1株のCaco-2細胞表面への付着およびムチン層透過性は約80%低下した。一方で、緑膿菌はMUC2タンパク質を含むCaco-2細胞ムチン層を減少させた。セリンプロテアーゼ阻害剤の添加実験によって、ムチン分解が抑制されることが、他の研究グループによって示されている。そこで、緑膿菌のゲノム上で予測された12種のセリンプロテアーゼをコードするそれぞれの遺伝子を欠損した変異株を作製し、そのムチン分解活性を測定したところ、*mucD*遺伝子欠損株でのみ、Caco-2細胞のMUC2タンパク質の減少の抑制が観察された。また、*mucD*遺伝子の欠損は、鞭毛運動性欠損と相乗的に、本菌のムチン層透過性を低下させることが分かった。以上の結果から、緑膿菌によるトランスロケーションの初期段階であるムチン層透過には、少なくとも鞭毛運動とMucDによるムチン分解が必要であることが示唆された。