

30P-pm04

緑膿菌による上皮細胞タイトジャンクション破綻における IV 型線毛の必要性
○林 直樹¹, 西澤 英之¹, 北尾 聖哉¹, 出口 桜子¹, 中村 貴乃¹, 藤本 祥代¹,
後藤 直正¹(¹京都薬大・微生物・感染制御学分野)

【目的】 *Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌) は免疫力の低下した宿主の上皮を越えて生体内に侵入し、重篤な血液感染症を引き起こすことがある。私どもは、緑膿菌が III 型エフェクター ExoS を注入することによって上皮細胞間の結合を破綻させ、形成された細胞間隙を透過することをすでに明らかにした。本研究では、緑膿菌の上皮細胞層透過における IV 型線毛の必要性を調べた。

【方法】 ①ヒト結腸癌由来 Caco-2 細胞に緑膿菌培養液を接種後、付着および透過した菌数の測定およびイムノプロットによるオクルディンタンパク質の検出を行った。②β-ラクタマーゼをコードする *blaM* と *exoS* との融合遺伝子発現ベクターを導入した緑膿菌培養液をヒト子宮癌由来 HeLa 細胞に接種後、融合タンパク質の β-ラクタマーゼによって、β-ラクタム環構造が切断された CCF2 (Invitrogen) 分解産物の蛍光強度を測定することで細胞内に注入された ExoS 量を調べた。

【結果・考察】 緑膿菌 PAO1 株の IV 型線毛の欠損 ($\Delta pilA$) は、ヒト結腸癌由来 Caco-2 細胞への付着菌数には影響を与えなかったが、Caco-2 細胞層のタイトジャンクションの破綻に伴う透過菌数を減少させた。上皮細胞内への ExoS 注入量を調べたところ、IV 型線毛の欠損によって CCF2 の分解産物に由来する蛍光強度が 2 分の 1 以下にまで減少した。緑膿菌の腸管経由血液感染における IV 型線毛の寄与をカイコ経口感染モデルによって評価したところ、IV 型線毛の欠損はカイコに対する致死活性およびカイコヘモリンフ内での生菌数を減少させた。本研究の結果から、緑膿菌の IV 型線毛は、ExoS の注入を介したタイトジャンクションの破綻による細胞間隙透過経路の形成に必要であることが示された。