

28pmS-006

Mycobacterium avium における酸性環境下でのアルギニンデイミナーゼの発現誘導機構の解析

○小川 翔大¹, 小川 賢二², 八木 哲也³, 大原 直也⁴, 後藤 義孝⁵, 藤原 永年⁶, 前田 伸司⁷, 伊藤 佐生智¹, 筑比地 慧¹, 宮田 江里香¹, 高見 篤郎¹, 徳田 美季¹, 富田 陽香¹, 小野 崙 菊夫¹, 瀧井 猛将¹(¹名市大院薬, ²東名古屋病院臨床研究, ³名大付属病院中央感染制御, ⁴岡山大院医歯薬, ⁵宮崎大院農, ⁶帝塚山大現代生活学, ⁷結核研)

【目的】当研究室ではトリ型結核菌 *M. avium* は酸性培養下で菌体外 pH を上昇させることを見出している。さらに、本現象は阻害剤を用いた解析によりアルギニン代謝酵素アルギニンデイミナーゼ(ADI)経路を介したアンモニア産生によることを明らかにしている。ADI 経路の最初の代謝酵素である *arcA* はアルギニンをシトルリンに代謝する際に 1 分子のアンモニアを産生する。今回、低 pH 環境下での *arcA* mRNA の誘導機構及び *M. avium* の組換え体 ArcA の酵素活性の解析を行った。

【方法】*M. avium* の臨床分離株を使用した。pH4.9、pH5.7、pH6.6 に調整した 7H9 培地で菌を培養し、培養上清の pH を測定した。mRNA の発現量は定量 PCR 法により測定した。ArcA タンパク質の発現はウエスタンブロッティング法で測定した。組換え ArcA の酵素活性はシトルリン産生量を測定した。菌体内 pH の測定は蛍光プローブ BCECF-AM を用いて測定した。宿主細胞としてマウスマクロファージ細胞株 RAW264.7 を用いた。菌数測定はコロニーアッセイ法で行った。

【結果・考察】菌体内の pH は菌体外の培地の pH の酸性化に比例して pH7.8 から pH6.8 にまで速やかに低下した。*arcA* mRNA の発現は低 pH 側でより誘導されていた。また、ArcA タンパク質も同様に低 pH 側でより発現していた。組換え ArcA の酵素活性は低 pH 側で上昇しており、酸性環境下で活性を持つことが示された。以上の様に *M. avium* では培地の酸性化に伴い菌体内 pH が低下し、*arcA* mRNA が誘導され、産生された *arcA* タンパク質は菌体内 pH6 においても働いていることが示唆された。また、pH 上昇が高い株は宿主細胞内での生存能が高いことから *arcA* はファゴソーム内の pH 低下に抵抗することより *M. avium* が宿主免疫応答から回避する機構として働いていることが示唆された。