

## 26W-am02S

緑膿菌におけるⅢ型分泌エフェクターの宿主細胞内への注入にはⅣ型線毛が必要である

○藤本 祥代<sup>1</sup>, 中村 貴乃<sup>1</sup>, 前川 結<sup>1</sup>, 松井 直之<sup>1</sup>, 林 直樹<sup>1</sup>, 後藤 直正<sup>1</sup> (<sup>1</sup>京都薬大・薬微生物・感染制御学分野)

【目的】 *Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌) はグラム陰性の日和見感染症起因菌である。本菌はⅢ型分泌装置を介してエフェクターを宿主細胞内に注入し、宿主細胞の正常な活動を障害する。我々は、Ⅲ型エフェクター ExoS の注入によって、培養上皮細胞間の tight junction が破綻することを明らかにした (Okuda, J. *et al. Infect. Immun.* 78:4511, 2010)。昨年の本学会では、Ⅳ型線毛のフィラメントタンパク質 PilA が上皮細胞内への ExoS 注入に必要なことを報告した。本研究では、上皮細胞内への ExoS 注入における PilT (Ⅳ型線毛のフィラメント伸縮のモータータンパク質) の必要性を調べた。

【方法】 Transwell 中で培養したイヌ腎臓尿管上皮細胞由来 MDCK 細胞モノレイヤの管腔側に緑膿菌を接種し、MDCK 細胞に付着した菌数、基底膜側に透過した菌数、経上皮電気抵抗値を測定した。β-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 細胞に感染後、基質である CCF2 の分解によって変化した蛍光により、緑膿菌感染後の上皮細胞内 ExoS 量を測定した。

【結果・考察】 *pilT* 遺伝子の欠損によって、PilA タンパク質の発現量は影響されなかったが、twitching 運動が消失した。*pilT* 遺伝子の欠損は、MDCK 細胞への付着菌数に影響を与えなかったが、MDCK 細胞モノレイヤのタイトジャンクション破綻に伴う透過菌数を減少させた。*pilT* 遺伝子の欠損によって、緑膿菌感染時の CCF2 の分解産物に由来する青色の蛍光を呈する細胞数が減少した。以上の結果から、緑膿菌が上皮細胞内に ExoS を注入するためには、Ⅳ型線毛依存性の twitching 運動が必要であることが示唆された。