

26W-am03S

黄色ブドウ球菌による緑膿菌増殖抑制への NADH 代謝の関与

○上原 加預¹, 松尾 悠美¹, 田口 晃弘¹, 林 直樹¹, 加藤 文紀², 鹿山 鎮男², 菅井 基行², 後藤 直正¹ (京都薬大・薬・微生物・感染制御学分野,²広島大院医歯薬・細菌学)

Pseudomonas aeruginosa (緑膿菌) と *Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌) はともに日和見感染菌で院内感染の原因菌として知られている。両菌による混合感染や菌交代症が報告されており、宿主内における相互作用が示唆されている。

本研究では、黄色ブドウ球菌の代謝産物による緑膿菌の増殖抑制機構の解析を目的とした。黄色ブドウ球菌の培養上清を 20% 含む培地において、緑膿菌の増殖が抑制されることが示された。そこで黄色ブドウ球菌の代謝産物による緑膿菌の増殖抑制機構を明らかにするために、緑膿菌トランスポゾンランダム挿入変異株を用いたスクリーニングを行ったところ、電子伝達系において NADH dehydrogenase をコードする遺伝子を同定した。過去の論文から、NADH dehydrogenase をコードする *nuo* 遺伝子群が欠損すると内膜内に NADH が増加し、酸化還元反応により活性酸素種 (ROS) が蓄積すると考えられる。故に、黄色ブドウ球菌の培養上清が緑膿菌に対して酸化ストレスを上昇させることで増殖抑制を引き起こしているという仮説を立てた。それを検証するために、緑膿菌の *nuoA* 欠損株を作製し、増殖抑制と ROS の関係性を検討した。黄色ブドウ球菌の培養上清を加えた培地上で緑膿菌野生株と *nuoA* 欠損株をそれぞれ培養し、吸光度の測定を行った。それに加え、ROS との反応で強い蛍光を示す HPF (Hydroxyphenyl Fluorescein) を用いて ROS の測定を行った。その結果、ROS の増加に伴う増殖抑制が確認されたため、黄色ブドウ球菌の培養上清を緑膿菌に加えることで、緑膿菌の菌体内の ROS が増加し、増殖が抑制されることが示された。故に、黄色ブドウ球菌の代謝産物による ROS の増加が酸化ストレスを誘導させ、緑膿菌の増殖を抑制することが示唆された。

今後として、ROS の蓄積を抑制させる thiourea を用いて緑膿菌の ROS の増加に伴う増殖抑制の消失を検討すると共に、NADH の測定を行い NADH と ROS との関係についても検討する。