

## 27U-am02S

緑膿菌が III 型エフェクター ExoS を上皮細胞内に注入するために必要な IV 型線毛の機能解析

○松井直之<sup>1</sup>, 四方基嗣<sup>1</sup>, 石山彩奈<sup>1</sup>, 前川結<sup>1</sup>, 林直樹<sup>1</sup>, 後藤直正<sup>1</sup> (<sup>1</sup>京都薬大・微生物・感染制御学分野)

【目的】日和見感染症起因菌である *Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌) の IV 型線毛は、PilA タンパク質の重合化により形成されたフィラメント部分が PilT と PilU モータータンパク質により伸縮する。私達は、上皮細胞間のタイトジャンクションの開裂を引き起こす III 型エフェクター ExoS を緑膿菌が上皮細胞内に注入するためには、*pilA* 遺伝子が必要であることを明らかとした。本研究では、上皮細胞内への ExoS 注入における緑膿菌の *pilT* と *pilU* 遺伝子の必要性を調べた。

【方法】 $\beta$ -ラクタマーゼ *blaM* と *exoS* 融合遺伝子の発現ベクターを導入した緑膿菌 PA01 株をヒト子宮癌由来 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、細胞内に注入された ExoS 量を測定した。Transwell 中で培養したヒト結腸癌由来 Caco-2 細胞モノレイヤの管腔側に緑膿菌を接種し、基底膜側に透過した菌数と経上皮電気抵抗値を測定した。

【結果と考察】上皮細胞内への ExoS 注入量は、*pilT* の欠損により *pilA* の欠損と同程度減少 (*pilT* : 75, *pilA* : 80 %) し、*pilU* の欠損により 30% 減少した。*pilT* の欠損は、Caco-2 細胞のタイトジャンクション破綻を *pilA* の欠損と同程度減少させ、*pilU* の欠損は、それら遺伝子の欠損と比べて弱く減少させた。*pilT* および *pilU* の欠損は、Caco-2 細胞モノレイヤの透過を *pilA* の欠損と同様に消失させた。Caco-2 細胞に感染させた PA01 株における *pilT* と *pilU* 遺伝子の発現量を調べたところ、培養液中に浮遊した緑膿菌で検出された両遺伝子の発現は、Caco-2 細胞への付着により *pilU* 遺伝子の発現量のみが減少した。これらの結果から、緑膿菌による上皮細胞内への ExoS 注入には、IV 型線毛の *pilT* と *pilU* がそれぞれ寄与することが示唆された。