

【目的】病原細菌がヒトに感染し疾患を引き起こすには、環境の変化を感知し、その環境に適応し、宿主の障壁を乗り越える必要がある。本研究では、腸管病原細菌である腸炎ビブリオをモデルにし、病原細菌の宿主環境適応機構の解明を目指した。本菌の下痢誘導には、小染色体上の *Vibrio parahaemolyticus* pathogenicity island (Vp-PAI) にコードされる3型分泌装置 (T3SS2) が必須である。一般的にT3SSは、宿主細胞にコンタクト依存的にエフェクターと総称される機能性のタンパク質を直接注入し、様々な病態形成に寄与する。病原細菌が宿主細胞にエフェクターを効率よく注入するには、1. ヒトの腸管環境に適応し、2. 感染の場である腸管上皮細胞にアクセスし、3. 腸上皮細胞にコンタクトしたことを認識し、上皮細胞上の環境に適応する必要がある。本研究では、各ステップにおける腸炎ビブリオの遺伝子発現制御機構および分泌制御機構を解析し、宿主環境適応機構を包括的に理解することを目的とした。

【方法】腸炎ビブリオの遺伝子発現および分泌制御に関する遺伝子の欠損株を作製し、様々な培養条件におけるプロテオーム解析およびRNA seq解析を行うことで、環境適応因子の同定を試みた。同定された因子については遺伝子欠損株の作製、表現型および病原性の解析 (qRT-PCR、ウェスタンブロッティング、ウサギ腸管結紮ループ試験等) を行った。

【結果】1. ヒト腸管環境適応機構の解析：ヒト腸管に存在する胆汁は、腸炎ビブリオの病原因子の発現を誘導するトリガーの一つである。ヒトの腸管環境適応機構をより詳細に解析するために、long read 次世代シーケンサーを用いた発現解析を行い、ゲノムワイドに遺伝子転写単位を決定するとともに、21種類の新規のnon-coding RNAを同定した。2. 腸管上皮細胞へのアクセス機構の解析：胆汁刺激によって発現上昇する遺伝子群の中で、腸上皮細胞へのアクセスに寄与する遺伝子のスクリーニングを行い、他の病原細菌が保有するムチン分解酵素の活性部位と相同性を持つ遺伝子 (*vseM*) を同定した。*vseM*は、本菌のVp-PAI領域にコードされる他の病原因子と同様に胆汁刺激によって発現誘導された。また、*vseM*遺伝子欠損株の下痢誘導活性は有意に低下した。腸上皮細胞上に存在するムチン層は、バリア機能を担っている。したがって、本研究で同定したVseMは、腸炎ビブリオが腸管上皮細胞にアクセスする過程に寄与している可能性が示唆された。3. 腸上皮細胞コンタクト認識機構の解析：T3SS2の分泌制御因子変異株 (ゲートキーパー変異体) は宿主細胞とのコンタクトした状態を模擬していると考えられる。そこでゲートキーパー変異体のトランスクリプトーム解析および分泌タンパク質のプロテオーム解析を行い、本菌が腸上皮細胞とのコンタクト依存的な遺伝子発現制御機構を持つこと、このコンタクト依存的な遺伝子発現制御に関わる因子 (VtrN) の同定に成功した。*vtrN*遺伝子欠損株のトランスクリプトーム解析を行ったところ、T3SS2遺伝子群がコードされる領域 (Vp-PAI領域) の遺伝子発現が上昇した。したがって、本菌が細胞とのコンタクトを契機に病原因子の発現を上昇させる機構を持つことが明らかとなった。

腸炎ビブリオの感染過程

