

審査の結果の要旨

氏名 芦田 浩

本研究は細菌性赤痢の起病因菌である赤痢菌の染色体上に複数存在する IpaH タンパクが赤痢菌のエフェクター（病原因子）として機能するかを明らかにするため、染色体上 IpaH タンパクの III 型分泌装置からの分泌および宿主細胞内への移行、またマウス感染実験による病原性寄与を確認したものであり、下記の結果を得ている。

1. 赤痢菌野生株および III 型分泌装置変異株を用いた菌体外へのタンパク分泌解析を行った結果、染色体上に存在する 7 つの IpaH タンパクは染色体上のタンパクとしては初めて III 型分泌装置依存的に菌体外へと分泌されることが明らかとなった。また、蛍光エネルギー共鳴システムを用いた解析の結果、これらの染色体上 IpaH タンパクは III 型分泌装置より分泌後、宿主細胞内へと移行することが明らかとなり、赤痢菌のエフェクターとして機能することが示された。
2. 染色体上 IpaH タンパクの III 型分泌装置からの分泌動態を確認したところ、赤痢菌の他のエフェクターに比べて分泌が遅延されることが明らかとなった。また赤痢菌の細胞内侵入後の菌体内での遺伝子発現を解析したところ、他のエフェクター遺伝子の発現量は細胞侵入後に減少していくのに対し、染色体上 *ipaH* 遺伝子は菌の細胞内侵入後に発現が上昇することが示され、染色体上 IpaH タンパクは赤痢菌の細胞侵入後の感染局面において重要な役割を担うことが示された。
3. 染色体上 IpaH タンパクが、赤痢菌の病原性に寄与するかを検討するため、赤痢菌のマウス肺炎惹起能を用いた病原性評価を行なった。染色体上 *ipaH* 遺伝子の 7 重欠損株および野生株を用いてマウスに経鼻感染し、感染マウスの致死率を観察した。この結果、染色体上 *ipaH* 遺伝子欠損株感染マウスにおいて致死率の遅延が認められたことから、染色体上 IpaH タンパクは赤痢

菌の病原性に寄与することが示された。また、感染マウスの肺病理切片における病理組織学的観察、肺破碎液中のサイトカイン産生量の測定の結果、染色体 *ipaH* 遺伝子欠損株投与マウスは野生株投与マウスと比べ、感染部位における好中球の浸潤が激しく、炎症増悪、炎症性ケモカイン（MIP-2）産生量の増加が認められた。また、感染マウスの肺中における生菌数を測定したところ、野生株に比べ、染色体 *ipaH* 遺伝子欠損株投与マウスにおいて定着菌数の著しい減少が認められたことから、染色体上 *IpaH* タンパクは感染に伴う宿主の炎症反応を抑制することで、菌の感染持続に寄与している可能性が示唆された。

以上、本論文は赤痢菌の染色体上 *IpaH* タンパクが新たなエフェクターとして赤痢菌の感染に寄与することを明らかにした。これまで赤痢菌のエフェクターはもっぱら大プラスミド上の遺伝子にコードされていると思われていたが、染色体上にも同様な遺伝子が存在することが明らかとなり、新たな病原因子の探索に貴重な手掛かりを与えることが出来た。また、赤痢菌の腸粘膜の感染および定着において菌による宿主免疫抑制が重要であることが解明され、新たな感染戦略を見いだすことが出来た。今後は本研究成果を利用した、新規な病原細菌ワクチン株および新規治療薬への応用が期待され、学位の授与に値するものと考えられる。