

審査の結果の要旨

氏名 福松 真

赤痢菌の細胞間拡散機構は赤痢菌の感染病巣の拡大および、それに起因する下痢の惹起に必須であり、赤痢菌のもつ病原性に深く関わっている。これまでに細胞内運動に必須であるアクチンコメットの形成については比較的研究が進んでいるが、偽足の取り込みを介した細胞間拡散能は赤痢菌の感染拡大に必須な機能であるにもかかわらず、その分子メカニズムについては不明な点が多く残っている。本研究では、赤痢菌の小腸上皮における細胞間拡散に関与する宿主因子を探索し、赤痢菌の細胞間拡散機構を分子レベルで明らかにすることを試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. 感染細胞から隣接細胞への赤痢菌の拡散経路を明らかとするために、タイムラプスイメージングにより赤痢菌が隣接細胞に拡散する様子を観察した。その結果、赤痢菌は tricellular tight junctions (tTJs) と呼ばれる細胞が 3 つ以上接する部分を経由して隣接細胞へ感染を拡大することが明らかになった。さらに、tTJs の形成に必須の分子である Tricellulin のノックダウンにより赤痢菌の細胞間拡散は抑制されることを示した。
2. 赤痢菌は隣接細胞へ感染を拡大する際に二重の形質膜からなる偽足と呼ばれる突起を隣接する細胞に挿入する。赤痢菌による隣接細胞への偽足の挿入により、隣接細胞の Phosphoinositide (PI) 3-kinase が活性化されることを示した。この PI 3-kinase の活性化は赤痢菌の細胞間拡散に必要であり、特に赤痢菌を含む偽足の取り込みの引き金となっていることが示唆された。
3. Clathrin または Dynamin-2 のノックダウンにより赤痢菌の細胞間拡散が阻害されること、赤痢菌を含む偽足に Clathrin および Dynamin-2 が集積することから、赤痢菌を含む偽足の取り込みは Clathrin に依存したエンドサイトーシスにより行われていることを示した。また、Clathrin の赤痢菌を含む偽足への集積をタイムラプスイメージングにより観察すると、赤痢菌が偽足を挿入させた後、赤痢菌を含む偽足の周りに Clathrin が集積する様子が観察された。これは、Clathrin が細胞膜下に集積してから膜の陥入が開始されるカノニカルな

エンドサイトーシスとは Clathrin の挙動が異なり、赤痢菌を含む偽足の取り込みは特殊な機構であることを示唆している。

4. Clathrinに依存的なエンドサイトーシスではClathrin被膜小胞の形成に必要なアダプタータンパク質の関与が報告されている。本研究では、Epsin-1が赤痢菌を含む偽足の取り込みの際に関与することを Epsin-1 のノックダウンにより赤痢菌の細胞間拡散が阻害されること、タイムラプスイメージングにより Epsin-1 が赤痢菌を含む偽足に集積することなどから示した。

5. 赤痢菌が偽足を隣接細胞に挿入した際にみられる PI 3-kinase の活性化が Clathrin および Epsin-1 の集積に影響があるか検討した。その結果、Clathrin および Epsin-1 の偽足への集積は PI 3-kinase の処理によって阻害された。このことから、赤痢菌を含む偽足の形成により PI 3-kinase が活性化され、この活性化が引き金となって Epsin-1 及び Clathrin が偽足に集積し、赤痢菌を含む偽足は隣接する細胞に取り込まれと考えられる。

以上、本研究は赤痢菌が隣接細胞に感染を拡大する際、赤痢菌は tTJs を経由して隣接細胞に偽足を挿入することを示した。また、赤痢菌の細胞間拡散は PI 3-kinase、Clathrin、および Epsin-1 に依存しており、赤痢菌を含む偽足はノンカノニカルな Clathrin に依存的なエンドサイトーシスを利用して隣接細胞に取り込まれることを明らかにした。したがって、赤痢菌の隣接細胞への拡散機構の一端を明らかにした本研究の研究成果は赤痢菌の感染戦略および感染現象を明らかにすると共に、赤痢菌に対する新規治療薬開発への応用が期待されると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。