

病原細菌が腸管感染を拡大する巧妙な戦術を発見
（多くの腸管系病原細菌に対する抗菌薬開発に期待）

<研究課題と経過>

赤痢菌をはじめとする腸管病原細菌は依然として人類にとって深刻な病原体です。例えば、発展途上国では乳幼児を中心に年間 1 億人が細菌性赤痢に感染し、死者は数十万人にのぼっています。この赤痢菌の感染過程を分子レベルで明らかにすることは、ワクチンを含めた細菌性赤痢の予防および治療法を開発する上で非常に重要です。また他の粘膜病原細菌による感染機構解明のモデルとしても赤痢菌は貴重な研究対象です。

赤痢菌の感染は、菌が飲料水や食物により口から我々の体内に侵入することから始まります。菌が大腸に到達した後は、巧妙な感染機構により腸管の粘膜を構成する上皮細胞内に侵入し、増殖しながら隣接細胞へ次々に移動していくことにより感染が拡大します。その結果、激しい炎症性の血性下痢（赤痢）が発症します（図 1 および図 2）。

病原細菌の多くは、感染の足場として腸管上皮細胞を利用します。これに対して、宿主の側は感染を受けた上皮細胞を腸管壁から迅速に取り除くことを行ない（図 3）、病原体が周囲の細胞へ感染を拡大することを防ぎます。したがって、「感染した上皮細胞の除去」は、無数の共生細菌と直接接触する腸において、外界から侵入する病原体に対する生体防御機構として、極めて重要な役割を担っています。

赤痢菌、0157、サルモネラ属菌等の粘膜病原細菌は、III 型分泌装置（注 1）と呼ぶ特殊なタンパク質の注入装置有しています。この注入装置を通じてエフェクター（注 2）とよばれるさまざまな病原因子を宿主細胞へ分泌します。それによって、菌は腸管上皮細胞へ感染を開始するとともに、さらに感染が成立するまでのさまざまな過程でもエフェクターを分泌します。しかしそれらの機能は多くがいまだ不明です。赤痢菌のエフェクタータンパク質（**OspE**）が上皮細胞への感染に果たす役割を明らかにすることは、感染成立を抑制する手法の開発につながると期待されます。

＜研究成果の概要＞

本研究チームは、赤痢菌をはじめ **0157** やサルモネラ等が腸管において感染した上皮細胞が除去されることを防ぎ、周囲に感染を拡大するための新たな戦略を発見しました。

上皮細胞へ侵入した赤痢菌から分泌されたエフェクターの一つである **OspE** タンパク質が、腸管壁から菌が感染した細胞が除去されることを阻止するために腸管壁への細胞の接着を強化します（図3）。赤痢菌による上皮細胞の腸管壁からの除去を抑制する分子メカニズムを調べるために、**OspE** タンパク質と結合する宿主細胞側の結合タンパク質を探索しました。その結果 **OspE** タンパク質は、上皮細胞の腸管壁への接着を制御している因子である、インテグリンリンクドキナーゼ（**ILK** と呼ぶ）タンパク質と結合することを発見しました（図4）。

通常腸管では、上皮細胞は腸管の陰窩（腸管の襞と襞の間の窪み）で幹細胞より作られ、絨毛（襞の突起部）の壁（基底膜）に接着しながら次第に絨毛の先端部へと向かって移動します。数日かけて絨毛の先端へ到達した上皮細胞は細胞死を起こして自然に脱落します（図1）。しかし、この間上皮細胞が病原体の感染をうけると、感染細胞を速やかに除去して、病原体が周囲の上皮細胞へ感染することを防止します。腸管の絨毛に沿って上皮細胞が移動するためには、基底膜と細胞との接着を強めたり弱めたりすることが行なわれています。その調節を担う因子の一つが **ILK** で、**ILK** の活性化に伴い細胞と基底膜を接着しているインテグリンタンパク質が細胞の表面から細胞内への移動が促進され、細胞の基底膜に対する接着が緩まります。しかし、赤痢菌が上皮細胞へ侵入し、細胞内で **OspE** タンパク質が分泌されると、**OspE** タンパク質は細胞内で **ILK** タンパク質と結合してインテグリンが細胞表面で安定化され、上皮細胞の基底膜への接着が維持・強化され、感染上皮細胞は除去されなくなります。その結果、上皮細胞へ侵入した赤痢菌は、細胞内で増殖しながら周囲の細胞へ感染を効率よく拡大することが可能となります。**OspE** 遺伝子を欠損した赤痢菌をモルモットの腸管へ感染させると、たとえ菌が上皮細胞へ侵入しても、感染初期に感染細胞は除去され、その結果腸管での感染は拡大しません。これを培養細胞で示したものが図5となります。**OspE** 遺伝子欠損赤痢菌を、シャーレ上に単層培養した上皮細胞へ感染させると、細胞はシャーレから容易に剥離してしまいましたが、**OspE** を持つ赤痢菌が感染した細胞は剥がれにくくなります（図5）。

これは、赤痢菌をはじめとする腸管病原細菌が腸管での感染を成立させるために、感染細胞の腸管壁への接着を強化して周囲の上皮細胞へ感染を拡大することを自ら行なっていることを示しています。

<今後の展開>

本研究で、赤痢菌をはじめ **0157** やサルモネラ属菌等の腸管病原細菌が感染を成立させるために細胞接着を強化して細胞の脱落を抑制しているという新たなメカニズムが明らかになりました。これは、病原細菌が感染を成立させるために、腸管の上皮細胞に備えられた防御機構を巧みに克服して、菌の定着を有利に進めるという新しい感染戦略を提示するものです。

本成果は、赤痢菌の **OspE** タンパク質と **ILK** タンパク質の結合を対象とした阻害薬剤の開発のみならず、**OspE** と同様な細胞接着を調節する分子を持つ非常に多くの病原細菌に対しても有効な抗菌薬の開発にも役立つものと思われます。また、病原体が感染した腸管上皮細胞を速やかに除去することによって病原細菌を駆除する、という新しい概念の治療法も提起するものです。

<用語解説>

(注 1) III 型分泌装置：

赤痢菌、**0157**、サルモネラ属菌などの病原体が持つ、宿主細胞へのエフェクターを注入するための針状のタンパク質分泌装置。

(注 2) エフェクター：

病原細菌の III 型分泌装置や IV 型分泌装置など特殊なタンパク質分泌装置により、宿主細胞に移行して宿主に様々な影響を与える細菌のタンパク質性病原因子。

<参考図>

図1 腸管の絨毛と陰窩と赤痢菌の感染による腸管の絨毛破壊を伴う血性下痢（赤痢）

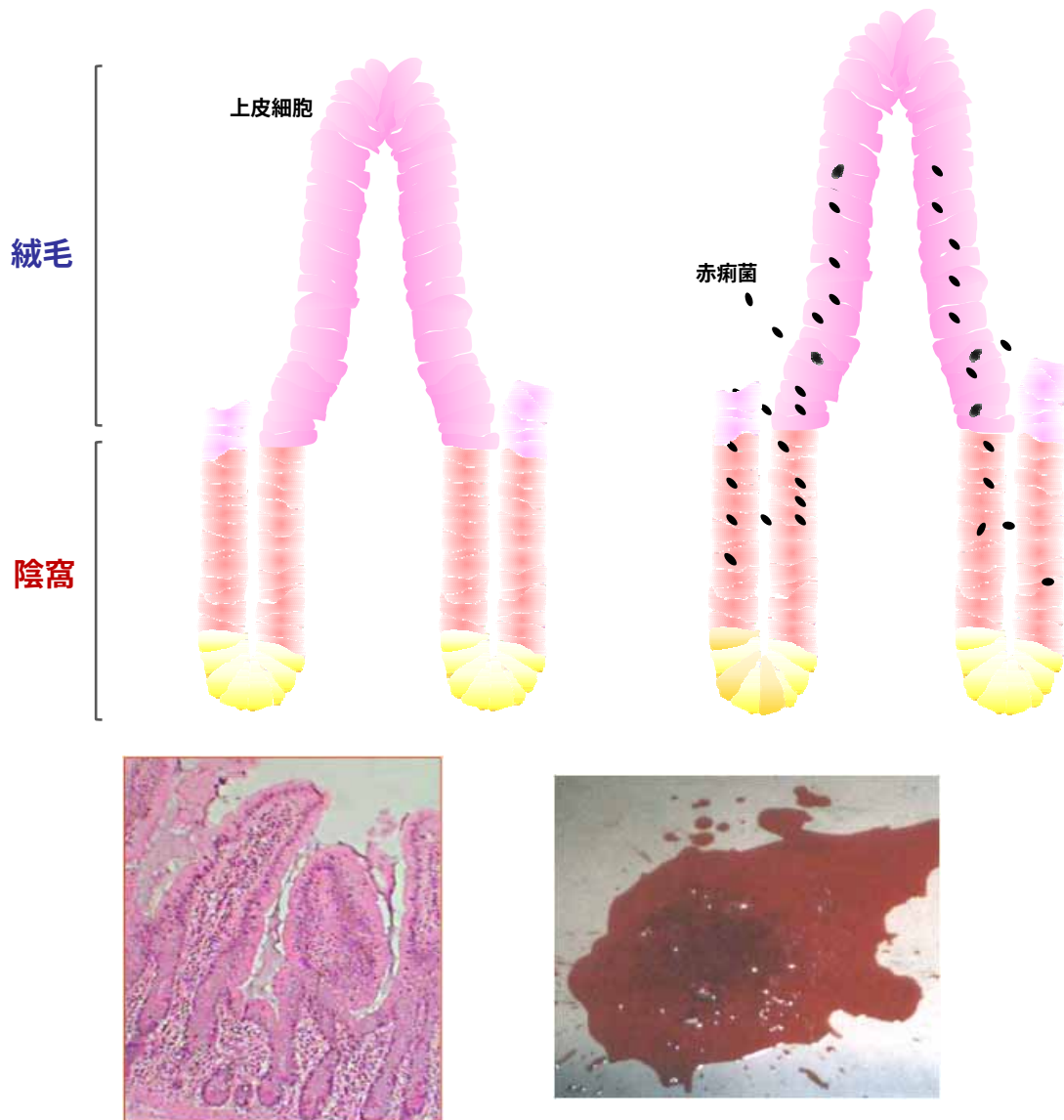


図1の説明：

上図左には腸管の絨毛(じゅうもう)と陰窩(いんか)を示す。陰窩の底部で作られた上皮細胞(オレンジ色)は次第に絨毛の先端へ移動し、最終的に細胞死が誘導され剥離する。上図右に示すように、赤痢菌が上皮細胞へ感染すると、菌は細胞内で増殖しながら周囲の上皮細胞へ感染を拡大する。その結果、下図左に示すような腸管に激しい炎症が起こり、下図右に示すような粘血性の下痢が引き起こされる。

図2 上皮細胞レベルにおける赤痢菌の上皮細胞への感染経路。

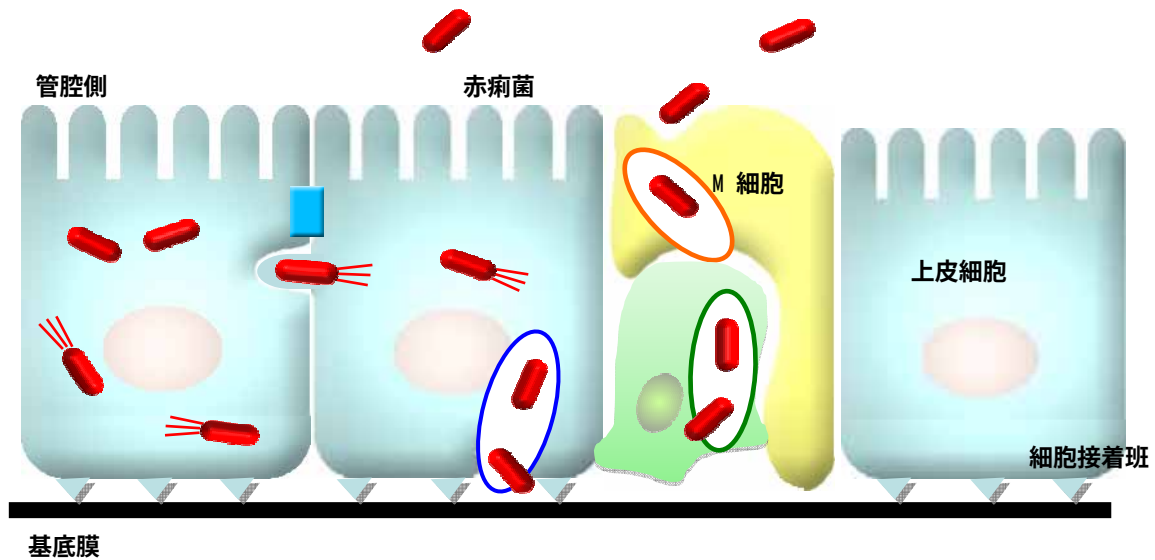


図2の説明：大腸に達した赤痢菌は、M細胞（絨毛が発達せず、マクロファージなどの免疫システムへ異物の提示や受け渡しを行う細胞）に侵入した後、その直下に常在するマクロファージに侵入し、その細胞内で増殖する。そしてマクロファージの細胞死を引き起こす。マクロファージの細胞死で細胞外へ遊離した赤痢菌は、上皮細胞に基底膜側（生体内側）から侵入し、一旦ファゴソーム（食胞）に取り囲まれるが菌はそれを破り細胞質へ離脱する。細胞質内に離脱した赤痢菌は増殖しながら菌体の一極にアクチン凝集束（アクチンコメット）を形成して、細胞内を移動するための運動の推進力を作り出す。赤痢菌は細胞質内を移動し、やがて隣接細胞へと拡散して感染を周囲の上皮細胞へ拡大する。

図 3

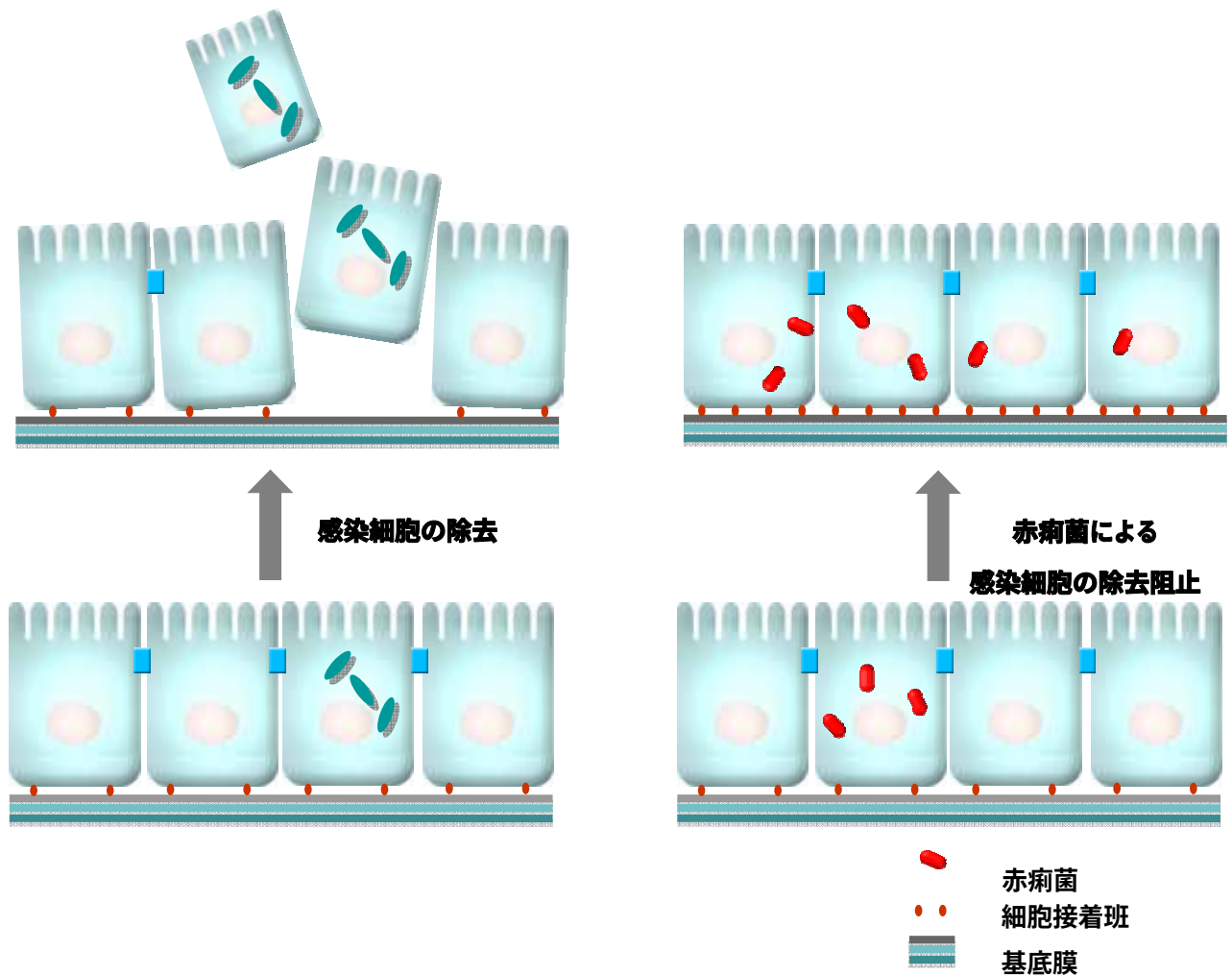


図 3 の説明：上図左に示すように、腸管上皮細胞は、細菌の感染を受けた上皮細胞を腸管壁から迅速に取り除くことにより、病原体が周囲の細胞へ感染を拡大することを防ぐ。上図右に示すように、上皮細胞へ侵入した赤痢菌は、エフェクターの一つである **OspE** タンパク質を細胞へ分泌し、腸管壁から上皮細胞が除去されることを阻止するために宿主細胞の腸管壁への接着を強化する。

図 4 (McDonald et al. J Cell Science, 2008 121: 3121 より引用)

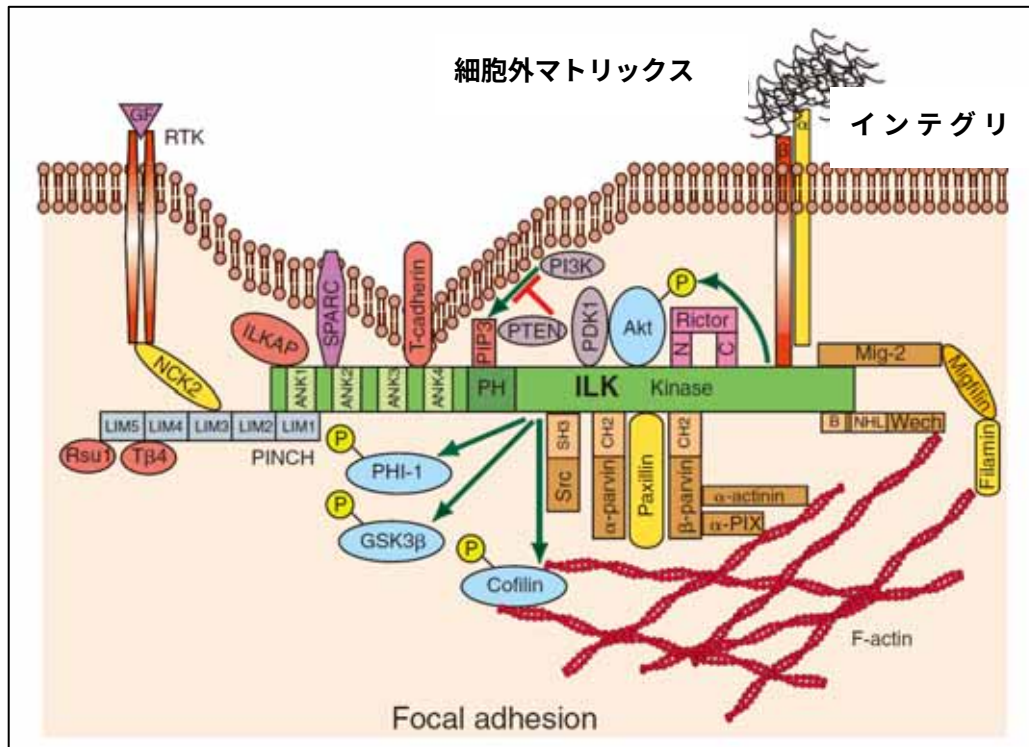
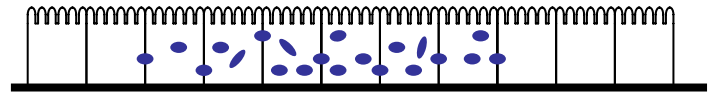
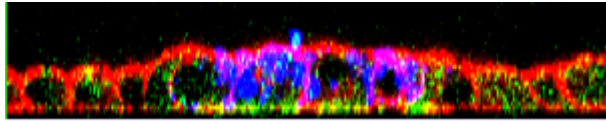


図 4 の説明：上皮細胞は、細胞接着班と呼ばれる部位で基底膜（腸管壁）へ接着している。上皮細胞の接着は、細胞接着班の表面に露出しているインテグリンと細胞外マトリックスとの結合により行なわれる。細胞接着を中心的に制御する細胞質因子であるインテグリンリンクドキナーゼ（ILK）は、インテグリンを始めとする多くの因子と結合して、細胞接着の機能を制御する。本研究では、赤痢菌から分泌される OspE が ILK へ結合すると、細胞のインテグリンによる細胞外マトリックスへの結合が安定化され、細胞の基底膜（腸管壁）からの除去がされにくくなる。

図 5

野生株赤痢菌



OspE 欠損赤痢菌

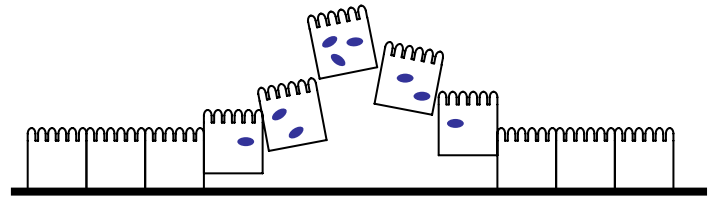
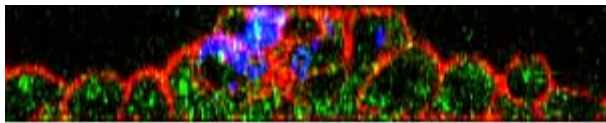


図 5 の説明：左図は、単層に培養した上皮細胞（赤い部分）に赤痢菌（青色）が侵入している様子を示している。上図では野生型の赤痢菌が上皮細胞内へ侵入してさらに周囲の上皮細胞へ拡散していることを示している。一方、下図では OspE の遺伝子を欠損させた赤痢菌変異株が上皮細胞の基底膜（腸管壁）への接着を強化できず菌が感染した細胞が基底膜から剥離していることを示している。その結果、OspE 機能を持たない菌は周囲の上皮細胞へ感染を拡大できない。