

報告番号	甲 栄 第 252 号	氏名	畑山 翔
題 目	<p>Cellular Tight Junctions Prevent Effective <i>Campylobacter jejuni</i> Invasion and Inflammatory Barrier Disruption Promoting Bacterial Invasion from Lateral Membrane in Polarized Intestinal Epithelial Cells. (タイトジャンクションは極性化上皮細胞において<i>Campylobacter jejuni</i>の細胞側面からの効率的な侵入を妨げ炎症によるバリアの破綻は菌の侵入を促進する)</p>		
<p><i>Campylobacter jejuni</i>は日本において頻発する食中毒の起因菌であり、細菌性食中毒の原因の半数以上を占めていることから食品衛生管理において重要な細菌である。これまでに<i>C. jejuni</i>感染による下痢や腹痛を主徴とする急性胃腸炎症状の発症には菌の腸管上皮細胞への侵入が重要であることが報告されており、近年<i>C. jejuni</i>の侵入関連因子や細胞内への菌の取り込み機構について明らかになりつつある。これまでに<i>C. jejuni</i>の侵入機構については非極性化上皮細胞を用いた検討が多く、一方で宿主の腸管上皮を構成する極性化上皮細胞における菌の侵入機構については未だ不明な点が多い。過去に極性化上皮細胞における<i>C. jejuni</i>の侵入は宿主の防御機能に重要な細胞側面に局在するタンパク質複合体 Tight Junctions (TJs)との関連が報告されていることから、本研究ではTJs形成と菌の取り込みに重要な細胞膜の微小領域である脂質ラフトの関連に注目して極性化上皮細胞における<i>C. jejuni</i>の侵入機構を解明することを目的とした。</p> <p><i>C. jejuni</i>の細胞内侵入について gentamycin protection assay により検討したところ、これまでに報告のある非極性化上皮細胞においては脂質ラフトの除去剤MβCD処理により<i>C. jejuni</i>の侵入が低下し、菌の侵入はコレステロールの添加により回復したことから脂質ラフトは<i>C. jejuni</i>の細胞内侵入に重要と考えられる。一方で、極性化上皮細胞においてはMβCD処理による菌の侵入の低下は認められなかったが、培養期間の短いTJs未形成の細胞やCa²⁺のキレート剤EGTA処理によるTJs破綻細胞、さらにトランズウェルを用いた基底側からの感染細胞においてはMβCD処理による菌の侵入の低下が認められた。また、蛍光顕微鏡による検討においても同様の傾向が確認された。しかし、TJs破綻細胞において腸管病原性細菌の<i>Salmonella</i>の侵入やDextranの取り込み、さらに菌の細胞への接着はMβCD処理による変化が認められなかったことから、極性化上皮細胞において脂質ラフトは<i>C. jejuni</i>の細胞側面からの侵入に特異的に関連する可能性が示唆された。これまでにEGTA処理によるTJsの破綻は継時的に回復することが報告されており、このTJsの再形成の進行による菌の侵入の低下が認められた。加えて、<i>C. jejuni</i>の侵入因子CapAの欠損株では非極性化細胞において菌の侵入が顕著に低下し、また野生株と異なりTJs破綻による菌の侵入の増加は認められなかった。これまでに腸管における炎症状態はTJsの破綻を引き起こし、特に炎症性サイトカインTNF-αの関連が報告されている。極性化上皮細胞においてTNF-α処理はEGTAと同様にTJsの破綻やそれに伴う<i>C. jejuni</i>の侵入の増加を引き起こし、このTJs破綻細胞ではMβCD処理による菌の侵入の低下が認められたことから炎症によるTJsの破綻も極性化上皮細胞における<i>C. jejuni</i>の侵入と深く関連すると考えられる。以上の結果から、宿主のTJs形成は極性化上皮細胞における<i>C. jejuni</i>の侵入過程に大きく影響し、特に細胞側面からの菌の侵入に深く関連することが示唆された。</p> <p>これまでに非極性化上皮細胞において検討されてきた細胞内への菌の取り込み機構は極性化上皮細胞においては宿主のTJsを突破後に働く重要な機構であると考えられる。TJsの破綻による<i>C. jejuni</i>の効率的な侵入は感染による腸炎の重症化を引き起こし、それによってさらにTJsが破綻し菌の侵入が促進される悪循環につながることを考えられる。そのため、<i>C. jejuni</i>感染におけるTJsの制御は感染を予防または治療する上で重要と考えられる。</p>			

報告番号	甲 栄 第 252 号	氏名	畑山 翔
審査委員	主査 竹谷 豊 副査 河合 慶親 副査 藤猪 英樹		
題目	Cellular Tight Junctions Prevent Effective <i>Campylobacter jejuni</i> Invasion and Inflammatory Barrier Disruption Promoting Bacterial Invasion from Lateral Membrane in Polarized Intestinal Epithelial Cells (タイトジャンクションは極性化腸管上皮細胞において <i>Campylobacter jejuni</i> の細胞側面からの効率的な侵入を妨げ炎症によるバリアの破綻は菌の侵入を促進する)		
著者	Sho Hatayama, Takaaki Shimohata, Sachie Amano, Junko Kido, Anh Q. Nguyen, Yuri Sato, Yuna Kanda, Aya Tentaku, Shiho Fukushima, Mutsumi Nakahashi, Takashi Uebanso, Kazuaki Mawatari, Akira Takahashi		
	平成 30 年 1 月 12 日 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology に受理済		
要旨	<p><i>Campylobacter jejuni</i> は日本において頻発する食中毒の起因菌であり、急性胃腸炎症状の発症には菌の腸管上皮細胞への侵入が重要とされている。近年、非極性化上皮細胞を用いた研究により <i>C. jejuni</i> の侵入関連因子や細胞内への菌の取り込み機構は明らかになりつつあるが、宿主の腸管上皮を構成する極性化上皮細胞における詳細な機構については未だ不明な点が多い。本研究では Tight Junction (TJ) 形成と菌の取り込みに重要な脂質ラフトの関連に注目して極性化上皮細胞における <i>C. jejuni</i> の侵入機構を解明することを目的とした。</p> <p><i>C. jejuni</i> の細胞内侵入について gentamycin protection assay により検討したところ、非極性化上皮細胞と対照的に極性化上皮細胞では脂質ラフトの除去剤 MβCD 処理による <i>C. jejuni</i> の侵入は低下しなかった。一方で、培養期間の短い TJs 未形成の細胞や Ca²⁺ のキレート剤 EGTA 処理による TJs 破綻細胞、トランズウェルを用いた基底側からの感染細胞においては、MβCD 処理による菌の侵入の低下が認められた。さらに、EGTA 処理後の TJs の再形成により菌の侵入が低下したことから、TJ 形成が極性化上皮細胞における <i>C. jejuni</i> の侵入過程に重要となることが示唆された。また、TJs 破綻細胞において <i>Salmonella</i> の侵入や Dextran の取り込み、さらに菌の細胞への接着は MβCD 処理により変化しなかったことから、極性化上皮細胞において脂質ラフトは <i>C. jejuni</i> の細胞側面からの侵入に特異的に関与する可能性が示唆された。加えて <i>C. jejuni</i> の侵入因子 CapA の欠損株では非極性化細胞において菌の侵入が顕著に低下し、野生株と異なり TJs 破綻による菌の侵入の増加は確認されなかった。また、腸管での炎症に重要な炎症性サイトカイン TNF-α 処理は極性化上皮細胞において TJs の破綻を引き起こし、この TJs 破綻細胞では MβCD 処理による菌の侵入が低下したことから、炎症による TJs の破綻は極性化上皮細胞における <i>C. jejuni</i> の侵入と関連すると考えられた。</p> <p>以上の結果から、宿主の TJ 形成は極性化上皮細胞における <i>C. jejuni</i> の侵入過程に大きく影響し、特に細胞側面からの菌の取り込み機構に深く関連することが示唆された。本研究結果は、食中毒起因菌 <i>C. jejuni</i> の細胞内侵入機構を解明したもので、博士(栄養学)の学位授与に値するものと判定した。</p>		