

報告番号	甲 栄 第 270 号	氏名	木戸 純子
題 目	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Reduces Microtubule-Dependent <i>Campylobacter jejuni</i> Invasion (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulatorは微小管依存的なカンピロ バクター・ジェジュニの侵入を抑制する)		
<p><i>Campylobacter jejuni</i> (<i>C. jejuni</i>)は、鶏の腸管内に常在する螺旋状に湾曲した微好気性のグラム陰性菌であり、ヒトに対しては腸管で病原性を発揮し、下痢、発熱などの胃腸炎症状を引き起こす食中毒菌として知られている。<i>C. jejuni</i>は、少量の菌数で感染を成立させるため、宿主の様々な防御機構を突破する特徴的な戦略機構をもつことが推測される。</p> <p>腸管では、イオンチャネルが湿潤環境の維持だけでなく病原体のクリアランスにも寄与している。cAMP 依存性の Cl⁻チャネルである cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) は、水の移送に働く主要なイオンチャネルであり、異常な活性化により下痢を引き起こすことがよく知られている。我々はこれまで <i>C. jejuni</i> 感染により CFTR の機能が低下することを報告してきたが、その意義については不明なままであった。呼吸器では、CFTR の機能低下により細菌が留まりやすい環境が作られ、慢性的な感染を生じることが明らかとなっている。そのため、腸管においても呼吸器と同様に CFTR の機能低下が <i>C. jejuni</i> の感染効率に影響することが推測される。本研究では、<i>C. jejuni</i> 感染における CFTR の役割を明らかにすることを目的に CFTR の存在による菌の感染効率について評価した。</p> <p>内因性に CFTR を発現した腸管上皮細胞 T-84 細胞を用いた実験では、<i>C. jejuni</i> の感染により CFTR の mRNA、たんぱく発現の低下を伴う Cl⁻の輸送の低下を確認できた。一方で、外因性に CFTR を発現した HEK-wt-CFTR 細胞では、感染によって Cl⁻の輸送は低下しなかったことから、<i>C. jejuni</i> 感染により生じる CFTR の機能低下はチャネル機能に直接的な作用ではないことが推測された。<i>C. jejuni</i> は、宿主上皮細胞へ定着・侵入することで、宿主細胞の炎症を誘導することから、CFTR と感染機構への関連について検討した。HEK-wt-CFTR 細胞を用い、菌の上皮細胞への定着、侵入、細胞内での生存について評価すると、CFTR の発現は定着、細胞内での生存には影響せず、侵入過程に影響することが明らかとなった。また、shRNA を用いた CFTR のノックダウンにより侵入の増加が確認できたことから、CFTR は <i>C. jejuni</i> の細胞侵入を抑制することが示唆された。</p> <p><i>C. jejuni</i> の侵入過程は、脂質ラフトあるいはクラスリンを介したエンドサイトーシス様の取り込み機構、微小管を輸送レールとして利用した細胞内輸送経路によって構成されている。阻害剤を用いて、脂質ラフトの除去やクラスリンの形成阻害を行なっても、CFTR による菌の侵入は低下したままであった。一方で微小管の重合阻害剤、微小管のモータータンパク質阻害剤の処置では、CFTR による侵入の差が消失したことから、CFTR は微小管に関与するモータータンパク質を介して菌の細胞侵入に影響する可能性が示唆された。</p> <p>CFTR の変異体を用いた検討では、チャネル活性のない G551D-CFTR が発現した細胞でも wt-CFTR 同様に侵入が低下したが、未成熟な CFTR が発現した ΔF508-CFTR 細胞では侵入は低下しなかった。薬剤、低温処置により ΔF508-CFTR の成熟化を促すと、侵入が低下したことから、チャネル活性よりも CFTR の成熟化が <i>C. jejuni</i> の細胞侵入抑制に寄与することが考えられた。</p> <p>本研究結果より、CFTR は病原体の輸送調節に寄与し、宿主の防御機構として機能していることが明らかとなった。そのため、<i>C. jejuni</i> の感染で生じる CFTR の発現低下は、<i>C. jejuni</i> の侵入を促進し、その後の病態機構に関連する感染戦略の 1 つとして考えられる。</p>			

報告番号	甲 栄 第 270 号	氏名	木戸 純子
審査委員	主査 宮本 賢一 副査 藤猪 英樹 副査 首藤 恵泉		
題目	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Reduces Microtubule-Dependent <i>Campylobacter jejuni</i> Invasion (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator は微小管依存的なカンピロバクター・ジェジュニの侵入を抑制する)		
著者	Junko Kido, Takaaki Shimohata, Sachie Amano, Sho Hatayama, Anh Quoc Nguyen, Yuri Sato, Yuna Kanda, Aya Tentaku, Shiho Fukushima, Mutsumi Nakahashi, Takashi Uebanso, Kazuaki Mawatari, Akira Takahashi		
	平成 29 年 10 月発行「Infection and Immunity」第 85 巻第 10 号 e00311-17 ページに発表済		
要旨	<p>本論文では、食中毒起因菌 <i>Campylobacter jejuni</i> (<i>C. jejuni</i>) 感染において、イオンチャネルである cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) が防御因子として機能することを明らかにしている。</p> <p><i>C. jejuni</i> は、鶏の腸管内に常在するグラム陰性菌であり、ヒトに対しては腸管で病原性を発揮し、下痢、発熱などの胃腸炎症状を引き起こす食中毒菌として知られている。これまでの研究において <i>C. jejuni</i> 感染により水輸送に関わるイオンチャネルである CFTR のチャネル活性や遺伝子発現が抑制されることを報告してきた。しかし <i>C. jejuni</i> 感染における CFTR 抑制の意義については不明であったため、本論文では <i>C. jejuni</i> の病態発症機構に注目し、CFTR の役割について検討を行った。</p> <p>CFTR 安定発現細胞を用いた検討から、CFTR が <i>C. jejuni</i> の細胞内侵入抑制に働くことが明らかとなった。<i>C. jejuni</i> の侵入経路は細胞表面からのエンドサイトーシス様の取り込みと微小管を介した細胞内輸送の 2 つの経路に関わるため、それぞれの経路の阻害剤を用いて CFTR との関連を検討した。その結果、微小管重合阻害剤、微小管のモータータンパク質阻害剤の処理により、CFTR を介した侵入抑制が消失することが明らかとなり、CFTR が微小管モータータンパク質を制御し細胞内輸送を阻害していることが示された。また、CFTR の変異体を用いた検討では、糖鎖修飾による成熟化が欠如した $\Delta F508$-CFTR 細胞では <i>C. jejuni</i> の細胞侵入は抑制されず、薬剤や低温刺激により $\Delta F508$-CFTR の成熟化の増加によって、CFTR による侵入抑制機能が回復したことから、<i>C. jejuni</i> の侵入抑制に CFTR の成熟化が影響することが明らかとなった。以上の結果より、CFTR は湿潤環境の維持だけでなくモータータンパク質を抑制的に制御していることが明らかとなり、これらの経路を利用して細胞内に侵入する <i>C. jejuni</i> の感染防御因子として機能していることが推測された。これまで不明であった <i>C. jejuni</i> 感染時に生じる CFTR の機能抑制や遺伝子発現の抑制は効率的に菌が宿主細胞に侵入する上で重要なステップとして働くことが考えられた。</p> <p>本研究は、<i>C. jejuni</i> 感染制御のために CFTR がターゲットとなる可能性を示したものであり、感染症に対する栄養療法を行う上で重要な知見となるため、博士(栄養学)の学位授与に値すると判定した。</p>		