

論文内容要旨

報告番号	甲栄第 289 号	氏名	福島 志帆
題目	Recruitment of LC3 by <i>Campylobacter jejuni</i> to bacterial invasion site on host cells via the Rac1-mediated signaling pathway (Rac1シグナル伝達経路を介したカンピロバクター・ジェジュニの宿主細胞侵入部位へのLC3動員)		
<p><i>Campylobacter jejuni</i> (Cj) は日本で頻発する細菌性食中毒の起因菌であり、現在世界的な流行をみせている。Cjの主要な毒素や病原性遺伝子は明らかとなっていない一方で、Cjの運動性、走化性、および細胞侵入過程は、感染に関与する主要因子だと考えられている。実際、宿主細胞への侵入が低下したCj変異株の感染においては、腸上皮細胞からの炎症性サイトカイン、インターロイキン-8の産生が減弱することが報告されたことから、Cj感染における細胞内侵入過程は、特に炎症誘導に重要な病原性因子のひとつとして認識されている。</p> <p>対して宿主細胞では、病原性細菌の侵入に抵抗するため様々な免疫防御反応が誘発されており、そのひとつにオートファジーが含まれている。オートファジーは、細胞内でオートファゴソームと呼ばれる小胞を形成し、リソソームを介して内容物を分解するバルク分解系である。細胞内へと侵入した細菌はオートファジー機構によって異物として特異的に認識され、選択的に分解される。しかし一部の病原性細菌は、オートファジーによる殺菌を逃れることで宿主細胞内での生存を有利にすることも明らかとなっている。しかしながらこれまで、Cj感染におけるオートファジーの誘導性・細胞内に侵入したCjに対するオートファゴソームの応答性に関して研究報告はない。そこで本研究では、Cj感染時のオートファジーの動態を明らかにし、Cj感染におけるオートファジーの役割を明確にすることを目的に検討を行った。</p> <p>はじめに蛍光免疫染色によって、オートファジー関連タンパク質とCjの細胞内局在を確認したところ、Cjはオートファゴソームやオートリソソームと共局在せず、宿主細胞内でオートファジーによる異物認識の標的にならないことを観察した。一方でウエスタンブロッティングによってオートファジー関連タンパク質発現を確認すると、Cj感染細胞では感染時間依存的にオートファジーが誘導されていた。Cj感染におけるオートファジーの役割を明らかとするために、オートファジー誘導剤・阻害剤を用いて感染への影響を確認した結果、オートファジー誘導剤処理では宿主細胞への侵入が促進し、阻害剤処理で侵入が抑制することが明らかとなった。オートファジーがCjの侵入経路に関与することが示唆されたため、オートファジーが関与する、宿主シグナル伝達経路について検討を行った。その結果、Cjの主要な侵入経路であるアクチン重合に関与するsmall GTPaseであるRac1の構成的活性型を発現した細胞では細胞内侵入が促進され、オートファジー阻害剤処理ではRac1を介したCjの細胞侵入が消失することも明らかとなった。またRac1の活性によって、感染の初期段階(接着から侵入の段階)で、LC3とCjは共局在を示すことが明らかとなり、Cjの侵入過程にLC3が寄与することが示唆された。さらにCjのフィブロネクチン結合タンパク質であるCadFの変異株では、宿主細胞内のRac1活性が低下し、CjとLC3の共局在も減少したことから、Cj感染において、CadFを介したRac1の活性化によりLC3の細胞内局在が制御されることも示唆された。</p> <p>本研究より、Cjは感染時に宿主細胞のオートファジーとRac1シグナル伝達の相互作用を介し、細胞内に効率的に侵入していることが示された。Cjの侵入経路では、Rac1の活性化はLC3が菌の侵入部位へと動員される機構に関与していることを示唆しており、感染を促進させる上で重要な働きを示すと考えられる。本検討で明らかとなったRac1-LC3シグナル伝達の制御は、Cjの病原性に関与する侵入過程の抑制につながることから、Cj感染の予防・治療に対する有効な手段となりえる。</p>			

報告番号	甲 栄 第 289 号	氏名	福島 志帆
審査委員	主査 竹谷 豊 副査 二川 健 副査 瀬川 博子		
題目	Recruitment of LC3 by <i>Campylobacter jejuni</i> to bacterial invasion site on host cells via the Rac1-mediated signaling pathway (Rac1シグナル伝達経路を介したカンピロバクター・ジェジュニの宿主細胞侵入部位へのLC3動員)		
著者	Shiho Fukushima, Takaaki Shimohata, Yuri Inoue, Junko Kido, Takashi Uebanso, Kazuaki Mawatari, Akira Takahashi		
	令和4年2月2日 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology に受理済		
要旨	<p>本論文では、食中毒起因菌である <i>Campylobacter jejuni</i> (Cj) 感染におけるオートファジーの役割を調査し、Cjの侵入過程にオートファジー関連タンパク質である Microtubule-associated protein light chain 3 (LC3) およびアクチン重合関連因子である Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 (Rac1) が関与することを明らかにしている。</p> <p>Cjは我が国の主要な細菌性食中毒の起因菌である。Cjの宿主細胞内への侵入は宿主細胞の炎症応答を誘発し、病原性に寄与することが報告されている。対して感染に際した宿主細胞では、病原性細菌の侵入に抵抗する細胞内抗菌プロセスのひとつとしてオートファジーが誘導される。本研究では、Cj感染時にオートファジー関連因子がどのような役割を持つかを明らかとするために検討を行った。はじめに、蛍光免疫染色によってオートファジー関連タンパク質とCjの細胞内局在を確認したところ、Cjがオートファゴソームやオートリソソームと共局在せず、感染時にオートファジーによる殺菌の標的とならないことを観察した。そこで、オートファジーのCj感染における役割を明らかとするために、Cjの各感染段階へのオートファジーの影響を確認した。その結果、オートファジー誘導剤処理細胞では侵入菌数が増加し、阻害剤処理細胞で侵入が抑制されたことから、オートファジーがCjの侵入経路に関与することが明らかとなった。加えて、Cjは感染早期段階でのみ、細菌の侵入部位でLC3と共局在を示すことが明らかとなり、Cjの侵入過程にLC3が寄与することが示唆された。続いて、オートファジーを介したCjの侵入経路に関与する宿主シグナル伝達経路についても検討を行った結果、Cjの主要な侵入経路であるアクチン重合に関与するsmall GTPaseであるRac1の構成的活性型を発現した細胞では、Cj侵入部位へLC3が動員され、細胞内侵入が促進されることが明らかとなった。さらにCjのフィブロネクチン結合タンパク質であるCadFの変異株では宿主細胞内のRac1の活性が低下し、CjとLC3の共局在も減少したことから、CadFを介したRac1の活性化によりLC3の細胞内局在が制御されることが示唆された。</p> <p>本研究は、主要な食中毒細菌であるCjの感染制御のためにオートファジーシグナル伝達がターゲットとなる可能性を示したものであり、食中毒の制御に対する重要な知見になると考えられる。食品衛生学における新しい知見を創出する研究となるため、博士(栄養学)の学位授与に値すると判定した。</p>		