

ショウジョウバエ腸管における細菌と宿主の相互作用の研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2018-07-02 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/00051376

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



学 位 論 文 概 要

(Dissertation Summary)

学位論文題名(Title of Dissertation)

ショウジョウバエ腸管における細菌と宿主の相互作用の研究

専攻(Division) : 創薬科学専攻

研究室(Laboratory) : 生体防御応答学研究室

氏名(Name) : 堀 亜紀

主任指導教員氏名(Primary supervisor name) : 倉石 貴透

学位論文概要(Dissertation Summary)

自然免疫は、生体内に侵入してきた病原体に対し感染防御の第一線を担う生体防御機構である。「内なる外」と呼ばれる腸管は、生体内にありながら常に様々な病原微生物や腸内常在菌にさらされている部位である。そのため強力かつ特有な自然免疫機構の存在が予想されるが、その詳細な機構は不明である。

本研究では、自然免疫研究の有用なモデル生物であり、構造的・機能的に哺乳類と非常に良く似た消化管を有するショウジョウバエを用いて、腸管での自然免疫機構の解析を行うこととした。ショウジョウバエ腸管での免疫応答はこれまでにグラム陰性菌を用いた解析により、

- (1) 囲食膜による腸管上皮細胞の物理的な防御
- (2) 腸管上皮細胞からの活性酸素種 ROS (Reactive Oxygen Species) 産生による菌の排除
- (3) IMD (Immune deficiency) 経路を介した抗菌ペプチドの産生による菌の排除
- (4) 感染により傷ついた上皮細胞の修復

により行われていることが明らかになっている。しかしながら、グラム陽性菌に対する腸管での免疫応答については全く知られていない。そこで今回、グラム陽性菌経口感染時の腸管における免疫応答機構の解明を目的として研究を行った。

まず始めに、グラム陽性菌である黄色ブドウ球菌を経口感染させる条件を検討し、再現性よく感染後の生存率を測定できる実験系を確立した。そこで、これまでにショウジョウバエ腸管においてグラム陰性菌経口感染時の免疫応答に重要であると知られていた機構の関与を検討した。

囲食膜の変異体を用いて経口感染実験を行ったところ生存率が低下したことから、囲食膜による腸管上皮細胞の物理的な防御が黄色ブドウ球菌経口感染時の防御にも重要であることが分かった。次に、ROS を産生できない変異体を用いて経口感染実験を行ったところ生存率の低下はみられなかった。実際に黄色ブドウ球菌経口感染時に腸管での ROS の産生量を定量したところ、感染後ほとんど ROS は産生されていなかった。これらのことから、腸管上皮細胞による ROS の産生による殺菌は黄色ブドウ球菌の排除には関与しないことが分かった。この時、組織損傷時に産生されるサイトカインの変異体を用いて経口感染実験を行ったところ生存率の低下はみられず、感染後幹細胞の分化・増殖の亢進もみられなかった。

もう一つの細菌の排除機構として知られる IMD 経路を介した免疫応答の関与を調べるため、IMD 経路の変異体を用いて経口感染実験を行ったところ、それらの変異体で生存率の低下がみられた。この生存率の低下は腸内細菌叢の異常によるものではなかった。さらに、CFU (Colony Forming Unit) アッセイにより経口感染後の体内での菌数を調べたところ、IMD 変異体では野生型に比べて黄色ブドウ球菌の数が多くなっていた。これらのことから、IMD 経路が黄色ブドウ球菌経口感染時の排除にも関わっていることが示唆された。

しかし、黄色ブドウ球菌経口感染後の腸管での抗菌ペプチド発現量を測定したところ、グラム陰性菌経口感染時と比べるとわずかな発現誘導しかみられなかった。したがって、抗菌ペプチドの産生ではない、IMD 経路を介した排除応答が重要であると考えられた。これまでに知られていた抗菌ペプチド産生や ROS 産生によらない排除機構として、私は腸管の蠕動運動によるフン中への細菌の排泄応答が重要ではないかと考えた。そこで、黄色ブドウ球菌経口感染後の腸管の蠕動運動によるフン中への菌の排泄量を調べたところ、野生型と比べて IMD 変異体では菌の排泄に異常が見られた。さらに、DNA マイクロアレイ解析から、黄色ブドウ球菌経口感染時に IMD 経路依存的に神経系の遺伝子の腸管での発現変動がみられ、このうちのいくつかの遺伝子について腸管での RNAi により黄色ブドウ球菌経口感染後の生存率の低下が見られた。

以上の結果から、グラム陽性菌感染時には ROS や抗菌ペプチドの産生が起こらないため、蠕動運動によるフン中への菌の排泄が非常に重要な役割を果たしていることが示唆された。IMD 経路変異体は排泄機能に異常が生じているために黄色ブドウ球菌を正常に排除することができないため、感染抵抗性の低下がみられると考えられる。今回の結果から、これまでに知られていなかったグラム陽性菌に対する腸管での免疫応答機構が明らかとなり、免疫系と蠕動運動を制御する機構の相互作用が重要な役割を持つことが示唆された。

さらに、今回、この研究をすすめている過程で、無菌状態のショウジョウバエを安定的に長期間・世代を超えて維持することに成功した。この方法を用いることにより、これまでに解析できなかった宿主と微生物の長期的な相互作用を世界で初めて明らかにできることが期待される。