

<S-4> ヒト細胞特異的毒素インターメディリシンは *Streptococcus intermedius* によるヒト細胞感染に重要な役割を果たす

○長宗秀明(徳島大学・工学部・生物工学科)

【序論】インターメディリシン(ILY)は、ヒトにおいて脳や肝臓等の深部臓器に重篤な膿瘍感染を起こす *S. intermedius* が分泌する、ヒト細胞特異的なコレステロール依存性細胞溶解毒素である。*ily* 遺伝子は *S. intermedius* に普遍的に分布するが、深部臓器膿瘍からの分離株は正常生息部位である歯垢からの分離株より6-10倍ものILYを分泌し、ILYと *S.*

intermedius 感染症の関連性が示唆されている。そこで脳膿瘍分離株UNS38を親株とし、*ily* 遺伝子ノックアウト株(K/O株)、及びその遺伝子相補株(Comp株)を相同組換え法で作成した。感染モデル細胞としてヒト肝癌細胞HepG2及びラット肝癌細胞BRL3Aを対象とし、上記3株を感染させて *S. intermedius* のヒト細胞感染におけるILYの役割を検討した。

【結果と考察】親株とComp株は同サイズの *ily* 遺伝子を持ちILYを同様に分泌し、K/O株はエリスロマイシン耐性遺伝子の挿入分だけ大きなサイズの分断された *ily* 遺伝子を持ちILYを分泌しないこと、3株とも同様な増殖性を示すことを確認した。HepG2に親株及びComp株を感染させると感染後2-3日でHepG2生存率が著しく減少したが、K/O株ではほとんど生存率を低下させなかった。一方どの株を感染させたBRL3Aでもこのような生存率の低下は見られなかった。また親株とComp株は感染後1日でHepG2のファゴソーム内に多数取り込まれていることや感染3日後では細胞質内に移行・増殖して感染HepG2を死滅させることを電子顕微鏡観察で確認した。BRL3Aの場合はこの株を感染させた場合でも菌の顕著な細胞内への侵入や増殖は見られなかった。さらにこのヒト特異的な感染現象は各感染細胞内の菌体を定量的PCRで定量した結果からも確認された。また親株やComp株表面をILY中和抗体で前処理してから感染させると、菌のHepG2への侵入が激減した。逆にK/O株の表面にILYを吸着させて感染させるとHepG2への結合量の一時的増加が観察されたが、その後HepG2内での増殖は見られなかった。これらの結果は、ILYが *S. intermedius* のヒト細胞特異的な感染現象に重要な役割を果たし、菌体表面に結合したILYは細胞への結合・侵入に、また細胞内で分泌されるILYはファゴソームの破壊や細胞死を招くことを強く示唆している。