

Vibrio vulnificus の生体内増殖機構の解明

～新規網羅的病原遺伝子同定法 (ISLAP) 法の開発～

北里大学獣医学系研究科 獣医公衆衛生学研究室 門 武宏

【目的】ヒトが *Vibrio vulnificus* (*V. vulnificus*) に創傷感染すると平均 16 時間で発症し、重度の軟部組織壊死症や敗血症に陥る。本感染症の特徴であるこの短い潜伏期間と急激な病態の進行は、細菌感染の主要防御機構である好中球の貪食から本菌が逃避することを示唆している。本研究では、特定機能に必須の遺伝子を網羅的に同定可能な技術、**I**dentification of **S**pecific genes using a **L**ibrary of **A**virulent **P**henotypes (ISLAP) 法を開発し、*V. vulnificus* の好中球からの逃避に必須の遺伝子を網羅的に同定することで、好中球逃避機構解明を試みた。

【方法と結果】抗 Ly6G 抗体の接種により好中球を枯渇させたマウスを用いて、ISLAP 法を実施した結果、*V. vulnificus* の好中球逃避機構への関与が既知の 9 遺伝子と、未知の 10 遺伝子を同定することができた。好中球逃避機構への関与が未知の遺伝子のうち 2 遺伝子は連続した ORF で、タンパク質の菌体外膜への輸送を担っていると予測された。この連続した遺伝子をそれぞれノックアウトした変異株を作製し、健常および好中球枯渇マウスに皮下接種して、マウスの生存時間を野生株接種と比較したところ、健常マウスでは生存時間が延長したが、好中球枯渇マウスでは野生株と同じであった。これらの結果は、連続した ORF がコードするタンパク質に輸送されるタンパク質が、*V. vulnificus* における好中球逃避機構に必要であることを示唆すると共に、ISLAP 法により特定機能に関与する病原遺伝子の網羅的同定が可能であることを示している。

【総括】本研究において開発した ISLAP 法は、生体内で発現する遺伝子の感染における役割を解明可能な画期的手法であることから、*V. vulnificus* のみに留まらず、様々な細菌の病原性研究の飛躍的發展に寄与することが予想される。