

家禽チフスの発症を防ぐ創薬標的としての サルモネラ III型分泌装置の機能解析

帯広畜産大学獣医学研究部門・准教授 相川 知宏

■ 目的

家禽チフスは、サルモネラ血清型 Gallinarum (SG) の感染による鶏の全身性感染症であるが、本症発症に寄与する SG の感染動態や病原因子はほとんど分かっていない。一方、代表的なサルモネラ血清型である Typhimurium の病原性には、宿主細胞にエフェクターと呼ばれる病原因子群を注入する III型分泌装置(T3SS)の機能が重要であり、異なる 2種類の T3SS が本菌の細胞への侵入と貪食細胞内での増殖に寄与している。SG ゲノム上にも同装置の遺伝子はコードされるが、鶏生体内での本菌の病原性に寄与するかは不明である。そこで本研究では、SG の T3SS 欠損株の鶏感染試験により、SG の病原性における T3SS の寄与を評価することを目的とした。

■ 方 法

2つの T3SS はそれぞれ複数の因子により構成されるが、構造上必須である因子を 1つ欠損させることで分泌装置としての機能を失う。そこで T3SS-1 については InvA を、T3SS-2 については SsaD を欠損させた変異株を作成した。これら 2つの T3SS 欠損株 ($\Delta invA$ 、 $\Delta ssaD$) と野生株(WT)を 2週齢の鶏に接種し、接種 2週間後までの鶏の臨床スコア及び生存を記録した。また、野生株接種鶏が死亡し始める直前の接種 5日後に一部の鶏を解剖し、盲腸内容、脾臓、肝臓から分離される SG の菌数を測定した。解剖時には脾臓の重量を測定することで、鶏の炎症応答に伴う脾臓腫大を観察した。

■ 結果および考察

WT 接種群では、接種 3日後から食欲低下や嗜眠などの臨床症状が現れ、5日後に 84.6% が死亡し、その後 7日後までに全ての鶏が死亡した。 $\Delta invA$ 接種群では 6日後から臨床症状を認め、8日後と 9日後の 2日間で 40% が死亡したが、60% が生存した。 $\Delta ssaD$ の接種群では、実験実施期間内に臨床症状を示す個体はみられず、死亡鶏も認められなかった。

WT 接種群の肝臓から回収された菌数は、 $6.00 \pm 0.94 \log_{10} \text{CFU/g}$ であった。これに対して、 $\Delta invA$ 接種群の肝臓から回収された菌数は $4.81 \pm 0.31 \log_{10} \text{CFU/g}$ で、約 20% 減少していた。また、 $\Delta ssaD$ 接種群の肝臓から菌は回収されなかつた。

WT 接種群の脾臓から回収された菌数は $6.22 \pm 1.09 \log_{10} \text{CFU/g}$ であった。これに対して、 $\Delta invA$ 接種群の脾臓から回収された菌数は $4.82 \pm 0.29 \log_{10} \text{CFU/g}$ で、約 23% 減少していた。また、 $\Delta ssaD$ 接種群の脾臓から菌は回収されなかつた。接種群間の脾臓重量比は、WT 接種群の値を 1 として標準化すると、 $\Delta invA$ 接種群は 0.68、 $\Delta ssaD$ 接種群では 0.39 であった。

盲腸内容から回収された菌数は、WT 接種群で $7.06 \pm 0.92 \log_{10} \text{CFU/g}$ であった。 $\Delta invA$ 、および $\Delta ssaD$ 接種群の盲腸内容から回収された菌数はそれぞれ、 $5.70 \pm 0.40 \log_{10} \text{CFU/g}$ 、および $5.93 \pm 1.10 \log_{10} \text{CFU/g}$ であり、WT と比較して約 19%、および約 16% 減少していた。

これらの結果から、 $invA$ および $ssaD$ が SG の病原性に寄与していることが明らかになったが、 $ssaD$ は、 $invA$ と比較してより致死的な病原性に関連すること、つまり鶏の腸管から臓器への移行に伴う全身性の感染に重要な役割を担っていることが示唆された。

■ 結 語

両 T3SS が鶏生体内での SG の病原性に寄与しているが、SG 感染による鶏の致死性には T3SS-2 がより強く関連する。