

【目的】 百日咳菌 (*Bordetella pertussis*) はヒトの気道に感染し、激しい咳発作を伴う百日咳を引き起こす。私たちはこれまでに、試験管中で培養した百日咳菌とマウスの気管に定着した本菌の遺伝子発現量を RNA-Seq により解析し、宿主感染時に高発現する 9 種類の small RNA (sRNA) を同定した。さらに、*B. pertussis* sRNA (Bpr) 1~9 と命名したこれらの sRNA のうち、Bpr4、5、8、9 の発現量は試験管培養時と比較して宿主感染時に 10~100 倍に増加していることを見出している。本研究では、私たちが発見した sRNA が百日咳菌の感染性・病原性に与える影響を検討した。

【方法】 各 sRNA を欠損した百日咳菌株を作製し、マウスに経鼻感染後、気管への定着率を算出した。マウスへの感染能に関与していた sRNA については、*in silico* 解析および RNA-RNA 結合解析により sRNA の標的となる遺伝子を同定し、宿主への感染を促進させる機構を検討した。次に、宿主感染時に sRNA の発現量が増加する機構を調べるために、百日咳菌の各種変異体とトランスポゾンライブラリーを組み合わせた解析により、宿主細胞に接着した百日咳菌における sRNA の発現増加に関与する細菌側の因子を同定した。さらに、その細菌側の因子と結合する宿主因子を産生しない培養細胞を用いて、sRNA の発現増加を引き起こす宿主因子の同定を行った。

【結果】 宿主感染時に発現量が増加する 4 種類の sRNA (Bpr4、5、8、9) のうち、Bpr4 欠損株ではマウス気管への定着率の低下が見られた。Bpr4 に着目し、解析を進めたところ、Bpr4 は百日咳菌の主要な接着因子である繊維状赤血球凝集素 (filamentous hemagglutinin : FHA) をコードする *fhaB* mRNA の 5'非翻訳領域に RNA シャペロンである Hfq の存在下で結合し、RNaseE による *fhaB* mRNA の分解を抑制することで、FHA の発現量を転写後レベルで増加させ、百日咳菌の宿主への感染を促すことが分かった。宿主感染時における Bpr4 の発現増加については、以下のシグナル伝達経路を介して誘導されていた。(1) 百日咳菌の菌体が宿主細胞に接着すると同時にフラジェリンが宿主細胞膜上の脂質ラフトに存在するガングリオシドと結合することでべん毛の回転が阻害される。(2) べん毛の固定子 (MotAB) がべん毛複合体から離れて細胞内膜上で拡散する。(3) MotA は細胞内膜に局在するジグアニル酸シクラーゼ (DgcB) に結合してこれを活性化し、cyclic di-GMP の合成を亢進させる。(4) cyclic di-GMP 依存的に機能する RisK/RisA 二成分制御系を介して Bpr4 の発現量が増加する。以上の研究結果から、べん毛を介した宿主感知機構が sRNA の発現増加を介して百日咳菌の感染効率を上昇させていることが明らかとなった。

宿主細胞に接着した百日咳菌における Bpr4 と FHA の発現増加メカニズム

