九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Comparative analysis of virulence traits between a Legionella feeleii strain implicated in Pontiac fever and a strain that caused Legionnaires' disease

王, 常楽

https://doi.org/10.15017/1654694

出版情報：九州大学, 2015, 博士（医学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

KYUSHU UNIVERSITY

氏　名　：ワン　チャンラ
王　常楽
Wang　Changle

論 文 名 ： Comparative analysis of virulence traits between a *Legionella feeleii* strain implicated in Pontiac fever and a strain that caused Legionnaires' disease

（レジオネラ肺炎とポンティアック熱とに由来する *Legionella feeleii* 株の病原性形質の比較分析）

区　分 ： 甲

論 文 内 容 の 要 旨

レジオネラはヒトにレジオネラ症(重篤な肺炎)とポンティアック熱(軽度な上気道炎症状)を起こす。同じ種内の同一血清群であっても、この2つの異なる病態を引き起こすことが知られているが、その理由は細菌学的にも生体防御の面からも明らかにされていない。本研究ではポンティアック熱の感染源となった淡水から分離された *Legionella feeleii* ATCC 35072(血清群1、LfPFと略)とレシオネラ症患者から分離された*L. feeleii* ATCC 38549(血清群 2、LfLD)の比較解析を行った。

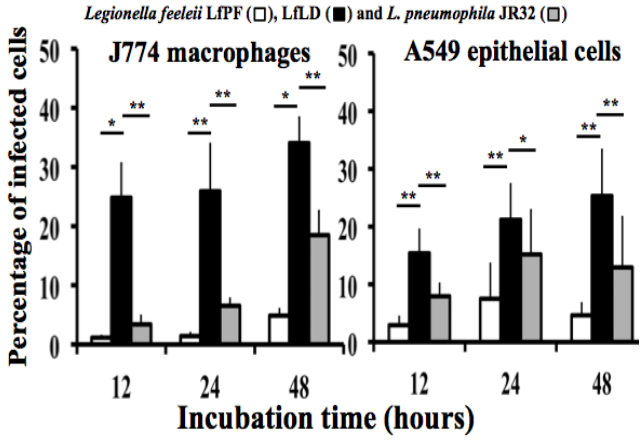

Fig. 1. J774 マウスマクロファージ細胞株(multiplicity of infection, m.o.i=10)やA549ヒト肺上皮細胞株(m.o.i=100)に 37℃で *Legionella feeleii* LfPF と LfLD と陽性対照 *Legionella pneumophila* JR32 株を感染させ、12、24、48 時間感染後に、ヒメネス染色により観察して、*Legionella* 菌の感染率を計算した：(感染された細胞/すべて細胞)×100 (%) (**, P<0.01; *, P<0.05)。

Fig. 1に示すようにLfLDは、LfPFおよび陽性対照*Legionella pneumophila* JR32株よりJ774マウスマクロファージ細胞株やA549ヒト肺上皮細胞株に感染率を高かった。

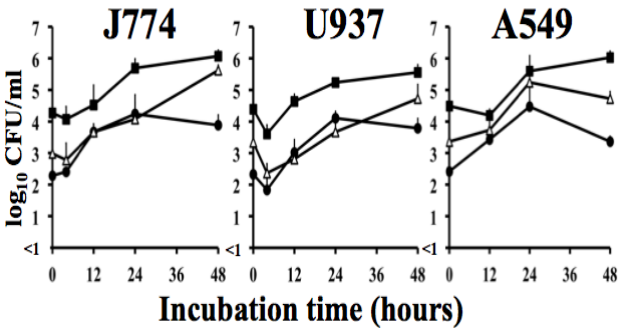

Fig. 2. J774 (マウス) やU937 (ヒト) マクロファージ細胞株 (m.o.i=10) と A549 ヒト肺上皮細胞株 (m.o.i=100)に37℃で*Legionella feeleii* LfPF (●) と LfLD (■) と陽性対照*Legionella pneumophila* JR32株 (△) を感染させ、さらに37℃で48時間まで培養した。縦軸は細胞内で増殖した菌数を示す。

Fig. 2に示すようにLfLDは、LfPFおよび陽性対照*Legionella pneumophila* JR32株より0時間に宿主細胞への侵入率が高く、しかし、48時間感染後LfLDやLfPFは宿主細胞の中に増殖できであった。

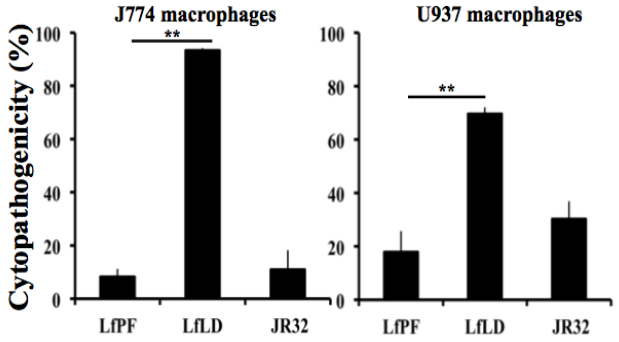

Fig. 3. J774（マウス）やU937（ヒト）マクロファージ細胞株(m.o.i=100)に37℃で *Legionella feeleii* LfPFとLfLDと陽性対照 *Legionella pneumophila* JR32株を感染させ、24時間後10% Alamar Blueをサンプルに入れ、また37℃で4時間を培養した。

Fig. 3に示すようにLfLDは、LfPFおよび陽性対照*Legionella pneumophila* JR32株より感染死したマクロファージ細胞が多く、細胞毒性が高いことが示された。

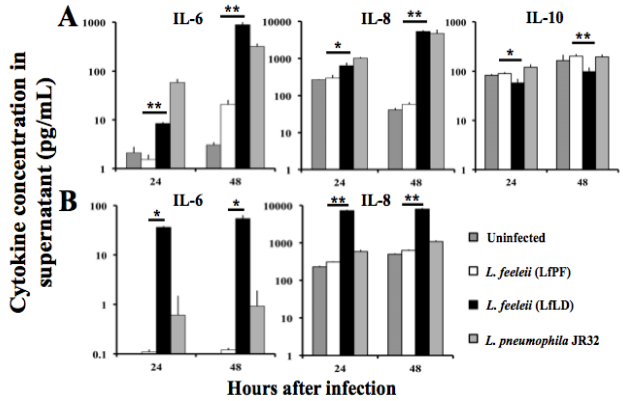

Fig. 4. U937ヒトマクロファージ細胞株(A, m.o.i=10)やA549ヒト肺上皮細胞株(B, m.o.i=100)に37℃で *Legionella feeleii* LfPFとLfLDと陽性対照*Legionella pneumophila* JR32株を感染させ、24、48時間後、細胞培養の上清液のサイトカインを測定した。

Fig. 4に示すようにLfLDは、LfPFより多量のIL-6やIL-8を産生することが明らかになった。しかし、IL-10の分泌はLfPfよりLfLDが少ないことが分かた。

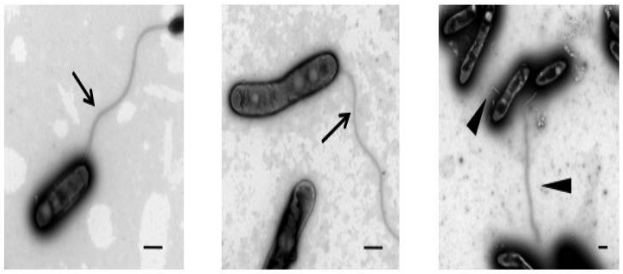

Fig. 5. *Legionella feeleii* LfPFとLfLDを25℃、30℃、37℃で培養し、ネガティブ染色後、透過電子顕微鏡で観察した。 写真はいずれもLfLDで左から25℃、30℃、37℃。LfPDに鞭毛は観察されなかった。

Fig. 5に示すようにLfLDは25℃や30℃で滑らかな波の形態を有する鞭毛を示した。しかし、37℃で産生する鞭毛は直線状であった。LfPfは鞭毛を産生していなかった。陽性対照*Legionella pneumophila* JR32株は25℃、30℃と37℃で波の形態鞭毛を示した（data not shown)。

以上の結果から、LfPFとLfLDの間には病原性と関連する特性に明確な相違があり、LfLDの方が感染性と起炎性が強いことが明らかになった。本研究により、レシオネラ感染症がホンティアック熱と肺炎という2つの病態をとる理由を解明するための重要な知見が得られたと考えられる。