

審査結果の要旨

氏名 RAZANAJATOVO Iony Manitra

本論文においては、動物感染モデルを用い、病原性細菌の新たな病原性遺伝子を同定した。同定した遺伝子は、新規な二成分制御系で細胞壁の完全性に寄与することを明らかにし、カイコ幼虫感染モデルにおける細菌細胞壁成分の病原性への寄与を考察した。

第一章においては、病原性細菌として黄色ブドウ球菌を用い、変異剤処理により得た変異株をカイコ幼虫感染モデルにおける殺傷能の低下によってスクリーニングを行った。変異剤処理により誘導される点変異を動物感染モデルにおける殺傷能低下という表現型を用いて同定することは困難であるが、申請者は予めクロルプロマジンという膜作用性薬剤に対する感受性株として一次スクリーニングを行い、これを出発材料として病原性低下株を選ぶことによって解決している。即ち、クロルプロマジン感受性と病原性の低下について、同じ変異に起因するものがあると想定し、クロルプロマジン感受性を誘起している変異をプラスミド相補実験により同定し、この変異が同時に病原性の低下を導いていることを変異株一株について明らかにした。

第一章においてはさらに、同定した遺伝子が二成分制御系をコードしていたことを受けて、オペロンをコードする二つの遺伝子の欠損株をそれぞれ作出し、これらの欠損株が先に得た点変異体と同じく、クロルプロマジン感受性と病原性の低下という表現型を示すことを明らかにし、この二成分制御系の病原性への寄与を確かにした。

第二章においては、二成分制御系の病原性への関与について、具体的な分子機能の解明を試みた。初めに毒素を含む病原性因子の発現量に影響を与えているかについて試験したが、検出される主要な毒素に発現量の低下は見られなかった。そこで、宿主免疫からの防御に欠損がある可能性を考えて、リゾチームや抗菌ペプチド、界面活性剤への感受性を調べた。その結果、変異株は細胞壁水解酵素であるリゾチームに感受性であり、またイオン性界面活性剤には感受性を示さないものの Triton X-100 などの非イオン性界面活性剤に感受性を示すことを見出した。非イオン性界面活性剤が菌の増殖阻害作用を示すのは、およ

そミセル形成濃度付近であった。そこで申請者は、界面活性剤の細胞膜への接着を妨げる障壁としての細胞壁の量や構造に変異株では欠損があると推察した。クロルプロマジンもミセル形成濃度付近で細胞増殖の抑制効果を示すことから、クロルプロマジン感受性も同様に説明されると考えられた。

第三章においては、変異株において細胞壁ペプチドグリカンの量が低下していることを見出した。電子顕微鏡での細胞壁の観察では、変異株の細胞壁では電子密度が低下しており、細胞壁の構成成分の密度が低下していることが考えられた。以上の結果は、申請者が見出した二成分制御系が細胞壁の完全性に寄与することを示唆している。

近年の自然免疫の誘導機構の研究からは細胞壁のペプチドグリカンを認識するレセプター蛋白を宿主側が有し、これにより自然免疫の誘導が誘起されることが明らかにされつつある。申請者は多量の黄色ブドウ球菌の接種によりカイコ幼虫の感染死を生じさせていることから、この二成分制御系はおそらくはペプチドグリカンの量と密度の維持を介してカイコ幼虫の自然免疫系の過剰な誘導に関与し、速やかな感染死に寄与することを提言した。

以上の成果は病原性細菌の生理と病原性の解明に貢献するところが大きく、博士（薬学）に値すると判断した。