

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 奥 裕介

本研究は、グラム陽性病原性細菌である黄色ブドウ球菌の細胞表層構造であるリポタイコ酸の生合成酵素をはじめて同定したものである。

リポタイコ酸は、細胞膜にアンカーするアニオン性のポリマーであり、ジアシルグリセロールに2分子の糖と、約30分子のグリセロールリン酸からなる。リポタイコ酸は細胞壁に共有結合する細胞壁タイコ酸とともに、細胞表層にアニオン性のマトリックスを形成する。精製したリポタイコ酸を用いた研究から、リポタイコ酸は、細胞の分離に与るペプチドグリカン分解酵素の活性調節や、細胞膜の安定化、宿主の炎症性サイトカインの放出促進に与ると考えられていた。しかしながら、リポタイコ酸のグリセロールリン酸鎖を合成する酵素は未同定であり、リポタイコ酸の細菌生理や宿主との相互作用に関する遺伝学的な解析はなされていなかった。

申請者は、黄色ブドウ球菌の高温感受性変異株ライブラリーから、*ltaS* と名付けた機能未知遺伝子の高温感受性変異株を見出し、*ltaS* が高温での増殖に必須であることを明らかにした。*LtaS* タンパク質は、膜タンパク質であり、C末端側にアルカリフォスファターゼと相同な領域を有していた。申請者は、*LtaS* タンパク質の触媒部位が細胞外に配向していることを明らかにした。*LtaS* の触媒部位の配向から、*LtaS* がリポタイコ酸のグリセロールリン酸の合成に与る可能性を考え、*ltaS* 欠損株を用いて検証した結果、*ltaS* 欠損株はリポタイコ酸を欠損していることを見出した。*ltaS* 欠損株では、リポタイコ酸合成の基質と考えられている細胞膜リン脂質であるフォスファチジルグリセロールの代謝回転が低下していることを見出した。また、*ltaS* 欠損株の高温感受性が、リポタイコ酸の前駆体の蓄積では説明できないことを、前駆体合成酵素との2重欠損株を用いた解析から明らかにした。さらに、*LtaS* を大腸菌細胞内で異所発現したところ、大腸菌細胞にリポタイコ酸が合成され、このリポタイコ酸の合成はフォスファチジルグリセロールの合成に欠損を生じる *pgsA3* 変異株では見られないことを見出した。以上の結果から、*ltaS* はフォスファチジルグリセロールを基質とするリポタイコ酸のグリセロールリン酸鎖の合成酵素であり、リポタイコ酸の生合成は高温での増殖に必須であることを明らかにした。

さらに申請者は、リポタイコ酸を失う *ltaS* 欠損株を用いて、リポタイコ酸の細菌生理および宿主との相互作用に関する遺伝学的な解析を行った。*ltaS* 欠損株では、ペプチドグリカン分解酵素の活性が低下しており、これに基づいて細胞

の分離に異常を生じていることを見出した。このことから、リポタイコ酸がペプチドグリカン分解酵素の量の維持に働くことを遺伝学的に示した。また、*ltaS* 欠損株では、高温で細胞膜障害を生じやすくなっていることを明らかにし、リポタイコ酸が細胞膜の安定化に寄与することを遺伝学的に示した。

さらに、*ltaS* 欠損株は、マウスマクロファージからの炎症性サイトカインの放出促進能を低下していることを見出し、リポタイコ酸が炎症性サイトカインの放出促進に与ることを遺伝学的に初めて明らかにした。また、申請者は、グラム陽性細菌の細胞表層に存在し、細胞表層にマトリックスを形成するリポタイコ酸と細胞壁タイコ酸を失う 2 重欠損株を作出し、リポタイコ酸と細胞壁タイコ酸がグラム陽性細菌の増殖に必須の役割を果たすことを明らかにした。

本研究は、長年未同定であったリポタイコ酸のグリセロールリン酸鎖の合成酵素を同定し、リポタイコ酸が高温での増殖、ペプチドグリカン分解酵素の維持、細胞膜の安定化、宿主の炎症性サイトカインの放出促進に寄与があることを初めて明らかにした。また、グラム陽性細菌の細胞表層に存在するアニオン性のポリマーが増殖に必須の役割をすることを明らかにした。*ltaS* は、37°C以上の高温での増殖に必須であることから、LtaS は新規抗生物質のターゲットとして有用であると考えられる。

本研究は、細菌学、免疫学、薬学上、重要な発見であり、その寄与は大きい。従って本研究は博士 (薬学) の学位に値するものと判定される。