

審査の結果の要旨

氏名 植田 知文

病原性細菌は宿主体内に侵入した後、増殖に適した宿主組織へと移動し、感染症を引き起こす。病原性細菌の移動機構の理解は、感染症に対する新たな治療法を開発する上で有用である。これまでに、細菌の鞭毛依存的な移動が病原性に寄与することが報告されている。しかしながら、鞭毛非依存的な細菌の移動様式については、病原性への寄与は明らかでない。

黄色ブドウ球菌は近年、多剤耐性菌の出現が問題となっている病原性細菌である。黄色ブドウ球菌は鞭毛を保持しないため、能動的な移動能力を持たないと考えられてきた。滑走は当研究室で発見された、軟寒天培地上における黄色ブドウ球菌の移動様式である。しかしながら、滑走がどのように制御されているかはこれまで不明であった。本研究は、黄色ブドウ球菌の滑走の制御機構の解明を目指したものである。

滑走の制御機構を明らかにするため、論文提出者はまず、滑走を促進する物質の同定を試みた。最初に論文提出者は、黄色ブドウ球菌の滑走能力の有無が軟寒天培地の種類により異なることを見出した。滑走の起きる培地と起きない培地の組成の違いに注目することにより、軟寒天培地に D-グルコースを加えると滑走が促進されることが明らかとなった。また、D-グルコース以外の糖の中にも滑走促進活性を有するものが見出された。以上の結果は、黄色ブドウ球菌は細胞外に存在する糖を認識して滑走することを示唆している。

細菌は炭素源により遺伝子発現を制御するカタボライト制御機構を持つ。滑走が糖により促進されたことから、カタボライト制御が滑走に寄与することが予想された。カタボライト制御機構に働く CcpA (Catabolite Control Protein A) と HprK (Hpr Kinase) の各欠損株の滑走能力を検討した結果、両者は共に滑走に必要であった。以上の結果より、黄色ブドウ球菌の滑走には、カタボライト制御を介した遺伝子発現の誘導が必要であることが示唆された。

論文提出者は次に、黄色ブドウ球菌が滑走する際の遺伝子発現の変動の検討による、滑走の制御機構の解明を試みた。液体培地および軟寒天培地上で培養した菌のタンパク質を SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分析した結果、滑走が起きる条件では複数のタンパク質の量が増加していることが判明した。マスマスペクトロメトリーによりこれらのタンパク質を同定した後、それぞれの候補タンパク質の欠損株の滑走能力を検討した結果、*clpP* 遺伝子破壊株は滑走能力を失っていた。また、*clpP* 遺伝子の転写量をレポーターアッセイにより検討した結果、*clpP* 遺伝子の転写量は液体培地と比べ、軟寒天培地で培養した時の方が高くなることが分かった。以上の結果より、*clpP* 遺伝子は軟寒天培地上において発現が誘導される、滑走の促進に働く遺伝子であることが示唆された。

黄色ブドウ球菌の *clpP* 遺伝子はセリンプロテアーゼをコードしており、種々の病原性因子の発現に寄与することが報告されている。ClpP による滑走の促進機構を明らかにするため、ClpP の下

流で働く病原性因子が滑走に必要であるかを検討した。ClpP により発現が促進され、病原性因子の発現制御に働く *arlRS* 遺伝子と *agr* 遺伝子座はいずれも滑走に必要であった。この結果より、ArlRS および Agr による病原性因子の発現制御が滑走に必要であることを示唆された。

*agr* 遺伝子座の発現はカタボライト制御を受ける。野生株と *ccpA* 遺伝子破壊株における *agr* 遺伝子座の mRNA 量の検討により、野生株における *agr* 遺伝子座の mRNA 量は軟寒天培地への D-グルコースの添加により増加することが明らかとなった。また、*ccpA* 遺伝子破壊株では野生株と比べ、*agr* 遺伝子座の mRNA 量が低下しており、D-グルコースによる誘導も小さかった。以上の結果より、軟寒天培地においても *agr* 遺伝子座の発現はカタボライト制御を受けること及び CcpA が *agr* 遺伝子座の発現の誘導により滑走を促進することが示唆された。さらに論文提出者は、*agr* 遺伝子座の発現制御における、ClpP, ArlRS とカタボライト制御の関係を明らかにするため、*clpP* 遺伝子と *arlRS* 遺伝子の発現がカタボライト制御を受けるかを検討した。その結果、CcpA は *clpP* 遺伝子と *arlRS* 遺伝子の発現に必要ななかった。以上の結果より、ClpP, ArlRS とカタボライト制御は独立に *agr* 遺伝子座の発現を制御していることが示唆された。

以上、本研究は、黄色ブドウ球菌の滑走にはカタボライト制御を受ける *agr* 遺伝子座の発現が必要であることを初めて示した点で、生物系薬学及び微生物学に貢献するものである。よって、論文提出者は博士（薬学）の学位を授与するに値すると判断した。