

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)	氏名	岩 本 優 子
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 ①・2 項該当		
論 文 題 目 <i>Staphylococcus aureus</i> の表皮剥脱毒素 ETA 遺伝子プロモーター領域の解析			
論文審査担当者 主 査 教 授 兼 松 隆 印 審査委員 教 授 杉 田 誠 審査委員 教 授 加 藤 功 一			
〔論文審査の要旨〕 本論文は、 <i>Staphylococcus aureus</i> (黄色ブドウ球菌) が引き起こす多様な疾患のうち、幼児や新生児皮膚に水疱を形成し、局所的な皮膚の剥脱を認める伝染性膿痂疹 (Bullous impetigo) や、全身性の表皮剥脱を認めるブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群 (Staphylococcal Scalded Skin Syndrome : SSSS) において、水疱形成や表皮剥脱を引き起こす病原因子である表皮剥脱毒素 (Exfoliative toxin : ET) の産生調節機構について、特にプロモーター領域に注目して解明を試みたものである。 ET は、血清学的に ETA, ETB, ETD の 3 種が同定されており、いずれもセリンプロテアーゼ活性を有し、表皮層の細胞間接着を担うデスマグレイン 1 を選択的に切断して細胞間接着を脆弱にし、顆粒層付近で表皮剥脱、水疱形成を引き起こすことが知られている。ETA はブドウ球菌性水疱症から分離された <i>S. aureus</i> が産生する主要な ET である。しかし、 <i>eta</i> 遺伝子の発現調節メカニズムについては完全には明らかにされていない。 本研究では、最初に <i>eta</i> 遺伝子上流領域に存在する 2 か所の palindromic 様構造配列に注目して解析した結果、5' 側に位置する palindromic 様構造は二成分制御系 SaeRS の response regulator である SaeR の認識配列、3' 側はカタボライト制御に関与する転写調節因子 CcpA の認識配列に高い相同性を有することを見出した。 そこで、本論文の第 1 章では、伝染性膿痂疹由来の ETA 産生株を用いて、これらの遺伝子欠損株および相補株を作製し、 <i>eta</i> 遺伝子の転写量を評価、また抗 ETA 抗体を用いた			

Western blottingにてETA産生量の評価を実施している。その結果、*saeR* 遺伝子欠損株においては、遺伝子転写およびタンパク質発現レベルにおいてETAの産生は検出限界以下であったが、相補株では、ETAの発現が野生株と同程度まで回復した。一方、*ccpA* 遺伝子欠損株では、野生株と比較してその発現は転写およびタンパク質レベルにおいて10~20%程度に減少し、相補株では野生株よりも著しく高かった。このことから、SaeR、CcpAは*eta*発現を促進的に制御することが明らかとなった。また、*in vivo*におけるETA産生*S. aureus*の表皮剥脱活性は新生児マウス感染実験を用いて評価できる。野生株を用いた場合に感染後約6時間で表皮剥脱活性が見られる条件で、*saeR* 遺伝子欠損株では全く表皮剥脱活性が認められず、*ccpA* 遺伝子欠損株においては野生株と比較して表皮剥脱の遅延が認められた。これらの結果より、*in vivo*においてもSaeRおよびCcpAによってETAは促進的に制御されることが明らかになった。

第2章では、SaeRとCcpAの2種の調節因子が直接*eta*上流領域に結合しているかを、Gel shift assayを用いて解析している。SaeRとCcpAの認識配列を含む*eta*上流領域のDNA断片は、SaeRあるいはCcpAを加えると、上方へのシフトが確認でき、SaeRおよびCcpAはこの領域に直接結合することが示唆された。

さらに第3章においては、*eta*遺伝子上流の調節因子結合配列について解析した。palindrome様構造中に存在するSaeRおよびCcpAの認識配列をそれぞれ様々に変異させた株を作製したところ、SaeR認識配列については、数塩基の置換によってETA産生が全く認められなくなり、新生児マウス感染実験においても、全く活性が認められなかった。一方、CcpA認識配列については、変異にともなって野生株よりもETA産生が減少し、*in vivo*においてもETA産生の減少に応じて活性が低下した。一連の実験から、ETAの産生に関して、palindrome様構造の変化よりも、認識配列の変化を反映する結果を得ており、SaeRおよびCcpAのどちらの調節因子に関しても、*eta*遺伝子上流領域の2か所のpalindrome様構造よりも、同部位にそれぞれ存在する認識配列が発現調節に重要であるということが示唆された。

以上の結果より、本論文は、SaeRおよびCcpAが*eta*遺伝子上流領域に結合し、ETA産生に対し促進的な調節をしていることを明らかにした。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（歯学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。