

論 文 内 容 要 旨

黄色ブドウ球菌の表層タンパク質 Skip の発現制御機構の解析

主指導教員：香西 克之教授

(統合健康科学部門小児歯科学)

副指導教員：光畑 智恵子准教授

(統合健康科学部門小児歯科学)

副指導教員：久恒 順三助教

(基礎生命科学部門細菌学)

達川 伸行

(医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻)

論文内容要旨

論文題目 黄色ブドウ球菌の表層タンパク質 Skip の発現制御機構の解析

学位申請者 達川 伸行

黄色ブドウ球菌はヒト皮膚の常在フローラであるが、多様な皮膚感染症の起
因菌となることが知られている。最近、ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群
(Staphylococcal Scalded Skin Syndrome : SSSS) 由来株は他の感染症由来株
と異なり、菌体表層タンパク Skip (Skin infection related protein) を選択的に
発現していることが明らかにされた。Skip 高発現株はバイオフィルムを高産生
し、皮膚への強い接着性を示すと同時に、高い個体間の伝播性を示す。一方、
skip 遺伝子を保有しながら、Skip をほとんど発現せず、上記の形質を持たない
株も存在する。そこで申請者は、Skip の発現制御機構を明らかにするために
Skip 非発現株と高発現株の比較解析を行い、Skip 発現制御の分子メカニズムに
ついて考察した。

染色体ゲノム上にコードされる *skip* 遺伝子の直上流には、*sarA*
(staphylococcus accessory regulator homolog A) ホモログである *sarT* 及び
sarU の二つの転写因子遺伝子が存在する。変異株の解析から *sarT*、*sarU* は
skip 発現を正に制御することが判った。

Skip 非発現株と強発現株の染色体ゲノム *sarT* - *sarU* 遺伝子間の塩基配列
を比較した。その結果、Skip 強発現株は非発現株と比べて、*sarT* - *sarU* 遺
伝子間において、特定の 6 塩基配列が欠落している事を見出した。この欠落が、
Skip の発現制御に関わっているか否かを調べるために、6 塩基欠落株に対し 6
塩基を相補した株、さらに、6 塩基保有株に対し 6 塩基を欠落させた株を作製し、
それぞれの株の Skip の発現を比較した。その結果、6 塩基欠落株では Skip の
発現が高く、6 塩基保有株では Skip の発現が低いことが判明した。また、*sarT*、
sarU 及び *skip* の発現の変化を比較したところ、6 塩基保有株では *sarT*、*sarU*
及び *skip* の発現は低下していた。このことより、未知の抑制因子が 6 塩基を
保有する同領域に結合するのではないかと推察された。加えて、新生児マウスを
用いた菌固着実験において、6 塩基保有株に比べ、6 塩基欠落株は菌固着能が有
意に高い事が分った。

次に、この 6 塩基に関連する抑制因子を探索するために、6 塩基保有株または
6 塩基欠落株から抽出した細胞質画分を用いて、6 塩基を保有または欠落した同
領域 DNA 断片を結合させた磁気ビーズを用いて、プルダウンアッセイを行った。
その結果、6 塩基を保有した DNA 断片に約 15kDa のタンパクが選択的に結合

することを見出した。単離したタンパクは MALDI-TOF/MS 解析により、黄色ブドウ球菌のグローバル制御因子の一つである MgrA (Multiple gene regulator A) と同定された。さらに、Skip 非発現株において *mgrA* を相同組換え法により欠損させたところ、Skip の発現が顕著に増大した。また、*sarT*, *sarU* 及び *skip* の発現の変化を比較したところ、*mgrA* 欠損株では *sarT*, *sarU* 及び *skip* 発現量が著しく上昇していることが分かった。続いて、6 塩基欠落株と 6 塩基保有株において、*mgrA* の発現量を比較したところ、6 塩基保有株の *mgrA* の発現量は 6 塩基欠落株よりも有意に高いことが分かった。さらに、MgrA と SarT 及び SarU の発現の相互関係を調べるために、*sarT* または *sarU* 欠損株において *mgrA* の発現量を比較した。その結果、どちらの欠損株においても、*mgrA* の発現量は有意に増加しており、SarT 及び SarU は MgrA の発現を抑制することが示唆された。また、SarT と SarU の発現の相互関係を調べるために、*sarT* または *sarU* 欠損株において *sarU* または *sarT* の発現量を比較した。その結果、一方の欠損株では他方の発現量が有意に低下していた。このことから、SarT と SarU はその発現を相互に正に制御することが示唆された。以上の結果から、MgrA, SarT 及び SarU は互いの発現を制御し合う、複雑な制御ネットワークを構築しており、6 塩基保有株では、MgrA が Skip の発現制御に関わっていることが強く示唆された。

本研究により、SSSS 由来株は、*sarT* – *sarU* 間の 6 塩基配列の欠落により、MgrA の結合性が低下し、結果として SarT や SarU の発現量が増大することで Skip の発現が著しく亢進し、バイオフィルム高産生性、皮膚への強い接着性を獲得し、強い伝染性を示すことが示唆された。