

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 歯 学 )	氏名	達 川 伸 行
学位授与の要件	学位規則第 4 条第① 2 項該当		
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			
論文審査担当者			
主 査	教 授	兼 松 隆	印
審査委員	教 授	加 藤 功 一	
審査委員	教 授	菅 井 基 行	
〔論文審査の要旨〕			
<p>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、<i>skip</i> 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。</p> <p>染色体ゲノム上にコードされる <i>skip</i> 遺伝子の直上流には、<i>sarA</i> (staphylococcus accessory regulator homolog A) ホモログである <i>sarT</i> 及び <i>sarU</i> の二つの転写因子遺伝子が存在する。変異株の解析から <i>sarT</i>, <i>sarU</i> は <i>skip</i> 発現を正に制御することが判った。</p> <p>Skip 非発現株と強発現株の染色体ゲノム <i>sarT</i> - <i>sarU</i> 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、<i>sarT</i> - <i>sarU</i> 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</p>			

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。

以上の結果から、本論文は 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、バイオフィーム高産生性、皮膚への強い接着性を獲得し、強い伝染性を示すことを示唆した。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。