

別記様式第6号（第16条第3項，第25条第3項関係）

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	于 連升
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目 A novel repressor of the <i>ica</i> locus discovered from clinically isolated super biofilm-elaborating <i>Staphylococcus aureus</i> (バイオフィーム超高産生性黄色ブドウ球菌臨床分離株から見出された <i>ica</i> locus の新規リプレッサーの機能解析)			
論文審査担当者			
主 査	教授	坂口 剛正	印
審査委員	教授	大毛 宏喜	
審査委員	教授	廣橋 伸之	
〔論文審査の結果の要旨〕 黄色ブドウ球菌はヒトの常在菌でありながら時として病原性を発揮する化膿性炎を起こす代表的な病原菌である。ブドウ球菌属の中では表皮ブドウ球菌がバイオフィームを形成する菌として位置づけられているが、臨床分離黄色ブドウ球菌の中にも強いバイオフィーム産生性を示す株がある。また黄色ブドウ球菌は心内膜炎の重要な原因菌であり、バイオフィーム形成との因果関係が推論されているが未だ不明な点が多い。 申請者は粉瘤から分離された強いバイオフィーム産生性を示す TF2758 株を用いて、本菌の高バイオフィーム産生性のメカニズムを明らかにすることを目的として実験を行った。最初に黄色ブドウ球菌の標準株の全 ORF を貼り付けたマイクロアレイを用いて、TF2758 近縁株を対照とした遺伝子発現解析を行った結果、黄色ブドウ球菌のバイオフィームの主体をなす多糖 poly-N-acetylglucosamine の生成・分泌・表層への分布に関わる遺伝子群 <i>ica</i> locus の高発現とともに機能未知の7つの <i>orf</i> 群の高発現を認めた。その遺伝子群の中にある転写因子様の遺伝子にミスセンス変異を認め、この遺伝子を <i>rob</i> (regulator of biofilm) と名付けた。TF2758 株で正常型の Rob を過剰発現するとバイオフィーム形成が消失すること。標準株 K300 で <i>rob</i> を欠損させるとバイオフィームが過剰産生され、 <i>rob</i> で相補されること、TF2758 型の <i>rob</i> では相補できないことを示し、TF2758 において <i>rob</i> の機能的欠失がバイオフィームの高産生性に関わること、Rob が新規のバイオフィーム産生に関わる転写因子であることを明らかにした。また Rob の変異によるバイオフィーム高産生は IcaR の過剰発現、あるいは IcaADBC の欠失により阻害することができた。このことから Rob が関わるバイオフィーム産生は <i>ica</i> locus 発現による poly-N-			

acetylglucosamine 経路の上流にあると考えられた。また Rob は自身のプロモーター領域に結合することを明らかにし、DNaseI foot printing により Rob の結合 DNA 領域を推定した。

申請者はさらに Rob が *ica locus* のプロモーター領域に結合することを見出した。この領域に存在する DNA モチーフ TATTT 配列が *ica locus* の発現に重要であることがすでに報告されており、未知の制御因子の存在が予想されていた。TATTT 配列を欠く臨床分離株は高バイオフィーム産生性を示す。Rob は TATTT 配列を含む DNA 領域を認識して結合し、この DNA 領域は Rob 自身のプロモーターの Rob 結合領域と相同性を示した。さらに Rob は TATTT 配列を欠損した *ica locus* のプロモーター領域に結合しなかった。以上から Rob は自身のプロモーターに結合して、周辺の7つの遺伝子の発現制御を行うとともに *ica locus* のプロモーター領域に位置する TATTT モチーフを含む領域に結合することで *ica locus* の発現を制御することが明らかとなった。Rob は従来、*S. epidermidis* で研究されてきた *ica locus* の IcaR による制御以外の重要なバイオフィーム産生制御因子であることが明らかとなった。本研究は黄色ぶどう球菌のバイオフィーム産生の新しいメカニズムを明らかにし、臨床で問題となる黄色ブドウ球菌のバイオフィーム産生とその制御に関わる重要な知見をもたらした点で高く評価できる。よって審査委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値があるものと認めた。