

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Fariha Jasin Mansur
審査委員	<p>主査 阿座上 弘行 (印)</p> <p>副査 小崎 紳一 (印)</p> <p>副査 會見 忠則 (印)</p> <p>副査 上野 誠 (印)</p> <p>副査 藤井 克彦 (印)</p>
題目	<p>Studies on oral colonization of periodontopathogenic bacterium <i>Eikenella corrodens</i> (歯周病原性細菌 <i>Eikenella corrodens</i> の口腔内定着に関する研究)</p>
<p>審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p><i>Eikenella corrodens</i> は、グラム陰性の通性嫌気性桿菌で、重度歯周病患者の病変部から頻繁に分離される。溶血素は多くの病原性細菌において生育のための鉄の獲得のみならず、病原因子としても寄与することが知られており、宿主への定着において重要な役割を果たすと考えられている。以前、阿座上らは <i>E. corrodens</i> 1073 株より発見されたプラスミド由来のリコンビナーゼ遺伝子(ORF4)の 23834 株への導入がゲノムの再編を引き起こし、宿主への定着に関与する溶血活性や赤血球凝集活性、バイオフィーム形成能など増加させることを示した。本研究では、宿主への定着に関与する溶血素を同定し解析を行った。また、ORF4 の導入による宿主への定着能の増加が <i>E. corrodens</i> において普遍的に起こるかどうかを調べた。</p> <p>まず、<i>E. corrodens</i> 1073 株から溶血因子を精製し、その同定および解析を行った。1073 株を培養後、細胞外被 (CE) 画分と培養上清画分を得た。CE 画分から、用量依存的な溶血活性が観察された。次に、溶血因子の精製を DEAE イオン交換クロマトグラフィー、Q-セファロースクロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィーによって行った。その結果、溶血因子と思われる 65 kDa のタンパク質が精製された。このタンパク質の N 末端アミノ酸配列から、このタンパク質は <i>E. corrodens</i> 23834 株の X-プロリルアミノペプチダーゼとほぼ同様であることが示唆された。このタンパク質を大腸菌で発現後、Ni カラムにより精製したところ、精製タンパク質から溶血活性が検出された。さらに、相同的組換えによって作成した X-プロリルアミノペプチダーゼ遺伝子(<i>hlyA</i>)の欠損株 ($\Delta hlyA$ 株) では、溶血活性が見られなかった。これらのことから、<i>E. corrodens</i> 1073 株において X-プロリルアミノペプチダーゼが溶血因子として機能することが示唆された。</p>	

次に、ORF4 を 7 株の臨床分離株（261-2 株、257-4 株、612-L 株、1080 株、L9B6 株、L8A03 株および RV2 株）に導入し、ゲノム再編による宿主定着能の増加が *E. corrodens* において普遍的にみられるかどうかを調べた。ORF4 の導入後、1080 株、L9B6 株、L8A03 株および RV2 株（以後、A グループ株と呼ぶ）ではタイプ 4 線毛遺伝子領域でのゲノムの組換えが観察されたが、261-2 株、612L 株および 257-4 株（以後、B グループ株と呼ぶ）では組換えは見られなかった。また、A グループ株では *corroding* から *non-corroding* へのコロニー形状の変化が起こったが、B グループ株では変化は観察されなかった。さらに、赤血球凝集活性、増殖速度、溶血活性およびバイオフィーム形成能の増加が A グループ株で観察されたが、B グループ株では変化は見られなかった。これらの結果は、ORF4 が誘導する線毛遺伝子領域の組み換えが *E. corrodens* において一般的な現象であり、これにより本菌の感染性や病原性を増加させることが示唆された。

これらの結果より、著者は以下のことを示唆した。（1）*E. corrodens* 1073 株において X-プロリルアミノペプチダーゼが溶血因子として機能することが示唆された。（2）ORF4 が誘導する線毛遺伝子領域の組み換えが *E. corrodens* において一般的な現象であり、これにより本菌の感染性や病原性を増加させることが示唆された。歯周病原性細菌 *E. corrodens* の口腔内への定着には、溶血因子や付着因子、バイオフィーム関連因子など様々な因子が関与している。これらの理解は、歯周病の予防や治療への重要な情報を与えるかもしれない。

以上のように、本論文では、*E. corrodens* の宿主への定着に関与する溶血因子を同定し、これが新規の溶血因子であることを示唆した。また、リコンビナーゼによるゲノム再編に伴って本菌の宿主への定着能が普遍的に上昇することを明らかにした。よって本研究により、*E. corrodens* の宿主への定着感染機構やその制御法を提案するとともに、微生物学の基礎的な知見のみならずバイオフィーム感染症の予防や治療など臨床分野への応用にも大いに貢献できる結果をあげていると判断した。