

氏 名（本籍）	いのせ ゆみこ 猪瀬 由美子（茨城県）
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博 甲 第 3825 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	<i>Staphylococcus aureus</i> のシグマ因子を中心とした環境応答機構

主 査	筑波大学教授	理学博士	坂 内 四 郎
副 査	筑波大学教授	医学博士	浦 山 修
副 査	筑波大学助教授	医学博士	竹 内 薫
副 査	筑波大学講師	博士（工学）	奥 脇 暢

論文の内容の要旨

（目的）

細菌の遺伝子発現は、主として転写レベルで調節される。環境に応答するための転写制御は、転写装置である RNA ポリメラーゼにプロモーター（転写開始シグナル）認識能と部位特異的な転写開始能を与えるシグマ因子が中心的な役割を果たす。黄色ブドウ球菌（以下 *S. aureus*）ではこれまで 2 種類のシグマ因子しか知られていなかった。

本研究では、*S. aureus* の全シグマ因子を同定し、それぞれがどのような役割を果たしているのかを調べることで、シグマ因子を中心とした環境応答機構を明らかにすることを目的とした。

（対象と方法）

- 各シグマ因子に対する特異的抗体 (IgY) を作製し、ウェスタン法によるシグマ因子検出系の確立を試みた。
- シグマ因子 B (SigB) が環境応答やストレス耐性に果たす役割を SigB 遺伝子 (*sigB*) 破壊株および過剰発現株の解析により調べた。
- 近縁種である枯草菌の全シグマ因子に「位置的に対応」する遺伝子を検索し、新たなシグマ因子の同定を試みた。

（結果）

sigB を過剰発現させると細胞壁の肥厚が見られ、細胞壁合成を阻害する β -ラクタム剤に対する高度耐性が誘導された。現在臨床で分離される高度耐性 MRSA（メチシリン耐性株）の SigB は、一般的に蓄積量と活性がともに高いことが確認された。メチシリン感受性株にペニシリン結合タンパク質遺伝子 (*mecA*) を過剰発現させるとある程度耐性を示すが、さらに *sigB* を過剰発現させると高度耐性化した。このことから、 β -ラクタム剤高度耐性化には *mecA* 発現に加えて SigB の高いレベルの蓄積と活性が重要な要因であることが示唆された。

また、属種を越えて遺伝子の配置が保存されていることに着目することにより、新たなシグマ因子遺伝子 (SA0492) の同定に成功した。本因子は枯草菌の *sigH* (胞子形成およびコンピテンスすなわち細胞外 DNA 取込みを制御するシグマ因子遺伝子) に位置的に対応し、*Streptococcus* 属においては類似クラスターの近傍に *comX* (コンピテンスを制御するシグマ因子遺伝子) が存在した。系統解析および遺伝学的解析により、本因子がコンピテンス関連遺伝子のホモログの転写を誘導することを証明した。本因子は通常の培養条件、単純なストレスでは全く発現しないが、「一部のアミノ酸欠乏および嫌気・静置培養」という複合的な環境下でのみ活性を示した。

(考察)

最近臨床分離される高度耐性 MRSA 株では *mecA* の恒常的な発現に加えて別の因子が関与していると考えられている。SigB の過剰な蓄積が細胞壁合成系の亢進により、高度耐性化を実現している可能性が考えられる。

本研究で同定したシグマ因子 SA0492 が活性を示すのはバイオフィーム内と類似した条件であり、フィルム内で本遺伝子が活性を持つことが生物学的に何らかの重要な役割を果たしているものと考えられた。本菌においてはコンピテンスが実験的に証明されていないが、必須遺伝子群がほぼ備わっている。このことはその能力を保持している可能性を示すものであり、自然界ではこうしたフィルム内で SA0492 の活性化を介して、外部から病原因子や耐性遺伝子を獲得しているのかもしれない。

審 査 の 結 果 の 要 旨

細菌のシグマ因子は遺伝子の部位特異的な転写に関与し、細菌の生存と環境適応に極めて重要な役割を担っている。本研究の主要な成果は、院内感染起因菌として著名な黄色ブドウ球菌について、これまで知られていた2種類のシグマ因子に加えて第3番目のシグマ因子が存在することを示したことにある。この新たに同定されたシグマ因子は、本菌がある特定の環境条件に置かれたときに活性を示し、また本菌の薬剤耐性獲得に関与する可能性が考えられる。院内感染菌の特性を理解する上で重要な知見といえる。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。