

[276]

氏 名 (国籍)	エスケイ エムディ S K M D ハミム イブン カウサル (バングラデシュ)		
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	博 甲 第 3823 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	Molecular analysis of genes related to survival and virulence of <i>Clostridium perfringens</i> strain 13 (ウェルシュ菌 strain13 の生存と病原性に関与する遺伝子の解析)		
主 査	筑波大学教授	獣医学博士	八 神 健 一
副 査	筑波大学教授	医学博士	有 波 忠 雄
副 査	筑波大学教授	医学博士	松 井 陽
副 査	筑波大学助教授	医学博士	竹 内 薫

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

Clostridium perfringens (以下, *C. perfringens*) は, ウェルシュ菌とも呼ばれ自然界では土壌, 人を含む哺乳動物の消化管内に存在し, ガス壊疽の原因菌として重要である。近年, *C. perfringens* (strain 13) の全塩基配列が解明され, 本菌特有の遺伝子が明らかになった。本研究では, *C. perfringens* の 4 種類のエンテロトキシン(*ent*), 3 種類の細胞外シグマ因子(ECF-type-sigma), ミオイノシトール・オペロンの各遺伝子ないしオペロンの構造, 機能, 発現の調節機能について, 特に本菌の発育環境や病原性との関連で解析することを目的とした。

(材料と方法)

染色体上の構成についてノザン法による転写プロファイルにより解析した。各遺伝子の機能について, 変異株を作製し機能の抑制あるいは促進をノザン法で解析し, ECF 型シグマ因子の解析には DNA マイクロアレイ法を用いた。また, ミオイノシトール・オペロンの確認はノザン法で, その転写開始点の確認はプライマー進展法により実施した。

(結果)

- 1) 4 種のエンテロトキシンは増殖初期から対数増殖期にかけて発現が促進した。病原因子の発現を総括的に調節する 2 成分制御系 VirR/S は, エンテロトキシン (*entA* および *entB*) を正に調節し, *entC* を負に調節したが, *entD* はこの系で調節を受けていなかった。
- 2) 3 種類のシグマ因子と病原因子の発現との関連について明確なエビデンスは得られなかったが, シグマ因子欠損株を用いた DNA マイクロアレイ解析により, 栄養源の輸送やエネルギー代謝に関わる遺伝子の発現に対して正の関与が, 膜合成系に関わる遺伝子の発現に対して負の関与が示唆された。

- 3) ミオイノシトール・オペロンは3本の mRNA に転写され、これらの転写を負に制御する mRNA が別に転写されていた。培地にヒツジ赤血球を添加すると赤血球中のミオイノシトールを取り込み本オペロンの転写が促進され、菌の増殖が促進することから、患部組織中における本菌の急速な増殖に関与する可能性が示された。

(考察)

本研究で対象とした3種の遺伝子は、非病原性である *C. acetobutylicum* には存在しないため、*C. perfringens* の病原性と何らかの関連が疑われた。ミオイノシトール・オペロンは土壌細菌や植物細菌が保有し、自然環境で豊富に存在するミオイノシトールを炭素源としてグルコースの代わりに利用し、このオペロンはミオイノシトールで誘導されグルコースで抑制される。また、ヒツジ赤血球の添加によるオペロンの誘導は本菌が溶血毒を産生して血球中のミオイノシトールをエネルギー源として利用するという生存のための連鎖手段を示唆している。本研究で明らかにされたミオイノシトール・オペロンの構造と機能および本菌のゲノム情報から、ウェルシュ菌の病原因子は本菌の生存のために必須な遺伝子として進化してきたと考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、*Clostridium perfringens* (ウェルシュ菌) の病原性に関与すると考えられる4種のエンテロトキシン、3種の細胞外シグマ因子、ミオイノシトール・オペロンの構造、機能および発現調節機構を本菌の発育環境や病原性との関連で解析したものである。本研究により、土壌細菌である本菌が自然環境で豊富に存在するミオイノシトールを炭素源としてグルコースの代わりに利用すること、組織中では本菌が産生する溶血毒が血球中のミオイノシトールを遊離させこれをエネルギー源として利用することが示された。これらの知見は、ウェルシュ菌の増殖や病原性に関する理解を深めるとともに、本菌の感染予防や治療につながる優れた研究である。

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。