

学位授与番号：甲 1105 号

氏 名：米本 圭吾

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 31 年 4 月 24 日

学位論文名：

**Redundant and Distinct Roles of Secreted Protein Eap and Cell Wall-Anchored Protein SasG in Biofilm Formation and Pathogenicity of *Staphylococcus aureus*.**

(黄色ブドウ球菌のバイオフィルム形成および病原性における分泌タンパク質 Eap と細胞壁アンカータンパク質 SasG の機能解析)

学位論文審査委員長：教授 吉田清嗣

学位論文審査委員：教授 嘉糠洋陸 教授 吉田正樹

# 論文要旨

氏名	米本 圭吾	指導教授名	丸毛 啓史
主論文			
<p><b>Redundant and Distinct Roles of Secreted Protein Eap and Cell Wall-Anchored Protein SasG in Biofilm Formation and Pathogenicity of <i>Staphylococcus aureus</i>.</b> (黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成および病原性における分泌タンパク質 Eap と細胞壁アンカータンパク質 SasG の機能解析)</p> <p>Keigo Yonemoto, Akio Chiba, Shinya Sugimoto, Chikara Sato, Mitsuru Saito, Yuki Kinjo, Keishi Marumo and Yoshimitsu Mizunoe. <i>Infection and Immunity</i>. 2019; Jan 22. pii: IAI.00894-18. doi: 10.1128/IAI.00894-18. [Epub ahead of print]</p>			
要旨			
【背景・目的】			
<p>黄色ブドウ球菌は健康人の約 30%が保菌するヒト常在菌である。一方、様々な急性感染症の原因菌でもある。また、黄色ブドウ球菌はバイオフィーム形成細菌であり、インプラント関連感染症などの慢性感染症の原因菌である。インプラント関連感染症は整形外科領域の重大な合併症の1つであり、治療に難渋するため、抗バイオフィーム治療の開発が喫緊の課題である。バイオフィーム形成に関連する因子はタンパク質・核酸・多糖など様々であるが、それらの分子動態や相互作用の包括的な理解には至っていない。</p>			
【結果】			
<p>本学細菌学講座では本学附属病院で単離された黄色ブドウ球菌臨床分離株のバイオフィーム形成を解析し報告してきた。タンパク質を主成分とするバイオフィームを形成する <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> である MR23 株の遺伝子欠損株の解析の結果、黄色ブドウ球菌に特異的な分泌タンパク質 Eap と細胞壁アンカータンパク質 SasG がバイオフィーム形成で特徴的に機能することを見出した。また、SasG の細胞壁へのアンカリングがバイオフィーム形成促進に不可欠であることを見出した。加えて、SasG が細胞外 DNA との結合を介してバイオフィームの安定化に寄与するという新規の分子メカニズムを解明した。共焦点レーザースキャン顕微鏡を用いたバイオフィームの立体構造の解析では、Eap は菌体の凝集を促進することで、凹凸を伴った特徴的な構造を形成することを示した。カイコ感染モデルを用いた <i>in vivo</i> の解析では、Eap と SasG がバイオフィーム形成量を規定することにより、病原性に関与する可能性を示した。</p>			
【結果・結論】			
<p>本論文は Eap および SasG というバイオフィーム形成を規定する接着因子が、バイオフィーム形成および病原性において、重複する役割があることを明らかにした初めての報告である。本研究で得られた知見はバイオフィーム形成機構の解明および、多種多様なバイオフィーム構成成分を標的とする抗バイオフィーム治療の開発に繋がる可能性がある。</p>			

## 学位論文審査結果の要旨

米本圭吾氏の学位申請論文は主論文1編からなり、主論文の邦題は「黄色ブドウ球菌のバイオフィルム形成および病原性における分泌タンパク質 Eap と細胞壁アンカータンパク質 SasG の機能に関する研究」で *Infection and Immunity* 誌にアクセプトされた。

2019年4月3日、丸毛啓史、金城雄樹両教授ご臨席のもと、審査委員長吉田清嗣および嘉糠洋陸、吉田正樹両教授を審査委員として公開学位審査会を開催し、米本氏による研究概要の発表に続いて口頭試験を行った。席上、

□バイオフィルム形成のアッセイ系において、検出上限で飽和することはあるのか？

□黄色ブドウ球菌がインプラント感染で、なぜバイオフィルムを形成する特性を有するのか？

□本研究で MRSA 臨床株をなぜ選んだのか？

□Eap と SasG はどのように協調して機能しているのか？

□カイコを用いた病原性の評価において、バイオフィルム形成以外に細胞外毒素の影響の可能性について検証したか？

□観察された現象をマウスモデルなどで検証できるのか？

□本研究を踏まえた治療戦略は何か？

など多数の質問があり、米本氏はこれまでの多岐にわたる研究成果や内外の文献情報も交えながら極めて的確に回答し、活発な議論がなされた。その後、嘉糠洋陸、吉田正樹両教授と慎重に審議した結果、本論文は黄色ブドウ球菌の分泌タンパク質 Eap と細胞壁アンカータンパク質 SasG がバイオフィルム形成において相補的に機能していることを実験的に初めて明らかにしており、バイオフィルム形成のメカニズム解明に複数の分子を包括的に解析する重要性を示したことから、学位論文として十分価値があるものと認めた次第である。