

論文審査の要旨

報告番号	総研第 501 号		学位申請者	有井 かおる
審査委員	主査	於保 孝彦	学位	博士(歯学)
	副査	仙波 伊知郎	副査	中村 典史
	副査	佐藤 友昭	副査	中村 利明

Single mutations in BraRS confer high resistance against nisin A in *Staphylococcus aureus*
(黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) の BraRS 点変異によるナイシン A 高度耐性化)

黄色ブドウ球菌 (*Sa*) は化膿性疾患、肺炎、食中毒などの種々の疾患を引き起こす病原細菌として知られている。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は種々の抗菌剤に耐性を示し、院内感染および市中感染において問題となっている。乳酸菌 (*Lactococcus lactis*) により産生されるバクテリオシンの1つであるナイシン A は細胞壁前駆体であるリピド II に結合することによって膜に孔を形成し、殺菌作用を發揮する。ヒトに対しては為害性がなく、国内でも防腐剤としての食品添加物に認可されている。*Sa* は細菌固有の外環境適応因子である二成分制御系因子 (TCS) BraRS を介して低濃度ナイシン A に耐性を示すことが明らかになっている。具体的には、細胞膜上のセンサーである BraS が低濃度ナイシン A を感知することで自己リン酸化し、リン酸基をレギュレーター BraR に転移することでリン酸化を惹起する。リン酸化 BraR は二量体を形成し、ナイシン A 排出に関わる ABC トランスポーター VraDE 発現を誘導することで、ナイシン A に耐性を示す。そこで本研究は、MRSA の高濃度ナイシン A に対する高度耐性化とその耐性機構の解明を目的とした。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) *Sa* をナイシン A (1/2 最小発育阻止濃度) に曝露することにより、ナイシン A 高度耐性株が生じた。代表株を選択し、SAN (*S. aureus* nisin A resistance) 1、SAN8 および SAN87 と命名した。
- 2) SAN1 株では、*braXRS* プロモーター領域の変異による BraRS 発現量の増大を認めた。ナイシン A 添加によるリン酸化 BraR 量が上昇し、VraDE の発現量が高くなった結果、ナイシン A に対し高度耐性を示すことが示唆された。
- 3) SAN8 株では *braR* 領域に点変異を認めた。SAN8 株はナイシン A 非添加時においても VraDE 発現の増強を認めた。変異型 BraR は非リン酸化 BraR においても二量体を形成し、*vraDE* 上流に結合することで、*vraDE* 発現増大を誘導することが示唆された。
- 4) SAN87 株では *braS* 領域に点変異を認めた。センサーである BraS の変異により立体構造に影響を与え、ナイシン A 非添加時においても BraR のリン酸化を誘導することで *vraDE* 発現増大を引き起こすことが示唆された。

MRSA にナイシン A を作用させることで、ナイシン A 高度耐性株が分離された。分離した高度耐性株はいずれもナイシン A 耐性に関与する *braXRS* 領域に変異を認め、これらの変異がナイシン A 耐性に関与する *vraDE* 発現の増大を引き起こすことが明らかになった。

本研究は *Sa* の薬剤に対する高度耐性機構と二成分制御系因子の構造と機能の関連性を理解するために重要な知見であると考えられ、よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。