

論文審査の要旨

報 告 番 号	総 研 第 641 号	学位申請者	勝俣 環
審 査 委 員	主 査	於保 孝彦	学 位
	副 査	佐藤 友昭	副 査
	副 査	松口 徹也	副 査
			博士 (歯学)
			中村 典史
			星加 知宏

Comprehensive characterization of sortase A-dependent surface proteins in *Streptococcus mutans* (*Streptococcus mutans* におけるソルターゼ A 依存性表層タンパク質の網羅的性状解析)

Streptococcus mutans は通性嫌気性グラム陽性菌であり、う蝕原性病原菌として広く知られている。グラム陽性菌において、菌体表層タンパク質は宿主細胞への付着・侵入、食細胞に対する抵抗性、栄養源の分解などの機能を持ち、いくつかの結合様式で細胞壁に局在しているが、その中に sortase による結合がある。SortaseA (SrtA) は、タンパク質の C 末端にある LPXTG 配列を認識し、細胞壁のペプチドグリカンへ共有結合させる。*S. mutans* は SrtA を持ち、UA159 株では SpaP、WapA、WapE、FruA、DexA、GbpC の 6 種が SrtA 依存性タンパク質として同定されている。

このような病原性を発揮する因子として、一部の表層因子の報告はあるが網羅的な報告はない。そこで本研究では、*S. mutans* の代表的な表層因子として SrtA 依存性タンパク質について網羅的な解析を行った。*S. mutans* UA159 株を親株とし、SrtA および SrtA 依存性タンパクの各遺伝子欠損株を作製して表現型の比較を行い、また *S. mutans* 臨床分離株 125 株を使用して各 SrtA 依存性タンパク質の遺伝子多型性について検証した。

その結果以下の知見が得られた。

- 1) 増殖過程における遺伝子発現検証の結果、*wpaA* は最も発現量が高く、増殖後期に向け増加傾向を示した。対照的に *spaP* と *wapE* の発現は増殖後期に向け減少する傾向を示した。
- 2) 唾液成分に対する付着は SrtA 欠損株、SpaP 欠損株で顕著に減少し、GbpC、WapE、DexA、FruA 欠損株においても有意に減少した。SpaP-GbpC 二重欠損株の検証結果は、SpaP 欠損株と比較して低い値を示した。
- 3) 唾液凝集能は SrtA 欠損株で顕著に減少した。6 種の欠損株では、SpaP 欠損株のみ有意に減少した。
- 4) *Fusobacterium nucleatum* との共凝集能は、SrtA 欠損株は顕著に低下し、WapA 欠損株で有意な低下を示した。SpaP 欠損株は反応 1 時間後では有意な低下を示したが、3 時間後は親株と同等であった。*Porphyromonas gingivalis* との共凝集能は、SrtA 欠損株は顕著な低下を示し、WapE 欠損株、SpaP 欠損株は有意な増加を示した。
- 5) バイオフィーム形成は SrtA 欠損株で顕著な減少を示したが、その他の欠損株では変化は認められなかった。
- 6) SrtA 欠損株は疎水性が顕著に減少し、SpaP 欠損株、GbpC 欠損株においても有意に減少した。SpaP-GbpC 二重欠損株の検証を行ったところ、SpaP 欠損株と比較して低い値を示した。
- 7) SrtA 欠損株の I 型コラーゲン、フィブロネクチン、ラミニンへの結合は有意に減少した。その他の欠損株については、I 型コラーゲンに対する SpaP 欠損株の結合のみが有意な減少を示した。
- 8) 臨床分離株の各 SrtA 依存性タンパク質アミノ酸配列に多型性を認めた。変異の多くは可変領域で認められたが、機能領域においてもいくつかの変異が認められた。

これらの結果から、SrtA は *S. mutans* の生存に無くてはならない機能をもつ酵素であり、6 種類の SrtA 依存性タンパク質は *S. mutans* の病原性に協調的に寄与し、株間によって病原性が異なる可能性が示唆された。本研究は、*S. mutans* の表層タンパク質における病原性因子を解析することにより、う蝕予防へ応用するための基礎的知見を提供していることから、学位論文として十分な価値を有するものと判定した。