

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 671 号	学位申請者	瀬戸口 大介
審査委員	主査	中田 匡宣	学位 博士 (医学 <b>歯学</b> 学術)
	副査	後藤 哲哉	副査 西谷 佳浩
	副査	松口 徹也	副査 西 恭宏

### A novel mannose-containing sialoprotein adhesin involved in the binding of *Candida albicans* cells to DMBT1

(*Candida albicans* の DMBT1 への結合に関与する新規マンノース含有シアロタンパク質アドヘジン)

*Candida albicans* は口腔内に棲息する日和見感染菌である。DMBT1 (deleted in malignant brain tumors 1) は様々な組織や外分泌液中に存在し、細菌やウイルスの侵入に対する防御に重要な役割を果たす。*C. albicans* の口腔内定着に関して、複数の唾液タンパク質との相互作用は報告されているが、DMBT1 への結合に関しては十分に調べられていない。そこで申請者は、*C. albicans* NBRC 1385 株を用いてヒト唾液由来 DMBT1 およびそのタンパク質構成成分である SRCRP (scavenger receptor cysteine-rich peptide) への結合を調べ、結合に影響を与える因子 (2 価陽イオン、菌体表層に存在する糖および各糖を認識するレクチン) について検討した。次に菌体表層から SRCRP2 への結合に関与するタンパク質の分離精製を行い、このタンパク質の性状を SDS-PAGE およびレクチンブロットにて調べた。さらに、このタンパク質に対するマウス抗血清を作製し、同タンパク質が菌体表層に局在することを免疫蛍光染色および cell ELISA 法を用いて確認した。そして、*C. albicans* をガラスビーズで破砕することにより、細胞壁画分と細胞質画分に分離し、結合に関与するタンパク質が細胞壁画分に存在することをウェスタンブロットにて確認した。以上の解析を行った結果、以下の知見が明らかにされた。

- 1) *C. albicans* NBRC 1385 株は DMBT1 へ特異的に結合し、 $Ca^{2+}$  の存在下で結合が増強した。また、SRCRP のうち SRCRP2 へ強い結合を示した。
- 2) *C. albicans* 菌体の SRCRP2 への結合は、反応系に添加したマンノースおよび *N*-アセチルノイラミン酸 (シアル酸) の濃度に依存して抑制された。また、これらの糖を認識するレクチンを反応系に添加した場合においても、同様に結合が抑制された。
- 3) *C. albicans* の SRCRP2 への結合を抑制する成分を菌体表層画分より分離精製したところ、分子量は 25 kDa であり、マンノースおよびシアル酸を含有することが明らかになった。
- 4) *C. albicans* 菌体の SRCRP2 への結合は、反応系に添加した 25 kDa タンパク質の濃度に依存して抑制された。また、25 kDa タンパク質は、*C. albicans* 60S リソソームタンパク質 L10a であることが判明した。
- 5) 免疫蛍光染色にて菌体表面に 25 kDa タンパク質が局在することが確認され、さらに cell ELISA 法にて 25 kDa タンパク質に対する抗血清は対照 (免疫前血清) と比較して菌体と強く反応した。
- 6) ウェスタンブロットのデータから、25 kDa タンパク質が菌体の細胞壁に存在することが示唆された。

本研究では、*C. albicans* の DMBT1 への結合を調べ、結合に関与する菌体成分を分離精製し、結合機序を検討した。その結果、*C. albicans* 菌体は細胞壁表層に局在する 25 kDa のマンノース含有シアロタンパク質を介して DMBT1 の構成ペプチドである SRCRP2 へ結合することが示唆された。

本研究では、*C. albicans* が DMBT1 に結合することが初めて確認され、この結合に関与する付着因子が精製・分析された点が非常に興味深い。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。