

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	Vo Khanh Linh
審査委員	主査 鹿児島 大学 准教授 塩崎 一弘
	副査 鹿児島 大学 教授 小松 正治
	副査 鹿児島 大学 准教授 二神 泰基
	副査 鹿児島 大学 准教授 藤田 清貴
	副査 鹿児島 大学 准教授 田角 聡志
審査協力者	
題目	Infection mechanism of <i>Edwardsiella piscicida</i> via glycoconjugates remodeling (糖鎖リモデリングを介した <i>Edwardsiella piscicida</i> の感染メカニズムの解明)
<p>グラム陰性菌<i>Edwardsiella piscicida</i>は、ウナギやマダイなどの養殖魚にエドワジエラ症を引き起こし、甚大な被害をもたらしている。<i>E. piscicida</i>は細胞内寄生細菌であるため、ホルマリン不活化ワクチンや抗生物質の効果はそれほど高くない。そのため、感染予防・治療薬の開発が急務であるが、一方でその感染メカニズムには不明な点が多く残されている。</p> <p>近年、バクテリアやウイルス感染における宿主およびバクテリアの糖鎖リモデリングの重要性が注目されてきた。<i>E. piscicida</i>には、糖鎖分解酵素の1つであるNanAシアリダーゼ (NanA) が存在する。NanAは、糖鎖の非還元末端からシアル酸を遊離させる酵素であり、宿主細胞のシアロ糖鎖がその基質となることが予想されているが、その生理的意義についてはよく分かっていない。そこで本論文では、NanAを含むシアル酸関連酵素群による糖鎖リモデリングを介した<i>E. piscicida</i>感染メカニズムの解明を目的とした。</p> <p><i>E. piscicida</i>の菌株間の比較から、高病原性株における<i>nanA</i>遺伝子発現とシアリダーゼ活性の亢進が見いだされた。さらに、シアリダーゼ阻害剤処理が<i>E. piscicida</i>の感染を抑制し、一方で低病原性株への<i>nanA</i>遺伝子導入は感染を亢進させた。これらの結果から、NanAが</p>	

*E. piscicida*における感染制御因子であることが示された。さらに*E. piscicida*の感染がアシアロ糖ペプチドの処理により抑制されたことから、脱シアリル化糖鎖が*E. piscicida*感染の際の足場として利用されることが明らかとなった。

*E. piscicida*のゲノム上にシアル酸トランスポーター遺伝子の存在が予想されたため、NanAにより遊離したシアル酸が、菌体内で利用される可能性について検討した。グルコースを含まないM9培地にシアル酸を添加すると*E. piscicida*は増殖が可能となった。その際、*E. piscicida*の糖タンパク質やリポ多糖のシアリル化が亢進したことから、遊離シアル酸が菌体内で利用されることが確認された。一般にバクテリアでは、シアル酸の主な代謝酵素として、*N*-neuraminate lyase (NAL)と、CMP-NANA synthase (CSS)の2つが知られている。*E. piscicida*のゲノム上に、CSSは1つ確認されたが、NALは2つの遺伝子 (*nal1*, *nal2*) の存在が明らかとなった。そこで、*E. piscicida*病原性発現におけるこれら2つの*nal*遺伝子の寄与について検討した。それぞれの遺伝子を*E. piscicida*に過剰発現させ感染実験に供したところ、NAL1は魚類培養細胞およびゼブラフィッシュ仔魚への感染度を有意に上昇させたが、NAL2では感染に野生株との差は認められなかった。またNAL1は、バイオフィーム形成、およびSwimmingやSwarmingといった運動能を亢進させた。これらの結果は、NAL1が病原性の制御に関与していることを示している。さらに、NAL1による病原性亢進のメカニズムを明らかにするため、シアル酸代謝経路の下流についても解析した。その結果、NAL1発現株ではUDP-GlcNAc合成経路の遺伝子発現が亢進し、菌体のGlcNAc含量も野生株に比べて有意に上昇した。GlcNAcは莢膜多糖や細胞外高分子物質の必要な構成分子であることから、NAL1による病原性の亢進は、菌体外多糖のリモデリングに由来することが推察された。

以上、本論文において、i) NanAによる宿主細胞からのシアル酸の遊離、ii)アシアロ糖鎖の接着足場としての利用、iii)NAL1による遊離シアル酸の代謝、iv)菌体外多糖のリモデリングによるバイオフィーム形成や運動能の亢進、という*E. piscicida*の病原性制御機構を明らかにした。本論文で明らかになった制御機構は、魚病細菌における初めての知見であり、糖鎖生物学、および水産学に与えるインパクトは非常に大きいと考えられる。こうした理由から、本論文の学術的内容は高く評価されるものであり、博士(水産学)の学位を与えるに十分な価値を有するものと判断した。