

Studies on quorum sensing and self-quorum quenching in *Clostridium perfringens*

安達, 桂香

<https://hdl.handle.net/2324/2236303>

出版情報：九州大学, 2018, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏名	安達 桂香		
論文名	Studies on quorum sensing and self-quorum quenching in <i>Clostridium perfringens</i> (<i>Clostridium perfringens</i> におけるクオラムセンシングおよび自己クオラムクエンチングに関する研究)		
論文調査委員	主査	九州大学	准教授 中山 二郎
	副査	九州大学	教授 園元 謙二
	副査	九州大学	教授 酒井 謙二

論文審査の結果の要旨

ガス壊疽や食中毒を引き起こす病原菌 *Clostridium perfringens* には、溶血素遺伝子 *pfoA* を始めとする一連の病原因子遺伝子の発現を自己誘導するクオラムセンシング (QS) 機構が存在する。この QS では、*C. perfringens* 自身が分泌生産する自己誘導ペプチド(AIP_{Cp}) を、同菌が有する VirSR 二成分制御系で感知し、そのシグナルを細胞内に伝達し、一連の病原因子遺伝子を菌密度依存的に発現制御する。AIP_{Cp} は翻訳後に修飾される環状チオラクトンペプチドで、ブドウ球菌を始め他のグラム陽性細菌にも同様の QS 系 (*agr* QS) が知られている。しかし、*C. perfringens* の QS では、*pfoA* の発現が一過的であり、対数増殖期中期にピークを迎えた後、急速に減少することから、自身の AIP_{Cp}-QS システムを下方制御する self-quorum quenching (sQQ) という特有の機構の存在が推察されている。本研究は、この *C. perfringens* における AIP_{Cp}-QS-sQQ 機構の実態解明を目的とするものである。

まず、*C. perfringens* のタイプ A 病原性株である strain 13 を培養し、その定常期培養液上清 (SPCS) を対数増殖期中期の同株細胞に加え *pfoA* の発現をモニターしている。その結果、培養液上清を加えないネガティブコントロールにおいては十分量の *pfoA* が検出されたが、SPCS を添加したものでは *pfoA* が消失している。この結果から、SPCS 中に sQQ 誘導物質が存在することが示唆されている。この SPCS の sQQ 誘導活性は熱耐性でプロテアーゼ耐性の非タンパク質性酸性低分子であり、*C. perfringens* の一次代謝産物である有機酸が sQQ 誘導物質の候補と推察されている。そこで、実際に培養液と同濃度の酢酸と酪酸を同様に *C. perfringens* に添加し sQQ 活性を調べたところ、SPCS と同等の sQQ 活性が確認され、これらの有機酸が sQQ 誘導物質であることが示されている。しかし、これらの有機酸塩を作用させた場合には sQQ 活性を示さなかった。一方、塩酸による pH 低下でも sQQ 誘導活性が見られることから、sQQ はプロトン濃度の上昇により誘導されていることが示されている。

次に、sQQ の発動機序を知るために、合成 AIP_{Cp} 存在下、RNA 合成阻害剤であるリファンピシンと SPCS の作用を比較している。その結果、SPCS とリファンピシンは両者とも、*pfoA* が十分に発現誘導される濃度の合成 AIP_{Cp} 存在下でも sQQ が誘導されることを示している。故に、本菌の sQQ は酸性条件下での *pfoA* の転写誘導の遮断により発動される新規機構を提唱している。

最後に、AIP_{Cp}-QS-sQQ における遺伝子ネットワークを解明するため、strain 13 とその AIP_{Cp} 合成遺伝子欠損 TS230 株を用いて、QS および酸性条件下での発現変動遺伝子を RNA-seq により網羅的に解析している。その結果、毒素遺伝子群に加えて、糖の輸送および代謝、イオン輸送、莢

膜多糖（CPS）生合成の関連遺伝子が QS 誘導時に発現増加し、酸性条件下で発現低下していることが明らかとなっている。一方、酸性条件下ではクエン酸リアーゼ、F₀F₁タイプ ATP 合成酵素、シャペロンなどの遺伝子発現が増加しており、酸ストレス耐性機構が誘導されることが示されている。総じて、本菌は QS 誘導時に糖代謝や毒素および CPS 生産を積極的に行なって宿主への攻撃態勢をとる一方、sQQ 誘導時には環境ストレスに対する防御態勢をとっていると解釈される。すなわち、*C. perfringens* は AIP_{Cp}-QS-sQQ 機構により周囲の環境に併せて自己の遺伝子発現を巧みに調節することで、効率的に感染を実現させるというモデルを提唱している。

以上要するに、本研究は、病原菌 *C. perfringens* の AIP_{Cp}-QS-sQQ 機構を詳細に明らかにしたもので、*C. perfringens* の感染制御等の臨床応用にも繋がる、微生物制御学の発展に寄与する価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。