



Title	黄色ブドウ球菌の自己融解のリポタイコ酸による調節とペニシリンによる殺菌 1. 自己融解の調節因子としてのリポタイコ酸の役割 2. ペニシリンによる溶菌のリポタイコ酸による阻止
Author(s)	嶋谷, 雅博
Citation	大阪大学, 1979, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/32192
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【 3 】

氏名・(本籍)	嶋 谷 雅 博
学位の種類	歯 学 博 士
学位記番号	第 4 5 7 8 号
学位授与の日付	昭和 54 年 3 月 24 日
学位授与の要件	歯学研究科 歯学臨床系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	黄色ブドウ球菌の自己融解のリポタイコ酸による調節とペニシリンによる殺菌 1. 自己融解の調節因子としてのリポタイコ酸の役割 2. ペニシリンによる溶菌のリポタイコ酸による阻止
論文審査委員	(主査) 教授 作田 正義 (副査) 教授 常光 旭 助教授 岩壺 克哉 講師 杉中 秀寿

論 文 内 容 の 要 旨

細菌細胞は、ごく一部の例外を除いて、特有な化学組成と分子構造を有する巨大な袋状のヘテロポリマー（ペプチドグリカン）を基礎構造とする細胞壁により、おおわれている。したがって細菌細胞の増殖（生長、分裂および分離）は、このペプチドグリカン層の適正に調節された合成と分解を前提とし、特に分解に与るペプチドグリカン加水分解酵素（いわゆる自己融解酵素, autolysin）は、細菌細胞の増殖をはじめとするさまざまな生理機能や、ペニシリンのような細胞壁合成阻害剤の殺菌作用の発現に深いかわりを持っている。

このように細菌細胞の生存に重要な役割を果たす autolysin の作用は、当然のことながら、十分にコントロールされていなければならず、この制御機構の解明は、様々の面から興味をひく研究課題である。

さて最近、ある種の桿菌や連鎖球菌の autolysin の作用が、それぞれの菌体より抽出されたりリポタイコ酸(LTA)によって阻止されることが報告され、この LTA が生理的にも自己融解を調節している可能性が注目されるようになった。一方 LTA は、多くのグラム陽性菌の細胞表層に存在する、グリコリピドとポリグリセロリン酸とが結合した高分子物質であることが明らかにされた。

著者は、従来この方面の研究が意外に少ない *Staphylococcus aureus* について、まず自己融解の調節因子としての LTA の役割を明らかにし、ついでペニシリンの殺菌機序を LTA の菌体外への遊離と不活性化、さらには、autolysin の活性化という観点から検討を加えた。

まず、*S. aureus* FDA 209 P 株をトリプチケース・ソイ・ブロース(BBL, USA) で培養し、対数増殖期で集めた菌体を脱脂したものを 45% フェノール水で処理（1 時間、室温）して粗 LTA を抽出

し、ついでこの粗標品をセファロース 6 B でゲル濾過して、LTA を精製した。

S. aureus FDA 209P 株全菌の溶菌に対する作用を調べたところ、精製 LTA は自己融解過程のどの時点においても溶菌を阻止するが、この LTA を脱アシル化したものは、阻止作用を欠くことが示された。また Triton X-100 存在下では、LTA の自己融解阻害活性は発現しないことがわかった。このように、LTA の autolysin 活性の阻害には、リピド部分が重要な役割を果たしていることが示唆された。

ついで、*S. aureus* FDA 209P 株の培養上清及び菌体の両者から autolysin を抽出し、菌種は異なるが、これら autolysin の作用を *S. aureus* よりも受けやすい *Micrococcus lysodeikticus* NCTC 2665 株細胞壁を基質に選び、両 autolysin 標品の細胞壁ペプチドグリカンに対する作用点を調べた。培養上清由来の autolysin 標品には、アミダーゼとエンドペプチダーゼのうち片方、あるいは両者が存在し、一方菌体由来の標品には、これに加えて、エンド-N-アセチルグルコサミニダーゼが存在することが確認された。

さて菌体に存在する LTA は増殖に伴い菌体外へ遊離するが、この遊離 LTA は脱アシル化されており、autolysin 活性を阻害する作用を示さないことが観察された。この所見に基いて LTA の生理的役割を考察すると、菌体表層に存在する LTA は本来 autolysin 作用の発現を阻害しており、生長分裂あるいは分離の過程において、必要とされる時期に、必要な部位で脱アシル化されて菌体外へ遊離され、結果として autolysin が活性化されると結論される。

また LTA を添加して培養した場合、個々の細胞が未添加の場合にくらべて大きくなり、しかも細胞の分離が抑制されたのが観察された。これは、細胞の増殖に必須な autolysin の活性の少くとも一部が、LTA によって阻止されたことによると考えられる。

以上のように、細菌細胞における LTA の主な生理的役割の一つが autolysin の調節であることが、*S. aureus* においても議論の余地なく証明された。

そこで、autolysin と細胞壁合成阻害剤の殺菌作用発現とのかかわりあいについて、LTA の関与という観点から検討を加えた。増殖中の *S. aureus* FDA 209P 株は、ペニシリン G の作用をうけると暫時増殖を続けた後溶菌するが、この溶菌は、LTA を添加することによって直ちに阻止されることが示された。またこのように溶菌が阻止された菌は、増殖はしないが、集落形成能を保持している、すなわち静菌状態にあることが明らかにされた。このことより、ペニシリンの直接作用であるペプチドグリカン生成過程におけるトランスペプチダーゼの阻害のみからは静菌作用しか結果せず、殺菌作用は autolysin の関与する二次的な溶菌に基づくことが結論された。さらにこの溶菌は、ペニシリン G 添加により LTA の菌体外への遊離が著明に増加し、その結果 autolysin が活性化されておこることを推測させる結果が得られた。

論文の審査結果の要旨

細菌の増殖には、細胞壁ペプチドグリカンの合成のみならず分解の機構も働いている。このにない手は autolysin と呼ばれ、細胞の生長分裂および分離に重要な役割を演じている。

鳴谷君は、化膿性疾患の病原菌の一つであり、抗生物質に対する耐性の出現が問題にされている黄色ブドウ球菌を用いて、autolysin の活性発現が、この細胞表層に存在するリポタイコ酸によってコントロールされていることを機能および形態の両観点から探究して疑いのないものとした。さらに、この結論に基いて、ペニシリンの殺菌作用が、従来その作用機作として知られているペプチドグリカン合成の最終段階の反応である架橋形成阻害によるものではなく、細胞表層のリポタイコ酸がペニシリンによって遊離されるのに伴って起こる autolysin の活性化によるものであることを明らかにした。

以上のように、生理機能に重要な役割を果たす autolysin の制御機構を調べた上で、ペニシリンの殺菌機序を明らかにした特色ある研究であり、基礎的な面からもまた臨床応用の面からも発展性のある知見が示されている。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。