



Title	Two type IV pili of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> play different roles in biofilm formation
Author(s)	志馬, 景子
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47414
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名 し め はっとり あき こ
志 馬 (服部) 景 子

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 20748 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 18 年 12 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科分子病態医学専攻

学 位 論 文 名 Two type IV pili of *Vibrio parahaemolyticus* play different roles in
biofilm formation
(腸炎ビブリオのバイオフィーム形成過程における 2 種の IV 型線毛の機
能解析)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 本 田 武 司

(副査)
教 授 杉 本 央 教 授 大 石 和 徳

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

自然環境中でバクテリアはバイオフィームと呼ばれる共同体構造を形成する。バクテリアはバイオフィームを形成することで、環境中の様々なストレスや宿主免疫、抗生物質に対する耐性を獲得する。また栄養分が豊富な領域に固着することにより栄養獲得のうえでも有利となる。つまり、バイオフィーム形成はバクテリアにとって重要なサバイバル戦略といえる。

我が国における食中毒の主要な原因菌である腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) も海洋環境においてプランクトンや藻類の表層にバイオフィームを形成することが報告されているが、その形成機構は未だ明らかにされていない。本研究では、バイオフィーム形成過程で重要な働きをするとされる Type IV pili (TFP) に着目し、そこから腸炎ビブリオのバイオフィーム形成機構を解明することを目的とした。

〔 方法ならびに成績 〕

腸炎ビブリオの全ゲノム配列解読結果より、腸炎ビブリオ RIMD2210633 株は MSHA pili と ChiRP の 2 種類の TFP を保有することが明らかとなった。そこで MSHA pili と ChiRP の各 TFP 遺伝子欠損株と両 TFP 遺伝子欠損株を作製し、クリスタルバイオレットを用いた biomass 定量法によりバイオフィーム形成能を定量した。その結果、MSHA pili、ChiRP のどちらの遺伝子欠損株においてもバイオフィーム形成能の低下が認められた。また低下したバイオフィーム形成能はそれぞれの遺伝子を相補することにより回復した。以上の結果より、2 種類の TFP が本菌のバイオフィーム形成に必要であることが示唆された。

バイオフィーム形成過程における各 TFP の機能をより詳細に解析するために、各欠損株がカバーガラス上に形成したバイオフィームの形態観察を行った。MSHA pili 欠損株では菌同士の凝集は認められたが、カバーガラスに直接定着している菌数が有意に減少していた。一方、ChiRP 欠損株ではカバーガラス一面に菌の直接定着が認められたが、菌同士の凝集は観察されなかった。この結果より、腸炎ビブリオが保有する 2 種類の TFP はそれぞれバイオフィーム形成過程で異なる役割を果たすことが示唆された。バイオフィーム形成は、(1)基質表層への定着、(2)菌同士の凝集、

(3)菌体外多糖 (EPS) の分泌、の3ステップからなり、最終的に成熟バイオフィームが形成される。本研究により、腸炎ビブリオが保有する2種類のTFPのうちMSHAはステップ(1)で、ChiRPはステップ(2)で機能することが示唆された。

次に、これらのTFPが自然環境中で腸炎ビブリオのサバイバル能に寄与しうるか否かを調べるため、本菌の自然宿主とされるプランクトンの表層成分であるキチン粒子に対する定着能について検討した。その結果、TFP遺伝子欠損株はキチンに対する結合能が野生株に比較して低下していた。このことから、バイオフィーム形成に関与しているTFPが自然界でのサバイバル能にも寄与している可能性が示唆された。

〔 総 括 〕

本研究では、まず腸炎ビブリオが保有する2種類のTFPが本菌のバイオフィーム形成に必要であることを明らかにした。また、これら2種類のTFPがバイオフィーム形成過程で異なる役割を担っていることも見いだした。さらに、本菌の自然界における宿主であるプランクトンの表層成分であり、本菌の栄養源でもあるキチン粒子への結合能に、TFPが寄与することが示唆された。以上の結果を総括すると、栄養的に厳しい環境である海洋中で、本菌は2種類のTFPを巧妙に使い分けることで、効率的にバイオフィームを形成し、有利に栄養を獲得しながらサバイバルしていることが示唆された。この結果は今後、腸炎ビブリオの生態や流行性を解析するうえで有意義な知見であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

Biofilmはバクテリアの重要な survival strategy である。我が国における食中毒の主要な原因菌である腸炎ビブリオも biofilm を形成するとされるが、その形成機構は未だ明らかにされていない。

志馬君は2種のIV型線毛 (ChiRP、MSHA pili) が biofilm 形成過程で果たす各機能を明らかにし、腸炎ビブリオが効率的に Biofilm を形成するメカニズムを解明した。

続いて、近年世界的流行を引き起こしている新型腸炎ビブリオが2種のIV型線毛のうち、ChiRPにユニークな配列をもつことを見いだした。非流行型線毛保有株との競合試験の結果、この流行型線毛が chitin-binding に有利に働くことを突き止めた。腸炎ビブリオは環境中で自然宿主表層成分である chitin を足場に biofilm を形成することで survival を図ることから、chitin-binding の有利性が新型腸炎ビブリオの survival 能をあげ、今回の流行に繋がった可能性が推測された。

本研究は腸炎ビブリオの biofilm 形成機構の解明から発展し、環境中でのサバイバルといった新しい視点で世界的流行の一因を解明した点で優れており、博士 (医学) の学位授与に値する。