

2-05

黄色ブドウ球菌における細胞壁のアセチル化がバイオフィームに与える影響

○馬場 有夢^{1,2}、千葉 明生^{1,3}、小貫 友暉^{1,2}、山田 ほのり^{1,2}、金城 雄樹^{1,3}

東京慈恵会医科大学 細菌学講座¹、東京慈恵会医科大学 医学部医学科²、
東京慈恵会医科大学 先端医学推進拠点 バイオフィーム研究センター³

【目的】黄色ブドウ球菌はカテーテルやインプラントを介した感染症を引き起こす。このような感染症の多くはバイオフィームが関連しており、その形成機序の解明は新規の感染症対策に繋がる。黄色ブドウ球菌を含むグラム陽性菌の細胞壁には壁タイコ酸 (Wall teichoic acid: WTA) が存在し、固体表面への接着といったバイオフィーム形成だけでなく、細胞分裂などの恒常性維持に関与している。このため WTA の欠損はバイオフィーム形成不全や分裂障害に伴う溶菌を引き起こす。黄色ブドウ球菌の WTA は、ペプチドグリカン層の N-アセチルムラミン酸の C6-水酸基に結合することで菌体から表出している。この水酸基は、細胞膜タンパク質の O-acetyltransferase A (OatA) によりアセチル化され、溶菌酵素リゾチームへの耐性を獲得し、生存性を高めている。本研究では OatA に着目し、細菌の表層構造の変化がバイオフィーム形成に及ぼす影響について調べた。

【方法】黄色ブドウ球菌 RN4220 株の OatA 欠損株と OatA 発現株を作製した。これらの細菌にバイオフィームを形成させ、Crystal violet 染色で形成量を測定した。形成されたバイオフィームから細胞外マトリクスを 1.5M NaCl を用いて抽出し、アガロースゲル電気泳動で核酸を検出した。また、生死菌染色を行ったバイオフィームの立体構造を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。細菌から抽出した WTA はポリアクリルアミドゲル電気泳動で展開し、Alcian Blue 染色で検出した。病原性を評価するためにカイコ幼虫を用いた感染実験を行った。

【結果】バイオフィームの形成量は OatA の欠損では変化しなかったが、OatA の発現により減少し、その発現量に依存して剥がれやすくなった。細胞外マトリクスの解析では、OatA 発現株の細胞外核酸量が著しく増加し、自己溶菌の促進が示唆された。共焦点レーザー顕微鏡では、OatA 発現によりバイオフィーム内の生菌数の減少と細胞外核酸の増加が観察された。以上から、OatA のアセチル化が WTA の結合を競合的に阻害し、細胞壁への表出を減少させることが想定された。そこで OatA 発現株の WTA 量を調べたところ、著明な減少を認めた。また、感染実験では OatA 発現株は非発現株と比較し生存期間が有意に延長した。

【結論】生存戦略のために獲得した OatA を高発現させると、WTA の減少を介し、バイオフィーム形成量の低下と溶菌の促進という逆説的な現象を見出した。WTA 発現量を間接的に制御することで、様々なグラム陽性菌を標的としたバイオフィーム感染症対策の開発に寄与することが期待される。