

## 論文審査の要旨(甲)

申請者領域・分野 氏名	病態制御科学領域感染生体防御学教育研究分野 石合 崇人
指導教授氏名	浅野 クリスナ
論文審査担当者	主 査 田坂 定智 副 査 櫻庭 裕丈 副 査 松原 篤
(論文題目) Extracellular vesicles of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> downregulate pyruvate fermentation enzymes and inhibit the initial growth of <i>Staphylococcus aureus</i> (緑膿菌由来細胞外小胞による黄色ブドウ球菌のピルビン酸代謝酵素活性阻害効果及びその増殖抑制作用に関する研究)	
(論文審査の要旨) 黄色ブドウ球菌 ( <i>Staphylococcus aureus</i> ) と緑膿菌 ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ) は慢性創傷部位などにおいて頻繁に共感染する日和見病原体として知られており、共存することによって相互の増殖を制御することや、病原性が増強することが知られている。この細菌間相互作用のメカニズムとして、細菌が細胞外に分泌する細胞外小胞 (Extracellular membrane vesicle) の関与が注目されている。申請者らは緑膿菌由来細胞外小胞 (PaEVs) が黄色ブドウ球菌の増殖に与える影響について検討を行った。 緑膿菌培養上清から密度勾配超遠心法によって PaEVs を精製した。PaEVs に含有されているタンパク質をプロテオーム解析法によって解析したところ、プロテアーゼや外膜タンパク質を含む 57 種類のタンパク質が同定された。次に PaEVs の黄色ブドウ球菌に対する増殖への効果を確認したところ、鉄キレート効果に依存することなく黄色ブドウ球菌の増殖を抑制することが示された。さらに、PaEVs を作用させた黄色ブドウ球菌について、生菌と死菌を各々蛍光色素で染色したところ、PaEVs が静菌的に作用することが明らかになった。この増殖抑制効果は MRSA においても確認されたが、アシネトバクター、腸球菌、ネズミチフス菌、大腸菌、リステリア、カンジダでは確認されなかった。PaEVs 作用後にはピルビン酸代謝関連酵素である乳酸脱水素酵素 2 とギ酸アセチルトランスフェラーゼの発現が有意に減少し、ピルビン酸添加後は増殖抑制効果が消失した。さらに、好気的条件下では、嫌気的条件下で見られた増殖抑制効果が確認できなかった。以上より PaEVs が嫌気的代謝におけるピルビン酸の代謝を阻害することにより黄色ブドウ球菌に対する増殖抑制効果を示すことが明らかになった。 本研究は、日和見感染症でしばしば共存する黄色ブドウ球菌と緑膿菌の菌体間相互作用において、PaEVs が黄色ブドウ球菌の嫌気的代謝に関わるピルビン酸代謝の阻害により増殖抑制効果を示すことを明らかにした重要な研究であり、学位授与に値する。	
公表雑誌等名	Ishiai T, et al. <i>Curr Res Microb Sci</i> 2023;4:100190.