

**論 文 審 査 の 要 旨**

筆頭著者（学位申請者）氏名

柳井 真知

主論文の題目  
および

題 目 Separately or Combined, LukG/LukH Is Functionally Unique Compared to Other Staphylococcal Bicomponent Leukotoxins

（LukG/LukH は黄色ブドウ球菌由来の他の二成分性白血球障害毒素と異なる特異的な機能を持つ）

掲載・審査委員名

掲載誌 PLOS ONE 2014; 9: e89308

主査 中島 秀喜

副査 清水 潤

副査 金本 大成

[論文の要旨・価値]

黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)は、Panton-Valenine leukocidin(PVL)を代表とした様々な二成分性白血球障害毒素(bicomponent leukotoxin: BCL)を分泌する。BCLの細胞障害機序としては、標的細胞膜表面で2つの成分が会合した後、多量体の膜孔を形成することで細胞内へのカルシウムイオン(Ca<sup>2+</sup>)の流入を促し、さらにインターロイキン8(IL-8)などの炎症性サイトカインの分泌を誘導して細胞障害を増強すると考えられている。本研究では、2010年に新たに発見された*S. aureus*由来のBCLであるLukG/LukHに注目し、多核白血球でのCa<sup>2+</sup>濃度やIL-8誘導能について他のBCLと比較検討した。

**方法** 発見されている全てのBCLであるPVL、γヘモリジン、LukDEとLukGHのリコンビナントタンパクを生成し、ヒト末梢血多核白血球(PMN)に添加した時の①細胞内へのCa<sup>2+</sup>流入の経時的変化、②LDH濃度測定による細胞障害性の程度、③上清中のIL-8濃度および細胞のIL-8のmRNAの発現を比較した。

**結果と考察** ①LukGHを加えた多核白血球の細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度は経時的に増加したが、PVLを添加した場合と比較すると、その濃度は低く、ピーク値に達する時間も長かった。このCa<sup>2+</sup>流入には、カルシウムチャンネルが介在している可能性が示された。②LukGHはPVLに比べ強い細胞障害性を示した。③LukGまたはLukH単独ではCa<sup>2+</sup>流入、細胞障害は認められず、LukGとLukHは互いの存在下でのみ障害性を発揮すると判断された。④LukGH処理は、PVLに比べて有意に高いIL-8の分泌を誘導し、細胞内のmRNA発現も増大していた。このIL-8の分泌は、NF-κB阻害薬(Bay11-7089)で前処理したPMNでは抑制されたことから、LukGHによるIL-8産生分泌機序にはNF-κB経路が関与することが示唆された。本論文は、ほとんどの*S. aureus*株で産生されるLukGHが、従来知られていたBCLとは異なる機序で細胞障害性を示すことを示唆した研究であり、*S. aureus*の病原性の一端を説明し得る臨床的に有意義な論文であると判断された。

[審査概要]

審査は、平成26年10月10日に主査・副査および2名の陪席者のもとで行われた。最初にPCを用いた約20分間の論文の口頭説明の後、約30分にわたって質疑応答が行われた。質問の内容は、①実験目的、②LukGHを産生する*S. aureus*株や産生比率、③リコンビナントタンパクを用いた理由、④関係する先行論文の実験での使用BCL濃度の違い、⑤IL-8誘導と病態発現の関係性など多岐にわたって行われたが、終始真摯な態度で、ほぼ満足できる回答が得られた。

**最 終 試 験 結 果 の 要 旨**

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価] 本研究および関連領域に関する専門的知識ならびに独立した研究者として研究遂行する能力は十分にあると判断された。研究発表は、わかりやすい図表を用いて丁寧で明解なプレゼンテーションであった。英語読解力に関しては、引用してある参考論文の一部分をその場で指定して、和訳することで評価したが、十分な読解力があると判断した。以上のことより、申請者、柳井真知氏は学位授与に値すると判断した。