

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Characterisation of haemolysis of Malassezia species and identification of the haemolytic factor
著者(和文)	TeeChuiBoon
Author(English)	Chuiboon Tee
出典(和文)	学位:博士(学術), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11316号, 授与年月日:2019年9月20日, 学位の種別:課程博士, 審査員:梶原 将,一瀬 宏,長田 俊哉,小畠 英理,小倉 俊一郎
Citation(English)	Degree:Doctor (Academic), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11316号, Conferred date:2019/9/20, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	Tee Chui Boon	
論文審査員	氏 名	職 名	氏 名	職 名
	主査 梶原 将	教授	小倉 俊一郎	准教授
	一瀬 宏	教授		
	長田 俊哉	准教授		
	小畠 英理	教授		

本論文は、“Characterisation of haemolysis of *Malassezia* species and identification of the haemolytic factor” と題し、英文で書かれ、5章から構成されている。

Chapter I “General Introduction” では、日和見感染真菌である *Malassezia* 真菌の特徴やそれらが引き起こす感染症、そしてこの真菌の病原性因子について説明するとともに本研究の目的を述べている。*Malassezia* 真菌は健康人の皮膚などに常時生育している微生物であるが、ヒト側の状況の変化により、日和見感染を引き起こし、癬風、フケ症、脂漏性皮膚炎、アトピー性皮膚炎などを発症させることが知られていると紹介している。そして、この真菌の特徴として、脂質要求性を有し、脂肪酸を外部から取り込まないと生育できないことも分かっていると説明している。その性質により、脂肪酸を取り込むための多種の分泌型脂質分解酵素を有していることや強い溶血活性を有することが実験室株を用いた研究により明らかになってきていると述べている。そしてそれらの酵素活性や溶血活性がこの真菌の病原性因子であると推定されているが未解明な部分も多いと説明している。そこで本研究では、多数の臨床株を分離することにより、患者から得られた株の特徴を明らかにするとともに、それら株の脂質分解酵素活性や溶血活性を比較することで、その関連性を調査し、かつ溶血活性を示す因子を同定することを目的としたと述べている。

Chapter II “Isolation and identification of clinical strains” では、臨床医から送られてきた29名の皮膚病患者からの皮膚患部サンプルを用い微生物同定を行った結果、合計で48種の *Malassezia* 真菌を分離することに成功し、26S rDNA-RFLP解析やITS1領域のDNAシーケンシングにより、それらが *M. dermatis* 8株、*M. furfur* 10株、*M. globosa* 8株、*M. restricta* 9株、*M. sympodialis* 13株と同定できたと述べている。そして、その中の一部の菌株は継続培養が困難であったと説明している。加えて、これまで東アジア地域のフケ症患者からは同定されていない *M. dermatis* を今回初めて分離したと紹介している。

Chapter III “Secreted hydrolytic and haemolytic activities of *Malassezia* clinical strains” では、同定した48株の内、継続培養ができた35株を用い、脂質分解酵素活性、具体的には分泌型リパーゼ活性と分泌型ホスホリパーゼ活性を測定するとともに、それら35株の赤血球に対する溶血活性も測定したと説明している。リパーゼ活性はほとんどの *M. globosa* 株が比較的高く、*M. sympodialis* 株は全て低いという傾向がみられ、ホスホリパーゼ活性では、*M. globosa* 株、*M. restricta* 株、*M. sympodialis* 株が全体的に高い活性を有するという傾向がみられたと述べている。一方で、溶血活性は同種間での差が大きく、種による違いは全く認められなかったと説明している。これらの結果から、脂質分解酵素活性と溶血活性には関連性はほとんど認められず、また以前に *Malassezia* の溶血活性は熱処理や Proteinase K 処理にも耐性であるとの報告があることから、*Malassezia* の溶血活性因子は酵素のようなタンパク質ではなく、熱に安定な何らかの化合物ではないかと推測されたと述べている。

Chapter IV “Preliminary haemolytic factor isolation, purification and structural determination” では、*Malassezia* の溶血活性因子を化合物と推定し、その化合物の同定を試みたと述べている。溶血活性が最も高かった *M. globosa* 株の寒天培地培養から培養上清を分離し、飽和食塩水で洗浄後、乾燥させて溶媒に溶かし、カラムクロマトグラフィーで89に分画したと説明している。それら89画分を用いて、それぞれの赤血球に対する溶血活性を測定した結果、56～58画分において比較的高い溶血活性が観察されたため、それらの画分を用いてTLC分析を行ったところ、CH₃Cl : MeOH (65 : 35)での展開でR_f=0.59の位置に明確な化合物のスポットが認められたと述べている。そして、その化合物をTLCで抽出・単離し、ESI-TOF-MSや¹H-NMR & ¹³C-NMRで解析したところ、分子量408.579であるコール酸であることが分かったと説明している。さらにコール酸を用いて溶血活性を測定したところ、コール酸が溶血活性を有することが分かったと述べている。これらの結果から、*Malassezia* の溶血活性因子の一つはコール酸であることを突き止め、*Malassezia* の増殖過程において、この真菌の何らかの作用によりコール酸が産生されたと考えられたと述べている。

Chapter V “Conclusion and perspective” では、本研究で得られた知見をまとめ、本論文の結論とともに今後の研究の展望を述べている。

以上を要するに本論文では、*Malassezia* 真菌の臨床分離株における脂質分解酵素活性と溶血活性との関係を示すとともに、溶血活性因子の一つを同定しており、生物学的な *Malassezia* 真菌の特質を明らかにするだけでなく、医学的な観点から今後の当該真菌による感染症対策においても有益な知見を提供しており、学術上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士(学術)の学位論文として十分な価値があるものと認められる。