Osaka University Knowledge Archive

Title	腸炎ビブリオの産生する致死毒（耐熱性溶血毒）に関する研究
Author(s)	本田, 武司
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31741
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【37】

氏名・(本籍)	本田武司（ほんだたけし）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 3805 号
学位授与の日付	昭和52年2月3日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**腸炎ビブリオの産生する致死毒(耐熱性溶血毒)に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 三輪谷俊夫
	(副査) 教授 川俣 順一　教授 熊原 雄一

論文内容の要旨

〔目　的〕

腸炎ビブリオは，わが国の細菌性食中毒の原因菌として最も頻度の高いものであり，毎年本菌感染症による死亡例が報告されている。本菌による死に至る病態はこれまで全く解明されていないので，腸炎ビブリオによる致死作用の解明を目的として研究を行った。

〔方法ならびに成績〕

腸炎ビブリオ，WP－1株（神奈川現象陽性株）をペプトン培地に37℃，18時間振盪培養し，培養上清より致死毒の分離精製を行った。各精製段階における致死活性の測定は，マウス尾静脈内に被検毒素液を投与した場合の生存時間の測定により行った。致死活性物質（致死毒）の精製は，培養上清を硫酸アンモニウムで分画後，DEAE-cellulose, hydroxyapatite, Sephadex G 200 の各 column chromatography により行った。このようにして精製した致死毒は，免疫電気泳動，SDS polyacrylamide gel disc 電気泳動，超遠心分析によって，単一成分まで高度に精製されていることを明らかにした。この致死毒の精製過程において溶血活性も同時に追跡したが，致死活性と溶血活性はいずれの精製段階においても全く同じ挙動を示し，精製致死毒は致死活性の他に溶血活性も同時に持つ毒素であることがわかった。即ち，疫学的研究から腸炎ビブリオの病原性と関係深いとされてきた神奈川現象陽性原因物質である耐熱性溶血毒が，腸炎ビブリオの産生する致死毒そのものであることを明らかにすることができた。

精製致死毒は，糖，脂質を全く含まない分子量約42,000の単純蛋白質であり，等電点は 4.2，酸性アミノ酸の比較的多い酸性蛋白であることがわかった。

精製致死毒を，マウス，ラットの尾静脈内に投与した場合の最少致死毒はそれぞれ0.5μg/マウス，2.5μg/ラットであり，マウスに2μg，ラットに10μg静脈内投与するとそれぞれ1分，2分前後でマウス，ラットを死亡させた。少量で極めて短時間内に動物を死亡させ得るのが本毒素の致死作用の特徴である。この強力な致死毒の標的臓器が心臓であることを次の方法を用いて明らかにした。

① ラットの脳波及び心電図を同時記録しながら毒素を静脈内に投与すると，まず心電図に著名な変化が認められ，まもなく心拍動が停止する。脳波は心停止後さらに50秒間殆んど変化なく記録せられた。この際のラットの心電図を詳細に解析すると，徐脈，A－Vブロック，心室細動など種々の変化が認められた。

② 毒素による心臓毒性を直接に明らかにするために培養心筋細胞系を利用した。胎仔マウスの心筋細胞をシャーレで培養すると規則正しく拍動するのが顕微鏡下で観察されるが，毒素を作用させると1分以内に培養心筋細胞の拍動が停止する。この培養心筋細胞系は，血管系や神経系を全く介しない系であり，致死毒が，心筋細胞に直接作用してその拍動を止めることが明らかになった。

〔総　括〕

1）腸炎ビブリオ培養上清中には強力な致死活性物質（致死毒）が産生されていることが分った。

2）致死毒は，腸炎ビブリオ液体培養上清の硫安分画，DEAE cellulose, hydroxyapatite, Sephadex G 200のcolumn chromatographyによって物理化学的に単一成分にまで精製することができた。

この結果，精製致死毒は神奈川現象陽性の原因物質である耐熱性溶血毒そのものであることを明らかにした。

3）精製致死毒の物理化学的諸性状を明らかにした。

4）致死毒は，動物の心臓に直接作用して心拍動を停止させ動物を死に至らしめることを明らかにした。

以上の結果から，ヒト腸炎ビブリオ感染症による死亡は，本毒素による心臓障害作用による可能性が示唆される。

論文の審査結果の要旨

本論文の著者は，腸炎ビブリオの産生する致死活性物質（致死毒）を培養上清中に見い出し，その毒素を高純度に分離精製することに成功し，その物理化学的性状を明らかにした。そしてこれまで主として疫学的研究から病原性と関係深いとされていた神奈川現象陽性の原因物質である耐熱性溶血毒そのものが，致死毒であることを明らかにした。さらに本毒素の作用機序についても研究を進め，電気生理学的手法や，培養心筋細胞系を用いて解析し，本毒素が細菌毒素として非常にユニークな心臓毒作用を持っていることを明らかにした。その結果にもとずいて臨床例を解析，腸炎ビブリオの産生する致死毒（耐熱性溶血毒）がその必臓毒作用によって腸炎ビブリオ感染患者を死亡させる可能性を示唆した。著者の明らかにしたこれらの事実は，腸炎ビブリオ感染の病態の解明と，治療法の開発に寄与するところ大であり，高く評価され得る。