



Title	毒素原性大腸菌が產生する易熱性エンテロトキシンの大量產生変異株の分離と大量產生培養条件の検討
Author(s)	余, 明順
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32833">https://hdl.handle.net/11094/32833</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	余	みよん	明	すん	順
学位の種類	医	い	学	がく	博士
学位記番号	第	だい	5106	ごう	
学位授与の日付	昭和	しょうわ	55年	55ねん	11月 6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	<b>毒素原性大腸菌が產生する易熱性エンテロトキシンの大量產生変異株の分離と大量產生培養条件の検討</b>				
論文審査委員	(主査) 教授 三輪谷俊夫 (副査) 教授 天野 恒久 教授 松田 守弘				

### 論文内容の要旨

#### [目的]

毒素原性大腸菌の產生する易熱性エンテロトキシン (LT) は、精製法をはじめ、分子構造、生物学的性状、免疫学的性状、作用機作などが研究され、コレラ毒素と類似している事が明らかになりつつある。しかし毒素原性大腸菌の產生する LT の量は少なく、コレラ毒素の多量產生株 Vibrio cholerae 569 B の產生量に比較すると 1/1000以下という少量である。そのためにコレラ毒素の場合の様に同じ精製標品を多数の研究者が入手するという事が出来ず、分子構造に関する報告なども研究者によって異り、物理化学的性状や、毒素の生成機構などいまだ不明の点が多い。これらの問題を解明するためには多量の LT 精製標品を得る事が必要である。この研究は、LT の大量產生株を得る事と、LT の多量產生条件を確立する事を目的としておこなった。

#### [方法ならびに成績]

##### 1. ニトロソグアニジン処理による LT 大量產生変異株の分離

ヒト由来の LT 產生株 E. coli H10407をニトロソグアニジン処理し、生じた集落について抗コレラ毒素を用いた放射受身免疫溶血反応で LT 產生量を調べた。LT はコレラ毒素と共に抗原性を持っているので、抗コレラ毒素を用いた放射受身免疫溶血反応によって定量する事ができる。集落周辺の溶血環の大きさが菌株の LT 產生量と比例するので、最も大きな溶血環を形成した菌株を選び E. coli Y39とした。E. coli Y39について、チャイニーズハムスター・オバリー細胞の円形から紡錘形への形態変化、ウサギ結紮腸管液体貯留試験、ウサギ皮膚血管透過性亢進 (P F) 試験などで LT 活性を調べた結果、親株 E. coli H10407 より 4~10倍の LT を產生している事がわかった。菌体内の

LT量も親株と変異株で殆んどかわらないので菌体内から菌体外への遊出による増加ではないと考えられ、また増殖速度及び最終菌量も親株と変異株で変わらないので、E. coli Y39では菌体当りのLT産生量そのものが親株に比べて増えたと考えられた。

## 2. リンコマイシンによるLT産生量の増加

リンコマイシンが毒素原性大腸菌のLTやコレラ毒素の産生を促進することが報告されているので、LTの大量産生のためにリンコマイシンが利用できるかどうかを調べる目的で、ヒト由来の毒素原性大腸菌20株を用いて培地に種々の濃度のリンコマイシンを添加し、リンコマイシンによるLT産生量の増加が起こるかどうかを調べた。リンコマイシンの効果は菌株によってかなりの差があったが、300μg/mlのリンコマイシン添加で増殖は一様に抑えられた。そこでリンコマイシンの効果のみられた菌株のうちの2株を選び、リンコマイシン高濃度耐性株E. coli 324-1<sup>r</sup>とE. coli 433-1<sup>r</sup>をリンコマイシン添加培地で培養し、菌体外及び菌体内のLT活性をチャイニーズハムスター細胞、ウサギ結紮腸管液体貯留試験、ウサギ皮膚血管透過性亢進(PF)試験で調べた結果、両菌株とも約3μg/mlのコレラ毒素に相当するLT量を産生している事がわかった。

一方、ST産生株、LT-ST産生株のST産生に及ぼすリンコマイシンの影響も調べたがリンコマイシンによるST産生の増加は見られなかった。

また、リコマイシン以外の8種類のタンパク合成阻害剤についてもLT産生増加をするかどうか調べてみた結果、テトラサイクリンにはLT産生増加効果が見られたがそれ以外の抗生物質にはLT産生増加効果は見られなかった。

## 3. LT産生のための培養条件の検討

培地中にグルコースを添加する事によってLT産生量がどのような影響を受けるかについて調べた結果、グルコース添加により著しくLTが減少する事がわかった。

培養時の通気の影響を調べるために、培養容器中の培地の量を変えて培養した結果、培地量が少ない程、産生LT量が多く、LT産生には十分な通気効果が必要であると考えられた。

### [総括]

LT多量産生変異株E. coli Y39は親株E. coli H10407より4~10倍多いLTを産生する事がわかった。しかし、この値はV. cholerae 569Bの1/10量にしか達せず、さらに多量のLT産生のためにリンコマイシンを利用した。ヒト由来毒素原性大腸菌のリンコマイシン高濃度耐性菌をリンコマイシン存在下で培養すると、約3μg/mlのコレラ毒素に相当するLT量が産生される事がわかった。しかし、ST産生に対してはリンコマイシンの効果は見られずリンコマイシンのLT産生促進機構に関しては不明である。リンコマイシン以外のタンパク合成阻害剤ではテトラサイクリンにLT産生促進効果が見られた。

LT産生にはグルコースは添加しない方が良く、通気効果は十分である事が必要であった。

## 論文の審査結果の要旨

毒素原性大腸菌の產生する易熱性エンテロトキシン（LT）は大腸菌によるコレラ様下痢症の原因をなす毒素であるがその產生量が少ないためいまひとつ研究の進展が見られない。本研究では毒素原性大腸菌の大量產生変異株の分離を試み従来精製に用いられている菌株の約10倍高い変異株を分離した。さらにリンコマイシンを用いる事によって培養上清中に約 $3\text{ }\mu\text{g/ml}$ の LT を產生するという結果が得られた。この LT 量は生物学的にも免疫学的にも確認された。この様な LT の大量產生条件の確立は今後の LT の研究に大きく寄与するものと思われる。