



Title	Vibrio mimicusの産生する耐熱性エンテロトキシンの精製とその性状
Author(s)	今石, 秀則
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36521
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	いま　いし　ひで　のり 今　石　秀　則
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　　8 2 6 0　　号
学位授与の日付	昭 和 63 年 6 月 9 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	<u><i>Vibrio mimicus</i></u> の産生する耐熱性エンテロトキシンの精製とその 性状
論文審査委員	(主査) 教 授 三輪谷俊夫
	(副査) 教 授 井上 公蔵　　教 授 松田 守弘

論 文 内 容 の 要 旨

〔目　　的〕

Vibrio mimicus が感染性下痢症を起こす機序に関しては、従来からコレラ毒素 (CT) 様毒素の存在が指摘され、この方面ではかなり研究が進められてきた。しかし本菌の中には CT 様毒素非産生性でありながら腸管起病性をもつ菌株が存在し、この様な菌による発病機序は不明のままであった。そこで本研究ではこの不明の発病機序を解明することを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

大阪空港検疫所で分離されたヒト患者下痢便および食品由来の *Vibrio mimicus* 計 17 株について suckling mouse 試験によってエンテロトキシン活性を調べたところ、10 株が陽性であった。そこでこの毒素を高産生株 (AQ0915) を用いて以下の順で精製した。

0.5%NaCl 加 BHI broth で培養した遠心上清を出発材料として、硫酸アンモニウムによる塩析、ハイドロキシアパタイト処理、エタノール抽出、SP-Sephadex C-50 および DEAE-Sephadex A-25 によるカラムクロマトグラフィーを順次行ない、最後にリクロソルブ RP-8 カラムを用いた逆相高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にてエンテロトキシンを高純度に精製することができた。

この方法によって得られた精製エンテロトキシン (VM-ST) の回収率は約 15% であった。そこでこの VM-ST を用いて以下の実験を行なった。

(1) 耐熱性試験

60℃30 分間、100℃30 分間、121℃15 分間加熱処理してそれぞれ前後のエンテロトキシン活性を suckling mouse 試験によって測定した。

(2) エンテロトキシン活性の経時的変化

Suckling mouse 試験における腸管内液体貯留量の変化を経時的に測定した。

(3) 抗大腸菌耐熱性エンテロトキシン (EC-ST) 血清による中和試験

抗EC-ST血清によるEC-STとNAG-STの中和曲線を作って両者を比較した。

(4) アミノ酸分析

常法に従って処理したサンプルを日立835型アミノ酸分析器を用いて分析した。

これらの実験の結果から、VM-STは以下の諸性状を有することがわかった。

(1) 60℃30分間および100℃30分間の加熱によっても失活しない耐熱性毒素である。

(2) Suckling mouse 試験で腸管内液体貯留量の経時的変化を測定した結果、投与後2～3時間で液体貯留が見られ始め、5～6時間で最高となり、以後次第に低下して18時間以降は認められなくなった。

(3) 抗大腸菌ST血清によりその活性は部分的に中和され、免疫学的に毒素原性大腸菌の産生するEC-STと一部共通性がある。

(4) アミノ酸組成は Asp (Asn) 3, Glu (Gln) 1, Gly 1, Ala 1, Half-Cys 6, Ile 2, Leu 1, Phe 1, Pro 1 の計17アミノ酸残基から成る。これは *Vibrio cholerae* non-01の産生する耐熱性エンテロトキシン (NAG-ST) と全く同一であった。

[総括]

Vibrio mimicus の下痢原因毒素としてこれまで知られていない新しいST様毒素を高純度に精製し、その生物学的、物理化学的、免疫学的性状の一部を明らかにした。

論文の審査結果の要旨

本論文は、昭和57年厚生省によって新しく認定された食中毒原因菌である *Vibrio mimicus* の病原因子を解析し、従来から知られていたコレラ毒素様毒素の他に、計17個のアミノ酸残基から成る低分子性の耐熱性エンテロトキシンをかなりの高頻度で産生していることを確認し、その精製を行なうと共に、各種性状を明らかにしたものである。これらの成果は、*Vibrio mimicus* 感染症の病態の理解を深める上で極めて有意義なものであり、本論文は学位論文にふさわしい内容をもつものであると判断される。