



Title	腸炎ビブリオの産生するTDH類似溶血毒(TRH)の病原性への関与に関する研究
Author(s)	徐, 明
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38885
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	徐 明
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 2 6 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 6 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科病理系専攻
学 位 論 文 名	腸炎ビブリオの産生する TDH 類似溶血毒 (TRH) の病原性への関与に 関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 本 田 武 司 (副査) 教 授 松 田 守 弘 教 授 品 川 日 出 夫

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

TRH (TDH 類似溶血毒) は主に神奈川現象陰性腸炎ビブリオが産生する溶血毒である。この TRH は神奈川現象陽性株が産生する TDH (耐熱性溶血毒) とタンパク構造が類似しており、また、TDH と同様溶血活性の他にウサギ腸管液体貯留活性をはじめとする種々の生物活性を有する。腸炎ビブリオ病原性 (下痢原性) は TDH の構造遺伝子 (*tdh*) を欠失させることにより失われたことから、TDH の病原性への関与を強く示唆した報告があるが、TRH においてはこのような研究がなされていない。本研究では TRH 産生性の腸炎ビブリオから *trh* に欠失を持つ変異株を作製し、腸炎ビブリオの病原性における TRH の関与について解析した。

【方法ならびに成績】

TRH 産生性神奈川現象陰性腸炎ビブリオ TH3996 株の全 DNA より TRH 構造遺伝子 (*trh*) を含む 1.8kb 断片をクローン化した。*trh* の開始コドンから中央部までの約 300bp の *Vsp* I 断片を欠失させた部分欠失 *trh* を含む 1.5kb の断片を、特定の菌体内でのみ増殖できるプラスミドベクター pKY704 にサブクローン化 (pMX5) し、接合により intact な *trh* を持つ腸炎ビブリオ TH 3996 に導入し、染色体に相同組換えによって組込んだ。この株を継代培養し野生型 *trh* が欠失を持つ *trh* に置き換わった変異株 (Vp-MX02) を得た。

得られた Vp-MX02 は試験管内での増殖では親株と差が認められず、*trh* の欠失は菌の増殖に影響を与えないことが明らかになった。また、ELISA などの方法を用いて assay した結果、Vp-MX02 菌体及び培養上清中には抗 TRH 抗体に反応する産物は認められなかった。培養上清及び生菌の溶血活性を調べたところ、Vp-MX02 は溶血活性を示さず、このことから TH3996 株が示す溶血活性は TRH によるものであることも明らかになった。

結紮したウサギ小腸内に 10^8 cfu の生菌を投与した結果、変異株 Vp-MX02 は親株の約 2/3 と低下はしているものの液体貯留活性を示した。また、貯留液中の腸炎ビブリオの生菌数を測定したところ、両者の菌数に差はなく、ウサギ腸管内で変異株は親株と変わらずに生存増殖していた。

【総括】

以上の結果より、本研究で作製した *trh* 遺伝子に欠失のある腸炎ビブリオ変異株 Vp-MX02 は溶血活性は失われているが、腸管毒性については親株に比べ低下はしているものの完全には消失しないことが明らかになった。Vp-MX02 菌体中や培養上清中には抗 TRH 抗体に反応する産物は認められなかったことから、TRH 産生性腸炎ビブリオの腸

管毒活性については TRH 以外の他の病原因子の関与が示唆される。ただし、Vp-MX02 の液体貯留活性は野生株に比べて有意に低下しているので、TRH が唯一の原因物質ではないものの TH3996 株の腸管液体貯留活性に TRH も何らかの形で関わりを有しているものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

腸炎ビブリオによる胃腸炎は本菌の産生する耐熱性溶血毒 (TDH) が関与していると考えられている。また最近、TDH 以外に TDH 類似毒素 (TRH) を産生する腸炎ビブリオが胃腸炎を引き起こす可能性も言われている。本研究は TDH と TRH の類似性と相違性を明らかにすると共に TRH 産生性の腸炎ビブリオ (TH3996) 染色体から TRH 構造遺伝子を欠失させた isogenic な変異株 (Vp-MX02) を作製し、腸炎ビブリオの病原性における TRH の関与について解析した。TH3996 株が示す溶血活性は Vp-MX02 株では完全に消失した。しかしながら、Vp-MX02 株の腸管毒性は TH3996 株に比べ、減弱はするものの、明かに保持されていた。このことは TRH 産生性腸炎ビブリオの腸管毒性に TRH は何らかの形で関わりを有しているが、TRH 以外の病原因子も存在することを示す。以上の知見は、患者由来腸炎ビブリオ、特に TRH 産生株の病原性を理解する上で極めて重要な知見であり、学位論文に値するものである。