



| | |
|--------------|---|
| Title | Regulation of virulence by butyrate sensing in enterohemorrhagic Escherichia coli |
| Author(s) | 中西, 典子 |
| Citation | 大阪大学, 2009, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/49845 |
| 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 | 中 西 典 子 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) |
| 学位記番号 | 第 2 2 8 0 2 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 21 年 3 月 24 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科予防環境医学専攻 |
| 学位論文名 | Regulation of virulence by butyrate sensing in enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (腸管出血性大腸菌における酪酸応答による病原性遺伝子の発現制御) |
| 論文審査委員 | (主査) 教 授 杉 本 央 (副査) 教 授 本 田 武 司 教 授 飯 田 哲 也 |

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

腸管出血性大腸菌0157:H7 (以降0157) はヒトに出血性大腸炎、溶血性尿毒症症候群などを引き起こす。0157の腸管上皮への付着および細胞障害には、LEE病原性遺伝子群が重要な働きを担っている。0157の病原性は環境因子によって厳密に制御されていることが知られている。0157の感染部位である腸内環境は嫌気状態であり、腸内フローラ(腸内細菌叢)を形成する腸内常在菌の代謝反応は腸内環境に大きな影響を与えていると考えられる。そこで、腸内常在菌の代謝産物である短鎖脂肪酸による0157の病原性発現制御を検討した。

[方法ならびに成績]

酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩を3:1:1の割合で短鎖脂肪酸を添加した培地でLEE遺伝子群の発現に対する影響を調べたところ、6.25mMから25mMの混合短鎖脂肪酸濃度でLEE遺伝子群の発現が上昇した。そこで、酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩それぞれの単独の効果を調べたところ、酪酸塩のみがLEE遺伝子群の発現を上昇させることがわかった。また、実際に酪酸塩の培地への添加により0157の腸管上皮細胞Caco-2への付着能も増大した。このことから、腸管内における0157の病原性は腸内常在菌の代謝産物である酪酸に活性化されることが示唆された。

LEE遺伝子群は、0157特異的転写活性化因子であるLerに、さらに*ler*遺伝子は*pchA*遺伝子に2段階に制御されていることがわかっている。そこで、これらの遺伝子欠損株において酪酸塩の効果を調べたところ、酪酸塩によるLEE遺伝子群の発現活性化は見られず、酪酸塩による発現活性化には*pchA*遺伝子と*ler*遺伝子が必須であることが明らかとなった。また、これらの遺伝子は酪酸塩により転写活性化された。一方、非病原性大腸菌K12株に*pchA*遺伝子を導入したところ、酪酸塩に応答して*ler*プロモーター活性が上昇した。このことから、酪酸塩は0157とK12株に共通の分子機構により感知され、0157の*pchA*遺伝子及び*ler*遺伝子の発現調節を介してLEE遺伝子群の発現を上昇させると考えられた。

酪酸塩によるLEE遺伝子発現誘導に関与する0157とK12株に共通の分子をDNAマイクロアレイ解析から検索した結果、Lrp (leucine-responsive regulatory protein)が応答に必須であることが明らかになった。Lrpはロイシンに応答するglobal regulatorとして知られており、DNA結合ドメインとligand(leucine)結合ドメインからなる。そこで、Lrpの構成的活性化変異体(Lrp^{V76A})およびロイシン非感受性変異体(Lrp^{M124R})のLrpを発現するプラスミドを0157Δ*lrp*変異体に導入し、酪酸塩に対する応答を調べた。その結果、どちらの変異体とも酪酸塩に対する応答は見られなかったが、発現量は異なっていた。Lrp^{V76A}を導入した株は、酪酸塩がなくてもLEE遺伝子群の発現量が上昇した。一方で、

Lrp^{M124R}を導入した株は、酪酸塩があってもLEE遺伝子群の発現量は非常に低かった。以上の結果は、Lrpのligand(leucine)結合ドメインは酪酸塩の応答に必須であり、Lrpが酪酸塩のセンサーとして働いていることを強く示唆している。

[総 括]

以上の結果より、酪酸は、短鎖脂肪酸の濃度が20~40mMである遠位回腸において腸管上皮細胞への付着に必要な遺伝子の発現を誘導するシグナル分子として作用しており、遠位回腸が0157の初期感染部位である可能性が示唆された。さらに、LrpはLEE遺伝子を制御するPchA-Lerネットワークに酪酸による刺激を伝達するセンサーとして働いていることが明らかになった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者は、腸内常在菌の代謝産物である短鎖脂肪酸のうち酪酸が腸管出血性大腸菌(以下、0157と表す)のLEE病原性遺伝子群の発現および細胞への感染を促進することを見出した。さらに、分子レベルでの解析を進めた結果、酪酸は0157と非病原性大腸菌に共通のタンパク質分子により感知され、0157特異的転写調節因子を介してLEE病原性遺伝子の発現を上昇させることを明らかにした。

申請者の論文は、環境による病原性発現の制御という独自の着眼点から、腸内フローラの産生する因子のなかで腸管出血性大腸菌の病原性に影響を与えるものを検索し、その作用機序を解明した。この成果は今後、感染予防に向けた腸内環境作りの具体的な指針になるものであり、非常にインパクトのある論文である。よって、申請者中西典子は、博士(医学)の学位授与に値する。