

Title	Contribution of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> Virulence Factors to Cytotoxicity, Enterotoxigenicity and Lethality in Mice
Author(s)	日吉, 大貴
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/54202">https://hdl.handle.net/11094/54202</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	日吉大貴
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第23616号
学位授与年月日	平成22年3月23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	Contribution of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> Virulence Factors to Cytotoxicity, Enterotoxicity, and Lethality in Mice (腸炎ビブリオの病原因子の細胞傷害性、下痢原性およびマウス致死活性における役割)
論文審査委員	(主査) 教授 飯田 哲也 (副査) 教授 堀口 安彦 教授 杉本 央

## 論文内容の要旨

## 〔 目 的 〕

腸炎ビブリオは汽水域に生息するグラム陰性の食中毒原因菌である。本菌による主な症状は腹痛や下痢であるが、ときに創傷感染や敗血症を引き起こすことも知られている。本菌の病原因子として耐熱性溶血毒 (TDH) と2つのⅢ型分泌装置 (T3SS1、T3SS2) が挙げられる。TDHは溶血活性、細胞傷害性、下痢原性や心臓毒性、T3SS1は細胞傷害性、T3SS2は下痢原性や細胞傷害性に重要であることが報告された。しかし、これらの病原因子が本菌の病原性にどの程度関与しているか明らかではなかった。本研究では、それぞれの病原因子の欠損株を作成し、野生株と欠損株のHeLa、Caco-2およびRAW264細胞への細胞傷害性、ウサギ腸管ループ試験による下痢原性、腹腔内接種によるマウス致死活性を評価した。さらに、T3SS2依存的な下痢原性に重要なエフェクターの同定を試みた。

## 〔 方法ならびに成績 〕

HeLa、Caco-2およびRAW264細胞への細胞傷害性をlactate dehydrogenase (LDH) release assayで評価したところ、T3SS1は全ての細胞株に対する強い細胞傷害性を示したが、T3SS2およびTDHは、それぞれCaco-2細胞とRAW264細胞にしか示さなかった。ウサギ腸管ループ試験では、TDHやT3SS1を保持していてもT3SS2の欠損のみで下痢原性が非接種と同程度にまで低下した。マウス腹腔内接種試験により、T3SS1およびTDHが腸炎ビブリオによるマウス致死活性に重要であることが示された。さらに、T3SS2の下痢原性に関わるエフェクターを探した結果、T3SS2の新規エフェクターVopEが同定された。VopE欠損株の下痢原性は、ウサギ腸管ループ試験においてT3SS2装置欠損株と同程度にまで低下した。また、ウサギ腸管ループ試験後に採取した腸管切片の病理組織学的観察より、T3SS2依存的な下痢原性は、粘膜固有層や粘膜下層への好中球の浸潤、粘膜上皮の脱落や出血などを伴う深刻な炎症反応により引き起こされ、VopEはその激しい炎症反応に関与していることが示唆された。また近年、コレラ毒素非産生性コレラ菌であるnon-01/non-0139 *V. cholerae*も腸炎ビブリオのT3SS2に類似したT3SSを持つことが報告されたため、その欠損株を作成し、ウサギ腸管ループ試験で評価したところ、non-01/non-0139 *V. cholerae*のT3SSおよびVopEホモログはコレラ菌の下痢原性に重要であることが明らかとなった。

## 〔 総 括 〕

細胞傷害性試験、ウサギ腸管ループ試験およびマウス致死活性試験の結果より、腸炎ビブリオの病原性においてTDH、

T3SS1およびT3SS2は、それぞれ異なる役割を演じている可能性が示唆された。また、新規エフェクターVopEがT3SS2依存的な下痢原性に重要であることが明らかになったことは、腸炎ビブリオの下痢誘発機構の解明に近づいたものであると考える。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、食中毒原因菌である腸炎ビブリオの主要な病原因子である耐熱性溶血毒 (TDH) と2つのⅢ型分泌装置 (T3SS1、T3SS2) の、腸炎ビブリオによる3種類の細胞株に対する細胞毒性、下痢原性および腹腔内接種によるマウス致死活性における貢献度を評価したものである。その結果、T3SS1は用いた全ての細胞株に対する強い細胞傷害性を示すが、T3SS2およびTDHは一部の細胞にしか示さないこと、ウサギ腸管ループ試験でTDHやT3SS1を保持していてもT3SS2欠損のみで下痢原性が低下すること、マウス腹腔内接種によりT3SS1およびTDHがマウス致死活性に重要であることを示した。これらの結果は、TDH、T3SS1およびT3SS2が、腸炎ビブリオの病原性発現過程において、それぞれ異なる役割を演じている可能性を示したものである。本研究は腸炎ビブリオの各病原因子の位置づけを明確にしたものであり、学位の授与に値すると考えられる。