The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Bile Acid-Induced Virulence Gene Expression of Vibrio parahaemolyticus Reveals a Novel Therapeutic Potential for Bile Acid Sequestrants
Author(s)	後藤, 和義
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58101
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

【52】

氏　　名	後　藤　和　義（ご とう かず よし）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２４３７４　号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学　位　論　文　名	Bile Acid-Induced Virulence Gene Expression of *Vibrio parahaemolyticus* Reveals a Novel Therapeutic Potential for Bile Acid Sequestrants （腸炎ビブリオの下痢発生における胆汁酸の役割と胆汁酸吸着剤の新規治療法としての可能性）
論　文　審　査　委　員	（主査） 特任教授　飯田　哲也 （副査） 教　授　杉本　　央　　教　授　堀口　安彦

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

腸炎ビブリオ（*Vibrio parahaemolyticus*）は我が国における主要な食中毒の原因菌である。汚染された魚介類を経口摂取することにより感染し、腹痛、下痢、嘔吐といった急性胃腸炎を引き起こす。近年では南米、北米地域でアウトブレイクが発生しており、日本のみならず世界的に見ても問題となっている感染症である。

本菌は大小 2 つの環状染色体を有し、小染色体上にコードされる 3 型分泌装置遺伝子群（T3SS2）は、臨床分離株に特異的に保存されていること、ウサギ腸管結紮ループ試験において T3SS2 が本菌感染によって誘導される下痢原性に必須であることから、T3SS2 が本菌の病原性に深く関与すると考えられている。経口摂取された腸炎ビブリオが病態形成器官であるヒト腸管で下痢を誘導するには T3SS2 遺伝子群が腸管内で効率的に発現する必要があると考えられるが、T3SS2 遺伝子群の発現を誘導する環境因子や宿主因子については全く明らかとされていない。そこで本研究では T3SS2 遺伝子群の遺伝子発現誘導因子の同定を試みた。

〔　方法ならびに成績　〕

まず、環境因子（温度および浸透圧）が T3SS2 遺伝子群の発現に与える影響について検討した。T3SS2 関連タンパク質の発現は、予想通りヒトの体温に近い 37-42°C で誘導された。一方、浸透圧に関してはヒト腸管管腔の浸透圧である 0.3 M NaCl よりも高い浸透圧においてむしろ抑制された。このことから宿主の腸管内で T3SS2 の発現が効率的に誘導されるには、腸管の高浸透圧を克服して発現誘導する宿主因子が必要であると予測された。

そこで腸管に存在する様々な因子で発現誘導を検討した結果、ヒト腸管に豊富に存在する胆汁が 0.3 M NaCl 以上の浸透圧条件下においても T3SS2 関連タンパク質の発現を強力に誘導することを見いだした。DNA マイクロアレイによる全遺伝子発現解析の結果、胆汁は T3SS2 遺伝子群がコードされる pathogenicity island (Vp-PAI) 領域の遺伝子群を特異的に発現誘導することが明らかとなった。さらに T3SS2 関連遺伝子群の発現に必須の転写調節因子である VtrA と VtrB の遺伝子破壊株では胆汁によるこれらの遺伝子群の発現誘導は全く認められなかったこと、胆汁刺激により、VtrB 遺伝子の転写活性が VtrA タンパク質依存的に誘導されたことから、胆汁刺激は VtrA を介して VtrB 遺伝子の転写活性を誘導していることが示唆された。

胆汁は無機、有機化合物の混合物であることから、次に胆汁中の T3SS2 遺伝子群発現誘導因子の同定を試みた。胆汁の VtrB 遺伝子発現誘導活性は、胆汁酸吸着剤であるコレスチラミン処理によって完全に消失したこと、消失した誘導活性は胆汁酸の添加で回復したこと、ある種の胆汁酸は単独で誘導活性を持つことから、胆汁中の胆汁酸が発現誘導活性物質であること明らかとなった。

胆汁酸による T3SS2 遺伝子群の発現誘導が、腸炎ビブリオにより誘導される下痢発症に寄与しているかウサギ腸管結紮ループ試験で検討した。その結果、ウサギ腸管内の内在性胆汁酸をコレスチラミンで吸着除去することにより腸炎ビブリオ感染によって誘導される液体貯留が有意に減少した。低下した液体貯留活性は胆汁酸添加により回復した。これらにより胆汁中の胆汁酸は生体内における T3SS2 遺伝子群発現誘導宿主因子の一つであり、腸炎ビブリオの下痢発症機構において重要であると考えられた。

〔　総　　括　〕

経口感染した腸炎ビブリオが、病態形成器官であるヒト腸管に到達したことを胆汁酸を感知することにより認識し、T3SS2 遺伝子群の発現転写調節因子である VtrA と VtrB を介して T3SS2 遺伝子群の発現を誘導し、その結果、効率的に宿主に下痢を誘導するという巧妙な病原性発揮機構が本研究において初めて明らかとなった。さらに、コレスチラミンのといったヒトに投与可能な胆汁酸吸着剤が、腸炎ビブリオによる下痢発症を制御できる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

我が国の主要な食中毒原因菌である腸炎ビブリオの主たる病原性である下痢誘導活性には、本菌が保有する3型分泌装置（T3SS2）が必須である。したがって本菌の腸管における病原性を解明する上で、T3SS2遺伝子群の遺伝子発現に関する理解が重要であるが、T3SS2遺伝子群の宿主（ヒト）由来発現誘導因子については不明な点が多かった。

申請者は、腸管内に存在するT3SS2遺伝子群の発現誘導因子として胆汁酸を見いだした。さらに、胆汁酸吸着剤を用いることで腸炎ビブリオによるウサギ腸管内液体貯留活性に胆汁酸が寄与していることを明らかにした。これらのことから、胆汁酸が*in vitro*におけるT3SS2遺伝子群の発現のみならず、腸炎ビブリオ食中毒の主症状である下痢に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

本研究は、細菌における病原遺伝子の発現機構の解明にとどまらず、これまでの抗菌薬による治療とは異なる遺伝子発現を標的とした新たな感染症治療法の可能性を示唆したという点で優れており、博士（医学）の学位授与に値する。