

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2010

課題番号：19590444

研究課題名 (和文) ブドウ球菌エンテロトキシンによる嘔吐機構の病態生理学的解析

研究課題名 (英文) Pathophysiological analysis of the emesis induced by Staphyrococcal enterotoxin

研究代表者 杉本 央 (SUGIMOTO NAKABA)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：20142317

研究代表者の専門分野：細菌学

科研費の分科・細目：基礎医学・細菌学 (含真菌学)

キーワード：感染免疫

### 1. 研究計画の概要

ブドウ球菌食中毒症は年間多数の患者が報告される重要な疾患であり、主症状が激しい嘔吐であるという特徴を持つにもかかわらず、その病態の解明はほとんど進んでいない。それはブドウ球菌エンテロトキシンが個々の細胞や生体分子の機能を傷害するためではなく、毒素が細胞間の相互作用に基づく組織・臓器機能を傷害するためであろうと考えられる。本研究の目的は、1) ブドウ球菌エンテロトキシンによって誘発される上部消化管異常運動の同定、2) 迷走神経活動のブドウ球菌エンテロトキシン催嘔吐作用における役割の解明、3) 消化管神経叢の活動におよぼすブドウ球菌エンテロトキシンの解析、4) 嘔吐運動とブドウ球菌エンテロトキシン作用をつなぐ伝達物質の同定、である。本研究の成果によって、セロトニン受容体とエンテロトキシン作用の関連が明らかにされるものと期待される。更に、本研究から得られる成果によって、食中毒に伴う激しい嘔吐に対する根本治療への道を拓くことが期待される。

### 2. 研究の進捗状況

1) のブドウ球菌エンテロトキシンによって誘発される上部消化管異常運動については、BALB/c マウスを用いて嘔吐にともなう特徴的上部消化管運動と投与エンテロトキシン用量との定量関係の解析を行った。摘出した胃-十二指腸標本について、吸引電極を用いて消化管運動に伴う電気活動を消化管表面から記録すると、十二指腸からは Cajal の間質細胞の活動による 0.8 Hz のゆっくりとした基礎波とその脱分極相に呼応したスパイクが記録された。ブドウ球菌エンテロトキシ

ン 1-10  $\mu\text{g}$  の投与によって、基礎波とスパイクともに振幅が低下し、2時間後にも回復しなかった。毒素投与による電気活動の振幅低下は毒素投与後 1 分程度で顕著になるが、用量依存性は観られなかった。更に、十二指腸内腔圧の上昇および高濃度グルコース投与に伴う十二指腸電気活動の抑制がブドウ球菌エンテロトキシンによって遷延することも見出した。

3) の消化管神経叢の活動に及ぼすブドウ球菌エンテロトキシンの解析については、主として BALB/c マウスを用いて、フィールド電気刺激に対する消化管の張力応答と投与エンテロトキシン用量との定量関係の解析を行った。フィールド電気刺激 (frequency: 10-500 Hz, duration: 0.5 msec, intensity: 10-40 volt, 10-100 trains) に対する小腸の張力応答は多相性を示し、全ての小腸領域において、刺激開始後約 1 秒後に peak を持つ早い収縮応答、続く短い弛緩の後刺激開始後約 2.5 秒後に peak を持つ第二の収縮応答が見られた。ブドウ球菌エンテロトキシン A (1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を組織液に添加すると第二の収縮応答の張力に著しい増大が認められた。この第二収縮応答は、NOS 阻害剤である L-NNA 処理によって増大し、reserpine によって抑制される成分であることから、モノアミン系の興奮性伝達物質によって惹起されているものと推察される結果を得た。

### 3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。

(理由)

研究目的に挙げた 4 項目のうち、1) および

3) についてそれぞれ指標となる現象を把握することができた。ただこれらの現象は定性的なものであり、定量化するには至っていないことから、2) の迷走神経の役割についてはいまだ明らかにするに至っていない。

#### 4. 今後の研究の推進方策

嘔吐反応は最近、中枢神経系でのパターンジェネレーター活動を基に生じているとの考えが提唱されている。そこで平成22年度においては中枢神経系におけるパターンジェネレーター回路の活動に対するエンテロトキシンの影響について解析する計画をすすめている。この研究によって、目的の2) である迷走神経の役割と4) のエンテロトキシン作用に関係する伝達物質が明らかになることが期待される。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7件)

1. N. Nakanishi, K. Tashiro, S. Kuhara, T. Hayashi, N. Sugimoto, and T. Tobe. 2009. Regulation of virulence by butyrate sensing in enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. *Microbiology*, 155, 2, 521-530. (査読有)
2. A. Miyahara, N. Nakanishi, T. Ooka, T. Hayashi, N. Sugimoto, and T. Tobe. 2009. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* effector EspL2 induces actin microfilament aggregation through annexin 2 activation. *Cellular Microbiology*, 11, 2, 337-350. (査読有)
3. Kazushi Nakano, Kazuko Nishinaka, Tatsuya Tanaka, Atsushi Ohshima, Nakaba Sugimoto, Yuji Isegawa. 2009. Detection and identification of U69 gene mutations encoded by ganciclovir-resistant human herpesvirus 6 using denaturing high-performance liquid chromatography. *Journal of Virological Methods*, 161, 223-230. (査読有)
4. Yuji Isegawa, Yoichi Miyamoto, Yoshinari Yasuda, Katsunori Semi, Kenji Tsujimura, Rikiro Fukunaga, Atsushi Ohshima, Yasuhiro Horiguchi, Yoshihiro Yoneda, and Nakaba Sugimoto. 2008. Characterization of the human herpesvirus 6 U69 gene product and identification of its nuclear localization signal. *Journal of Virology*, 82, No. 2, 710-718. (査読有)
5. Hiroki Ando, Hiroyuki Abe, Nakaba Sugimoto, and Toru Tobe. 2007. Maturation of functional type III secretion machinery by activation of anaerobic respiration in enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. *Microbiology*, 153, 464-473. (査読有)