

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月3日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22590393

研究課題名（和文） カテコールアミンによる病原性細菌の病原性変化

研究課題名（英文） Pathogenic changes of pathogenic bacteria by catecholamine

研究代表者 高橋 章 (TAKAHASHI AKIRA)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：90304047

研究成果の概要（和文）：

ノルエピネフリン(NE)をはじめとするカテコールアミンは感染症の増悪因子として知られている。本研究ではNEなどカテコールアミンによる病原性細菌の病原性活性化機構を明らかにし、感染症治療に役立てることを目的とした。

まず腸炎ビブリオ菌体表面におけるNEに対する受容体の存在を検索した。さらにNEにより発現調節制御をうける腸炎ビブリオ病原遺伝子の検索とその調節機構の解析をおこなった。

研究成果の概要（英文）：

Catecholamine, including norepinephrine (NE), has been known as precipitating factor in bacterial infection. The aim of this study was to clarify the pathogenic activation mechanism of pathogenic bacteria that cause the catecholamine, to help infectious diseases treatment.

In this study, we analyzed using *Vibrio parahaemolyticus* have been studying the applicant is consistently. *V. parahaemolyticus* infection can be thought of as an exemplary model of intestinal bacterial infections in general. We searched for the presence of receptors for NE on the surface in *V. parahaemolyticus*. And we analyzed of the regulatory mechanism and expression pathogenic gene by the NE further in *V. parahaemolyticus*.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・細菌学（含真菌学）

キーワード：腸炎ビブリオ、カテコールアミン

1. 研究開始当初の背景

カテコールアミンは腸管上皮より多量に産生され、腸管の様々な機能を調節することが知られている。また、NEは病原性大腸菌などの腸管病原細菌の病原性を高めることが報告されている。申請者は日本における細菌性食中毒の重要な原因菌である腸炎ビブリオを用いて、腸炎ビブリオの主要な病原性である、細胞毒性効果と腸管毒性効果を有意に上昇させることを見出している。しかし、どのような機構によりNEが腸炎ビブリオの病原性を亢進するのかは不明であり、詳細な解析を行うことが必要であると考えられる。また近年のカテコールアミンの細菌内受容体が病原性大腸菌で報告されているが、病原性活性化機構との関係は明確ではなく、他の細菌に保存されているのかも不明でありこれから知見を蓄えていく必要がある。

2. 研究の目的

ノルエピネフリン (NE) をはじめとするカテコールアミンは細菌感染症の増悪因子であることが知られている。細菌感染症罹患時にはNEが多量に体内に分泌されることが知られており病状がさらに増悪することが指摘されている。しかしNEによる感染症増悪機構は明確ではない。申請者はすでにNEが腸管感染症を引き起こす腸炎ビブリオの病原性を亢進させることを見出している。そこで本研究ではNEなどカテコールアミンによる病原性細菌の病原性活性化機構を明らかにし、その阻害方法を検討することにより感染症治療に役立てることを目的とする。

本研究では、申請者が一貫して研究してきた腸炎ビブリオを用いて解析を行う。腸炎ビブリオ感染症は一般の腸管細菌感染症の代表的

モデルとも考えることができる。さらに本研究の結果は腸管内細菌感染症だけにとどまらず、敗血症など全身性の細菌感染症により体内でのカテコールアミン等の分泌が多い時の治療にも応用することができる。またカテコールアミンは昇圧剤として広く使用されており、カテコールアミンと細菌感染症の病態との関係を明らかとすることは、治療方針にも影響を与える重要な問題であると考えられる。

日本において主要な食中毒原因菌である腸炎ビブリオに関しての報告はなく、日本国内で本申請内容に類似した研究はあまり行われていない。また本申請研究のように治療法にまで踏み込んだ研究はほとんど行われておらず、今後期待される研究であると考えられる。

またNEの腸炎ビブリオ菌体内における伝達機構を解析することにより、病原細菌と宿主とのコミュニケーションシステムの存在が明らかとなる。これまでの研究では病原体と感染宿主とのコミュニケーションは感染防御機構である免疫システムを介したものが唯一知られていたが、本解析によりそれとは全く異なった新規のコミュニケーションシステムの存在が明らかになるものと期待できる。

さらにNEにより制御される遺伝子（特に病原性に関与する遺伝子）を同定することにより、腸炎ビブリオの病原性を制御する新たな方法の構築につながると考えられる。

カテコールアミンの細菌（特に病原細菌）に対する効果の解析では、これまでのところ主に細菌の増殖に対する影響について解析したものであり、他についてはほとんど詳細な解析は行われておらず、今後の発展が期待できる研究領域である。また、病原細菌と宿主の双方の変化について解析を行うことは、

当該研究領域のこれまでの報告にはなく、本研究の独創的な点である。したがって、本研究を進めることによって当該研究領域に対して多くの新たな知見を示すことが可能である。

3. 研究の方法

まずNEを含むカテコラミンによる腸炎ビブリオの病原性の活性化機構を明らかにし、その阻害方法を検討することにより感染症治療に役立てることを目的として、以下の点について解析を行う。

(1) カテコラミンによる腸炎ビブリオの病原性活性化機構の解析

a. カテコラミンによる腸炎ビブリオ菌体内、菌体間におけるシグナル伝達機構の解析

⇒ 腸炎ビブリオ菌のNE受容体の検索

菌体内情報伝達機構を解明

b. カテコラミンにより制御を受ける病原遺伝子の同定とその制御機構の解析

⇒ 腸炎ビブリオの病原性に関与することが示唆される遺伝子の発現解析

遺伝子発現制御機構の解析

c. カテコラミンによる細胞毒性効果と腸管毒性効果の影響

⇒ カテコラミンによる細胞毒性効果と

腸管毒性効果の変化を明確にし、実際にどの病原性因子が影響を受けるのか解明する。

(2) カテコラミンによる宿主側因子と腸炎ビブリオ病原性に対する効果の解析

a. 腸炎ビブリオ感染時における腸管上皮アドレナリン受容体との関連性の解析

⇒ カテコラミンが宿主のアドレナリン受容体を活性化することが知られている。

アドレナリン受容体が活性化することにより腸炎ビブリオに対する宿主の感受性が変化することが想定される。宿主の感受性の変

化について細胞毒性効果と腸管毒性効果の変化を中心に解析を行う。

(3) カテコラミンによる腸炎ビブリオの病原性亢進作用機構の阻害法検討

病原性亢進作用機構の阻害物質や阻害剤の検索を行い、感染症治療に結びつける。特に細菌側と宿主側の両方に対しての作用から検索を行う。

4. 研究成果

まず腸炎ビブリオ菌体表面におけるNEに対する受容体の存在を検索した。さらにNEにより発現調節制御をうける腸炎ビブリオ病原遺伝子の検索とその調節機構の解析をおこなった。本研究では、申請者が一貫して研究してきた腸炎ビブリオを用いて解析を行った。腸炎ビブリオ感染症は一般の腸管細菌感染症の代表的モデルとも考えることができる。さらに本研究の結果は腸管内細菌感染症だけにとどまらず、敗血症など全身性の細菌感染症により体内でのカテコールアミン等の分泌が多い時の治療にも応用することができる。またカテコールアミンは昇圧剤として広く使用されており、カテコールアミンと細菌感染症の病態との関係を明らかにすることは、治療方針にも影響を与える重要な問題であると考えられた。

5. 主な発表論文等

(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6件)

- ① Takaaki Shimohata, Kazuaki Mawatari, Hitomi Iba, Masakazu Hamano, Sachie Negoro, Shoko Asada, Mutsumi Aihara, Akiko Hirata, Zehong Su and Akira Takahashi, VopB1 and VopD1 are essential for translocation of type III

secretion system 1 effectors of *Vibrio parahaemolyticus*. *Canadian Journal of Microbiology*, 2012, 58(8): 1002-1007.

- ② Shimohata T., Nakano M., Lian X., Shigeyama T., Iba H., Hamamoto A., Yoshida M., Harada N., Yamato M., Mawatari K., Tamaki T., Nakaya Y., and Takahashi A. *Vbrio parahaemolyticus* infection induces modulation of IL-8 secretion through dual pathway via VP1680. *Journal of Infectious Diseases*. 2011. 203; 537-544.

[学会発表] (計3件)

- ① 下畑 隆明, 射場 仁美, 根来 幸恵, 浅田 翔子, 栗飯原 睦美, 馬渡 一諭, 高橋 章、VP1680 induces IL-8 secretion in *Vibrio parahaemolyticus* infection, 第85回日本細菌学会総会 2012年3月28日、長崎ブリックホール (長崎県)
- ② 下畑 隆明, 中野 政之, 馬渡 一諭, 大和 正幸, 高橋 章、腸炎ビブリオエフェクタータンパク質 VP1680 は IL-8 の分泌を誘発する, 第63回日本細菌学会・中国・四国支部総会 2010年10月16日、松山大学 (愛媛県)
- ③ 馬渡 一諭, 米田 由美, 本田 真奈美, 射場 仁美, 栗飯原 睦美、*Vibrio parahaemolyticus* のチロシンキナーゼ VPA1604 は高分子量型莢膜多糖類 (HMW-CPS) 形成を調節する, 第63回日本細菌学会・中国・四国支部総会 2010年10月16日、松山大学 (愛媛県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 章 (TAKAHASHI AKIRA)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・教授
研究者番号 : 90304047

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者
()

研究者番号 :

