

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460531

研究課題名(和文) 腸炎ビブリオのT3SS2を介した下痢発症機構の解析

研究課題名(英文) Functional analysis of *Vibrio parahaemolyticus* T3SS2

研究代表者

児玉 年央 (KODAMA, TOSHIO)

大阪大学・微生物病研究所・准教授

研究者番号：20346133

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では食中毒原因菌である腸炎ビブリオの下痢誘導機構を解明することを目的とした。ウサギ腸管結紮ループ試験で下痢原性を評価したところ、本菌は3型分泌装置2(T3SS2)を中心としてエフェクター(VopV)の経路と毒素(TDH)の互いに独立した2種類の下痢誘導経路が存在することが明らかとなった。T3SS2-TDH依存的な下痢誘導機構にはTDHの溶血活性が必要であった。この経路に寄与するエフェクターの同定を試みたところ、新たに1種類の新規エフェクターの同定に成功した。現在、このエフェクターがT3SS2-TDH依存的な下痢誘導機構に寄与するかどうかを検討している。

研究成果の概要(英文)：In this study, I aimed to determine a pathogenic mechanism of food-borne pathogen, *Vibrio parahaemolyticus*.

I found that *V. parahaemolyticus* has two distinct mechanisms of diarrhea, T3SS2-effector (VopV) and T3SS2-toxin (TDH), assessed by rabbit ileal loop model. Hemolytic activity of TDH was necessary for T3SS2-TDH mediated enterotoxicity. All T3SS2 effectors that have already identified did not involve in this enterotoxicity. Therefore, we tried to identify new effector by proteomic approach and have gotten one candidate protein. The involvement of this effector candidate protein in T3SS2-TDH mediated enterotoxicity is currently under investigation.

研究分野：細菌学

キーワード：腸炎ビブリオ

子にはアミノ酸配列上、機能を推測できるようなモチーフはなく、機能未知の遺伝子であった。

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 8 件)

1. Chonsin K, Matsuda S, Theethakaew C, Kodama T, Junjhon J, Suzuki Y, Suthienkul O, Iida T. Genetic diversity of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from farmed Pacific white shrimp and ambient pond water affected by acute hepatopancreatic necrosis disease outbreak in Thailand. (2015) *FEMS Microbiol. Lett.* 363(2):fnn222. DOI:10.1093/femsle/fnn222. 査読有
2. Kodama T, Hiyoshi H, Okada R, Matsuda S, Gotoh K, Iida T. Regulation of *Vibrio parahaemolyticus* T3SS2 gene expression and function of T3SS2 effectors that modulate actin cytoskeleton. (2015) *Cell Microbiol.* 17(2):183-90. DOI:10.1111/cmi.12252. 査読有
3. Nishimura M, Fujii T, Hiyoshi H, Makino F, Inoue H, Motooka D, Kodama T, Ohkubo T, Kobayashi Y, Nakamura S, Namba K, Iida T. A repeat unit of *Vibrio* diarrheal T3S effector subverts cytoskeletal actin homeostasis via binding to interstrand region of actin filaments. (2015) *Sci Rep.* 5:10870. DOI:10.1038/srep10870. 査読有
4. Hiyoshi H, Okada R, Matsuda S, Gotoh K, Akeda Y, Iida T, Kodama T*. Interaction between the Type III effector VopO and GEF-H1 activates the RhoA-ROCK pathway. (2015) *PLoS Pathog.* 4;11(3):e1004694. DOI:10.1371/journal.ppat.1004694. 査読有
5. Yonogi S, Matsuda S, Kawai T, Yoda T, Harada T, Kumeda Y, Gotoh K, Hiyoshi H, Nakamura S, Kodama T, Iida T. BEC, a novel enterotoxin of *Clostridium perfringens* found in human clinical isolates from acute gastroenteritis outbreaks. (2014) *Infect Immun.* 82(6):2390-2399. DOI:10.1128/IAI.01759-14. 査読有
6. Okada R, Zhou X, Hiyoshi H, Matsuda S, Chen X, Akeda Y, Kashimoto T, Davis BM, Iida T, Waldor MK, and Kodama T*. The *Vibrio parahaemolyticus* effector VopC mediates Cdc42 dependent invasion of cultured cells but is not required for pathogenicity in an animal model of infection. (2014) *Cell Microbiol.* 16(6):938-947. DOI:10.1111/cmi.12252. 査読有
7. Matsuo T, Nakamura K, Kodama T, Mikami T, Hiyoshi H, Tsuchiya T, Ogawa W, Kuroda T. Characterization of all RND-type multidrug efflux transporters in *Vibrio parahaemolyticus*. (2013) *Microbiologyopen.* 2(5): 725-742. DOI:10.1002/mbo3.100. 査読有

8. Morita M, Yamamoto S, Hiyoshi H, Kodama T, Okura M, Arakawa E, Alam M, Ohnishi M, Izumiya H, Watanabe H. Horizontal gene transfer of a genetic island encoding a type III secretion system distributed in *Vibrio cholerae*. (2013) *Microbiol Immunol.* 57(5): 334-339. DOI:10.1111/1348-0421.12039. 査読有

〔学会発表〕(計 15 件)

1. 児玉年央 他、Actin cytoskeleton manipulating effectors of *Vibrio parahaemolyticus*、日本細菌学会総会、2016年3月23日、大阪国際交流センター(大阪)
2. 日吉大貴、児玉年央、飯田哲也、Interaction of *Vibrio parahaemolyticus* diarrheal T3SS effector VopV with actin filaments. 日本細菌学会総会、2016年3月23日、大阪国際交流センター(大阪)
3. Kodama T. et al. Interaction between the type III effector VopO and GEF-H1 activates the RhoA-ROCK pathway. US-Japan Cooperative Medical Science Program, 2016/1/14, North Bethesda, Maryland, USA.
4. Kodama T, et al., Identification and characterization of stress fiber inducing effector protein of *Vibrio parahaemolyticus* T3SS2. FEMS2015, 2015/6/8, Maastricht, The Netherlands.
5. 児玉年央 他、腸炎ビブリオ T3SS2 エフェクター VopO は RhoA-ROCK 経路を活性化する、第 88 回日本細菌学会総会、2015年3月27日、長良川国際会議場(岐阜県岐阜市)
6. 余野木伸也、児玉年央 他、ウェルシュ菌新規エンテロトキシン BEC (*Binary enterotoxin of Clostridium perfringens*) の同定、第 67 回日本細菌学会関西支部総会、2014年11月22日、兵庫医科大学(兵庫県西宮市)
7. 児玉年央 他、T3SS2 を介したアクチンストレスファイバー形成機構の解析、第 48 回腸炎ビブリオシンポジウム、2014年11月13日、金森ホール(北海道函館)
8. Kodama T., The *Vibrio parahaemolyticus* effector VopC mediates Cdc42 dependent invasion of cultured cells but is not required for pathogenicity in an animal model of infection., ASM114th General Meeting, 2014/5/18, Boston Convention and Exhibition Center, Boston, USA.
9. Hiyoshi H, Kodama T, VopV, an F-actin-binding Type III effector, is required for *Vibrio parahaemolyticus*-induced enterotoxicity. *Vibrio* 2014,

- 2014/4/1, Edinburgh, UK.
10. Kodama T. Functional analysis of *Vibrio parahaemolyticus* T3SS2 effectors. 日本細菌学会総会、2014年3月36日、東京
 11. 岡田龍、児玉年央 他、腸炎ビブリオ T3SS2 エフェクター-VopC の機能解析、日本細菌学会総会、2014年3月36日、東京
 12. 岡田龍、児玉年央 他、腸炎ビブリオ T3SS2 エフェクター-VopC の細胞侵入およびストレスファイバー形成への関与、日本細菌学会総会関西支部総会、2013年11月16日、大阪
 13. 岡田龍、児玉年央 他、腸炎ビブリオ T3SS2 エフェクター-VopC の細胞侵入およびストレスファイバー形成への関与、腸炎ビブリオシンポジウム、2013年11月14日、広島
 14. Kodama T. et al., An novel F-actin-binding Type III secretion effector is required for *Vibrio parahaemolyticus*-induced enterotoxicity. FEMS 2013, 2013/6/22, Leipzig, Germany.
 15. Kashimoto T., Kodama T. et al., Relationship between localization on cellular membrane and cytotoxicity of *Vibrio parahaemolyticus*. FEMS 2013, 2013/6/22, Leipzig, Germany.

〔図書〕(計1件)

本田武司/監修 児玉年央/分担、腸炎ビブリオ 第集、2013、362(287-301)近代出版

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

http://www.biken.osaka-u.ac.jp/act/act_

iida.php

6. 研究組織

(1) 研究代表者

児玉 年央 (KODAMA Toshio)

大阪大学・微生物病研究所・准教授

研究者番号：20346133

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし