

組換え型毒素を用いた黄色ブドウ球菌epidermolytic toxin Aの作用機序に関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-06 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Inaoki, Makoto メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/14849

学位授与番号	医博甲第961号
学位授与年月日	平成2年9月30日
氏名	稲沖 真
学位論文題目	組換え型毒素を用いた黄色ブドウ球菌epidermolytic toxin Aの作用機序に関する研究
論文審査委員	主査 教授 廣根 孝 衛 副査 教授 中村 信 一 教授 福田 龍 二

内容の要旨および審査の結果の要旨

ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群では黄色ブドウ球菌 (SA) が産生するepidermolytic toxin A (ETA) により表皮内に裂隙形成が起こるが、従来染色体由来のETAとプラスミド由来のETBの分離が困難であったためETAの作用機序は不明でなかった。そこで本研究では、SAの染色体から分離したETA遺伝子により形質転換された大腸菌の細胞周辺腔からrETAを抽出・精製し、免疫拡散法により同定した。

なお、分離された約2.5kbpのDNA断片の塩基配列をチェインターミネーター法により決定した。次に、in vitroでrETAによる表皮内裂隙形成を観察後、プロテイナーゼ阻害剤、カルシウムキレート剤および細胞内カルシウム拮抗剤による阻害試験を行い、裂隙形成作用におけるプロテイナーゼとCa⁺⁺の関与の有無を検討した。成績は次のとおりである。(1)rETAは5,000 epidermolytic unit/mgの活性を示し、免疫拡散法では抗ETA血清に対して1本の沈降線を形成したが、抗ETB血清には反応を示さなかった。 α 溶血素活性は検出されなかった。(2)分離されたDNA断片上に840bpのETA遺伝子が存在したが、 α 溶血素遺伝子およびETB遺伝子の塩基配列は認められなかった。(3)in vitroで5 μ g/ml以上のrETAは表皮内裂隙形成を起こすことが確認された。(4)rETAの裂隙形成作用は、 α_2 -マクログロブリン、システインプロテイナーゼ阻害剤 (NEM, ロイペプチン, E-64), セリンプロテイナーゼ阻害剤 (PM SF), カルボキシルプロテイナーゼ阻害剤 (ペプスタチンA) により阻害されなかった。(5)同作用はカルシウムキレート剤 (EDTA, EGTA) および細胞内カルシウム拮抗剤 (TMB-8) により阻害された。培地へのCaCl₂追加によりこれらの薬剤による阻害は認められなくなった。得られたETA遺伝子の塩基配列から成熟ETAは242個のアミノ酸からなる26,946daltonの蛋白質と推定された。また阻害試験の結果から、ETAは細胞内Ca⁺⁺濃度の上昇を介して表皮内裂隙形成を起こすこと、その細胞内Ca⁺⁺濃度の上昇は細胞内Ca⁺⁺貯蔵部からのCa⁺⁺の放出およびCa⁺⁺の細胞内流入のいずれかまたは両者により起こり得ることが強く示唆された。

本研究は、SAの染色体から分離したETA遺伝子の構造を決定し、またrETAを用いてETAの作用機序に関する信頼しうる知見を提供したものであり、価値ある論文と評価された。