

氏名	李 涛
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬学
学位記授与番号	博甲第 4103 号
学位授与の日付	平成 22 年 3 月 25 日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第 5 条第 1 項該当)
学位論文の題目	Studies on the roles of <i>Vibrio mimicus</i> hemolysin in pathogenicity and a novel regulator to <i>V. mimicus</i> protease (ビブリオ・ミミカスの病原性に関する研究：溶血毒素の病原性への関与およびプロテアーゼの新奇調節因子)
論文審査委員	教授 三好 伸一 教授 土屋 友房 教授 岡本 敬の介 准教授 根岸 友恵

学位論文内容の要旨

V. mimicus is a gram-negative bacterium closely related to *V. cholerae*, while this species causes sporadic gastroenteritis and food poisoning in humans. Because *V. mimicus* is ubiquitous in fresh and brackish aquatic environments, infection is usually occurred after consumption of raw fish and/or shellfish contaminated with the bacterium.

My present work was aimed to investigate role of VMH in pathogenicity of *Vibrio mimicus* and a novel regulation system to VMP mediated by a LysR type regulator Vpr:

The living cells of clinical strains can induce steady accumulation of slightly bloody fluid into the ileal loop as well the same as purified VMH, and the specific anti-VMH antibody can neutralize such fluid accumulating activity. Expression of *vmhA* encoding VMH and production of active VMH was confirmed during *in vitro* multiplication under the mimic condition of the ileal loop. The *vmhA*-negative mutant derived from the strain CS-20 was constructed, and disruption of *vmhA* gene was found to cause no change of the profiles of extracellular and outer membrane proteins. The *vmhA* mutant showed significantly reduced fluid accumulating activity compared with the parent strain. The data supports the current opinion that VMH is a virulence determinant of *V. mimicus*.

Defection of *vpr* induces markedly increased VMP production compare with the parent strain. The molecular weight of Vpr is about 33 kDa, and Vpr showed homology with a variety of LysR-type transcriptional regulators. The N-terminal region of Vpr contained the typical helix-turn-helix motif, a common DNA-binding conserved domain found in bacterial. The *vpr* showed an autorepressive regulatory circuit. Bioinformatics Analysis indicates the repress effect of *vpr* to *vmp* may result from competition of Vpr with or blocking the binding of RNA polymerase.

論文審査結果の要旨

ビブリオ・ミミカスはコレラ菌と類似した細菌であり、胃腸炎や下痢症の起因菌である。また我が国では、食中毒原因菌に指定されている。この細菌は下痢毒としての活性を有する溶血毒素（VMH）分泌するが、この毒素の病原性への寄与は不明である。本論文では、ビブリオ・ミミカスの下痢原活性がVMHの特異抗体の投与により抑制されること、VMHの遺伝子を破壊すると菌の下痢原活性が減弱すること等を明らかにし、VMHが主要な毒素であることを証明した。

この細菌は金属プロテアーゼ（VMP）も分泌するが、この酵素は感染症の後期に産生され、腸管粘膜からの菌の脱離と体外への排出を促進する。VMP産生を正に調節する因子は見つかっているが、負に調節する因子は、これまでのところ報告されていない。本論文では負の調節因子を見つけるため、正の調節因子を破壊した株をランダムに変異させ、VMP産生が上昇した変異株を単離した。そして負の調節因子として、LysR型のレギュレーター（Vpr）を初めて同定した。さらには、Vprがオートレギュレーション作用を受け、感染症の初期にのみ機能することも明らかにした。

以上のように、本論文はビブリオ・ミミカス感染症の進行過程に関する新規知見を提供している。これらの知見は、本菌感染症に対する適切な対策手段の確立へと繋がるものであり、感染症制御のためには重要なものである。したがって、学位論文として相応しいものであると判定した。