

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	腸内細菌が産生する大腸がん新規リスク要因コリバクチンの発がん機序解明と予防法の確立				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	渡辺 賢二
	研究分担者	所属・職名	食品環境研究センター・特任教授	氏名	若林 敬二
		所属・職名	国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 ワクチン・アジュバント研究センター・センター長	氏名	國澤 純
		所属・職名	浜松医科大学 医学部・教授	氏名	梶村 春彦
	発表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	渡辺 賢二

講演題目	腸内細菌が産生する大腸がん新規リスク要因コリバクチンの発がん機序解明と予防法の確立
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>コリバクチン産生菌感染の高感度検出法の確立のため、コリバクチン産生菌に特異的なモノクローナル抗体の取得を目指した。まずは我々がヒトの大腸がん組織検体より分離、培養に成功し、既報のコリバクチン産生菌と比較して約30倍もの高産生量を示したコリバクチン産生菌株 (<i>E. coli</i>-50と命名、以下#50と表記) に対するモノクローナル抗体を作製した。得られた抗体を用いてスクリーニングを行い、#50に特異的で、高い反応性を持つ抗体を選別した。さらに、これらモノクローナル抗体のコリバクチン産生菌への特異性を様々な大腸菌株に適応することにより検証した。また、得られたモノクローナル抗体のアイソタイプ、CDR配列を決定した。エピトープ決定のためエピトープと推定される繊毛タンパク質の過剰発現株のウエスタンブロットティング、エピトープマッピングを行った。並行して繊毛タンパク質とコリバクチン産生性との関係などさらなる研究につながる#50の繊毛タンパク質のノックアウト株の作製を行った。</p> <p>得られたモノクローナル抗体S96-09を用いて#50および#Aの抽出物に対してウエスタンブロットティングを行った結果、#50の抽出物においてラダー状の特徴的なバンドが検出された。このバンドは、抗原の濃度依存性を示した。これにより、S96-09抗体は#50を検出することが確認された。またこれらバンドパターンは、尿路病原性を持つ大腸菌の繊毛タンパク質の特徴と類似していた (Garnett et al., 2012)。</p> <p>これらのことから、S96-09抗体の抗原は、繊毛タンパク質に関連することが推察された。コリバクチン遺伝子をノックアウトした菌株を除き、すべての非産生菌株でELISAは陰性であった。モノクローナル抗体S96-09は、すべてのコリバクチン産生菌を検出することは難しいが、コリバクチン産生菌のみを検出する精度は高いと考えられた。</p>