

# 同志社大学

## 2015年度 個人研究費研究経過・成果報告書

2016年 3月 31日提出

所属	職名	氏名
生命医科学部	助教	高橋 美帆
研究題目	志賀毒素の細胞内輸送を標的とした新規腸管出血性大腸菌感染症治療薬の創出	
研究成果の概要	<p><u>相乗的 Stx 毒性阻害機構の分子メカニズムの解明</u></p> <p>これまでに、Stx 1 a サブユニットのサイト 1 を標的とする MMA-tet と、サイト 2 を標的とする FRA-tet を同時にペロ細胞に添加すると、単独で使用した場合よりも、Stx1a 毒性阻害効果が相乗的に増強すること、このとき、Stx1a のゴルジ体への輸送が著しく遅延していることを見いだしている。また、Stx1a 刺激により活性化されるシグナル伝達分子のうち、MMA-tet は、ERK, JNK, Akt の活性化を濃度依存的に抑制するが、p38 の活性化には全く影響を及ぼさないことを明らかにしている。以上のことから、本研究では、相乗的 Stx1a 毒性阻害機構の分子メカニズムを解明することを目的とし、Stx1 により活性化されるシグナル伝達分子に注目して MMA-tet と FRA-tet を組み合わせた場合の各種シグナル伝達分子 (ERK, JNK, Akt, p38) の影響について検討を行った。</p> <p>ペロ細胞を Stx1a で刺激し、37 度 30 分培養すると、各種シグナル伝達分子のリン酸化体が検出される (ウエスタンブロッティング法により検出)。そこでこの時点での、MMA-tet あるいは FRA-tet (最終濃度 100 <math>\mu</math>g/ml) 単独での効果、MMA-tet と FRA-tet (最終濃度各 50 <math>\mu</math>g/ml) を組み合わせた場合の効果を各々検討した。その結果、MMA-tet, FRA-tet を単独で作用させた場合には、いずれのペプチドも Stx1a による ERK の活性化を阻害するが、JNK, p38, Akt の活性化は阻害しないことが明らかとなった。また、MMA-tet と FRA-tet を組み合わせた場合には、Stx1a による ERK の活性化を阻害するが、この効果はペプチドを単独で作用させた場合と比べて同程度であることがわかった。一方、JNK, p38, Akt の活性化には影響をおよぼさないことも明らかとなった。これらのことから、MMA-tet と FRA-tet を組み合わせて投与した場合にみられる Stx1a の細胞内輸送遅延は、ERK 活性化抑制のみでは不十分であり、JNK, p38, Akt の活性化抑制は関与していないことが示された。今後はその他のシグナル伝達分子の影響を検討する予定である。</p> <p>特許等： 特許第 5718574 号 ペプチドのスクリーニング方法 西川喜代孝、<u>高橋美帆</u>、加藤美帆子</p> <p>特許第 5754008 号 CaMKII 阻害ペプチドおよびこれを含有する CaMKII 阻害剤 西川喜代孝、<u>高橋美帆</u>、西村浩輝、高柳広、尾藤晴彦</p> <p>特許 5635779 号 Stx 毒性阻害ペプチドおよび Stx に起因する疾患の治療薬 西川喜代孝、<u>高橋美帆</u>、津々木一恵</p>	

