

研究成果報告書

(国立情報学研究所民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		細菌感染拡大に関与する細菌由来スフィンゴミエリナーゼの機能解析			
研究テーマ (欧文) AZ		The role of bacterial sphingomyelinase on propagation of bacteria			
研究氏 代表名 者	カカナ CC	姓) オダ	名) マサタカ	研究期間 B	2008～ 2010年
	漢字 CB	小田	真隆	報告年度 Y	2010
	ローマ字 CZ	ODA	MASATAKA	研究機関名	徳島文理大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		薬学部 ・ 講師			
<p>概要 EA (600字～800字程度にまとめてください)</p> <p>① セレウス菌は、食中毒菌として広く知られているが、近年、国内外においてセレウス菌による髄膜炎、菌血症、及び、敗血症の症例も報告され、これまで原因不明の死とみられていた疾患にセレウス菌が関与していたという報告もなされている。そこで、我々は、セレウス菌による敗血症メカニズムの解明を目的とし、本菌の産生するスフィンゴミエリナーゼ (<i>Bc-SMase</i>) に注目し解析した。セレウス菌感染における <i>Bc-SMase</i> の役割を解明するため、<math>1 \times 10^8</math> cells/mouse のセレウス菌と種々の濃度の <i>Bc-SMase</i> をマウス腹腔内へ同時投与し、18 時間後観察した。その結果、セレウス菌単独投与群では、腹腔、及び、血中に菌の存在は確認できなかったが、<i>Bc-SMase</i> (<math>5 \mu\text{g}/\text{mouse}</math>) との混合投与群では、腹腔、及び、血中に多くの菌が検出された。さらに、<i>Bc-SMase</i> (<math>5 \mu\text{g}/\text{mouse}</math>) との混合投与群の血中サイトカイン量を測定した結果、<math>\text{TNF-}\alpha</math>、<math>\text{IL-1}\beta</math> の著しい増加が認められ、この条件下のマウスは、30 時間以内にすべてのマウスが死亡した。一方、セレウス菌の産生するリン脂質分解酵素であるホスホリパーゼ C (<math>\text{PI-PLC}</math>、<math>\text{PC-PLC}</math>) とセレウス菌との混合投与では、このような現象は、全く観察されなかった。次に、<i>SMase</i> 高発現セレウス菌 (<math>1 \times 10^8</math> cfu/ml) を作成後、マウス腹腔内に投与し、24 時間後の腹腔、及び、血液内菌数を測定した。その結果、wild-type セレウス菌の <i>in vivo</i> における感染拡大は観察されなかったが、<i>SMase</i> 高発現菌を投与したマウスでは、腹腔、及び、血中に菌が認められた。また、<i>Bc-SMase</i> 高発現枯草菌でも同様の結果が認められた。これらの結果より、<i>Bc-SMase</i> は、セレウス菌の感染拡大、さらに、敗血症による死に大きく貢献していることが判明した。(投稿中)</p> <p>② <i>Bc-SMase</i> の細胞膜破壊作用は、本酵素の作用により生成亢進するセラミドが細胞膜上でクラスタ一化を引き起こし、膜の流動性のバランスを崩壊させることによることを明らかにした。</p> <p>③ <i>Bc-SMase</i> 阻害剤の開発を試み、これまでに 3 つの新規阻害剤の創製に成功した。今後、菌の感染拡大に対する効果について解析する。</p>					
キーワード FA	セレウス菌	スフィンゴミエリナーゼ	セラミドクラスター	SMase 阻害剤	

(以下は記入しないでください)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA							
研究機関番号 AC					シート番号							

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入して下さい）									
雑誌	論文標題 GB	Synthesis and evaluation of novel phosphate ester analogs as neutral sphingomyelinase inhibitors							
	著者名 GA	Imagawa H, Oda M, et al.	雑誌名 GC	<i>Bioorg Med Chem Lett</i>					
	ページ GF	3868-3871	発行年 GE	2	0	1	0	巻号 GD	20
雑誌	論文標題 GB	Hemolysis induced by <i>Bacillus cereus</i> sphingomyelinase							
	著者名 GA	Oda M, Sakurai J, et al.	雑誌名 GC	<i>Biochim Biophys Acta - Biomembranes</i>					
	ページ GF	97-103	発行年 GE	2	0	1	0	巻号 GD	29
雑誌	論文標題 GB	Structure and function of sphingomyelinase							
	著者名 GA	Oda M	雑誌名 GC	<i>Yakugaku Zasshi</i>					
	ページ GF	1233-1238	発行年 GE	2	0	0	9	巻号 GD	129
図書	著者名 HA	小田真隆、櫻井純、永浜政博							
	書名 HC	化学療法の領域 <細菌由来スフィンゴミエリナーゼの構造と機能>							
	出版者 HB	医薬ジャーナル社	発行年 HD	2	0	0	9	総ページ HE	7
図書	著者名 HA								
	書名 HC								
	出版者 HB		発行年 HD					総ページ HE	

欧文概要EZ

- ① *Bacillus cereus* is a pathogen in opportunistic human infections. We revealed that *B. cereus* sphingomyelinase (*Bc*-SMase) is a virulence factor for septicemia.
- ② *Bc*-SMase induces hemolysis of sheep erythrocytes which contain large amounts of sphingomyelin. Confocal laser microscopy showed that treatment of the cells with *Bc*-SMase resulted in the formation of ceramide-rich domains. A photobleaching analysis suggested that treatment of the cells with *Bc*-SMase leads to a reduction in membrane fluidity. These results show that *Bc*-SMase-induced hemolysis of sheep erythrocytes is related to the formation of interface between ceramide-rich domains and ceramide-poor domains through production of ceramide from SM.
- ③ A novel sphingomyelin inhibitor RY221B-a, which contains a bipyridyl moiety as a metal coordination site was designed based upon the mechanism of phosphate ester hydrolysis. RY221B-a was synthesized from N-Boc-sphingosine in three steps via selective etherification using stannyl acetal. Synthesized RY221B-a exhibited relatively-strong inhibitory activity against *Bc*-SMase (IC<sub>50</sub>=1.2 microM).