

氏名(本籍)	みやざきじゅん 宮崎 淳(東京都)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第3012号
学位授与年月日	平成14年11月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	尿路病原性大腸菌における新しい病原因子の同定に関する研究
主査	筑波大学教授 獣医学博士 八神 健一
副査	筑波大学教授 医学博士 長澤 俊郎
副査	筑波大学教授 医学博士 小川 哲夫
副査	筑波大学教授 医学博士 吉川 裕之

## 論文の内容の要旨

### (目的)

尿路病原性大腸菌 (uropathogenic *Escherichia coli*, UPEC) において、P線毛、S線毛、非線毛性付着因子 I、エロバクチン、ヘモリジン、細胞壊死因子-1などが病原因子とみなされているが、これは尿路感染を起こすための必須条件ではない。腸管病原性大腸菌 (Enteropathogenic *Escherichia coli*, EPEC) のような特異的病態を惹起する遺伝子は、UPECでは見つかっておらず、尿路における大腸菌の感染様式にはまだ未解明な点が多い。そこで、本研究ではUPECの尿路感染に必要な特異的遺伝子の同定を目標とし、1) 既知の病原因子 (P線毛、S線毛、非線毛性付着因子 I、エロバクチン、ヘモリジン、細胞壊死因子-1) を、単純性腎盂腎炎患者と単純性膀胱炎患者から分離されたUPECで確認した。次いで、2) 感染様式を解明するため、*in vitro* の系でT-24膀胱癌上皮細胞への付着と侵入に病原因子が関与しているか検討した。さらに、3) genomic subtractive hybridization法により株間における遺伝子相違を比較し、新たな病原因子を同定した。

### (結果と考察)

1) 腎盂腎炎起因株ではP線毛やエロバクチンの陽性率が高く、他の病原因子の陽性率は低かった。また、膀胱炎起因株では、既知の病原因子を持たない株が約1/3を占めた。2) UPECの細胞への付着様式に特徴的なパターンは認められず、既知の付着因子はUPECの細胞内侵入に必須ではないと考えられた。3) genomic subtractive hybridization法により2菌株間の遺伝子相違を比較し、高侵入性の腎盂腎炎起因株に特異的なクローンとして49クローンを得た。それらのクローンで *Salmonella invA* 遺伝子にhomologyのある配列が同定され、細胞への侵入性に関連している可能性が考えられた。さらに *invA* 遺伝子の上流と下流域を同定したところ、*E. coli* O157:H7で明らかにされている ETT2 (*E. coli* type three secretion 2) が検出され、他の3株のUPECにも ETT2の存在が確認された。以上の4株においてPFGEパターンは異なっていたが、ETT2遺伝子の挿入位置はすべて *E. coli* K-12 MG1655の64分にあり、水平移動で遺伝子が挿入されたと考えられた。本研究で、同定したETT2は *Salmonella* pathogenicity island-1 (SPI-1) の *inv/spa* に似ており、SPI-1は *Salmonella* が腸管上皮細胞に侵入する際に必要な遺伝子群である。また、これらの株は細胞への侵入性が非常に高いことから、ETT2は *E. coli* においても細胞への侵入の際に働いている可能性が考えられた。

## 【結論】

本研究により、UPECに type III secretion system が存在することが明らかとなった。EPECと同様に、UPECにおいても type III secretion system が病原因子となる可能性が考えられた。

## 審査の結果の要旨

### (批評)

尿路病原性大腸菌 (UPEC) の病原因子や尿路における感染様式には未解明な点が多い。本研究はUPECの尿路感染に特異的な病原因子の同定を目標とし、分離株における既知の病原因子の保有状況、膀胱癌上皮細胞への付着性と侵入性の検討、さらに、高侵入性の腎盂腎炎起因株と低侵入性の膀胱炎起因株の間で genomic subtractive hybridization を行い2株間の遺伝子の相違を比較検討した。

その結果、UPECにおける既知の病原因子の保有状況や細胞への付着、侵入性に特定な傾向は見られなかったが、高侵入性株に特異的な遺伝子クローンで *Salmonella invA* 遺伝子に homology のある配列が同定された。さらにこの領域周辺を精査することにより、*E. coli* O157:H7 で同定された ETT2 (*E. coli* type three secretion 2) を保有していることが明らかとなり、type III secretion system がUPECの病原因子となる可能性が示唆された。今後、UPECの病原性の解明や原因菌の分子診断技術の開発にもつながる優れた論文である。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。