

氏名	かな まる そう じゅん 金 丸 聰 淳
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 3104 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Molecular epidemiological study of a putative virulence factor USP in uropathogenic <i>Escherichia coli</i> (尿路病原性大腸菌の新しい病原因子 USP に関する分子疫学的研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 一 山 智 教 授 光 山 正 雄 教 授 西 淵 光 昭

論 文 内 容 の 要 旨

背景：尿路病原性大腸菌には古くからいくつかの病原因子が報告されている。我々は尿路病原性特異的蛋白（USP）をコードする *usp* 遺伝子とそれに引き続く複数の small open reading frame (*orfU1*, *orfU2*, *orfU3*) から構成される、モザイク構造を持つ新しい病原島（PAI_{usp}）を発見し、報告した。PAI_{usp}には4つの subtype（Ia, Ib, IIa, IIb 型）が確認されている。USP の機能に関しては未知な点が多いが、ホモロジー解析から USP は bacteriocin であることが推定されており、動物実験において宿主への感染力を増強する作用も証明されている。本研究では、単純性尿路感染症由来大腸菌株を対象に、最近新たに報告された病原因子の分布を決定し、各因子間の関係について分子疫学的解析を行った。USP 保有株においては PAI_{usp} の subtype を決定し、従来用いられてきた大腸菌の古典的分類法である O 血清型、腸管外病原性大腸菌の分子遺伝学的分類法である phylogenetic grouping との比較を行い、尿路病原性大腸菌の特徴について新たな視点からの分析を試みた。

方法：単純性尿路感染症から分離された427株の大腸菌（膀胱炎194株、腎盂腎炎76株、前立腺炎107株）と糞便株50株において、古典的な尿路病原因子である *pil*, *pap*, *aer* (*iucD*), *afaI*, *cnf1*, *sfa/foc*, *hly* の7因子に加え、比較的新しい尿路病原性因子 *iroN*, *iha*, *kpsMT*, *ompT*, *fyuA*, *malX*, *ibeA*, *usp* の8因子、計15個の遺伝子の保有の有無を PCR 法にて検出した。*usp* 陽性株については、本研究で新規に開発した PCR 法を用いて PAI_{usp} の subtype を決定した。O 血清型は抗血清を用いた試験管凝集法により、phylogenetic grouping は3セットのプライマーを用いた PCR 法にて決定した。

結果：尿路感染症分離株は糞便株と比較して2～4.3倍高い *iroN*, *iha*, *kpsMT*, *ompT*, *usp* の保有頻度を示した。尿路感染症分離株のなかでも、腎盂腎炎株は *usp* を、前立腺炎株は *iroN*, *ompT*, *usp* をより多く保有していた。Odds ratio (OR) の高さから、*iroN* と *sfa/foc* (OR:95.9), *iha* と *iucD* (OR:187.2) は同一の病原島で物理的に連結されていることが推定された。*usp* は *kpsMT* (OR:38.3), *omp* (OR:38.4) との高い関連が認められたが、染色体地図上での距離が離れているため、機能的な関連であることが示唆された。尿路感染症株のほとんどが Phylogenetic group B2 に属しており (316/377; 83.8%), 同時に *usp* 陽性株である (315/326; 96.6%) ため、B2 系統株は PAI_{usp} の subtyping によりさらに細分類された。また、PAI_{usp} の各 subtype はそれぞれ特異的な O 血清型と密接な関連を示した。

結論：さまざまな病原因子のなかでも *iroN* と *usp* が特に前立腺炎株に多く分布していたことより、これらの病原因子は前立腺炎の発症に有利に働くことが推察された。PAI_{usp} の subtyping は Phylogenetic group B2 に属する大腸菌株に付加的な情報を供給し、この新しい分類方法によって分子疫学研究において今後新たな知見が得られることが期待される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

尿路病原性特異的蛋白 USP は尿路病原性大腸菌 UPEC において感染性を増強する新たな病原因子 VF として報告されたが、その機能および臨床的意義については不明な点が多い。これらを明らかにすることは尿路感染症 UTI の発症機序の解

明や予防法の開発につながる可能性がある。申請者らは、UTI 由来大腸菌427株（膀胱炎194，腎盂腎炎76，前立腺炎107）および健常人糞便由来50株を対象に，最近新たに報告された5つのVF（*iroN*, *iha*, *kpsMT*, *ompT*, *usp*）の分布をPCR法で決定し，各VF間の関係を解析した。腎盂腎炎株は*usp*，前立腺炎株は*iroN*, *ompT*, *usp*の保有率が高く，*iroN-sfa/foc*, *iha-aer*は病原島上で連結している可能性，*usp*と*kpsMT*, *ompT*は機能的に強く関連している可能性が示唆された。さらに，*usp*と下流の遺伝子群 *orfU1-3* から構成される病原島 PAI*usp* の多様性に着目してUTI 由来大腸菌をPCR法によって4型に分類する方法を開発し，UTI 由来大腸菌に最も多いとされている phylogenetic group B2 を細分化できること，また PAI*usp* の多様性は血清型やVFと密接に関連していることなどを明らかにした。

以上の研究は分子疫学の立場から *usp* を含むさまざまなVF分布の特徴を明らかにしており，今後の尿路感染症研究の発展に寄与するところが多い。

したがって，本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお，本学位授与申請者は，平成19年2月28日実施の論文内容とそれに関する試問を受け，合格と認められたものである。