

尿路感染症における大腸菌の線毛の役割について

富山医科薬科大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 片山 喬教授)

石 川 成 明

THE ROLE OF FIMBRIAE OF ESCHERICHIA COLI IN URINARY TRACT INFECTIONS

Shigeaki Ishikawa

From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University

The incidence of P-fimbriated *E. coli* from patients with pyelonephritis, cystitis and asymptomatic bacteriuria was 78.6%, 31.9% and 22.2%, respectively. Almost all of the P-fimbriated *E. coli* have also type-1 fimbriae.

In the in vitro test, P-fimbriated *E. coli* attached to the uroepithelial cells in higher number than the type 1 fimbriated *E. coli*. The results of the adhesion inhibition test suggested that simultaneous presence of P-and type 1 fimbriae is the most significant virulence factor in urinary tract infections.

(Acta Urol. Jpn. 37: 953-956, 1991)

Key words: *E. coli*, P fimbriae, Type 1 fimbriae

緒 言

大腸菌は単純性尿路感染症の主要病原菌であり、多くの場合腸管由来であるとされているが、なぜ病原性を発揮するのかについては不明な点が多い。近年、尿路における大腸菌の病原性因子として、細菌の付着能が注目されだし、その大きな役割を線毛が果していると考えられている。今回、臨床材料より分離した大腸菌を対象に線毛型、赤血球凝集能、細胞付着能について検討した。

材 料 と 方 法

1. 試験菌

臨床材料より得られた大腸菌を用いた。尿由来株は単純性感染症患者より分離したもので、すべて定量培養で 10^5 /ml 以上の発育を認めたものである。便由来株は腸管病原性のないものであり、膿およびそのほかの株は尿路感染症とは無関係のものとした。菌株は普通寒天培地にて室温保存し、実験に際して 37°C 、48 時間 brain-heart-infusion 寒天培地で発育させた。

2. 赤血球凝集能試験

ヒトおよびモルモットの 3% 赤血球 PBS 浮遊液と 5×10^8 cfu/ml に調整した菌液とを混合し、凝集の有

無を肉眼および顕微鏡下で判定した。モルモット赤血球を凝集し、これが 2% D-mannose で阻止されるものを 1 型線毛、ヒト赤血球を凝集し、D-mannose を加えても阻止されないものを P 線毛とした。

3. Hemagglutination titer の測定

各菌株浮遊液 (5×10^8 cfu/ml) の 2 倍稀釈系列にヒト赤血球浮遊液を用いて凝集反応の有無を判定し、凝集に必要な最低菌数の対数値を HA titer とした。

4. 付着試験

10^8 cfu/ml の細菌浮遊液と 10^5 /ml のヒト尿中剝離細胞を 37°C 、1 時間 incubation し、細胞に付着する細菌数を調べた。また手術材料より得られた健常組織を用い、膀胱、尿管、腎盂の各上皮に付着する細菌数を調べた。

5. 付着阻止試験

PBS 中での付着する細菌数をコントロールとし尿中、2% D-mannose、レクチンである concanavalin A, triticum vulgaris, P リセプターをもつ trihexosyl ceramide 添加で比較した。

結 果

1. P 線毛保有率

尿よりの分離菌で 64.3% にみられ便、膿、その他の

Table 1. Isolation of P-fimbriated *E. coli* from clinical sources

Source of isolates	Number of patient	P-fimbriated <i>E. coli</i> (%)
Urine from UTI patients	70	45 (64.3)*
Feces	20	2 (10.0)
Pus	15	3 (20.0)
Others	28	4 (14.3)

* $p < 0.01$ vs. Feces and othersTable 2. Isolation of P-fimbriated *E. coli* from the urine of patients with UTI

Diagnosis	Numbers of patients	P-fimbriated <i>E. coli</i> (%)
Pyelonephritis	14	11 (78.6)*
Cystitis	47	15 (31.9)
Asymptomatic bacteriuria	9	2 (22.2)

* $p < 0.01$ vs. CystitisTable 3. Types of fimbriae on *E. coli* from patients with UTIs

Diagnosis	Number of patients	P present	P and type 1 present
Pyelonephritis	14	2	9
Cystitis	47	3	12

not significant

Table 4. Hemagglutination (HA) titer (log CFU/ml)

Diagnosis	HA titer	
	P fimbriae	P+type 1 fimbriae
Pyelonephritis	6.4	6.8
Cystitis	6.0	6.1

not significant

材料由来株に比べ有意に高かった (Table 1). 尿由来株の中では腎盂腎炎患者由来株で78.6%と多く認められた (Table 2).

またP線毛保有菌の多くは1型線毛も有していた (Table 3).

2. HA titer

疾患由来, 線毛の型にかかわらず, 有意差はなかった (Table 4).

3. 付着試験

P, Pおよび1型線毛保有菌は1型線毛保有菌に比べ1個あたりの細胞に付着する細菌数も多く, 10個以上付着する細胞の割合も高かった (Table 5). 膀胱, 尿管, 腎盂の各上皮への付着数には差は認められなかった (Fig. 1).

Table 5. Binding to epithelial cells of *E. coli*

<i>E. coli</i> strains	Number of strains	Attachment	
		bact/cell	>10 bact/cell, %
P	5	30*	80.0*
P and type 1	21	32*	85.7*
Type 1	36	11	19.4

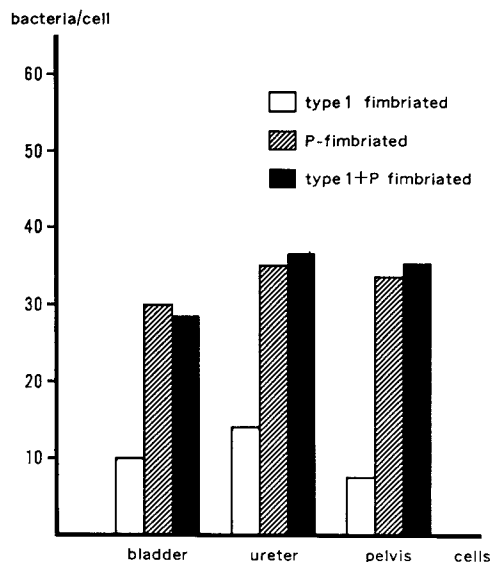
* $p < 0.01$ vs. type 1

Fig. 1. Bacterial adhesion to uroepithelial cells

Table 6. Inhibition of adhesion of uropathogenic *E. coli*

Fimbriae	Bacterial attachment (% of control)				
	Urine	D-mannose	Con A	WGA	CTH
Type 1	54	6	10	94	77
Type 1 and P	86	57	72	96	63
P	92	93	88	88	18

Con A: concanavalin A, WGA: triticum vulgaris, CTH: trihexosyl ceramide

4. 付着阻止試験

1型線毛保有菌は尿中, D-mannose および concanavalin A 添加でP線毛保有菌は trihexosyl ceramide 添加で付着率の低下がみられたが, 両線毛保有菌はいずれの状況下でも影響が少なかった (Table 6).

考 察

尿路における大腸菌の病原性に関しては血清型^{1,3)}, ヘモリジン産生能^{4,5)} など多くの報告がなされている

が、菌の定着が成立して初めて病原性が発揮されるのであり、病原因子を有する株でも尿路上皮への付着能をもたない株では病原性が発揮されないことが Smith⁹⁾ らにより実験的に証明されて以来、細菌の付着能が注目された。その大きな役割を線毛が果たしていると考えられている⁷⁻⁹⁾。そのレセプター特異性から大腸菌には2種類以上の線毛が存在することが知られている。大腸菌やグラム陰性菌に最も普通にみられる1型線毛は D-mannose をレセプターとし、その病原性に関しては、すべての分離大腸菌の50~70%でみられることから明らかでないとされている。尿路上皮細胞にはほとんど付着せず、マンノース基に富んだ Tamm-Horsfall 糖蛋白を成分とする粘液糸とよく結合する。したがって1型線毛保有大腸菌が尿路に入っても粘液糸に捕って体外に排除されてしまう。このため1型線毛は少なくとも人単純性尿路感染症では重要な virulence factor とはみなされていない。

グロボンド系糖脂質の Gal-Gal 部分をレセプターとするP線毛は、腎盂腎炎起因大腸菌に多くみられると報告されたもので¹⁰⁾、その後、腎盂腎炎を発症させる主要因子であることが諸家により報告されている¹¹⁻¹⁴⁾。

しかし、P線毛のみが、細胞付着の役割を担っていることに関しては疑問も呈されている。いままでの報告の多くは mannose-resistant (以下 MR) 線毛をP線毛としてとらえているが他の型のMR線毛も考慮に入れなければならない。那須はグロボンド含有凝集法を用いてP線毛保有率を検討し、急性単純性腎盂腎炎患者より分離された47株の48.9%しかP線毛保有菌がみられなかったとしP線毛以外のMR線毛の関与の大きさを報告している¹⁵⁾。今までP以外のMR線毛として S¹⁶⁾、M¹⁷⁾ 線毛などが報告されているが、いまだ十分に研究されていない。

1型線毛は感染の重要な virulence factor とはみなされていないが有利な点としては Tamm-Horsfall 蛋白と結合し覆われるため食菌作用に抵抗することがあげられている。今回の in vitro の付着試験ではP線毛のみ保有菌とP線毛と1型線毛を同時に持つ細菌とで付着能に差はなかったが付着阻止試験の結果より両線毛保有菌のほうが各種状況下でも影響を受けにくく那須¹⁵⁾が報告しているように生体内では両者を合せ持つほうが有利と考えられる。

結 語

1. 腎盂腎炎患者由来株では膀胱炎患者由来株よりもP線毛保有率が高かった。

2. P線毛保有菌の大部分は1型線毛も有していた。

3. P線毛保有菌は1型線毛保有菌よりも尿路上皮細胞に親和性が高かった。

4. いずれの型の線毛保有菌も腎盂、尿管、膀胱上皮細胞でその親和性に差は認められなかった。

本論文の要旨は、第39回日本泌尿器科学会中部総会において発表した。

文 献

- 1) Ørskov I, Ørskov F, Jann B, et al.: Serology, chemistry and genetics of O and K antigens of *Escherichia coli*. *Bacterol Rev* 41: 667-710, 1977
- 2) Kaijser B: Immunology of *Escherichia coli*: K antigen and its relation to urinary-tract infections. *J Infect Dis* 127: 670-677, 1973
- 3) Kaijser B, Hanson LA, Jodal U, et al.: Frequency of *Escherichia coli* K antigens in urinary tract infections in children. *Lancet* ii: 663-664, 1977
- 4) Cooke EM and Ewins SP: Properties of strains of *Escherichia coli* isolated from a variety of sources. *J Med Microbiol* 8: 107-111, 1975
- 5) Hughes C, Hacker J, Roberts A, et al.: Hemolysin production as a virulence marker in symptomatic and asymptomatic urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. *Infect Immun* 39: 546-551, 1983
- 6) Smith HW and Linggood MA: Observations on the pathogenic properties of the K 88, Hly and Ent plasmids of *Escherichia coli* with particle reference to porcine diarrhoea. *J Med Microbiol* 4: 467-485, 1971
- 7) Duguid JP and Old DC: Adhesive properties of Enterobacteriaceae. In: Bacterial adherence, receptors and recognition. Edited by Beachey EH. pp. 185-217, Chapman and Hall, London, 1980
- 8) Korhonen TK, Edén S and Edén CS: Binding of purified *Escherichia coli* pili to human urinary tract epithelial cells. *FEMS Microbiol Lett* 7: 237-240, 1980
- 9) Salit IE and Gotschlich EC: Hemagglutination by purified type 1 *Escherichia coli* pili. *J Exp Med* 146: 1169-1181, 1977
- 10) Källénius G, Möllby R, Svenson SB, et al.: Occurrence of P-fimbriated *Escherichia coli* in urinary tract infections. *Lancet* ii: 1369-1372, 1981
- 11) Hagberg L, Engberg I, Freter R et al.: Ascending, unobstructed urinary tract infection in mice caused by pyelonephritogenic

- Escherichia coli* of human origin. *Infect Immun* **40**: 273-283, 1983
- 12) O'Hanley P, Lark D, Falkow S, et al: Molecular basis of *Escherichia coli* colonization of the upper urinary tract in BALB/c mice. *J Clin Invest* **75**: 347-360, 1985
- 13) Marre R, Hacker J, Henkel W, et al: Contribution of cloned virulence factors from uropathogenic *Escherichia coli* strains to nephropathogenicity in an experimental rat pyelonephritis model. *Infect Immun* **54**: 761-767, 1986
- 14) Roberts JA, Suarez G M, Kaack B, et al.: Experimental pyelonephritis in the monkey. VII. Ascending pyelonephritis in the absence of vesicoureteral reflux. *J Urol* **133**: 1068-1075, 1985
- 15) 那須良次: 尿路性器感染症における *E. coli* の病原因子について. その2. P線毛の検出と病態との関連性. *日泌尿会誌* **79**: 1169-1176, 1988
- 16) Korhonen TK, Väisänen-Rhen V, Rhen M, et al.: *Escherichia coli* fimbriae recognizing sialyl galactosides. *J Bacteriol* **159**: 762-766, 1984
- 17) Väisänen-Rhen V, Korhonen TK and Finne J: Novel cell-binding activity specific for N-acetyl-D-glucosamine in an *Escherichia coli* strain. *FEBS Lett* **159**: 233-236, 1983
(Received on June 5, 1991)
(Accepted on June 8, 1991)