

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名	いそ かわ さだ ゆき 磯 川 貞 之
学位の種類	博 士 (医学)
学位記番号	医 第 8 3 6 号
学位授与の日付	平 成 16 年 6 月 15 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	尿路感染症惹起性大腸菌の腎培養細胞への細胞障害性
論文審査委員 (主 査)	教 授 竹 村 司
(副主査)	教 授 古 田 格
(副主査)	教 授 星 合 昊

【目的】

尿路感染症 (UTI) 惹起性大腸菌の多くは特定の抗原型を示すことが報告されているが、これらの抗原のメサンギウム細胞 (MsC) や尿管細胞 (RTC) に対する影響の差異についてはいまだ充分には検討されていない。本研究では UTI の原因大腸菌の表現型を分析し、 α -ヘモリジン (α -Hly)、o 抗原、K 抗原などの諸抗原の腎由来培養細胞への細胞増殖に対する影響について検討した。

【方法】

研究対象には UTI の 122 例と対照の 23 例から分離された大腸菌を用いた。UTI 患者の臨床病型は、急性腎盂腎炎、反復性腎盂腎炎、慢性腎盂腎炎、急性膀胱炎、無症候性菌尿、非特異性尿路感染症の 6 種に分類した。P 線毛、 α -Hly、ol、o6、o25、K1 抗原の発現を調べ、各種臨床病系とこれらの表現形を比較検討した。これらの抗原を分離精製し、MsC と RTC に抗原を種々の濃度で添加して培養し、細胞増殖能への影響を MTT 法で測定した。

【結果】

臨床病型と抗原表現型の関係では、これらの抗原が陽性を示した株は上部尿路感染症 (U-UTI) 群で多く検出された。MsC 増殖能への影響は、o6 抗原のみが 200mg/ml の濃度の添加によって対照に比較して細胞増殖能の増加を認めたが、他の抗原では有意な差は認めなかった。RTC では α -Hly 添加で濃度依存性に細胞増殖能の低下を認め、o 抗原添加では全ての o 抗原で 200mg/ml の濃度で細胞増殖能の増加を認めた。K1 抗原添加では有意な差は認めなかった。

【考察】

α -Hly と P 線毛が重複して陽性を示すものが多く、両者の遺伝子が隣接するという報告を支持する所見と推察された。免疫溶解反応に対する抑制因子である K1 抗原も U-UTI 分離菌に多く認められた。また ol、o6、o25 抗原も U-UTI からの分離菌で多く検出された。このように尿路に強い病変をもたらす大腸菌には、様々な病原因子が存在し、U-UTI 惹起性大腸菌は、限られたクローンの菌によるものと推察された。 α -Hly は RTC に対して強い細胞増殖抑制効果を示し、 α -Hly 産生菌が直接的に RTC に細胞障害性を発現するものと考えられた。大腸菌の o 抗原が MsC を刺激し、様々な炎症性サイトカイン分泌を促すとの報告は知られているが、複数の o 抗原での比較は報告されていない。今回の検討では、o6 抗原が標準株の o14 抗原に比べて強い細胞増殖刺激性を認めた。RTC に対しての o 抗原の影響はこれまでに報告がなく、今回の検討では o 抗原の種類に関係なく細胞増殖刺激性を示した。

【結論】

U-UTI 惹起性大腸菌の特徴は、接着因子である P 線毛や、RTC に毒性を有する α -Hly、さらに MsC に対する刺激性を持つ特異 o 抗原などの種々の腎障害性因子を有するものであり、これらはごく限られたクローンの菌であると考えられた。

論文審査結果の要旨

【研究の目的】

尿路感染症(UTI)惹起性大腸菌の多くは特定の抗原型を示すことが報告されているが、これらの抗原のメサンギウム細胞(MsC)や尿管細胞(RTC)に対する影響の差異については、いまだ十分には検討されていない。本研究ではUTIの原因大腸菌の表現型を分析し、 α -ヘモリジン(α -Hly),o抗原,K抗原などの諸抗原の腎由来の培養細胞への細胞増殖に対する影響について検討した。

【研究の方法】

研究対象にはUTIの122例と対照の23例から分離された大腸菌を用いた。UTI患者の臨床病型は、急性腎盂腎炎、反復性腎盂腎炎、慢性腎盂腎炎、急性膀胱炎、無症候性菌尿、非特異型尿路感染症の6種に分類した。P線毛,a-Hly,O1,O6,O25,K1抗原の発現を調べ、各種臨床病系とこれらの表現形を比較検討した。これらの抗原を分離精製し、MsCとRTCに抗原を種々の濃度で添加して培養し、細胞増殖能への影響をMITT法で測定した。

【結果】

臨床病型と抗原表現型の関係では、これらの抗原が陽性を示した株は上部尿路感染症(U-UTI)群で多く検出された。MsC増殖能への影響は、O6抗原のみが200 μ g/mlの濃度の添加によって対照に比較して細胞増殖能の増加を認めたが、他の抗原では有意な差は認めなかった。RTCでは α -Hly添加で濃度依存性に細胞増殖能の低下を認め、O抗原添加では全てのO抗原で200 μ g/mlの濃度で細胞増殖能の増加を認めた。K1抗原添加では有意な差は認めなかった。

【考察】

α -HlyとP線毛が重複して陽性を示すものが多く、両者の遺伝子が隣接するという報告を支持する所見と推察された。免疫溶菌反応に対する抑制因子であるK1抗原もU-UTI分離菌に多く認められた。まO1,O6,O25抗原もU-UTIからの分離菌で多く検出された。このように尿路に強い病変をもたらす大腸菌には、様々な病原因子が存在し、U-UTI惹起性大腸菌

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	平成 16 年 月 日 公表予定	出版物名 近畿大学医学雑誌 第 29 卷 第 1 号
	公 表 内 容	平成 16 年 4 月 日 発行予定
	全 文	

は、限られたクローンの菌によるものと推察された。α-HlyはRtCに対して強い細胞増殖抑制効果を示し、α-Hly産生菌が直接的にRtCに細胞障害性を発現するものと考えられた。今大腸菌のO抗原がMsCを刺激し、様々な炎症性サイトカイン分泌を促すとの報告は知られているが、複数のO抗原での比較は報告されていない。回の検討では、O6抗原が標準株のO14抗原に比べて強い細胞増殖刺激性を認めた。RtCに対してのO抗原の影響はこれまでに報告がなく、今回の検討ではO抗原の種類に関係なく細胞増殖刺激性を示した。

【結論】

U-UTI惹起性大腸菌の特徴は、接着因子であるP線毛や、RTCに毒性を有するα-Hly、さらにMsCに対する刺激性を持つ特異O抗原などの種々の腎障害性因子を有するものであり、これらはごく限られたクローンの菌であると考えられた。

【最終試験の結果】

この研究内容を公聴会にて口頭発表を行い、以下の質疑応答が行われた。

- 1.大腸菌の増菌培養に、主にLuria培地を使用した理由について
- 2.細胞増殖に対する影響の評価法でMTT比色定量法を使用した理由について
- 3.各種大腸菌抗原は実際に生体にどのように関与するか
- 4.各種大腸菌抗原によるメサングウム細胞増殖に与える影響について
- 5.逆流腎症発症機序と、O抗原、α-Hlyの関与について
- 6.上部尿路感染症惹起大腸菌の抗原型を同定した意義について
- 7.検討した各種大腸菌抗原、特にα-Hlyの腎障害の機序と、α-Hly遺伝子の由来について
- 8.α-Hly遺伝子とその他のプラスミド性病原性遺伝子の関係について
- 9.小児の尿路感染症の頻度・性差・疫学などについての一般知識と非特異的尿路感染症の特性と予後について

以上の質問が副査よりなされ、これらについて適切に回答した。また小児科学一般知識ならびに小児尿路感染症に対する知識も十分に有しており、最終試験に合格し学位授与に相当するものと判断された。