

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 奥 谷 晶 子

Escherichia coli O115a,c:K (B) (Murine pathogenic *E. coli*; MPECと略) を起因菌とするマウス腸粘膜肥厚症は *Citrobacter rodentium* による感染と類似の病変を示す。これらは、現在異なる菌種に分類されているが、類似性はきわめて高い。*C. rodentium* の感染したマウス腸管上皮において、Attachment and effacement (A/E) lesion とよばれる腸粘膜上皮糸細胞への菌の密着と微絨毛の消失、付着した菌直下の細胞骨格の再構成がみられる。A/E lesion の形成には染色体上の “the locus of enterocyte effacement (LEE)” とよばれる病原性遺伝子塊にコードされている付着因子 intimin やそのレセプターである Tir などのタンパク質が必須であることが明らかとなっている。

MPEC と *C. rodentium* の類似性と、上皮細胞への宿主特異的および組織特異的な付着に際し付着因子 intimin とそのレセプターである Tir がどのように機能しているかを明らかにする目的で以下の解析を行った。

第一章においては、MPEC と *C. rodentium* の 16S rDNA の塩基配列の比較、DNA-DNA ハイブリダイゼーションおよび生物・生化学性状による分類、MPEC 感受性および非感受性無菌マウスでの病原性の比較を行った。その結果、両菌は同一の菌種であり、マウスへの病原性も同一であることが明らかとなった。

第二章においては、MPEC 染色体上の LEE 領域の tir、cesT および eae 遺伝子の全塩基配列を決定した。その結果、MPEC と *C. rodentium* の cesT および eae 遺伝子は同一の配列であり、MPEC と *C. rodentium* は病原性因子も同一のものを保持していることが明らかとなった。

第三章においては、病変の形成がみられる以前の MPEC 投与 2 日後から病変形成がみられる投与 6 日後までのマウス腸粘膜上皮細胞への付着様式を走査型電子顕微鏡で観察した。その結果、MPEC 感染初期には直腸が重要な付着部位であると考えられた。

第四章においては、MPEC 感染における宿主および組織特異的な付着の機構を、同じ菌種由来の Tir と intimin の結合を保持した実験系により解析した。MPEC の Tir-eae 遺伝子領域欠失変異株と、この欠失変異株に MPEC、EHEC および EPEC 由来の同遺伝子領域を各々導入した株を作製した。ヒト結腸由来 Caco-2 細胞とマウス結腸由来 CMT-93 細胞を用いた in vitro の感染実験では、各遺伝子導入株はいずれも野生株同様に培養細胞上で Tir と intimin が機能していることが明らかとなった。しかし、in vitro の感染実験では、導入した遺伝子の差による付着特異性はみられなかったことから、病原性への関与も含めてさらに検討するため無菌マウスへの投与実験を行った。その結果、菌投与 8 日後において MPEC 由来遺伝子導入株を投与したマウスでのみ、盲腸先端に局限した上皮細胞の過形成と上皮糸細胞

への菌の付着がみられた。EHEC 由来遺伝子導入株では肥厚病変はみられたが、上皮細胞への菌の付着はみられなかった。EPEC 由来遺伝子導入株では細胞への付着および肥厚病変ともにみられなかった。以上の結果をまとめると、マウス腸粘膜上皮細胞への特異的な付着と病原性の発現にはMPEC 由来の Tir と intimin の結合が必須であることが示唆された。

続いて、マウスに感染できない EHEC の Tir と intimin を MPEC 由来の Tir と intimin と置き換えた株を作製して無菌マウスに投与したところ、病原性はみられなかった。このことから、マウス腸粘膜上皮系細胞への特異的な付着および病変形成には MPEC 由来の Tir と intimin に加えて、Tir と intimin 以外の MPEC 特異的な因子が初期付着の段階で必要であることが示唆された。

以上本研究は、MPEC と *C. rodentium* が同一菌種であり、病原性因子も同一であることを示し、さらに、自然宿主を用いた感染実験系が細菌の病原性因子の遺伝的解析にきわめて重要であることを示したもので、学術上、応用上貢献するものである。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。