



|              |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | ヒト由来毒素原性大腸菌の新しい定着因子に関する研究                                                                                                                                                                                                                                            |
| Author(s)    | 甲田, 光雄                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Citation     | 大阪大学, 1988, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/36513">https://hdl.handle.net/11094/36513</a>                                                                                                                                                                                  |
| rights       |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|         |                              |         |         |        |
|---------|------------------------------|---------|---------|--------|
| 氏名・(本籍) | こう<br>甲                      | だ<br>田  | みつ<br>光 | お<br>雄 |
| 学位の種類   | 医                            | 学       | 博       | 士      |
| 学位記番号   | 第                            | 8 2 6 6 | 号       |        |
| 学位授与の日付 | 昭和 63 年 6 月 9 日              |         |         |        |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 5 条第 2 項該当             |         |         |        |
| 学位論文題目  | ヒト由来毒素原性大腸菌の新しい定着因子に関する研究    |         |         |        |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 三輪谷俊夫             |         |         |        |
|         | (副査)<br>教授 井上 公藏    教授 松田 守弘 |         |         |        |

## 論文内容の要旨

### 〔目 的〕

毒素原性大腸菌（以下 ETEC）は、発展途上国における下痢の主要な原因菌であるのみならず、わが国においてもいわゆる旅行者下痢症の主要な原因菌となっている。ETEC の病原因子には、(1)定着因子、(2)エンテロトキシンの 2 つがあり、発症のためには、この両病原因子が必須である。ETEC の全ての下痢患者由来株は、ST または LT エンテロトキシンを産生するが、既知の定着因子を有する菌株は全分離株の約半数にすぎず、何らかの未知の定着因子を産生している菌株が存在する可能性が考えられる。本研究では、ETEC の定着因子の解析を行ない、新しい定着因子（HP/IVa）を見い出し、産生条件の検討、分離・精製、さらには性状の解析を行うことを目的とした。

### 〔材料と方法〕

1. 使用菌株：大阪空港検疫所で旅行者下痢症患者の下痢便から分離された ETEC を用い、主として #121 株を実験に供した。
2. 培養方法：CFA 寒天培地の他にバリリン（10mM）添加 Davis 最小寒天培地を工夫し、37℃で 24 時間培養した。
3. HP/IVa の精製：菌体から遊離させた線毛性定着因子（HP/IVa）を、Sepharose 4 B によるゲルろ過およびハイドロホビックカラムである Phenyl-Sepharose CL-4 B により精製した。
4. 抗血清の作製：精製した HP/IVa を用いてウサギを免疫し、特異抗血清を得た。
5. 赤血球凝集反応、ハイドロホビシティ試験（Salting out 法）、SDS スラブ電気泳動、電子顕微鏡観察などは、常法に従って実施した。

## 〔結 果〕

1. 大阪空港検疫所で分離されたETEC100株のうち、既知の定着因子を産生している株は、36株であり、他の株は何らかの新しい定着因子を産生している可能性が示唆できた。これらのうち、#121株は、多数の線毛を産生し、ハイドロホビシティ試験陽性であった。また、#121株から線毛非産生の変異株（#121m）を分離した。
2. #121株および#121m株の生菌を乳のみマウスに経口投与し、腸管への定着性を調べると#121株がよく定着し、#121の産生する線毛（HP/IVa pili）が定着因子として作用している可能性が示唆できた。
3. #121株のHP/IVa pili 産生条件を検討したところ、低温（18℃）で培養するとpili が殆ど産生されないこと、Davisの最小培地ではpili の産生が認められないが、この培地にアラニン、バリン、ロイシンのいずれかを10mM添加するとpili の産生が著増することがわかった。
4. HP/IVa pili を高純度に精製した。HP/IVa pili のモノマーの分子量は、約21,000であった。
5. 精製HP/IVa pili に対するウサギ特異抗血清を作製し調べると、HP/VIa pili は既知の線毛性定着因子（CFA/I, CFA/II, HP/III）とは免疫学的に異なる新しい定着性線毛であることがわかった。
6. HP/IVa pili を有する菌株は、旅行者下痢症から分離したETEC 100株中2株で、何れも耐熱性エンテロトキシン（ST）を産生していた。

## 〔総 括〕

旅行者下痢症から分離した毒素原性大腸菌の定着因子について解析し、新しい線毛性定着因子（HP/IVa）を見い出した。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は、毒素原性大腸菌の必須の病原因子である腸管内定着因子について解析したもので、①海外旅行者から分離された毒素原性大腸菌の性状を多方面から解析し、新しい定着因子の存在を証明し、②その定着因子の単離・精製を行い、線毛であることを明らかにし物理化学的、免疫学的性状の解析を行い、さらに③動物実験で、定着因子として機能することを明らかにした。

本研究は、毒素原性大腸菌の新しい定着因子を発見し、詳しい解析を加えたもので、医学博士の学位論文として充分価値あるものと認める。