

Title	日本におけるヒトおよびネコ由来Bartonella henselaeのゲノムタイピングによる遺伝子型分布に関する研究
Author(s)	柳原, 正志
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58119
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	やなぎ ちはら まさし 柳 原 正 志
博士の専攻分野の名称	博士 (保健学)
学位記番号	第 24177 号
学位授与年月日	平成22年9月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科保健学専攻
学位論文名	日本におけるヒトおよびネコ由来 <i>Bartonella henselae</i> のゲノムタイピングによる遺伝子型分布に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 山本 容正 (副査) 教授 杉山 治夫 教授 三善 英知

論文内容の要旨

〔目的〕

猫ひっかき病 (Cat scratch disease: CSD) はネコからヒトに伝播する人獣共通感染症で、その病原体は *Bartonella henselae* である。CSD はリンパ節腫脹と発熱を伴った定型例から不明熱、菌血症、感染性心内膜炎、肝脾肉芽腫などの非定型例まで、その臨床症状は多彩である。*B. henselae* は CSD 患者から分離が極めて困難であるため、わが国では CSD 患者由来菌株に関する分子疫学的研究は十分行われていない。近年、Multilocus sequence typing (MLST) 法に代表される塩基配列解析 (DNA sequencing-based typing method) による新しいゲノムタイピング法により、菌の分離が困難な場合でも微量の臨床材料から直接菌株のタイピングが可能となった。そこで本研究ではわが国における CSD 患者由来臨床材料およびネコ由来株を対象に塩基配列解析によるゲノムタイピングを行い、遺伝子型の分布とその関連性について検討した。

〔方法ならびに成績〕

対象は1997年から2008年に山口県を含む西日本各地から寄せられた *B. henselae* 特異DNA陽性CSD患者各種臨床材料 (CSD患者由来株) 24例と2003年から2004年に西日本 (主に山口県) の飼い猫290例の血液から分離した31菌株 (ネコ由来株) の計55例である。MLSTはArvandらの方法に準じ、8種類のハウスキーピング遺伝子 (16S rRNA, *batR*, *ftsZ*, *gltA*, *groEL*, *nipD*, *ribC*, *rpoB*) の約320-500bpの塩基配列からSequence Type (ST) を決定した。15bpのvariable number tandem repeat (VNTR) をもつ16S-23S tRNA-Ala/tRNA-Ile intergenic spacer (S1) 配列によるゲノムタイピング (S1 genotype) はLiらの方法に準じ、その塩基配列からS1 genotypeを決定した。

1. CSD患者由来株およびネコ由来株のMLST解析

MLST型別解析により、55例のCSD患者およびネコ由来 *B. henselae* は3つの異なるST (ST-1、ST-6、ST-

15) に分類された。CSD患者由来24例はすべてST-1であった。一方、ネコ由来株では、28株 (90.3%) がST-1に、2株 (6.5%) がST-6に、残る1株 (3.2%) が新規ST-15であった。このことからわが国ではST-1が流行型であることが明らかになった。

2. MLSTによる分子系統解析

既知の14のSTと本研究で初めて得られたST-15について分子系統解析を行ったところ、ST-15はGroup 1に属し、ST-1に非常に近縁であった。一方、ネコ由来株の2株でみつかったST-6はST-1やST-15とは異なるグループに属し、分子系統学的にも離れていた。

3. CSD患者由来株およびネコ由来株のS1 genotype解析

次に、より詳細に菌株間の相違を調べるため、高度な多様性を有するintergenic spacer S1配列によるS1 genotypeの解析を行った。その結果、8つのS1 genotypeに分類することができ、このうち、3つは新規の遺伝子型であった。CSD患者由来株では24例中12例 (50.0%) がS1 genotype 4と最も多く、次いでgenotype 5が9例 (37.5%)、genotype 3、genotype 7、genotype 8がそれぞれ1例 (4.2%) ずつであった。一方、ネコ由来株ではS1 genotype 4が14株 (45.2%) と最も多く、次いでS1 genotype 5が10株 (32.3%)、新規S1 genotype 12が2株 (6.5%)、S1 genotype 7と新規S1 genotype 11がそれぞれ1株 (3.2%) であった。残る3株 (9.7%) はゲノム中の2カ所のspacer S1領域で異なるS1 genotype 7とS1 genotype 4をもつ複合型の新規S1 genotype 7+4であった。MLST でST-1となった52例は7つのS1 genotypeに分類された。さらに、2つの主要なS1 genotype 4と5がCSD患者由来株とネコ由来株の両方で認められたことから、ネコの間で流行しているS1 genotypeがヒトへの感染に関与していることが示唆された。

〔総括〕

わが国において、流行型の *B. henselae* MLST ST-1はクローナルな集団ではなく、intergenic spacer S1の配列多型 (S1 genotype) に基づき多様な集団であることが明らかになった。同時に、わが国の *B. henselae* にはspacer配列を指標にしたタイピング法が有用であることも明らかとなった。さらに、S1 genotype解析から、主要なS1 genotype 4と5がCSD患者由来株とネコ由来株の両方で認められたことから、ネコの間で流行しているS1 genotypeがヒトへの感染に関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

猫ひっかき病 (Cat scratch disease: CSD) の原因菌 *Bartonella henselae* は患者からの分離が困難な病原体であるため、わが国ではCSD患者由来菌株の解析は十分に行われておらず、その詳細は不明である。近年、Multilocus sequence typing (MLST) 法に代表される塩基配列解析による新しいゲノムタイピング法により、菌の分離が困難な場合でも微量の臨床材料から直接菌株のタイピングが可能となった。そこで本論文では、わが国のCSD患者由来およびネコ由来 *B.*

*henseiae*を対象として、塩基配列解析によるゲノムタイピングを行った結果、ハウスキーピング遺伝子の配列多型をタイピングの指標としたMLST型別解析ではそのほとんどが同一の遺伝子型として分類されたのに対し、spacerの配列多型を指標としたS1 genotype型別解析では、S1 genotype 4と5を主体とする多様な集団であることを明らかにした。さらに、主要なS1 genotype 4と5がCSD患者由来株とネコ由来株の両方で認められたことから、ネコの間で流行しているS1 genotypeがヒトへの感染に関与していることが示唆された。

本論文は、わが国におけるCSD患者由来およびネコ由来*B. henseiae*の遺伝子型の分布とその関連性について明らかにしたもので、学位授与に値すると認める。