論文審査の要旨

報告番号	総研第 696 号	学位申請者	中江 広治
審査委員	主査 中田 恒宣	学位	博士（医学）
	副査 橋口 照人	副査	郡山 千早
	副査 大貝 悠一	副査	児玉 祐一

Diversification of *Escherichia albertii* H-antigens and Development of H-Genotyping PCR

新興下痢症病原体 *Escherichia albertii* における鞭毛 H 抗原の多様性と遺伝子型別法の開発

Escherichia albertii は、*Escherichia* 属のグラム陰性通性嫌気性桿菌で、2003 年に新たに命名された新興下痢症病原体である。本菌による複数の集団感染事例が報告され、集団感染の探知や疫学情報のサーベイランスのため、型別法の開発は急務となっている。*E. albertii* の O 抗原の多様性を利用した遺伝子型別法はすでに開発されているが、H 抗原（鞭毛抗原）の多様性については解析されておらず、型別法も構築されていない。本研究では *E. albertii* の H 抗原をコードする *fliC* 遺伝子の多様性を解明し、multiplex PCR を利用した迅速 H 抗原遺伝子型別法 (EAH-genotyping PCR)の開発を試みた。

はじめに、公共データベースに登録されている 243 株の *E. albertii* の *fliC* 遺伝子を含む領域を抽出し、同定された *fliC* 遺伝子配列と *Escherichia coli* H 抗原遺伝子配列について MEGA を用いて系統解析した。次に EAH-genotype (EAHg)の代表株の塩基配列を clustalW で比較し、得られた結果から EAHg を同定できる multiplex PCR 系を開発し、国内で分離された *E. albertii* 92 株を用いて検証した。さらに既報の 243 株の *E. albertii* の高精度ゲノム系統樹に、O 抗原遺伝子型 (EAOg)と本研究で同定した EAHg をマッピングした。

その結果、本研究で以下の知見が明らかになった。

1) *fliC* 遺伝子の系統解析で、*E. albertii* は *E. coli* とは別の単系統の枝を形成した。
2) 塩基配列の相同性から *E. albertii* には 4 種類の H 抗原遺伝子型 (EAHg1-EAHg4)がみられた。
3) *E. albertii* の H 抗原は内部ドメイン(D0, D1)は高度に保存され、表面ドメイン(D2, D3)には多様性がみられた。
4) 4 種類の EAHg に保存された配列上の共通プライマーと多様性のある配列上の各 EAHg 特異的プライマーで構成された EAH-genotyping PCR は、EAHg の型別に有用であった。
5) 国内分離株 92 株はすべて EAHg1-EAHg4 のいずれかに分類され、EAHg4 (39 株, 42.4%) が最多であった。また、海外分離株を含む 243 株においても EAHg4 (109 株, 44.9%) が最多だった。
6) 各 EAHg は複数の系統に分布しており、EAHg と EAOg の分布には相関はなかった。

E. albertii において、H 抗原の表面ドメイン配列の多様性から、*fliC* 遺伝子は宿主における、ある種の免疫学的選択あるいは環境的選択を受けていることが示唆された。また、*E. albertii* の H 抗原型は 4 種類しか同定されず、*E. coli* の H 抗原型が 53 種類あることと比較し、極めて多様性が低いことがわかった。このことから、*E. albertii* が限られた自然宿主や環境においてのみ生息し、鞭毛が生活サイクルの限られた段階で発現、機能している可能性が考えられる。

本研究によって、*E. albertii* における 4 種類の H 抗原型をもとに構築した EAH-genotyping PCR を開発した。EAH-genotyping PCR は O 抗原遺伝子型別と組み合わせて使用することで、*E. albertii* 感染症の疫学研究に有用なツールになると考えられる。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。