

最終試験の結果の要旨

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 匡宣	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
<p>主査および副査の5名は、令和4年11月22日、学位申請者 中江 広治 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。</p> <p>具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。</p> <p>質問1) <i>Escherichia albertii</i> について血清型を調べていないのはなぜか。 (回答) 構築された O 抗原の遺伝子型別法があったことから、今回は H 抗原を対象に遺伝子型を調べた。今後臨床的な重要度が高まれば、血清型別も構築する意義がある。</p> <p>質問2) H 抗原の血清型別の実行可能性はあるか。 (回答) 実行可能性はある。今後抗体作製を検討する予定である。</p> <p>質問3) <i>fliC</i> に着目して型別をしているが、<i>fliC</i> のホモログに対する解析は行ったか。 (回答) <i>fliC</i> のホモログに対する詳細な解析は今回行っていない。</p> <p>質問4) <i>E. albertii</i> において特異的な病原因子はないのか。 (回答) <i>cdtB</i> のサブタイプである <i>cdt-II</i> は多くの <i>E. albertii</i> に保存され、<i>Escherichia coli</i> の持つサブタイプとは異なるため、比較的特異性の高い遺伝子である。他に <i>E. albertii</i> に特異的な病原因子の報告はこれまでのところない。</p> <p>質問5) <i>E. albertii</i> と <i>E. coli</i> の <i>fliC</i> の系統樹から <i>E. albertii</i> においては多様性が低いと考えられるが、抗血清を作成した場合に4つに区別できるのか。 (回答) 区別できない可能性はあるが、現時点ではわからない。</p> <p>質問6) <i>fliC</i> の N 末端側と C 末端側のみ保存性が高く、鞭毛の外側の部分に多様性があつたがこれは菌の生存にとって有利も不利もないから多様性が増えると考えなのか、それとも環境適応に重要だからなのか。 (回答) 後者と考える。鞭毛は宿主における免疫学的選択あるいは環境的选择を受けるため多様性が増えると考え。</p> <p>質問7) <i>E. albertii</i> の高精度ゲノム系統樹で clade 1 と 2 に分かれるが、病原性や病原因子は clade ごとに偏ってはいないか。 (回答) 各 clade に特異的な病原因子は同定されておらず、病原性の違いもみられなかった。</p> <p>質問8) <i>E. albertii</i> の O 抗原と H 抗原で相関がないのは、進化速度の違いがリボ多糖と鞭毛で違うからか。 (回答) <i>E. albertii</i> と <i>E. coli</i> 間で O 抗原遺伝子群が水平伝播することは証明されているため、進化系統に一致しないこともある。進化速度との関連が示唆されたという報告はない。</p> <p>質問9) 鞭毛は低温、飢餓状態で発現するとのことだが、患者の体内では発現しないか。 (回答) in vivo での報告はないためあくまで推測だが、おそらく発現しないと考える。</p> <p>質問10) 一般的に O 抗原と H 抗原は組み合わせて使用するのか。それとも、どちらかがわかれば十分なのか。 (回答) 基本的には O 抗原と H 抗原のそれぞれ単独よりも、組み合わせて用いた方が菌株の識別には有効である。</p>				

最終試験の結果の要旨

(696)

質問 11) 型別法によって臨床的に対応が変わるのか。

(回答) 現在のところ型別と病原性に相関はないので、臨床的な対応は変わらない。

質問 12) 腸管出血性大腸菌感染症や細菌性赤痢は感染症法で 3 類感染症にあたるが、*E. albertii* はどのような扱いになるのか。

(回答) 症状からは 5 類感染症の感染性腸炎に含まれ、現在のところ 3 類感染症には含まれない。食中毒として届出の場合は、「その他の病原性大腸菌」として扱われる。

質問 13) 今回の multiplex EAH-genotyping PCR で臨床的には *E. albertii* を特異的に検出できればよいのではないか。

(回答) 臨床においては *E. albertii* を同定できれば各 EAHg は必須ではないが、疫学研究のツールとして、multiplex EAH-genotyping PCR は必要と考える。

質問 14) 分離された年において EAHg の検出頻度の差があるか。

(回答) EAHg4 が主であるが、分離された年での各 EAHg の検出頻度に差はなかった。

質問 15) MALDI-TOF-MAS であれば *E. albertii* をしっかり同定できるか。

(回答) 現在はデータベースにいくつかの菌株が含まれているが、MALDI-TOF-MAS による識別制度には限界がある。

質問 16) EAH-genotyping PCR をトリの分離株で検証しているが、トリの種類は何か。

(回答) 日本ではハトでの分離頻度が高く、今回の分離株にはハト由来株が多く含まれていた。しかし、他の野鳥でも検出されており、特に限定されたトリの種類はない。

質問 17) DNA ポリメラーゼを使用時に大腸菌のコンタミネーションは気にしなくてよいか。

(回答) 市販の DNA ポリメラーゼでは、少なくとも PCR 結果に影響するようなコンタミネーションはない。

質問 18) *E. albertii* の全ゲノムでの系統樹で clade 1 と 2 に分かれるが、進化系統としてどのくらいの時間差があるか。

(回答) 進化系統としての時間差はわからない。

質問 19) 選択圧について *E. albertii* において例えばどのようなことが考えられるか。

(回答) 宿主の免疫、特に抗体による選択圧が考えられる。また環境においては、温度、水質などが挙げられる。

質問 20) *E. albertii* の O 抗原の遺伝子型は何種類あるか。

(回答) 現在 40 種類あるが、未同定の株も存在する。

質問 21) ゲノムに関して O 抗原と H 抗原で違いはあるか。

(回答) O 抗原は 40 種類のうち 20 種類は大腸菌や赤痢菌と類似性があり、種間の水平伝播が起こるため塩基配列の相同性が高いものもある。一方、H 抗原は種間の水平伝播はみられないため、大腸菌との塩基配列の相同性は 90%前後で相同性は低い。

質問 22) *E. coli* の H 抗原が 53 種類あり、*E. albertii* の H 抗原は 4 種類とのことだが、この違いはどこに起因すると考えられるか。

(回答) *E. coli* に比べて *E. albertii* は生物学的ニッチが狭いことに起因すると考える。

質問 23) *E. coli* と比較し、*E. albertii* の宿主は多いか、少ないか。

(回答) ヒト、ウシ、ブタなど様々な種類を宿主とする *E. coli* と比較すると、*E. albertii* の宿主は少ない。

質問 24) 鞭毛が低温でのみ発現するとのことだが、何°Cくらいか。

(回答) 20°Cで発現するとの報告がある。より具体的な境界温度はわからない。

質問 25) *E. albertii* の鞭毛のように低温でのみ発現するグラム陰性菌はあるか。

(回答) 低温でのみ鞭毛が発現するグラム陰性菌は知られていない。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。