

小山 耕太 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

新興感染症菌ヘリコバクター・シネディの高感度検出法の開発と感染疫学研究への展開
(Development and epidemiological application of a novel detection method for *Helicobacter cinaedi* infection)

Helicobacter cinaedi (*H. cinaedi*)はヒトや動物の腸管・肝臓から検出される Enterohepatic *Helicobacter* species に属し、1984年に初めてヒトへの感染が確認された新興感染症菌である。近年、免疫異常のない術後患者に敗血症を伴う蜂窩織炎の原因菌として注目を浴びつつある。*H. cinaedi* 感染の同定には血液培養や血清診断法 (ELISA) が行われているが、血液培養は時間がかかり、ELISA 法は本菌感染既往の診断は可能であるが、今現在菌を保有しているか否かの判定が困難であることから、*H. cinaedi* 感染の早期診断や治療効果判定のために PCR 法による菌体 DNA の検出系の開発を試み、臨床検体および感染マウス検体を用いてその有用性についての解析を行った。

H. cinaedi cytolethal distending toxin subunit B (*cdtB*) 遺伝子 (GenBank: ABQT01000017.1, AF243080.1) にプライマーを設定し、nested PCR 法により検討が行われた。検出特異性は、*Helicobacter* 属および *Campylobacter* 属の菌の DNA が用いられ、検出感度は、各種菌量の本菌を感染させた培養マクロファージと、本菌を腹腔内投与した感染モデルマウス (血液、尿、便) を用いて評価された。また、本菌感染による蜂窩織炎を発症した患者から発症経過に沿って採取された各種検体試料 (血液、尿、便) について、本 PCR 法による解析を行った。さらに、健常者 274 名の便を用いて、本法による保菌者のスクリーニングと便培養による本菌の検出が試みられた。

RAW 264.7 細胞を用いた検出感度は、 10^2 cfu/ 10^5 cells であった。ddy マウス腹腔内に本菌投与 (1×10^8 cfu) 後、経時的に血液および尿を採取し、nested PCR を行ったところ、血液では 1 時間後から 6 時間後まで、尿では 24 時間後まで、便では 3 サンプル中 2 サンプルにおいて PCR 産物が検出された。*H. cinaedi* 感染 (血液培養陽性例) 患者 4 名および疑い症例 1 名においても、それぞれ血液、尿、便から PCR 産物を検出可能であり、抗菌薬治療による陰性化が確認された。また、健常者 274 名便抽出 DNA を用いた検討では、9 名において PCR 産物が検出された。感染患者及び健常者検出された *H. cinaedi* 菌株の DNA の *cdtB* 遺伝子配列には統一性はなく、複数の遺伝子株が存在することが判明した。PCR 産物が検出された 9 名の便培養では、5 名の検体から *H. cinaedi* の発育が認められた。これらの検討により、nested PCR 法の有用性が確認された。*H. cinaedi* は、健常者の腸管に定着している可能性が強く示唆され、発症要因は *H. cinaedi* 既往感染者やキャリアー健常者が手術を契機に感染症を発症する、自家感染である可能性が示唆された。

審査においては、ELISA 法と比べた場合の nested PCR 法の有利な点、術後感染症と免疫不全者に発症した場合に症状の違い、B subunit に PCR を設定した理論的根拠、CDT トキシンと病態との関連性、術後蜂窩織炎の院内感染の可能性、ニューキノロン耐性機序、等についての質疑応答がなされ、申請者からは明快で適切な回答が得られた。

本研究は、*H. cinaedi* 感染の nested PCR 法による迅速で特異的な検出法を開発し、本法の *H. cinaedi* 感染の早期診断、治療効果判定および疫学調査における有用性を示した臨床的に高い意義のある研究として、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長 エイズ学Ⅲ担当教授

岡田誠治