

氏名 (本籍)	安田 満 (岐阜県)
学位の種類	博士 (医学)
学位授与番号	甲第 353 号
学位授与日付	平成 9 年 12 月 17 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Development and Clinical Application of a Polymerase Chain Reaction-Based Assay for Detecting <i>Bacteroides ureolyticus</i>
審査委員	(主査) 教授 河田 幸道 (副査) 教授 江崎 孝行 教授 渡邊 邦友

論文内容の要旨

*Bacteroides ureolyticus*は女性の泌尿器系、会陰部膿瘍、肺膿瘍から分離される偏性嫌気性菌である。この菌種は非淋菌性尿道炎を含めた種々の感染の起炎菌といわれているが、その病原性については未だ確立されていない。またこの菌の同定には特殊な輸送培地を用い、かつ嫌氣的培養が必要であるため、検出までかなりの時間が必要であり、さらに手技が煩雑であることより、培養法により同菌を検出し病原性を検討することが非常に困難であった。近年、分子生物学的診断法の進歩により、特異性、感度に優れた polymerase chain reaction (PCR) 法が開発され、培養困難な各種感染症起炎菌の同定に応用されている。そこで、申請者はPCR法を応用した*B. ureolyticus*の検出法を開発し、日本人男子非淋菌性尿道炎患者および無症候男子より採取した尿道擦過物を用いて同菌の検出頻度を比較検討した。

研究方法

1. *B. ureolyticus*の16S ribosomal RNA遺伝子の塩基配列に相補的な3種類のoligonucleotideを作製した。この内上流側、下流側の2種類のoligonucleotideをprimerとしてPCRを行い、その後電気泳動を施行し、塩基配列から予測されるDNAの増幅を観察した。さらに残りのoligonucleotideをinternal probeとしてsouthern blot hybridizationを行い、本PCR法で増幅された*B. ureolyticus*のDNAの有無を確認した。
2. 基礎的検討として、本PCR法による*B. ureolyticus*検出の特異性および*B. ureolyticus*の検出感度の検討を行った。
3. 臨床的検討として、日本人男子非淋菌性尿道炎患者114名および無症候男子50名より採取した尿道擦過物を用いて本PCR法を行い、その検出頻度を検討した。その際*Chlamydia trachomatis*についても同様に培養法とPCR法を用いて検出し、非淋菌性クラミジア性尿道炎との関係も比較検討した。検出頻度の比較は、Fisherの直接確率計算法を用いて検討し、 $P < 0.05$ のとき、有意と判断した。

研究結果

1. 本PCR法により*B. ureolyticus*ではDNAの増幅を認めたが、他のBacteroides属、尿道常在菌や尿道炎起炎菌での増幅は認められず、本PCR法は*B. ureolyticus*に特異的であった。また*B. ureolyticus*18個由来のDNA量まで検出可能であった。
2. 日本人男子非淋菌性尿道炎患者114名中22名 (19.3%)、無症候男子50名中6名 (12.0%) で*B. ureolyticus*が本PCR法にて検出されたが、両者の検出率に有意差は認められなかった。また、日本人男子非淋菌性尿道炎患

者114名中31名 (27.2%)、無症候男子50名中1名 (2.0%) で*C. trachomatis*が検出された。*B. ureolyticus*、*C. trachomatis*が同時に検出されたのは、日本人男子非淋菌性尿道炎患者114名中6名 (5.3%)、無症候男子では50名中0名であり、非淋菌性クラミジア性尿道炎患者と非淋菌性非クラミジア性尿道炎患者での*B. ureolyticus*の検出率に関しても有意差は認められなかった。このことより*B. ureolyticus*は非淋菌性尿道炎の起炎菌として重要でないと考えられた。

3. 本PCR法は特異性、感度ともに高く、また迅速かつ簡単に施行できることより、尿道炎を含めた感染症における*B. ureolyticus*の病原性の検討に利用できると考えられた。

論文審査結果の要旨

申請者安田満はPCR法を応用し、特異性、感度に優れた*B. ureolyticus*の検出方法を世界で初めて開発した。さらに同法を用い男子尿道炎患者及び無症候男子より*B. ureolyticus*の検出を行い、*B. ureolyticus*が男子尿道炎起炎菌の可能性が低いことを示唆する所見を得た。本研究の成果は同菌の他領域での病原性の研究にも応用可能であり、泌尿器科学ならびに感染症学の進歩に少なからず寄与するものと認められる。

[主論文公表誌]

Development and Clinical Application of a Polymerase Chain Reaction-Based Assay for Detecting *Bacteroides ureolyticus*

Journal of Infection and Chemotherapy 3(3): 150~153, 1997.