尿路性器感染症における *E. coli* の病原性因子について

その3. 病原性因子としての線毛の尿路臓器特異性

岡山大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 大森弘之教授)

那 須 良 次

THE VIRULENCE FACTOR OF *E. COLI* IN GENITOURINARY TRACT INFECTIONS

3. Fimbrial Specificity to Genitourinary Organs

Yoshitsugu Nasu

Department of Urology, Okayama University Medical School

(Director: Prof. Hiroyuki Ohmori)

In vitro tests of *E. coli* adhesion to the human bladder, renal pelvis, kidney, and prostate were performed. In these tests, six strains of *E. coli* isolated from patients with genitourinary tract infections were used; 5 strains were regulated phase variants and 1 strain was non-fimbriated.

Type 1 fimbriated strains adhered to the bladder and renal pelvis; MR-fimbriated strains did not.

E. coli OEN-132, which was a P-fimbriated strain, adhered to the renal tubules, while type 1 fimbriated strains did not.

E. coli OEP-141, an MR (non-P)-fimbriated strain, and OEP-162, an MR (including P)-fimbriated strain, adhered to the prostatic ducts, while type 1 fimbriated strains did not.

Consequently, type 1 fimbriae was thought to be a colonization factor of transitional cells in the urinary tract, while the MR fimbriae with different specificities that of the renal tubules and the prostatic ducts. The phase variation of *E. coli* between type 1 and MR fimbriae might be one of the most significant virulence factors in genitourinary tract infections.

要旨: 単純性尿路性器感染症由来 *E. coli* の regulated phase variants 5 株と非線毛株 1 株を用いて, *E. coli* の膀胱, 腎盂, 腎ならびに前立腺に対する in vitro での付着能の検討を行った。

膀胱ならびに腎盂の移行上皮に対しては type 1 線毛を有する株が強い付着能を有していたが, P 線毛を含む MR 線毛を有する株は付着しなかった。腎尿細管上皮に対しては P 線毛を有する OEN-132 株が付着能を有し, type 1 線毛を介する付着は認められなかった。前立腺腺上皮に対しては P 線毛以外の MR 線毛を有する OEP-141, OEP-162 株が強い付着能を有していた。

以上の成績より type 1 線毛は全尿路の移行上皮に対する定着因子となり, 腎ならびに前立腺にはそれぞれ異なる特異性を有する MR 線毛が定着因子となり得る可能性があること, ならびに type 1 線毛と MR 線毛との phase variant の存在が病原性因子として重要であることが示唆された。

結 言

尿路に基礎疾患のない単純性尿路性器感染症の発症には菌自体の病原性が重要な因子と考えられている。著者は, 単純性尿路性器感染症の各病態より分離された多数の *E. coli* を用いてその性状を詳細に検討し, 尿路病原性因子として, P 線毛の他に type 1 線毛が重要であること, ならびに P 線毛以外の MR 線毛も定着因子としての役割を有する可能性があることを報告してきた¹⁾²⁾。しかし, 尿路病原性 *E. coli* においては type

1 線毛と MR 線毛をともに有する株が多数を占めており, 個々の線毛の病原性が不明確となるきらいがある。各線毛の定着因子としての役割をより明確にする方法としては, 遺伝子工学の手法により, 線毛の発現を人為的に操作する方法³⁾⁴⁾の他に, 各種培養条件下での phase variants⁵⁾⁶⁾を用いる方法がある。

今回, 急性単純性膀胱炎, 急性単純性腎盂腎炎, 急性細菌性前立腺炎患者から分離された *E. coli* の中で, 培養条件により線毛の種類が容易に操作できる株

(regulated phase variants)を用いて、血球凝集法、グロボンド含有リボソーム凝集法²⁾に基づき線毛の分類を行った。その形態をネガティブ染色の手技を用いて電子顕微鏡で観察するとともに、手術的に摘出された組織に対する菌の付着実験を行い、尿路性器感染症の発症における定着因子としての個々の線毛の臓器特異性を検討した。

材 料

1. 試験菌

先に報告した¹⁾²⁾単純性尿路性器感染症由来 *E. coli* の中で各種性状が安定し、regulated phase variant である、OEC-738(O75, 急性単純性膀胱炎由来), OEN-132(O16, 急性単純性腎盂腎炎由来), OEP-141(O6, 急性細菌性前立腺炎由来), OEP-162(O4, 急性細菌性前立腺炎由来), OEP-195(O6, 急性細菌性前立腺炎由来)を、また非線毛株として OEC-757(O2, 急性単純性膀胱炎由来)の6株を実験に使用した。

試験菌を nutrient broth ならびに colonization factor antigen (CFA) agar⁷⁾ (pH 7.4) で、37℃、18~24 時間培養後、冷 phosphate-buffered saline (PBS), pH 7.4 にて 3 回洗浄し、 1×10^{10} /ml の菌体浮遊液を調整した。

2. 腎、膀胱、前立腺組織

本実験に供した組織は他の目的で手術的に摘出された臓器の一部を用いた。すなわち、腎実質は腎癌患者(男性、血液型 O, P₂)から、腎盂粘膜は腎癌患者(男性、血液型 O, P₁ ならびに男性、血液型 O, P₂)から摘出されたものであり、癌組織から隔絶された健常な腎実質ならびに腎盂粘膜を用いた。膀胱粘膜は前立腺肥大症患者(男性、血液型 O, P₂)の前立腺摘出時に得られた膀胱粘膜を用いた。前立腺は膀胱癌患者(男性、血液型 O, P₂)から摘出されたものであり、膀胱癌浸潤は認められなかった。

腎盂、膀胱上皮は PBS で 2 回洗浄後直ちに付着実験に供した。

腎、前立腺組織は TISSUE-TEK II (LAB-TEK) にて厚さ 4 μ m の凍結切片を作成し無蛍光スライドガラス上に載せ、冷 3.5% パラホルムアルデヒド液で室温、10 分間固定した。PBS で 2 回洗浄後、付着実験に供した。

方 法

1. 各種培養条件による各菌株の性状確認試験

(1) 血球凝集

マンノース感受性血球凝集 (mannosesensitive

haemagglutination: MS-HA) はモルモット血球を、マンノース非感受性血球凝集 (mannoseresistant haemagglutination: MR-HA) は O 型ヒト赤血球 (P₁, P̄) を用い Duguid らの rocked tile test⁸⁾ に準じて行った。今回は、培養条件ならびに反応温度による凝集能の差異を確認するために、試験菌を nutrient broth, CFA agar 双方で培養し、4℃、18℃、37℃の条件下で rocked tile test を行い比較した。

(2) グロボンド含有リボソーム凝集²⁾

試験菌を nutrient broth, CFA agar で培養後、4℃、18℃、37℃の条件下で凝集試験を行った。

(3) ネガティブ染色法による線毛の観察

1% 酢酸ウラニウムによるネガティブ染色法を用いて試験菌の線毛の観察を行った。観察は明石 EM-002 A (80KV) にて行った。

2. in vitro 付着実験

(1) ヒト腎盂上皮、膀胱上皮への付着

菌体浮遊液と等量の PBS あるいは 6% (w/v) D-mannose 加 PBS の混合液中に組織片を入れ、4℃ ならびに 37℃ で 1 時間振盪した。反応後、PBS にて 3 回洗浄し、走査型電子顕微鏡 (SEM)、透過型電子顕微鏡 (TEM) 用の試料を作製した。

SEM 用試料の作製: 2.5% グルタルアルデヒド、1% 四酸化オスミウムで二重固定後、エタノール上昇系で脱水、酢酸イソアミルと置換し、日立 HCP-2 で臨界点乾燥を行った。日立 E-101 で白金パラジウムを蒸着し、日立 S-570 型 SEM (25KV) にて観察した。

TEM 用試料の作製: 2.5% グルタルアルデヒド、1% 四酸化オスミウムで二重固定後、エタノール上昇系で脱水した。プロピオンオキサライドで置換した後、Epon 812 に包埋した。Sorvall 社 MT2-B ウルトラトームで超薄切片を作製し、酢酸ウラニウム、硝酸鉛の二重染色を施した。観察は明石 EM-002A (80KV) にて行った。線毛の観察に際しては必要に応じて 1% タンニン酸処理を施した。

(2) ヒト腎ならびに前立腺切片への付着

菌体浮遊液と等量の PBS あるいは 6% (w/v) D-mannose 加 PBS の混合液中に凍結切片を載せたスライドガラスを入れ、4℃、1 時間振盪した。反応後、PBS にて 3 回洗浄し、間接蛍光抗体法にて菌の付着を観察した。すなわち、一次抗体として、抗 O 抗原ウサギ血清 (*E. coli* の血清型別を決定する際使用した抗血清、国立予防医学研究所 坂崎利一博士、田村和満博士より分与) PBS 10 倍希釈液を、室温、30 分間、次の

で正常ヤギ血清 (DAKOPATTS, Denmark) PBS 20倍希釈液を、室温、30分間、次いで、二次抗体として、FITC 標識抗ウサギ・ヤギ F (ab')₂ 部分 (JACKSON IMMUNORESEARCH LABORATORIES, U.S.A) PBS 50倍希釈液を、室温、30分間反応させ観察した。

結 果

1. Regulated phase variants としての各菌株の性状

血球凝集ならびにグロボシド含有リボソーム凝集の結果を Table 1 に示す。OEC-738, OEN-132, OEP-141, OEP-162, OEP-195は nutrient broth で培養した場合に MS-HA 陽性であったのに対し、CFA agar で

培養した場合には陰性であった。一方、OEN-132, OEP-141, OEP-162は CFA agar で培養した場合に MR-HA 強陽性を示したが、nutrient broth で培養した場合には凝集の程度は低かった。MS-HA は nutrient broth で培養した場合に、MR-HA は CFA agar で培養した場合に検出されやすかった。また、グロボシド含有リボソーム凝集は CFA agar で培養した場合、OEN-132株、OEP-162株で陽性であったが、nutrient broth で培養した場合には凝集性が低下した。以上の血球凝集、グロボシド含有リボソーム凝集の結果を基に各培養条件における菌株の有する線毛を分類すると Table 2 に示すようになる。

Table 1 Influence of culture conditions on haemagglutination and globoside-incorporated liposome agglutination.

	MS-HA		MR-HA		globoside	
	Broth*	CFA**	Broth	CFA	Broth	CFA
OEC-738 (cystitis)	⦿	—	—	—	—	—
OEC-757 (cystitis)	—	—	—	—	—	—
OEN-132 (pyelonephritis)	⦿	—	+	⦿	+	⦿
OEP-141 (prostatitis)	⦿	—	+	⦿	—	—
OEP-162 (prostatitis)	⦿	—	+	⦿	+	⦿
OEP-195 (prostatitis)	⦿	—	—	—	—	—

*: Nutrient broth, **: CFA agar

Table 2 Phase variation of fimbriae of each strain.

	Nutrient broth	CFA agar
OEC-738	type 1	none
OEC-757	none	none
OEN-132	type 1,mr*	MR (P)
OEP-141	type 1,mr*	MR (non-P)
OEP-162	type 1,mr*	MR (including P)
OEP-195	type 1	none

*mr: repressed phase of MR

温度の凝集に及ぼす影響を検討した結果を Table 3 に示す。MS-HA は温度の影響を受けないが、MR-HA、グロボシド含有リボソーム凝集は 4℃で最も強い反応を示し、温度が上がるにつれて反応が弱まっていた。特に、OEP-141は37℃の条件では全く凝集を示さなかった。

Nutrient broth で培養した OEC-738 (type 1線毛)、CFA agar で培養した OEN-132(P 線毛)、OEP-141(P 線毛を含まない MR 線毛) のネガティブ染色法による

Table 3 Influence of temperature on haemagglutination and globoside-incorporated liposome agglutination.

	MS-HA (Broth*)			MR-HA (CEA*)			globoside (CFA*)		
	4°C	18°C	37°C	4°C	18°C	37°C	4°C	18°C	37°C
OEC-738	⦿	⦿	⦿	—	—	—	—	—	—
OEC-757	—	—	—	—	—	—	—	—	—
OEN-132	⦿	⦿	⦿	⦿	⦿	+	⦿	+	+
OEP-141	⦿	⦿	⦿	⦿	+	—	—	—	—
OEP-162	⦿	⦿	⦿	⦿	⦿	+	⦿	+	—
OEP-195	⦿	⦿	⦿	—	—	—	—	—	—

*bracket shows pre-culture conditions

Fig. 1 *E. coli* OEC-738 pre-cultured in nutrient broth. Numerous type 1 fimbriae and several flagella are seen. 40,000 $\times$; bar=0.5 μ m.

TEM 像を Fig. 1, 2a, b, 3 に示す。今回観察した type 1 線毛, P 線毛, その他の MR 線毛は全て直径約7nm で中空の core を有する helical 構造で全体として直線的形態を有し, 超微形態的に鑑別することは困難であった。

なお, 血球凝集能, リボソーム凝集能とも有さない OEC-757, ならびに CFA agar で培養した OEC-738 (Fig. 4), OEP-195では線毛は観察されなかった。

2. in vitro 付着実験

(1) 尿路感染症由来株の尿路上皮, 腎実質への付着
試験菌の腎盂ならびに膀胱上皮, 腎実質への付着の有無を Table 4a, b に示す。Nutrient broth で培養した場合, OEC-738株, OEN-132株とも膀胱上皮, 腎盂上皮全体に様に密な付着を認めた。この付着は D-mannose で阻害を受け, type 1線毛によるものであることが証明された。Fig. 5a, b は OEC-738株の腎盂上皮への付着実験の SEM 像である。腎盂上皮一面に *E. coli* が密に付着しているのが観察され (Fig. 5a), D-mannose の存在下で付着は阻害されている (Fig. 5b)。OEC-738株の腎盂への付着を TEM にて観察したものが Fig. 6a である。*E. coli* の上皮への付着が線毛で媒介されていることが明確に捉えられている。通常

Fig. 2 *E. coli* OEN-132 pre-cultured in CFA agar (a). 40,000 $\times$, bar=0.5 μ m. Closeup view of P fimbriae; (b). The ultrastructural difference between type 1 and P fimbriae cannot be detected. 120,000 $\times$; bar=0.1 μ m.

の染色では cell coat の染色性が不良のため, 線毛と上皮細胞の microvilli との間に約10nm の間隙が認められるが, タンニン酸処理を施した Fig. 6b では, 線毛と腎盂上皮細胞, 特に, 複数の microvilli が直接結合していることが明瞭に捉えられている。なお, OEC-738株, OEN-132株の腎盂ならびに膀胱上皮への付着は 4 $^{\circ}$ C, 37 $^{\circ}$ C のいずれでも観察された。一方, CFA agar で培養した場合には, OEC-738株, OEN-132株とも腎盂ならびに膀胱上皮への付着は認められなかった。また, 線毛を持たない OEC-757株の尿路上皮への付着は認められなかった。

腎尿管上皮細胞への付着が観察されたのは CFA agar で培養した OEN-132株のみであり, Fig. 7 に示すように D-mannose の存在下で尿管上皮に一致し

Fig. 3 *E. coli* OEP-141 pre-cultured in CFA agar. Fimbrial morphology of OEP-141 is identical to that of OEC-738 and OEN-132. 40,000 $\times$; bar=0.5 μ m.

Fig. 4 *E. coli* OEC-738 pre-cultured in CFA agar. Note the absence of fimbriae. 40,000 $\times$; bar=0.5 μ m.

Table 4a Bacterial adhesion to epithelial cells of the urinary tract*.
(*E.coli* pre-cultured in nutrient broth)

	Bladder		Renal pelvis		Renal tubules 4°C
	37°C	4°C	37°C	4°C	
OEC-738 (type 1)	⦿	⦿	⦿	⦿	—
D-mannose present	—	—	—	—	—
OEN-132 (type 1 and mr)	⦿	⦿	⦿	⦿	—
D-mannose present	—	—	—	—	—
OEC-757 (none)	—	—	—	—	—
D-mannose present	—	—	—	—	—

*Reactions were carried out at 37°C or 4°C in the presence or absence of D-mannose.

Table 4b Bacterial adhesion to epithelial cells of the urinary tract*.
(*E.coli* pre-cultured in CFA agar)

	Bladder		Renal pelvis		Renal tubules 4°C
	37°C	4°C	37°C	4°C	
OEC-738 (none)	—	—	—	—	—
D-mannose present	—	—	—	—	—
OEN-132 (P)	—	—	—	—	⦿
D-mannose present	—	—	—	—	⦿
OEC-757 (none)	—	—	—	—	—
D-mannose present	—	—	—	—	—

*Reactions were carried out at 37°C or 4°C in the presence or absence of D-mannose.

Fig. 5 *E. coli* OEC-738 pre-cultured in nutrient broth adhere to the renal pelvis
(a). In the presence of D-mannose, adherence is inhibited (b).

Fig. 6a TEM of the adherence of *E. coli* OEC-738 to urothelium of the renal pelvis by type 1 fimbriae. Extremely long filamentous appendage, which mediates the attachment of the *E. coli* to the cell, is clearly seen. 80,000 $\times$; bar=0.2 μ m.

Fig. 6b TEM of the adherence of *E. coli* OEC-738 to urothelium of the renal pelvis. Direct connections of fimbriae to the cell membrane can be observed clearly in this tannic acid-stained preparation. 100,000 $\times$; bar=0.2 μ m.

て蛍光を発する菌体が多数証明された。
(2) 前立腺炎由来株の前立腺切片, 膀胱上皮への付着
試験菌の前立腺腺上皮細胞, 膀胱上皮への付着の有

Fig. 7 Adhesion of *E. coli* OEN-132 to the renal tubules observed by an indirect immunofluorescent method. Note specific attachment of *E. coli* to the luminal aspect of the tubules. 400×.

Fig. 8 Adhesion of *E. coli* OEP-141 to the prostatic ducts observed by an indirect immunofluorescent method. Note numerous *E. coli* adhere to epithelial cells of the prostatic ducts. 400×.

Table 5a Bacterial adhesion to the prostatic duct and the bladder epithelium.* (*E.coli* pre-cultured in nutrient broth)

	Prostatic duct 4°C	Bladder	
		4°C	37°C
OEP-141 (type 1 and mr)	—	⦿	⦿
D-mannose present	—	—	—
OFP-162 (type 1 and mr)	—	⦿	⦿
D-mannose present	—	—	—
OEP-195 (type 1)	—	⦿	⦿
D-mannose present	—	—	—

*Reactions were carried out at 37°C or 4°C in the presence or absence of D-mannose.

Table 5b Bacterial adhesion to the prostatic duct and the bladder epithelium.* (*E.coli* pre-cultured in CFA agar)

	Prostatic duct 4°C	Bladder	
		4°C	37°C
OEP-141 (MR, non-P)	⦿	—	—
D-mannose present	⦿	—	—
OEP-162 (MR including P)	⦿	—	—
D-mannose present	⦿	—	—
OEP-195 (none)	—	—	—
D-mannose present	—	—	—

*Reactions were carried out at 37°C or 4°C in the presence or absence of D-mannose.

立腺腺上皮細胞への付着が認められたのは CFA agar で培養した OEP-141株, OEP-162株の 2 株であった。Fig. 8 に OEP-141株の前立腺腺上皮への付着を示す。D-mannose の存在下で前立腺腺上皮に一致して蛍光を発する菌体が多数証明された。膀胱上皮への付着は D-mannose の存在下で完全に阻害されたが、前立腺腺上皮への付着は D-mannose の存在下でも阻害を受けず MR 線毛を介するものと考えられた。

考 察

一般に、感染症成立の第一段階は、標的臓器への定着である。尿路に基礎疾患のない宿主に尿路感染症が発生する場合、細菌は尿流に抗して尿路に定着する必要がある、尿路上皮への付着能（定着因子）の有無が感染の成立に重要になってくる。

1976年に Svanborg-Edén ら⁹⁾が小児急性腎盂腎炎由来 *E. coli* は無症候性細菌尿由来株に比べ尿中剝離細胞への付着が有意に高いことを in vitro で証明して以来、*E. coli* の尿路における病原性因子のひとつとして定着因子が重要視されるようになった。1980年に Källenius ら¹⁰⁾によりマンノース非感受性血球凝集 (MR-HA) を媒介する線毛が尿路上皮細胞への付着に関与していることが明らかにされ、1981年には Källenius ら¹¹⁾, Leffler ら¹²⁾より、尿路上皮細胞への付着に関与している線毛がヒト P₁血球の表面に存在するグロボシド系糖脂質の α-D-Galp-(1-4)-β-D-Galp 部分と特異的に反応することが示され、P 線毛と命名された。

無を Table 5a, b に示す。膀胱上皮への付着は nutrient broth で培養した場合 3 株全てに認められたが、前

E. coli の付着能の検出法として尿中剝離細胞を材料とした *in vitro* の付着実験は簡便かつ有用な方法であるが、尿中に含まれる上皮細胞は膀胱三角部より遠位の扁平上皮細胞が主であり¹³⁾、尿路上皮の主体を占める移行上皮への付着を反映していない可能性がある。また、付着実験に供される剝離細胞は健康な女性から得られたものが使用されているが、女性の場合、剝離上皮の回収が容易で実験には好都合であるが、性周期により剝離上皮に対する細菌の付着性に変化が生じることが報告されている¹⁴⁾¹⁵⁾。したがって、尿路の移行上皮に対する正確な *E. coli* の付着試験は尿中剝離上皮ではなく、膀胱ないし腎盂の組織そのものを用い、しかも性周期の影響をうけない男性患者から抽出された材料が最適と考えられる。本実験では走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いることで、尿路移行上皮細胞表面への *E. coli* の付着を *en bloc* の状態で直接観察することが可能となり、再現性の高い実験結果を得ることに成功したと言える。

また、MR 線毛によって起こる MR-HA は 3～5℃ の条件下で最も強く生じ、温度が上がるにつれて *E. coli* が血球表面から離れる現象 (eluting) により凝集が消えていくことが報告されている¹⁶⁾。今回使用した菌株でも MR-HA、グロボシド含有リポソーム凝集は反応温度の上昇につれ弱まっていた。従来の *in vitro* の付着実験では上皮細胞と *E. coli* を混和し 37℃ で 1 時間反応させているが、37℃ では MR 線毛を介する反応が抑制される可能性もあり、温度設定を 4℃、37℃ として付着実験を行った。しかし、MR 線毛を介する尿路上皮への付着は 4℃、37℃ ともにみとめられず、type 1 線毛を介する付着は温度の影響をうけなかった。

今回の付着実験で注目されるのは膀胱上皮あるいは腎盂上皮といった常に尿に晒されている尿路上皮への *E. coli* の付着が P 線毛をはじめとする MR 線毛ではなく type 1 線毛を介する付着であることが明らかになった点である。type 1 線毛の定着因子としての意義について、Iwahi ら¹⁷⁾、Schaeffer ら¹⁸⁾ はマウスで、Keith ら¹⁹⁾ はラットで膀胱上皮への付着が type 1 線毛を介する付着であることを報告しているものの、現在までは、P 線毛に比べると必ずしも重要視されていなかった。急性単純性膀胱炎、急性単純性腎盂腎炎から分離される尿路由来株では type 1 線毛を有する株がともに 80% 以上、急性細菌性前立腺炎由来株では 95.8% を占めているのに対し、健康者糞便由来株では 44.1%

に過ぎないことから、type 1 線毛が尿路での定着因子である可能性が高いことを先に報告したが²⁾、今回の実験により実証されたと言える。

一方、急性腎盂腎炎では感染病巣の主座はあくまでも腎であり、腎実質に炎症が波及しはじめて発熱等の全身的な生体反応が生じてくる。感染の第一段階として尿流に面した移行上皮に定着した細菌が、いかに腎実質に定着しそこで増殖するかが次の問題である。つまり、Roberts の言う *intrarenal reflux*²⁰⁾ などにより腎内に侵入した細菌の腎尿管への定着が急性腎盂腎炎成立の第二段階と考えられる。また、急性細菌性前立腺炎においても尿の前立腺内への逆流が前立腺炎の発症に関与していると考えられ²¹⁾²²⁾、前立腺腺腔へ侵入した細菌の定着性が問題になってくる。今回行った腎、前立腺組織での *E. coli* の付着能の実験は、この第二段階において P 線毛をはじめとする MR 線毛が定着因子として重要な役割を演ずるか否かについて検討を加えたものである。

ヒトの摘出腎を用いた *E. coli* の付着実験は Valsanen-Rhen ら²³⁾ により考案された方法であるが、P 線毛を有する *E. coli* が尿管、集合管さらには腎内の血管内皮細胞に特異的に付着し得ることが報告されている²⁴⁾²⁵⁾。今回の実験でも、CFA agar で培養した OEN-132 株のみでマンノース非感受性の付着性が認められ、この付着は P 線毛によるものと解釈される。一方、同様の手法を用いて検討した前立腺組織における付着実験において、P 線毛以外の MR 線毛による前立腺腺上皮細胞への付着様式を今回はじめて捉えることができた。つまり、尿路の移行上皮の場合とは異なり、腎、前立腺組織では type 1 線毛を介する付着は認められず、MR 線毛による付着のみが認められるという点で興味ある実験結果と考えられる。

線毛の定着因子としての意義は未だ不明な点も少なくないが、*in vitro* の付着実験の結果から、type 1 線毛は感染の第一段階として *E. coli* が尿流に抗して尿路移行上皮へ付着、定着する際の定着因子として関与し、さらに急性腎盂腎炎、急性前立腺炎に進展する場合、腎では P 線毛が、前立腺では P 線毛以外の MR 線毛が第二段階の標的臓器への定着因子として重要な役割を演じているものと考えられる。

最後に、この 2 種類の線毛の発現が単一菌の *phase variation* として起こり得るという事実、ならびに、type 1 線毛と MR 線毛の連関する *E. coli* が尿路性器感染症由来株から高頻度に分離されるという事実²⁾

は、この2種類の線毛の連関と phase variation が尿路性感染症における最も重要な病原性因子である可能性を示唆するものである。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲頂いた恩師大森弘之教授、直接御指導頂いた公文裕巳講師から感謝致します。また、研究の遂行にあたり御協力頂いた大野勝雄技術長、横田律子技術員ならびに泌尿器科教室員各位ならびに深謝致します。

文 献

- 1) 那須良次：尿路性感染症における *E. coli* の病原性因子について。その1。急性単純性膀胱炎由来株の性状。日泌尿会誌，投稿中。
- 2) 那須良次：尿路性感染症における *E. coli* の病原性因子について。その2。P 線毛の検出と病態との関連性。日泌尿会誌，投稿中。
- 3) Hull, R., Gill, R., Hsu, P., Minshew, B. and Falkow, S.: Construction and expression of recombinant plasmids encoding type 1 or D-mannose-resistant pili from urinary tract infection *Escherichia coli* isolate. *Infect. Immun.*, 33, 933—938, 1981.
- 4) O'Hanley, P., Lark, D., Falkow, S. and Schoolnik, G.: Molecular basis of *Escherichia coli* colonization of the upper urinary tract in BALB/c mice. *J. Clin. Invest.*, 75, 347—360, 1985.
- 5) Abraham, J.M., Freitag, C.S., Clements, J.R. and Eisenstein, B.I.: An invertible element of DNA controls phase variation of type 1 fimbriae in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 82, 5724—5727, 1985.
- 6) Hultgren, S.J., Schwan, W.R., Schaeffer, A.J. and Duncan, J.L.: Regulation of production of type 1 pili among urinary tract isolated of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 54, 613—620, 1986.
- 7) Evans, D.G., Evans, D.J. Jr. and Tjoa, W.: Hemagglutination of human group A erythrocytes by enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from adults with diarrhea: Correlation with colonization factor. *Infect. Immun.*, 18, 330—337, 1977.
- 8) Duguid, J.P., Clegg, S. and Wilson, M.I.: The fimbrial and non-fimbrial haemagglutinins of *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol.*, 12, 213—227, 1979.
- 9) Svanborg-Edén, C., Hanson, L.A., Jodan, U., Lindberg, U. and Akerlund, S.A.: Variable adherence to normal human urinary-tract epithelial cells of *Escherichia coli* strains associated with various forms of urinary-tract infection. *Lancet*, ii, 490—492, 1976.
- 10) Källenius, G., Möllby, R. and Winberg, J.: In vitro adhesion of uropathogenic *Escherichia coli* to human periurethral cells. *Infect. Immun.*, 28, 972—980, 1980.
- 11) Källenius, G., Möllby, R., Svenson, S.B., Winberg, J., Lundblad, A., Svenson, S. and Cedergren, B.: The P^k antigen as receptor for the haemagglutinin of pyelonephritic *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 7, 297—302, 1980.
- 12) Leffler, H. and Svanborg-Edén, C.: Chemical identification of a glycosphingolipid receptor for *Escherichia coli* attaching to human urinary epithelial cells and agglutinating human erythrocytes. *FEMS Microbiol. Lett.*, 8, 127—134, 1980.
- 13) Kern, W.H.: Epithelial cells in urine sediments. *Am. J. Clin. Pathol.*, 56, 67—72, 1970.
- 14) Schaeffer, A.J., Amundsen, S.K. and Schmidt, L.N.: Adherence of *Escherichia coli* to human urinary tract epithelial cells. *Infect. Immun.*, 24, 753—759, 1979.
- 15) Reid, G., Brooks, H.J.L. and Bacon, D.F.: In vitro attachment of *Escherichia coli* to human uroepithelial cells: Variation in receptivity during the menstrual cycle and pregnancy. *J. Infect. Dis.*, 148, 412—421, 1983.
- 16) Ørskov, I. and Ørskov, F.: Serology of *Escherichia coli* fimbriae. *Prog. Allergy*, 33, 80—105, 1983.
- 17) Iwahi, T., Abe, Y., Nakao, M., Imada, A. and Tsuchiya, K.: Role of type 1 fimbriae in the pathogenesis of ascending urinary tract infection induced by *Escherichia coli* in mice. *Infect. Immun.*, 39, 1307—1315, 1983.
- 18) Schaeffer, A.J., Schwan, W.R., Hultgren, S.J. and Duncan, J.L.: Relationship of type 1 pilus in *Escherichia coli* to ascending urinary tract infections in mice. *Infect. Immun.*, 55, 373—380, 1987.
- 19) Keith, B.R., Spears, P.A. and Orndorff, P.E.: Receptor-binding function of type 1 pili effects bladder colonization by a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 53, 693—696, 1986.
- 20) Roberts, J.A.: Pathogenesis of pyelonephritis. *J. Urol.*, 129, 1102—1106, 1983.
- 21) Meares, E.M. Jr.: Prostatitis syndromes: New perspectives about old woes. *J. Urol.*, 123, 141—147, 1980.
- 22) Kirby, R.S., Lowe, D., Bultitude, M.I. and Shutt-

- leworth, K.E.D.: Intra-prostatic urinary reflux: An aetiological factor in abacterial prostatitis. *Brit. J. Urol.*, **54**, 729—731, 1982.
- 23) Väisänen-Rhen, V. Rhen, M., Linder, E. and Korhonen, T.K.: Adhesin of *Escherichia coli* to human kidney cryostat sections. *FEMS Microbiol. Lett.*, **27**, 179—182, 1985.
- 24) Nowicki, B., Holthofer, H., Saraneva, T., Rhen, M., Väisänen-Rhen, V. and Korhonen, T.K.: Location of adhesion sites for P fimbriated and for O75X-positive *Escherichia coli* in the human kidney. *Microb. Pathogenesis*, **1**, 169—180, 1986.
- 25) Korhonen, T.K., Virkola, R.A. and Holthofer, H.: Localization of binding site for purified *Escherichia coli* P fimbriae in the human kidney. *Infect. Immun.*, **54**, 328—332, 1986.
- (1988年4月4日受理, 特別掲載)
-