尿路病原性大腸菌における病原因子の研究

山 本 新 吾

京都大学大学院医学研究科 外科系専攻器官外科学講座 泌尿器科学分野
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54

[受理 : 2003 年 2 月 28 日]

大腸菌は単純性尿路感染症のなかでもっとも頻繁に同定される病原菌である。本研究は尿路病原性大腸菌における病原因子を研究することで、尿路感染症の発症のメカニズムを解明し、尿路感染症を起因とする敗血症や反復性尿路感染症の治療へ手がかりを見い出すこと、またこれら尿路感染症の診断に有用なツールの開発を目標とし、以下の事項を報告した。

1) P線毛, S線毛, Afa I, エアロバクチン, ヘモリジン, CNF1の各病原因子は健康人由来大腸菌と比較して有意に各疾患由来の尿路病原性大腸菌に高頻度に認めた。2) これらの病原因子を一度に調べる Multiplex PCR の開発により、大量の尿路病原性大腸菌株の病原因子の保有の有無が高精度かつ簡便に調べることができるようになった。3) 「直腸—会陰—尿道仮説」を証明し、多くの病原因子を保有した尿路病原性大腸菌株が直腸に優位に存在することが尿路感染症の危険因子のひとつであることを示した。4) 新しい尿路病原因子 uropathogenic specific protein (USP) を発見し、USP が尿路感染症の成立に強く関与していることを示唆した。また、USP およびその下流でモザイクを構成する OrfU1-3 遺伝子を含む pathogenic island に 5 つの variants が存在することを明らかにした。

1. はじめに

大腸菌は単純性尿路感染症のなかでもっとも頻繁に同定される病原菌である。これらの尿路病原性大腸菌 (uropathogenic *Escherichia coli* : UPEC) は腸管病原性大腸菌とは明らかに異なっており、尿路感染症を惹起するのに有利なさまざまな尿路病原因子 (urovilulence factor) を有している (表 1)。もっとも一般的なのは線毛などの接着因子

で、マンノース感受性である Type 1 線毛をはじめ、マンノース非感受性である P 線毛, S 線毛などがある。また、エアロバクチンは尿中での鉄の取り込みに有利に働くことにより、K1 抗原は補体に対しての抵抗性を獲得することにより、宿主内での菌の生存に貢献している。ヘモリジンや cytotoxic necrotizing factor 1 (CNF1) は直接組織障害を引き起こす毒素として知られている。一方、尿路病原性大腸菌の多くは O1, O2, O4, O6, O16, O18, O22, O25, O75 などの血清型に所属しており、これらの血清型は上記の病原因子に密接に関連している (1~5)。

本研究は尿路病原性大腸菌における尿路病原因子を研究することで、尿路感染症の発症のメカニ

Shingo YAMAMOTO
Virulence Factors of Uropathogenic *Escherichia coli*
The Department of Urology, Graduate School of Medicine,
Kyoto University, 54 Shogoin-Kawaharacho, Sakyo-ku,
Kyoto 606-8507

表 1. 尿路病原性大腸菌の病原因子

1) 接着因子 マンノース感受性：type 1 線毛 マンノース非感受性：P (Pap) 線毛, Prs 線毛, S 線毛, Afimbrial adhesin (Afa), Dr 接着因子など
2) 毒素 ヘモリジン, Cytotoxic necrotizing factor 1 (CNF1) など
3) Siderophore エアロバクチンなど
4) 血清型 O18 抗原, K1 抗原など

表 2. 尿路病原因子検出 Colony hybridization test に使用した DNA プローブ

病原因子 (遺伝子)	DNA プローブ	文献
Type 1 線毛 (<i>pil</i>)	1.3-kbp <i>Sma</i> I fragment of pSH2	(6)
P 線毛 (<i>pap</i>)	2.4-kbp <i>Sma</i> I fragment of pRHU845	(7)
S 線毛 (<i>sfa</i>)	1.8-kbp <i>Eco</i> RV- <i>Nco</i> I fragment of pANN801-13	(8)
Afimbrial adhesin I (<i>afa</i> I)	1.1-kbp <i>Pst</i> I fragment of pIL14	(9)
エアロバクチン (<i>aer</i>)	1.8-kbp <i>Ava</i> I fragment of pABN1	(10)
ヘモリジン (<i>hly</i>)	2.4-kbp <i>Pvu</i> II fragment of pSF4000	(11)
CNF1 (<i>cnf</i> I)	0.9-kbp <i>Hind</i> III fragment of pISS391	(12)

ズムを解明し、尿路感染症を起因とする敗血症や反復性尿路感染症の治療へ手がかりを見い出すこと、またこれら尿路感染症の診断に有用なツールの開発を目標とした。

2. 尿路病原性大腸菌における尿路病原因子の分布

まず、われわれは京大病院泌尿器科関連病院の検査室に依頼し収集された臨床分離株（膀胱炎 194 株、腎盂腎炎 76 株、前立腺炎 107 株）および健常人の糞便から分離された大腸菌 50 株、計 427 株（腎盂腎炎 47 株および前立腺炎 44 株は岡山大学 公文裕巳教授より寄贈）を対象に、過去に報告されている病原因子（Type 1 線毛 (*pil*)、P 線毛 (*pap*)、S 線毛 (*sfa*)、Afimbrial adhesin I (*afa*I)、エアロバクチン (*aer*)、ヘモリジン (*hly*)、CNF1 (*cnf*I)）の各病原因子の分布を調べた。これらの各病原因子に特異的な遺伝子プローブ（6～12）を用いて、colony hybridization test を行った。さらに、これらの菌株の血清型を決定し、各病原因子との相関を検討した（13, 14）。使用した各病原因子に特異的な遺伝子プローブを表 2 に示す。

Type 1 線毛は尿路感染症由来大腸菌のみならず

健常人の糞便から分離された大腸菌にも高頻度に分布しており、尿路病原性大腸菌に特異的なマーカーとしては不適であった。一方、P 線毛は腎盂腎炎由来および前立腺炎由来大腸菌のいずれにも高頻度に認められ、各疾患の重要な病原因子であると考えられた。S 線毛、AfaI、エアロバクチン、ヘモリジン、CNF1 などのその他の病原因子は P 線毛ほどではなかったが、健常人由来大腸菌と比較して有意に各疾患由来の尿路病原性大腸菌に高頻度に認められた（表 3）。

血清型と病原因子との間には、密接な関連があることが確認された。たとえば、P 線毛は O22、O75 以外のすべての血清型に高頻度に認められ、S 線毛は O4、O6、O18、O22 に、ヘモリジンと CNF1 はいずれも O4、O6、O18、O25 に高頻度に認められた。一方、O75 は他の血清型と異なり、高頻度に Afa I を保有していたが、エアロバクチン以外の病原因子はほとんど保有していなかった（表 4）。

過去の欧米の報告と同様に、日本における尿路病原性大腸菌においても、膀胱炎、腎盂腎炎、前立腺炎などの各疾患に特異的な病原因子や血清型が確認された。このような観察を積み重ねていくことにより、尿路感染症の診断に有用なツールの

表 3. 尿路病原性大腸菌における病原因子の分布

由来疾患	分離菌数	病原因子 (%)						
		<i>pil</i>	<i>pap</i>	<i>sfa</i>	<i>afaI</i>	<i>aer</i>	<i>hly</i>	<i>cnfI</i>
膀胱炎	194	181 (93.3)	125 (64.4)	71 (36.6)	17 (8.8)	1 (31.4)	80 (41.2)	93 (47.9)
腎盂腎炎	76	69 (90.8)	59 (77.6)	32 (42.1)	9 (11.8)	39 (51.3)	39 (51.3)	27 (35.5)
前立腺炎	107	96 (89.7)	74 (69.2)	69 (64.5)	6 (5.6)	46 (43.0)	74 (69.2)	69 (64.5)
健康人糞便	50	42 (84.0)	13 (26.0)	6 (12.0)	0	10 (20.0)	(18.0)	6 (12.0)

表 4. 尿路病原性大腸菌における血清型と病原因子の関連

O 血清型	分離菌数	病原因子 (%)						
		<i>pil</i>	<i>pap</i>	<i>sfa</i>	<i>afaI</i>	<i>aer</i>	<i>hly</i>	<i>cnfI</i>
O1	38	35 (92.1)	37 (97.4)	0	1 (2.6)	10 (26.3)	4 (10.5)	0
O2	46	44 (95.7)	41 (89.1)	15 (32.6)	8 (17.4)	29 (63.0)	2 (26.1)	12 (26.1)
O4	18	18 (100)	18 (100)	18 (100)	0	8 (44.4)	18 (100)	6 (88.9)
O6	38	35 (92.1)	32 (84.2)	31 (81.6)	0	13 (34.2)	31 (81.6)	28 (73.7)
O16	34	34 (100)	32 (94.1)	0	0	33 (97.1)	14 (41.2)	1 (2.9)
O18	61	61 (100)	55 (90.2)	55 (90.2)	0	15 (24.6)	54 (88.5)	48 (78.7)
O22	20	20 (100)	8 (40.0)	20 (100)	0	0	20 (40.0)	20 (40.0)
O25	15	8 (53.3)	12 (80.0)	9 (60.0)	0	9 (60.0)	15 (100)	3 (86.7)
O75	31	21 (67.7)	2 (6.5)	4 (12.9)	23 (74.2)	29 (93.5)	(12.9)	1 (3.2)
計	301	276 (91.7)	234 (78.7)	152 (50.5)	32 (10.6)	146 (48.5)	172 (57.1)	139 (46.2)

開発に貢献できるものと考えられた。

3. Multiplex PCR の開発

上記の研究において各病原因子が尿路病原性大腸菌に特異的であることが確認され、臨床においても尿路病原性大腸菌の主要なマーカーとなることが示唆された。しかし、上記の研究で使用した colony hybridization test は放射線性物質を使用し、また実験手順が煩雑であるために、実際の臨床の場に応用するにはさらに簡便な手法の開発が望まれる。この目的のため、尿路病原因子保有の有無を一度に調べることができる Multiplex PCR を開発した (15)。

過去に報告されている S 線毛, AfaI に特異的な PCR プライマー (16) に加え, P 線毛, エアロバクチン, ヘモリジン, CNF1 に特異的な PCR プライマーを設計し (表 5), これらのプライマーを一つのサンプルチューブにいれ PCR を行った。各増幅産物の長さは, Pap 線毛 336 bp, S 線毛 410 bp, AfaI 750 bp, エアロバクチン 602 bp, ヘモリジン 1177 bp, CNF1 498 bp に設計した。PCR は, 94°C

で 10 分処理した菌液 5 μ l, 各種プライマー 1 μ l (20 pmol), dNTP mixture 1.25 μ l (dATP, dCTP, dTTP, dGTP 各 10 mM), 10 $\times$ Buffer solution 5 μ l (100 mM Tris/HCl, pH 8.8, 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂, 1% Triton X-100), 50 mM MgCl₂ 1.25 μ l, Taq DNA polymerase 0.3 μ l (1.5 unit) を総量 50 μ l とし, 94°C で 3 分加熱した後に, 94°C 1 分 : 63°C 30 秒 : 72°C 3 分を 30 サイクル施行し, 最後に 72°C で 7 分 incubate した。

当教室の膀胱炎分離菌 194 株において, PCR の結果と先に述べた colony hybridization test の結果は 100% 一致した (図 1)。この multiplex PCR の検出感度は, 5 $\times$ 10³ CFU/tube であった。

この方法で, 尿路病原性大腸菌株の病原因子の保有の有無が高精度かつ簡便に調べることができるようになり, 現在も多くの研究者によって利用されている。

4. 尿路病原性大腸菌感染経路の証明

尿路感染症は直腸常在菌が会陰部にコロニーをつくり, 尿道から膀胱へ侵入することにより起こ

表 5. 病原因子検出 Multiplex PCR に使用したプライマー

病原因子 (遺伝子)	DNA プローブ	増幅長
P 線毛	5'-GCAACAGCAACGCTGGTTGCATCAT-3' 5'-AGAGAGAGCCACTCTTATACGGACA-3'	336 bp
S 線毛	5'-CTCCGGAGAACTGGGTGCATCTTAC-3' 5'-CGGAGGAGTAATTACAAACCTGGCA-3'	410 bp (文献 16)
Afa I	5'-GCTGGGCAGCAAACTGATAACTCTC-3' 5'-CATCAAGCTGTTTGTTCGTCCGCCG-3'	750 bp (文献 16)
エアロバクチン	5'-TACCGGATTGTCATATGCAGACCGT-3' 5'-AATATCTTCCTCCAGTCCGGAGAAG-3'	602 bp
ヘモリジン	5'-AACAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT-3' 5'-ACCATATAAGCGGTCATTCCCGTCA-3'	1177 bp
CNF1	5'-AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG-3' 5'-CATTGAGAGTCCTGCCCTCATTATT-3'	498 bp

図 1. multiplex PCR による大腸菌尿路病原因子の検出
尿路病原性大腸菌の各種病原因子は multiplex PCR によって一度に検出することができる。この検査によって、尿路感染症起炎菌がどの病原因子を保有しているかだけではなく、症例によっては同じタイプの起炎菌による反復性感染症であることなども証明可能である。

る逆行性感染である（直腸—会陰—尿道仮説）とされている。しかし、一般に健康人の直腸より分離される大腸菌株は、尿路感染症患者の尿より分離された大腸菌株に比較し尿路病原因子の保有も

図 2. パルスフィールド電気泳動法による「直腸—会陰—尿道仮説」

Lane 1-4 は膀胱炎患者の尿より採取された大腸菌の染色体を、また Lane 5-8 は同一患者の直腸より同時に採取された大腸菌の染色体を制限酵素 *Xba*I で処理し電気泳動したものであり、同一患者から採取された菌がすべてモノクローナルであることがわかる。

少なく、この結果は上記の仮説に馴染まない。そこでわれわれは、単純性膀胱炎患者 9 人の直腸および感染尿より各 100 コロニー（計 1800 コロニー）の大腸菌株を分離し、各尿路病原因子保有の有無、血清型、染色体を *Xba*I および *Not*I で切断したパルスフィールド電気泳動バンドのパターンを調べることにより、各分離菌株の clonality を確認した (17)。単純性膀胱炎患者 9 人のうち 7 人において

表 6. 膀胱炎患者 9 症例の尿および直腸スミアから分離された大腸菌の尿路病原因子保有率

症例	年齢	保有病原因子	血清型	尿分離菌 (%)	直腸分離菌 (%)
1	32	<i>pap aer</i>	O15:H1	100	100
2	35	<i>pap sfa hly cnf1</i>	O25:H ⁻	100	100
3	55	<i>pap afaI</i>	O1:H7	100	77
		<i>pap aer</i>	ND*		9
		<i>aer</i>	ND		9
		<i>pap afaI aer</i>	ND		3
		<i>pap</i>	ND		1
		<i>aer</i>	ND		1
4	18	<i>pap</i>	O1:H7:K1	100	56
		—	ND		44
5	18	<i>pap</i>	O2:H7:K1	100	27
		<i>aer</i>	ND		3
		—	ND		70
6	24	<i>afaI aer</i>	O75:H ⁻	100	23
		<i>pap hly aer</i>	ND		30
		<i>aer</i>	ND		43
		—	ND		4
7	40	—	O84:H ⁻	100	97
		<i>pap</i>	ND		3
8	62	<i>pap</i>	O2:H7:K1	74	18
		<i>aer</i>	UT:H ⁻	26	73
		—	ND		9
9	31	<i>pap afaI aer</i>	O2:H4	2	52
		—	O16:H5	98	48

* ND: not determined

尿路感染症起炎菌株と同じ clone と考えられる大腸菌株が優位に認められた (図 2) (表 6)。また、腎盂腎炎患者においても同様の手法を用いて検索したところ、腎盂腎炎患者 12 人のうち 9 人において尿路感染症起炎菌株と同じ clone と考えられる大腸菌株が優位に認められた (18)。

これらの結果は「直腸が尿路感染症起炎菌株のリザーバーとなっている」という直腸—会陰—尿道仮説を証明するだけでなく、多くの病原因子を保有した尿路病原性大腸菌株が直腸に優位に存在することが尿路感染症の危険因子のひとつであることを示唆した。

同様の手法を用いて再発性膀胱炎を認めた 3 人の女性患者から、膀胱炎をきたした度に尿から分離された大腸菌を対象に、各尿路病原因子保有の有無および血清型を調べ、さらに染色体を *XbaI* 切

断したパルスフィールド電気泳動法でそのバンドのパターンを調べた。症例 1 は 3 か月間に 3 回、症例 2 は 1 か月間に 2 回、膀胱炎をきたして来院し、分離菌はいずれも同じ病原因子を保有し、同じパルスフィールドパターンを呈した。また症例 3 においては 1994 年 6 月の分離菌株は約 2 年前の 1992 年 10 月の分離菌株と同じ病原因子を保有し、パルスフィールドパターンにおいては 1 バンドの違いを認めるのみであった。これにより、反復性尿路感染症が常に同じ株により惹起されていることも証明した (19)。

5. 新しい大腸菌尿路病原因子 uropathogenic specific protein (USP)

前立腺炎由来大腸菌 Z42 株よりの 346 アミノ酸からなる新しい尿路病原因子と思われる遺伝子を

発見し, uropathogenic specific protein (USP) と名付けた。USP 遺伝子 (*usp*) およびその下流の3つの open reading frame (*orfU1-3*) を含む gene island は, 膀胱炎, 腎盂腎炎, 前立腺炎などの単純性尿路感染症より分離された大腸菌株においてそれぞれ 79.4%, 93.4%, 88.8% と高頻度に存在した。一方, 健康人糞便由来大腸菌における USP 保有率は 24% にすぎず, USP は大腸菌による単純性尿路感染症の成立に強く関与していると推察された (20)。USP は尿路病原性大腸菌に一般的な血清型 O1, O2, O4, O6, O16, O18, O22, O25, O75 のいずれとも高い関連性 (71.7 ~ 100%) を示した (21)。また, K12 の house keeping gene である *aroP* と *pdhR* の間の 540 bp が Z42 株では USP 遺伝子を含む 4,167 bp 断片におきかわっていること, その 5' 側にはトランスポゾン Tn3 family に共通する配列 GGGG-AACGTTAG が存在すること, この USP 遺伝子配列の GC 含有量が 40% 前後と大腸菌染色体のそれに比較して低いことなどから, 異種株から伝播挿入された可能性が高いと考えられた。さらに, USP およびその下流でモザイクを構成する *OrfU1-3* 遺伝子を含む pathogenic island には5つの

variants が存在することも明らかにした (図3) (22)。

大腸菌 JM109 を host とし, vector pMW118 を介して *usp* を保有する菌株を作成し, マウス腎盂腎炎モデルにおける各遺伝子の尿路病原性の強さを検討したところ, vector pMW118 保有株が 10^8 CFU/マウスの接種においても感染を惹起出来なかった (10 匹中 0 匹) のに対し, *usp* 保有株は同量の接種で有意に高い感染率 (10 匹中 7 匹) を示し, USP が尿路感染症の成立に強く関与していることが確認された (図4) (21)。

現在, USP はその遺伝子配列の homology から, DNase タイプの bacteriocin であり, その下流の *OrfU1-3* は bacteriocin から host cell を守る immunity protein ではないかと, 推察されている (23, 24)。

6. お わ り に

最近, 新しい *afa E* subtype である *afaE8* が腎盂腎炎由来株に高率に検出されたと Bouguenec らによって報告された (25)。彼らは腎盂腎炎由来株 97 株のうち 27 株 (27.8%) が *afa* 陽性で, そのうちの 15 株 (55.6%) が *afaE8* であったことより, こ

図3. USP 遺伝子の下流の *OrfU1-3* 遺伝子は, さまざまなモザイク構造をとっている。遺伝子配列の homology research より, USP は DNase タイプの bacteriocin であり, *OrfU1-3* は bacteriocin から host cell を守る immunity protein と, 推察されている。

図4. 新しい大腸菌尿路病原因子 uropathogenic specific protein (USP) のマウス腎盂腎炎モデルにおける病原性の確認

大腸菌JM109をhostとし、vector pMW118を介して *usp* を保有する菌株 UR1 (vector), UR2 (*usp*) を作成し、マウス腎盂腎炎モデルにおける USP 遺伝子の尿路病原性の強さを検討した。UR1 (vector) が 10⁸ CFU/マウスの接種においても感染を惹起出来なかった (10 匹中 0 匹) のに対し、UR2 (*usp*) は同量の接種で有意に高い感染率 (10 匹中 7 匹) を示し、USP が尿路感染症の成立に強く関与していることが確認された。(* UR1 vs UR2 ; p=0.003)

の subtype が腎盂腎炎と関連があると報告した。我々のストック株 (膀胱炎 194 株, 腎盂腎炎 76 株, 前立腺炎 107 株) において, *afaE* subtype の分布を調べたところ, 腎盂腎炎由来株のみならず尿路感染症起炎菌全体に *afaE3* が高率に見い出され, 腎盂腎炎においては *afa* 陽性 9 株中, 6 株が *afaE3* であったことより, これら subtype の違いは菌株分布の地域差によるものと考えられた (26)。

また, P 線毛の特異的レセプターである Gb3 に加え SGG や DSGG などの糖鎖も P 線毛に特異的であること (27) や, SGG が腎臓にも発現していることが証明され (28), 急性腎盂腎炎の成立に深く関与していると推察されている。血液型物質を体液中に分泌している者 (secretor) と分泌が弱い者 (nonsecretor) とで比較すると, nonsecretor 群にのみ SGG と DSGG が強く発現している (29) ことから, 我々は急性単純性腎盂腎炎発症既往患者 106 名の宿主側の感染危険因子として分泌型を調べた。そして, 急性腎盂腎炎発症の危険が

nonsecretor 群に有為に高いこと, またその傾向は特に閉経前で顕著であることを示した (30)。

このように, 尿路病原性大腸菌の研究は, その病原因子や病原性を中心に研究されてきたが, 今後の課題として, 尿路病原性大腸菌の病原因子分布の地域による違い, 宿主側の易感染性因子の研究なども積極的に遂行していく必要があると考えている。

謝 辞

黒屋賞受賞は, 大学院在籍中より約 10 年間にわたり尿路感染症の研究を続けてきた泌尿器科臨床医である私にとっては, このうえない最高の名誉であります。大学院において御指導いただいた竹田美文先生, 吉田 修先生, 倉園久生先生, 寺井章人先生, またこの度黒屋賞に御推薦いただきました岡本敬の介先生, さらに大学院生の頃から今もなお私のつたない研究を支えていただいている多くの共同研究者に感謝の意を捧げます。

文 献

本論文中における黒屋賞受賞対象論文は業績番号 (13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21) の 8 編である。

- 1) Hugues, C., Phillips, R., Roberts, A.P. (1982): Serum resistance among *Escherichia coli* strains causing urinary tract infection in relation to O type and the carriage of hemolysin, colicin, and antibiotic resistance determinants. *Infect. Immun.* **35**, 270-275.
- 2) Väiänen-Rhen, V., Elo, J., Väiänen, E., Siitonen, A., Ørskov, I., Ørskov, F., Svenson, S. B., Mäelä, P. H., Korhonen, T. K. (1984): P-fimbriated clones among uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Infect. Immun.* **43**, 149-155.
- 3) Johnson, J.R. (1991): Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin. Microbiol. Rev.* **4**, 80-128.
- 4) Johnson, J.R., Oswald, E., O'Bryan, T.T., Kuskowski, M.A., Spanjaad, L. (2002): Phylogenic distribution of virulence associated genes among *Escherichia coli* isolates associated with Neonatal Bacterial Meningitis in the Netherlands. *J. Infect. Dis.* **185**, 774-784.
- 5) Oelschlaeger, T.A., Dobrindt, U., Hacker, J. (2002): Virulence factors of uropathogens. *Current Opinion in Urology* **12**, 33-38.
- 6) Orndorff, P.E., Falkow, S. (1984): Organization and

expression of genes responsible for type 1 piliation in *Escherichia coli*. J. Bacteriol. **159**, 736–744.

- 7) Karr, J.F., Nowicki, B., Truong, L.D., Hull, R.A., Hull, S.I. (1989): Purified P fimbriae from two cloned gene clusters of a single pyelonephritogenic strain adhere to unique structures in the human kidney. Infect. Immun. **57**, 3594–3600.
- 8) Ott, M., Schmoll, T., Goebel, W., Die, I.V., Hacker, J. (1987): Comparison of the genetic determinant coding for S-fimbrial adhesin (*sfa*) of *Escherichia coli* to other chromosomally encodes fimbrial determinants. Infect. Immun. **55**, 1940–1943.
- 9) Labigne-Roussel, A., Schmidt, M.A., Walts, W., Falkow, S. (1985): Genetic organization of the afimbrial adhesin operon and nucleotide sequence from a uropathogenic *Escherichia coli* gene encoding an afimbrial adhesin. J. Bacteriol. **162**, 1285–1292.
- 10) Lorenzo, V., Bindereif, A., Paw, B.H., Neilands, J.B. (1986): Aerobactin biosynthesis and transport genes of plasmid ColV-K30 in *Escherichia coli* K-12. J. Bacteriol. **165**, 570–578.
- 11) Welch, R.A., Hull, R., Falkow, S. (1983): Molecular cloning and physical characterization of a chromosomal hemolysin from *Escherichia coli*. Infect. Immun. **42**, 178–186.
- 12) Falvo, V., Pace, T., Picci, L., Pizzi, E., Caprioli, A. (1993): Isolation and nucleotide sequence of the gene encoding cytotoxic necrotizing factor 1 of *Escherichia coli*. Infect. Immun. **31**, 4909–4914.
- 13) Yamamoto, S., Tsukamoto, T., Terai, A., Kurazono, H., Takeda, Y., Yoshida, O. (1995): Distribution of virulence factors in *Escherichia coli* isolated from urine of cystitis patients. Microbiol. Immunol. **39**, 401–404.
- 14) Terai, A., Yamamoto, S., Mitsumori, K., Okada, Y., Kurazono, H., Takeda, Y., Yoshida, O. (1997): *Escherichia coli* virulence factors and serotypes in acute bacterial prostatitis. Int. J. Urol. **4**, 289–294.
- 15) Yamamoto, S., Terai, A., Yuri, K., Kurazono, H., Takeda, Y., Yoshida, O. (1995): Detection of urovirulence factors in *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. FEMS Immunol. Med. Microbiol. **12**, 85–90.
- 16) Le Bouguenec, C., Archambaud, M., Labigne, A. (1992): Rapid and specific detection of the pap, afa, and sfa adhesin-encoding operons in uropathogenic *Escherichia coli* strains by polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. **30**, 1189–1193.
- 17) Yamamoto, S., Tsukamoto, T., Terai, A., Kurazono, H., Takeda, Y., Yoshida, O. (1997): Genetical evidence supporting the fecal-perineal-urethral hypothesis in cystitis caused by *Escherichia coli*. J. Urol. **157**, 1127–1129.
- 18) Mitsumori, K., Terai, A., Yamamoto, S., Yoshida, O. (1997): Virulence characteristics and DNA fingerprints of *Escherichia coli* isolated from women with acute uncomplicated pyelonephritis. J. Urol. **158**, 2329–2332.
- 19) Yamamoto, S., Tsukamoto, T., Terai, A., Kurazono, H., Takeda, Y., Yoshida, O. (1996): Persistent bacteriuria caused by uropathogenic *Escherichia coli*. Urol. Int. **57**, 89–92.
- 20) Kurazono, H., Yamamoto, S., Nakano, M., Nair, G.B., Terai, A., Chaicumpa, W., Hayashi, H. (2000): Characterization of a putative virulence island in the chromosome of uropathogenic *Escherichia coli* possessing a gene encoding a uropathogenic-specific protein. Microb. Pathog. **28**, 183–189.
- 21) Yamamoto, S., Nakano, M., Terai, A., Yuri, K., Nakata, K., Nair, G.B., Kurazono, H., Ogawa, O. (2001): The presence of the virulence island containing the *usp* gene in uropathogenic *Escherichia coli* is associated with urinary tract infection as determined by experimental mouse model. J. Urol. **165**, 1347–1351.
- 22) Nakano, M., Yamamoto, S., Terai, A., Ogawa, O., Makino, S., Hayashi, H., Nair, G.B., Kurazono, H. (2001): Structural and sequence diversity of the pathogenicity island of uropathogenic *Escherichia coli* which encodes the USP protein. FEMS Microbiol. Lett. **205**, 71–76.
- 23) Parret, A.H.A., De Mot, R. (2002): *Escherichia coli*'s uropathogenic-specific protein: a bacteriocin promoting infectivity? Microbiology **148**, 1604–1606.
- 24) Sharma, S., Waterfield, N., Bowen, D., Rocheleau, T., Holland, L., James, R., French-Constant, R. (2002): The lumicins: novel bacteriocins from *Photobacterium luminescens* with similarity to the uropathogenic-specific protein (USP) from uropathogenic *Escherichia coli*. FEMS microbiology letters **214**, 241–249.
- 25) Le Bouguenec, C., Lalioui, L., du Merle, L., Jouve, M., Courcoux, P., Bouzari, S., Selvarangan, R., Nowicki, B.J., Germani, Y., Andremon, A., Gounon, P., Garcia, M.I. (2001): Characterization of AfaE adhesins produced by extraintestinal and intestinal human *Escherichia coli* isolates: PCR assays for detection of Afa adhesins that do or do not recognize Dr blood group antigens. J. Clin. Microbiol. **39**, 1738–1745.
- 26) Ishitoya, S., Yamamoto, S., Kanamaru, S., Kurazono, H., Habuchi, H., Ogawa, O., Terai, A. Distribution of AfaE adhesins in *Escherichia coli* isolated from Japanese urinary tract infection patients. J. Urol. (in

- press)
- 27) Stroud, M.R., Stapleton, A.E., Lavery, S.B. (1998): The P histo-blood group-related glycosphingolipid sialosyl galactosyl globoside as a preferred binding receptor for uropathogenic *Escherichia coli*: isolation and structural characterization from human kidney. *Biochemistry* **37**, 17420–17428.
- 28) Stapleton, A.E., Stroud, M.R., Hakomori, S.I., Stamm, W.E. (1998): The globoseries glycosphingolipid sialosyl galactosyl globoside is found in urinary tract tissues and is a preferred binding receptor In vitro for uropathogenic *Escherichia coli* expressing pap-encoded adhesins. *Infect. Immun.* **66**, 3856–3861.
- 29) Stapleton, A., Nudelman, E., Clausen, H., Hakomori, S., Stamm, W.E. (1992): Binding of uropathogenic *Escherichia coli* R45 to glycolipids extracted from vaginal epithelial cells is dependent on histo-blood group secretor status. *J. Clin. Invest.* **90**, 965–972.
- 30) Ishitoya, S., Yamamoto, S., Mitsumori, K., Ogawa, O., Terai, A. (2002): A. Non-secretor status is associated with female acute uncomplicated pyelonephritis. *Int BJU* **89**, 851–854.