

Title	Urease production correlates with possession of the trh gene in <i>Vibrio parahaemolyticus</i> strains isolated in Thailand
Author(s)	Suthienkul, Orasa
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/40353">http://hdl.handle.net/11094/40353</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	スチエンクン Suthienkul	オラサ Orasa
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	
学位記番号	第 1 2 7 4 4 号	
学位授与年月日	平成 8 年 12 月 4 日	
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当	
学位論文名	Urease production correlates with possession of the <i>trh</i> gene in <i>Vibrio parahaemolyticus</i> strains isolated in Thailand (腸炎ビブリオのウレアーゼ産生性と <i>trh</i> 遺伝子保有性の相関に関する研究)	
論文審査委員	(主査) 教授 本田 武司 (副査) 教授 松田 守弘 教授 品川日出夫	

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [目 的]

腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) は食中毒や旅行者下痢症の主要な原因菌である。本菌の重要な病原因子として耐熱性溶血毒 (TDH) ならびに TDH 類似溶血毒 (TRH) が知られている。腸炎ビブリオ菌株のほとんどはウレアーゼを産生しないが、最近いくつかのグループより、ウレアーゼ産生性腸炎ビブリオの下痢患者からの分離が報告されており、ウレアーゼ産生性腸炎ビブリオがヒトに対して病原性を有する可能性が示唆されている。本研究ではウレアーゼ産生性腸炎ビブリオの病原因子について検討することを目的とした。

### [方法ならびに成績]

タイ国バンコク近郊の伝染病病院において下痢症患者より分離された腸炎ビブリオ計 489 株について TDH および TRH 構造遺伝子 (*tdh* および *trh*) の保有、ならびにウレアーゼの産生性について解析した結果、*tdh* 保有株は 423 株 (87%)、*trh* 保有株は 37 株 (8%)、ウレアーゼ産生株は 37 株 (8%) であった。興味深いことにこれら菌株において、ウレアーゼ産生性と *trh* 遺伝子の保有性は完全に一致していた。

そこで腸炎ビブリオのウレアーゼ産生性について遺伝子レベルで解析するために、他の細菌で明らかになっているウレアーゼ遺伝子の塩基配列を参考にし、腸炎ビブリオからウレアーゼ構造遺伝子 (*ure*) の一部を増幅するためのオリゴヌクレオチドプライマーペアを合成した。このプライマーペアを用いてウレアーゼ産生性の腸炎ビブリオである AQ4023 株のゲノム DNA に対して PCR を行った結果、期待されたサイズの DNA 断片が特異的に増幅された。得られた断片の塩基配列を決定した結果、増幅された断片がウレアーゼの構造遺伝子の一部であることが示唆されたので、この断片を digoxigenin 標識することによりウレアーゼ遺伝子検出のためのプローブを調製した。

以上のようにして得られたプローブを用い、コロニーハイブリダイゼーションにより腸炎ビブリオ菌株におけるウレアーゼ構造遺伝子の分布を検討した結果、*ure* 遺伝子の存在とウレアーゼの産生性とは完全に一致し、*ure* 遺伝子を保有する菌株はすべて安定したウレアーゼ産生株であることが明らかになった。

さらにウレアーゼ産生性腸炎ビブリオ 8 株の染色体 DNA を rare-cutting enzyme である *NotI* で消化後パルスフ

フィールド電気泳動により分離し、*ure*、*trh* それぞれに対するプローブでサザンハイブリダイゼーションを行ったところ、すべての菌株で *ure* と *trh* は同一の *NotI* 断片上に検出された。このことから、腸炎ビブリオの染色体 DNA 上で *ure* 遺伝子と *trh* 遺伝子は互いに比較的近傍に存在していることが明らかになった。

[総括]

本研究により臨床分離腸炎ビブリオにおいて、*ure* 遺伝子の保有と *trh* 遺伝子の保有が完全に一致していることが明らかになった。両遺伝子の染色体上での存在部位も互いに近傍であることから、両遺伝子は遺伝学的に連鎖しているといえる。これらのことは、ウレアーゼ産生性腸炎ビブリオの腸管病原性が *trh* 遺伝子によるものであることを示唆する。また、以上の成績は、腸炎ビブリオのウレアーゼ産生性を検査することで *trh* 保有菌の検出が可能であることを示しており、臨床検査上有用な情報といえる。

## 論文審査の結果の要旨

腸炎ビブリオは食中毒や旅行者下痢症の主要な原因菌である。腸炎ビブリオ菌株のほとんどはウレアーゼを産生しないが、最近いくつかのグループより、ウレアーゼ産生性腸炎ビブリオの下痢患者からの分離が報告されており、ウレアーゼ産生性腸炎ビブリオがヒトに対して病原性を有する可能性が示唆されている。

本研究ではタイ国バンコク近郊の伝染病病院において下痢症患者より分離された腸炎ビブリオ計489株を対象にウレアーゼ産生性腸炎ビブリオの病原因子について検討を行った。腸炎ビブリオの重要な病原因子である耐熱性溶血毒 (TDH) ならびに TDH 類似溶血毒 (TRH) の構造遺伝子 (*tdh* および *trh*) の保有、ならびにウレアーゼの産生性について解析した結果、興味深いことにこれらの菌株において、ウレアーゼ産生性と *trh* 遺伝子の保有性は完全に一致していた。そこで腸炎ビブリオのウレアーゼ産生性について遺伝子レベルで解析するためにウレアーゼ構造遺伝子 (*ure*) 検出のためのプローブを調製し腸炎ビブリオ菌株におけるウレアーゼ構造遺伝子の分布を検討した。その結果、*ure* 遺伝子の存在とウレアーゼの産生性とは完全に一致した。つまり、腸炎ビブリオ菌株において *ure* 遺伝子と *trh* 遺伝子の保有性は完全に一致することが明らかになった。さらにパルスフィールド電気泳動を用いて解析を行った結果、腸炎ビブリオの染色体 DNA 上で *ure* 遺伝子と *trh* 遺伝子は互いに近傍に存在していることが明らかになった。

本研究により臨床分離腸炎ビブリオにおいて、*ure* 遺伝子と *trh* 遺伝子が遺伝学的に連鎖していることが明らかになった。このことは、ウレアーゼ産生性腸炎ビブリオの腸管病原性が *trh* 遺伝子によるものであることを示唆する。この成績は逆に言うと、腸炎ビブリオのウレアーゼ産生性を検査することで *trh* 保有菌の検出が可能であることを示したものであり、臨床検査上極めて有用な知見である。以上の成績は、腸炎ビブリオの病原因子の理解に新たな知見を加えるものであり、学位論文に値するものと考えられる。