

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16171

研究課題名(和文)胆道感染敗血症を起こす胆汁抵抗性大腸菌の病原性解析

研究課題名(英文) Analysis of biliary-pathogenic Escherichia coli detected from bacteremia with acute biliary tract infection

研究代表者

池田 麻穂子 (Ikeda, Mahoko)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40723200

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：急性胆道感染症および菌血症を起こした大腸菌株72株(71症例)を対象に、急性胆道感染症に伴う菌血症の重症度に関わる因子を解析した。大腸菌株の病原因子では、iutA遺伝子が重症群で有意に少なく、ibeA遺伝子が重症群で有意に多かった。患者因子では、神経障害を伴う糖尿病とアルカリフォスファターゼ値だった。

大腸菌株72株のうち、68.1%が病原性の高いB2群に属した。Multi-locus sequencing typingでは、ST131が23.6%、ST95が19.4%を占めたが多様なsequence typeに分布していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸菌は、尿路感染症や髄膜炎以外にも、急性胆道感染症を起こす病原微生物だが、その病原性の解析は進んでいない。本研究では、急性胆道感染症および菌血症を起こした大腸菌の病原性を解析し、iutAおよびibe遺伝子が重症度に関与していることが明らかにした。将来的に、これらの因子がどのように重症化を起こすのかを解明し、治療薬やワクチン、および再発予防の病原性大腸菌スクリーニングなどの対策に活用できる。この結果、急性胆道感染症による死亡率を下げ、入院期間や医療費の削減にも役立つと思われる。

研究成果の概要(英文)：Information on cases of bacteremia in acute biliary tract infection in a retrospective study was collected from 2013 to 2015 at a tertiary care hospital in Japan. Factors related to the severity of infection were investigated.

In total, 72 E. coli strains were identified in 71 cases, most of which primarily belonged to the B2 phylogroup (68.1%). The presence of the iutA gene (77.3% in the non-severe group, 46.4% in the severe group) and the ibeA gene (9.1% in the non-severe group, and 35.7% in the severe group) was significantly associated with the severity of infection. Among the patient characteristics, diabetes mellitus with organ involvement and alkaline phosphatase were different in the severe and non-severe groups.

研究分野：感染症における大腸菌の病原性

キーワード：大腸菌菌血症 急性胆道感染症 病原性 iutA遺伝子 ibeA遺伝子 重症度

## 1. 研究開始当初の背景

大腸菌は病原性の特徴ごとに、腸管常在性大腸菌、腸管病原性大腸菌、腸管外病原性大腸菌に分けられる。腸管外病原性大腸菌として尿路病原性、中枢神経病原性の大腸菌群がよく知られているが、大腸菌が主な起炎菌となる感染症として胆道感染症も頻度が高く、重要な感染症である。

胆道感染症の成立は、結石嵌頓などにより胆汁うっ滞が起きた状況に、腸管から腸内細菌叢の逆流が加わるため、胆道感染症を起こす細菌は病原遺伝子の保有数が少ない腸内細菌叢と同じと考えられてきた。

しかし、胆道感染症は時に敗血症へ進展し、重篤な転帰をたどることも多い。また、必ずしも胆道閉塞時だけでなく、胆管ステント挿入後や癌による肝内胆管の局所的うっ滞などでも胆管炎を発症することがある。また、胆汁は微生物の膜や DNA を破壊し、抗菌作用を示す。これらを踏まえると、胆道感染症を起こす大腸菌は、胆汁ストレス下でも病原性を発揮できる性質を持つのではないかと考えられる。この仮説のもと、以下の研究を行った。

## 2. 研究の目的

本研究は、胆道感染症由来の大腸菌菌血症を起こした臨床例を対象に、患者背景や大腸菌株の病原性を解析し、抗菌作用のある胆汁ストレス下でも感染を効率的に成立・進展させる病原性の高い大腸菌群があるかを検討し、その細菌学的特徴を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

### 1. 胆管炎から大腸菌敗血症に至った症例の臨床的解析

研究者の所属する東京大学医学部附属病院で 2013 年 4 月より 2015 年 2 月までに血液培養から大腸菌が検出された症例およびその大腸菌菌株を対象とした。

対象症例は、当施設微生物検査室の血液培養データベースから抽出し、胆道感染症由来の大腸菌菌血症症例であるかは、Tokyo guideline2018 (J Hepatobiliary Pancreat Sci. 2018)の疾患定義で判断した。

対象症例は、Pitt 菌血症スコアを算出し、重症群、非重症群の二群に分け、患者因子と大腸菌株の病原因子を比較し、重症度に関わる因子を同定した。

### 2. 大腸菌株のタイピングと病原遺伝子保有状況の調査

得られた大腸菌菌株について、系統発生群および Multi locus sequencing typing (MLST) に基づき、大腸菌の病原性を分類する。

次に、既知の病原遺伝子の保有状況および抗菌薬感受性パターンを調べる。大腸菌の病原遺伝子は、細胞接着性、バイオフィーム形成能、鉄代謝能、細胞内侵入能、細胞内増殖能、トキシン産生能にそれぞれ関与する遺伝子群が知られており、これらをマルチプレックス PCR 法で確認する。また、カルテ情報より ESBL 産生の情報を抽出する。

## 4. 研究成果

研究期間内に、71 症例 (72 菌株) が対象となった。表 1 に示すように、菌血症の重症度と患者背景の間に有意に関係する因子はなかった。

表 1：菌血症重症度と患者背景の関係

	計	非重症群	重症群	P 値
症例数	71	44	27	

年齢 (中央値、幅)	75 (31–94)	72.9 (34–93)	72 (31–94)	0.38
性別 (女性, 男性)	F28 M43	F16 M28	F12 M15	0.618
介護施設入居	4	2	2	0.632
発症前 3 か月間の抗 菌薬使用	29	19	10	0.479
Charlson index (中央 値, 幅)	4 (0–11)	4 (0–11)	3 (0–8)	0.104
胆道異常	43	29 (65.9%)	14 (52%)	0.318
胆道内人工物	19	11	8	0.784
消化管異常	38	25	13	0.625
急性胆道感染症の既 往	33	21	12	0.811
菌血症の既往	11	7	4	1
発症から入院までの 時間 (日)	0 (- 24 to 10)	0 (- 24 to 4)	0 (-10 to 10)	0.924

次に、菌血症重症度と、菌株の系統発生群および MLST で得られた ST 番号と関係があるか解析した (表 2)。系統発生群のグループ別では、高病原性と言われる B2 が全菌株の 68.1%を占めていた。また、MLST では、ST131 が全菌株の 23.6%を占めるが、多様な ST に分布した。系統発生群および MLST と重症度には有意な相関はなかった。

表 2 : 菌血症重症度と菌株タイピングの関係

	計	非重症群	重症群	P 値
系統発生群	72	44	28	0.73 2
B2	49 (68.1%)	31 (70.5%)	18 (64.3%)	
B1	8 (11.1%)	3 (6.8%)	5 (17.9%)	
E	6 (8.3%)	4 (9.1%)	2 (7.1%)	
A	4 (5.6%)	2 (4.5%)	2 (7.1%)	
F	4 (5.6%)	3 (6.8%)	1 (3.6%)	
D	1 (1.4%)	1 (2.2%)	0	
MLST				0.16 5
ST131	17 (23.6%)	13 (29.5%)	4 (14.3%)	
ST95	14 (19.4%)	8 (18.2%)	6 (21.4%)	
ST73	5 (6.9%)	4 (9.1%)	1 (3.6%)	
ST127	2 (2.8%)	2 (4.5%)	0	
ST405	2 (2.8%)	2 (4.5%)	0	
ST357	2 (2.8%)	0	2 (7.1%)	
ST453	2 (2.8%)	1 (2.2%)	1 (3.6%)	
ST1196	2 (2.8%)	1 (2.2%)	1 (3.6%)	
Un-typable	4 (5.6%)	1 (2.2%)	3 (10.7%)	

表 2 注 以下の ST は 1 株ずつ検出された : ST10, ST117, ST126, ST144, ST345, ST354, ST420, ST429, ST457, ST607, ST648, ST683, ST1193, ST1304, ST1380, ST1415, ST1851,

さらに、病原遺伝子と重症度の関係を比較したところ、鉄代謝に関わる *iutA* 遺伝子が重症群で有意に少なく、*ibeA* 遺伝子が重症群で有意に多かった（表3）。*iutA* 遺伝子と *ibeA* 遺伝子の両方を有する株は1株のみで ST429 に属していた。ST131 と ST73 の全株で *iutA* 遺伝子を有しており、*ibeA* 遺伝子陽性のうち、ST95 が 35.7% を占めていた。

表3：

	計	非重症 群	重症群	P 値
<b>Adhesion</b>				
<i>papC</i>	21	15	6	0.296
<i>papG2</i>	10	8	2	0.297
<i>sfaD/E</i>	8	4	4	0.703
<i>fimH</i>	69	42	27	1
<i>afaB/C</i>	2	1	1	1
<i>iha</i>	23	16	7	0.438
<b>Toxin</b>				
<i>usp</i>	56	35	21	0.773
<i>cnf1</i>	9	5	4	0.728
<i>hlyA</i>	9	5	4	0.728
<i>sat</i>	22	16	6	0.202
<b>Iron uptake</b>				
<i>fyuA</i>	52	35	17	0.108
<i>iroN</i>	16	10	6	1
<i>iucD</i>	24	18	6	0.124
<i>iutA</i>	47	34	13	0.011*
<b>Capsule</b>				
<i>kpsMT2</i>	51	33	18	0.427
<b>Miscellaneous</b>				
<i>ibeA</i>	14	4	10	0.012*
<i>traT</i>	49	33	16	0.128
<i>cvaC</i>	6	6	0	0.753
<i>ompT</i>	6	6	0	0.075
<i>TcpC</i>	12	9	3	0.346

また、本研究で得られた胆道感染症由来の大腸菌株の病原遺伝子保有パターンは、同時期に得た尿路敗血症由来の大腸菌株と異なっており、高濃度胆汁中でも発育できる菌株が多くを占めていた。（データ発表準備中）

#### 国内外における位置づけとインパクト

本研究成果は、国際学会である ASM microbe2020 で発表し、Gut pathogens に掲載された。既によく研究されている尿路病原性大腸菌と共に、今後は胆道病原性大腸菌の病原性の特徴がより一層明らかにされることが望まれる。本研究からは、重症度に関わる大腸菌病原因子が明ら

かになり、異なる感染症フォーカスに合わせた大腸菌の病原メカニズム解明の端緒となった。

#### 今後の展望

本研究で重症度に関連した大腸菌の *iutA* 遺伝子および *ibe* 遺伝子について、胆汁ストレス下で大腸菌がこれらを用いてどのように感染症を進展・重症化させるのかを解明したい。その知見は、胆道感染症・敗血症において、これらの遺伝子が関与する感染ステップを阻害する薬剤・ワクチンの開発や、重症化する菌血症症例の早期スクリーニングに役立てることができると思われる。その結果、急性胆道感染症の死亡率を下げ、入院期間や医療費の削減に役立つことが見込まれる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Ikeda Mahoko, Kobayashi Tatsuya, Fujimoto Fumie, Okada Yuta, Higurashi Yoshimi, Tatsuno Keita, Okugawa Shu, Moriya Kyoji	4. 巻 13
2. 論文標題 The prevalence of the iutA and ibeA genes in Escherichia coli isolates from severe and non-severe patients with bacteremic acute biliary tract infection is significantly different	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gut Pathogens	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13099-021-00429-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Mahoko Ikeda, Tatsuya Kobayashi, Yuta Okada, Fumie Fujimoto, Yoshimi Higurashi, Shu Okugawa, Kyoji Moriya
2. 発表標題 Escherichia coli from Bacteremic Biliary Tract Infection is as Virulent as Uropathogenic E. coli and its Virulence Factors Relate to the Severity of Acute Biliary Tract Infection
3. 学会等名 ASM Microbe2020（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------