Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-04

BACTERIAL ADHERENCE IN A RAT BLADDER AUGMENTATION MODEL ; ILEOCYSTOPLASTY VERSUSCOLOCYSTOPLASTY

酒井, 豊

(Degree)
博士（医学）

(Date of Degree)
2002-03-31

(Resource Type)
doctoral thesis

(Report Number)
甲2593

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002593

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

【１１８】

氏　名・（本　籍）　酒井　豊（兵庫県）

博士の専攻分野の名称　　博　士　（医学）

学　位　記　番　号　　博い第１４４０号

学位授与の　要　件　　学位規則第４条第１項該当

学位授与の　日　付　　平成１４年３月３１日

【学位論文題目】

BACTERIAL ADHERENCE IN A RAT BLADDER AUGMENTATION MODEL;ILEOCYSTOPLASTY VERSUS COLOCYSTOPLASTY

（回腸および結腸利用膀胱拡大術モデルラットにおける菌付着性について）

審　査　委　員

主査　教授　守殿　貞夫

教授　黒田　嘉和　　教授　尾原　秀史

【緒言】

近年、膀胱全摘除術後に回腸、結腸などの腸管を利用し、さまざまな尿路再建術が行われるようになってきた。しかし、術後合併症として高 Cl 性アシドーシス、尿路結石、尿路感染などがしばしば見られる。これらのうち尿路感染として無症候性細菌尿の頻度が比較的高く、それらの尿中分離菌は *E. coli*、*E. faecalis* などが多い。*E. coli* については種々の尿路病原因子（type I pili、P fimbriae など）が同定されているが、それらが腸管を利用した尿路再建術後の細菌尿とどのように関わっているのか明らかではでない。我々は回腸および結腸を利用したラット膀胱拡大術モデルを作成し、細菌尿を含め尿路病原因子の面から両者を比較検討した。

【対象と方法】

腸管利用膀胱拡大術モデルラットの作成

Sprague-Dawley ラット、雌（体重 200～220g）を用い回腸利用膀胱拡大術（回腸モデル群、n=96）および結腸利用膀胱拡大術（結腸モデル群、n=68）を施行した。方法は、まず 24 時間絶食処置後、ペントバルビタール 50mg/kg、硫酸アトロピン 0.125mg/kg を腹腔内投与し全身麻酔を行った。次いで腹部を正中切開し膀胱を露出、膀胱頂部に 1cm の縦切開を加えた。一方、血管茎をつけたまま回腸または結腸を 7mm 遊離し腸間膜付着部対側で切開、1cm^2 のパッチを作成し、先の膀胱切開部に 7－0 吸収糸を用いて一層縫合、回腸および結腸利用拡大術を行った。またコントロール群（n=15）では膀胱頂部縦切開のみを行った。術後感染予防抗菌薬としてセフピロム 0.04gm/kg を 3 日間腹腔内投与した。

尿培養および尿路病原因子の同定

術後 3 ヶ月目に経尿道的にカテーテルを挿入し尿を無菌的に採取、尿 pH 測定、尿培養を行った。また、回腸モデル群より分離された *E. coli* 32 株および結腸モデル群より分離された *E. coli* 19 株の尿路病原因子を PCR 法を用いて検索した。病原因子としては一般に頻度の高い type I pili の他、腎盂腎炎関連因子である P fimbriae、さらに hemolysin、aerobactin、cytotoxic necrotizing factor、S fimbriae、afimbrial adhesion の検出を行った。

実験的膀胱炎

次に先の尿培養の結果菌陰性であった回腸モデル群 15 匹、結腸モデル群 18 匹を用いて 2 種の *E. coli* を膀胱内に注入し、実験的膀胱炎モデルを作成し、菌付着性について検討した。使用した *E. coli* は *E. coli* C5 株（病原因子：type I pili、aerobactin）、*E. coli* C92 株（病原因子：type I pili、P fimbriae、aerobactin）であった。2 種の *E. coli* をそれぞれ

10^5CFU/0.3ml となるよう調整した菌液を作成し、各群の尿培養陰性ラットに経尿道的に膀胱内に注入し外尿道口を4時間クリップし、実験的膀胱炎を惹起させた。14日後無菌的に尿を採取した上殺処理し、拡大膀胱を摘出、膀胱部分と腸管部分とに分けそれぞれPBSにて洗浄後すりつぶし組織1mg当たり1mlのPBSを加え培養し、膀胱および腸管の単位面積当たりの付着菌数について比較、検討した。

統計学的処理：尿pHの比較についてはStudentのt検定、膀胱および回腸、結腸の付着菌数の比較についてはMann-WhitneyのU検定を用いた。

【結果】

尿：術後3ヶ月目に採取した尿培養の結果、回腸モデル群では60/96（62.5%）、結腸モデル群では36/68（52.9%）が尿培養陽性であった。一方コントロール群ではすべて尿培養陰性であった。分離菌種は回腸モデル群、結腸モデル群とも *E. coli* が最も多く、それぞれ32/60（53.3%）、19/36（52.7%）であり、その他の分離菌種は *E. faecalis*、*P. mirabilis* などであった。尿培養陰性ラットにおいて、回腸モデル群の尿pH（7.35±0.33）は結腸モデル群（6.80±0.45）およびコントロール群（6.67±0.30）に比し有意に上昇していたが結腸モデル群とコントロール群との間に有意な差を認めなかった。また尿培養陽性ラットにおいても回腸モデル群（8.15±0.58）は結腸モデル群（7.40±0.55）に比し尿pHは有意に上昇していた。

尿路病原因子：回腸モデル群分離株ではすべてtype I pili のみを保有していた。結腸モデル群分離株では14株がtype I pili のみを、4株がtype I pili およびP fimbriae を認め、1株には病原因子を認めなかった。

実験的膀胱炎：2種の菌液をそれぞれ回腸モデル、結腸モデルの膀胱内に注入後14日目に尿培養を行った。付着因子としてtype I pili をもつ *E. coli* C5 株では回腸モデル群8匹すべてで尿培養陽性であったが、結腸モデル群では8匹が尿培養陽性で、1匹は陰性であった。type I pili およびP fimbriae をもつ *E. coli* C92株では回腸モデル群7匹、結腸モデル群9匹すべてで尿培養陽性であった。拡大膀胱を摘出し、膀胱部分と腸管部分とに分け付着菌数を測定したところ、*E. coli* C5 株を用いた実験的膀胱炎において、回腸モデル群では回腸面に4.86±1.03 (mean±SD, log) CFU、膀胱面に3.45±1.09 CFU、結腸モデル群では結腸面に3.93±1.28 CFU、膀胱面に3.70±1.06 CFU付着していた。*E. coli* C5 株は膀胱に比し回腸に有意に多く付着したが、結腸と膀胱とでは明らかな差を認めなかった。

一方 *E. coli* C92 株を用いた実験的膀胱炎において、回腸モデル群では回腸面に 5.03±1.21 CFU、膀胱面に 4.51±1.13 CFU、結腸モデル群では結腸面に 4.29±1.05 CFU、膀胱面に 3.75±1.32 CFU 付着していた。*E. coli* C92 株は膀胱と回腸および結腸との間の付着の程度に差を認めなかった。

【考察】

腸管利用尿路変向術に見られる細菌尿の原因として、残尿、腸粘液の産生、尿 pH の変化、そして菌の付着性等が挙げられる。今回、我々はラットを用いて回腸および結腸利用膀胱拡大術モデルを作成し、尿 pH、菌付着性の違いについて検討した。

尿 pH（水素イオン濃度）は抗菌作用に関与する一方、尿中細菌の存在が尿 pH に影響を与えることはよく知られている。報告された文献にはさまざまな腸管を利用した尿 pH の比較が行なわれているが、細菌尿の有無の観点から検討はなされていない。そこで尿培養陰性、陽性とを区別して回腸モデル、結腸モデルの尿 pH を比較した。尿培養陰性ラットにおいて尿 pH は回腸モデル群で結腸モデル群に比し有意に上昇していたことは、結腸を利用した方が細菌感染を生じにくい可能性を示唆している。本実験において術後 3 ヶ月目の尿培養で、回腸モデル群で 62.5%、結腸モデル群で 52.9%が菌陽性であったことも尿 pH の結果と一致しているとも言える。

尿路感染症において最も分離頻度の高い起因菌である *E. coli* を用いた実験的膀胱炎において付着因子の点から検討してみたところ、type I pili のみを有する *E. coli* C5 では膀胱に比し回腸に有意に多く付着した。一方、結腸と膀胱とでは付着の程度に差は見られなかった。この type I pili は一般に *E. coli* において保有率が高いので、回腸を利用し尿路変向術を行った場合は容易に *E. coli* 感染が生じる可能性が示唆された。また、術後 3 ヶ月目に尿中分離された *E. coli* の付着因子が回腸モデル群ではすべて type I pili のみであり、このことは結腸に比し回腸では *E. coli* が容易に付着できることを示唆するものと考えられる。一方、付着因子として type I pili および P fimbriae を有する *E. coli* C92 を用いた実験的膀胱炎では回腸、結腸、膀胱に付着の程度の差を認めず、回腸に比し結腸の方が優れているとは言えなかった。しかしながら *E. coli* の大部分が type I pili を保有してい

るのに対し、P fimbriae の保有率は低いことから、我々の尿路感染の面からの検討では腸管利用尿路変向術には回腸に比し結腸の方が優れていると考えられた。

【結論】

腸管を利用した尿路変向術には、尿 pH の上昇、および *E. coli* の有する type I pili による付着の程度の違いから結腸が回腸に比し優れている可能性が示唆された。

神戸大学大学院医学系研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲第1419号	氏名	酒井豊
論文題目	Bacterial Adherence in a Rat Bladder Augmentation Model; Ileocystoplasty versus Colocystoplasty 回腸および結腸利用膀胱拡大術モデルラットにおける菌付着性について.		
審査委員	主査 守殿貞夫 副査 黒田嘉和 副査 尾原秀史		
審査終了日	平成14年2月28日		

（要旨は1，000字～2，000字程度）

膀胱全摘除術後に回腸、結腸などの腸管を利用した尿路再建術が最近よく行われるようになった。その術後の合併症の一つとして無症候性細菌尿の頻度は比較的高く、それらの尿中分離菌は E. coli、E. faecalis などが多い。E. coli については種々の尿路病原因子が同定されているが、それらが腸管を利用した尿路再建術後の細菌尿とどのように関わっているのか明らかではでない。申請者は、回腸および結腸を利用したラット膀胱拡大術モデルを作成し、細菌尿と尿路病原因子の面から両者を比較検討した。

Sprague-Dawley ラット（雌）を用い回腸利用膀胱拡大術（回腸モデル群）および結腸利用膀胱拡大術（結腸モデル群）を施行した。

術後 3 ヶ月目に尿を無菌的に採取し、尿 pH 測定、尿培養を行った。また尿中分離された E. coli の尿路病原因子を PCR 法を用いて検索した。病原因子として type I pili、P fimbriae、hemolysin、aerobactin、cytotoxic necrotizing factor、S fimbriae、afimbrial adhesion の検出を行った。

次に先の尿培養の結果菌陰性であった回腸モデル群、結腸モデル群ラットを用いて 2 種の E. coli すなわち E. coli C5 株（病原因子：type I pili、aerobactin）、E. coli C92 株（type I pili、P fimbriae、aerobactin）を膀胱内に注入し、実験的膀胱炎モデルを作成し、菌付着性について検討した。2 種の E. coli をそれぞれ 10^6CFU/0.3ml となるよう調整した菌液を作成し、各群の尿培養陰性ラットに経尿道的に膀胱内に注入し実験的膀胱炎を惹起させた。14 日後無菌的に尿を採取した上、殺処理し、形成した膀胱を摘出、膀胱部分と腸管部分とに分け、膀胱および腸管の単位面積当たりの付着菌数について比較、検討した。

尿 pH は尿培養陰性ラットの回腸モデル群（pH 7.35±0.33）では結腸モデル群（6.80±0.45）およびコントロール群（pH6.67±0.30）に比し有意に上昇していた。尿培養陽性率は回腸モデル群 60/96（62.5%）、結腸モデル群 36/68（52.9%）であった。回腸モデル群から尿中分離された E. coli 32 株の病原因子はすべて type I pili であったが、結腸モデル群由来の E. coli 19 株では type I pili のみが 14 株、type I pili および P fimbriae をもつものが 4 株で、1 株は病原因子を有していなかった。実験的膀胱炎では、type I pili をもつ E. coli C5 株は膀胱に比し回腸に有意に多く付着したが、結腸と膀胱との間には明らかな差を認めなかった。一方 E. coli C92 株は膀胱と回腸および結腸との間で付着の程度に差を認めなかった。

尿 pH（水素イオン濃度）の上昇が易感染性に関わっていることはよく知られている。尿培養陰性ラットにおいて尿 pH が回腸モデル群で結腸モデル群に比し有意に上昇してい

たことは、結腸を利用した方が細菌感染を生じにくい可能性を示唆している。

また実験的膀胱炎において、type I pili のみを有する E. coli C5 では膀胱に比し回腸に有意に多く付着した。一方、結腸と膀胱とでは付着の程度に差は見られなかった。この type I pili は一般に E. coli において保有率が高く、回腸を利用し尿路変向術を行った場合は容易に E. coli 感染が生じる可能性が示唆された。一方、type I pili および P fimbriae を有する E. coli C92 を用いた実験的膀胱炎では回腸、結腸、膀胱に付着の程度の差を認めなかった。E. coli の大部分は type I pili を保有しているが、P fimbriae の保有率は低いことから、結腸膀胱では感染が起こりにくいことを示唆するもので、我々の今回の検討では腸管利用尿路変向術には回腸に比し結腸の方が優れていると考えられた。

すなわち腸管を利用した尿路変向術には、尿 pH の上昇、および E. coli の有する type I pili による付着性の違いから結腸が回腸に比し優れている可能性が示唆された。

以上のように、本研究は，腸管利用尿路変向術後における腸管の菌付着性について検討し，尿路感染症において重要である E. coli に対する回腸と結腸の付着の程度の違いを明らかにしたもので、重要な知見を得たものとして価値ある業績であると認める。よって本研究は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。