

学位授与番号	医博甲第1409号		
学位授与年月日	平成12年1月31日		
氏名	平松活志		
学位論文題目	Amplification and Sequence Analysis of Partial Bacterial 16S Ribosomal RNA Gene in Gallbladder Bile from Patients with Primary Biliary Cirrhosis (原発性胆汁性肝硬変患者の胆汁中 Bacterial 16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析)		
論文審査委員	主査	教授	中西功夫
	副査	教授	中村信一
		教授	馬淵宏

内容の要旨及び審査の結果の要旨

原発性胆汁性肝硬変（以下 PBC）における胆管傷害の機序の一つとして、細菌感染が関連する molecular mimicry 説が提唱されている。本研究では細菌に対するユニバーサルプライマリーを用いた PCR 法にて胆汁中の Bacterial 16S rRNA gene の一部を増幅し、その PCR 産物を subcloning, sequence することにより、核酸レベルでの細菌の同定を試みた。対象は PBC 15例, 原発性硬化性胆管炎（以下 PSC）5例, C型肝硬変 5例, 胆石症11例, 正常胆汁12例を対象とした。PBC, PSC, C型肝硬変の症例については国内, 海外における肝移植術の際に切除された胆嚢から胆汁を無菌的に採取した。Bacterial 16S rRNA gene は約1500塩基対の遺伝子で、その中には、細菌の種を越えて保存されている conserved region と種特異的な配列を持った divergent region がそれぞれ10ヶ所存在する。胆汁より DNA を抽出し、conserved region に対してデザインされた universal primer を用いて PCR を行い、その PCR 産物を subcloning および sequence 解析し、現在までに報告のある、各種 Bacterial 16S rRNA gene との homology を検索することによって、胆汁中に存在する細菌種の同定を試みた。PBC 患者15例中10例で PCR 陽性であり、その PCR 産物について塩基配列の解析を行ったところ、グラム陽性球菌（75%）を中心とした細菌が同定された。一方、胆石症例でも培養での陽性率は低いものの、PCR では11例中8例が陽性で、グラム陰性菌が中心で、グラム陽性球菌はわずか5%であった。PSC 症例では5例中2例において、C型肝硬変症例では5例中1例においてグラム陰性菌が分離、同定された。また12例の正常コントロール胆汁において培養検査はいずれも陰性、PCR では1例でのみ陽性で *Sphingomonas yanoikuyae* が同定されたが、その他のいずれの患者の胆汁からも同定されなかった。本研究は、PBC の胆管傷害あるいは胆汁うつ滞ともなう病態の進行などに胆汁中のグラム陽性球菌が関与している可能性について明らかにした価値ある労作と評価された。