

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号
------	-------	---

氏 名 林 美智子

論 文 題 目

Dissemination of IncF group F1:A2:B20 plasmid-harboring multidrug-resistant *Escherichia coli* ST131 before the acquisition of *bla*_{CTX-M} in Japan.

(*bla*_{CTX-M} の獲得以前の IncF グループ F1:A2:B20 プラスミドを保有する多剤耐性大腸菌 ST131 の日本における広まり)

論文審査担当者

主 査 名古屋大学教授 川部 勤

名古屋大学教授 近藤 高明

名古屋大学准教授 川村 久美子

論文審査の結果の要旨

基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(Extended-spectrum β -lactamase, ESBL)産生大腸菌の拡散が公衆衛生上の重大な問題となっている。なかでも、血清型 O25、Sequence Type (ST) 131 という疫学的特徴をもつ CTX-M 型 ESBL 産生大腸菌が国内外で増加傾向にある。この CTX-M 型 ESBL 産生大腸菌 ST131 を 1 型線毛の先端をコードする *fim* 遺伝子の塩基配列の差異をもとに細分類すると、フルオロキノロンに耐性を示す H30R1 とフルオロキノロン及びセフトリアキソンに耐性を示す H30Rx に分類でき、それぞれの 6 割以上が F1:A2:B20 と F2:A1:B- というレプリコンタイプのプラスミドを保有していることが明らかになっている。しかし、これらの研究は臨床材料から分離される ESBL 産生菌を対象として行われてきたため、菌株の特徴や一定のレプリコンタイプのプラスミドが耐性遺伝子(*bla*_{CTX-M})の獲得や広まりに寄与しているかについては不明である。一方、下痢便から分離される大腸菌の血清型調査では、ヒト腸管内における大腸菌 O25 の増加(1999 年 3%、2008 年 16%)が報告されていることから、ヒト腸管内における ST131-*E. coli* の増加と *bla*_{CTX-M} の拡散との間に何らかの関係性があるのではないかと仮説をたてた。本研究では、2008 年に下痢患者の糞便から収集された O25-*E. coli* のゲノム解析を実施することで、ヒト腸管内に生息する O25-*E. coli* の分子生物学的特徴を明らかにし、*bla*_{CTX-M} の広まりにおける ST131 株、H30R1 の果たす役割についての新知見を得ることを目的とした解析を行った。本研究の新知見と意義は要約すると以下のとおりである。

1. O25-*E. coli* 50 株のうち 36 株(72%)が ST131 株で、これらの菌株は抗菌薬への感受性にかかわらず収集されたため、腸管内の **population structure** を示していると考えられる。解析結果から、2008 年には約 10%相当の人が腸管内に ST131-*E. coli* を保有していたことが示唆された。
2. 薬剤耐性遺伝子の所在とプラスミドのレプリコンタイプを解析した結果、大腸菌 H30R1-ST131 の 27 株中 24 株(89%)が F1:A2:B20 プラスミドを保有していた。さらに、遺伝子解析の結果、F1:A2:B20 プラスミドは複数の薬剤耐性遺伝子を集積していることも明らかになった。一方で、大腸菌 non-H30R1-ST131 は異なる複数のプラスミドを保有しており、薬剤耐性遺伝子の保有割合も有意に低かった。これらの結果から、H30R1、F1:A2:B20 及び 薬剤耐性遺伝子の間での強い相関性が示唆された。
3. F1:A2:B20 プラスミドはサイズが 86-159kb と多様であるにも関わらず、24 個中 23 個で配列が 93%以上一致しており、NCBI データベースに登録されている同タイプのプラスミドの配列とも高い類似性を示していた。今回解析した F1:A2:B20 プラスミドは接合能が極端に低く、抗菌薬プレッシャーの有無にかかわらず 20 日に渡って安定的に維持されていた。以上のことから、大腸菌 ST131 は薬剤耐性遺伝子を保有する F1:A2:B20 プラスミドを獲得することで、抗菌薬プレッシャーのない状況下で多剤耐性化し、そのことが、後の *bla*_{CTX-M} の獲得や広まりに好条件であったと考える。

本研究は、多剤耐性の F1:A2:B20 プラスミドを保有した大腸菌 ST131-H30R1 が *bla*_{CTX-M} を獲得する以前にヒト腸管内にすでに広まっていたことが、*bla*_{CTX-M} の獲得や広まりに寄与した可能性を示す新知見を提供した。なお、本研究成果は *Journal of Global Antimicrobial Resistance* (IF=2.706)に掲載された。(Journal of Global Antimicrobial Resistance 23: 456-465, 2020)。

以上の理由により、本研究は博士(医療技術学)の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※第	号	氏名	林 美智子
試験担当者	主査	名古屋大学教授 川部 勤	名古屋大学教授 近藤 高明	名古屋大学准教授 川村 久美子
<p>(試験の結果の要旨)</p> <p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. グラム陰性桿菌における代表的なβ-lactamaseとそれらの酵素学的特徴について 2. 市中環境におけるESBL産生大腸菌の拡散が医療現場にもたらす問題について 3. 系統解析法multilocus sequence typing (MLST)の意義について 4. 薬剤耐性獲得機構におけるプラスミドや可動遺伝子の役割について 5. プラスミドの不和合性(incompatibility)について 6. グラム陰性菌がIncF groupのようなマルチレプリコンタイプのプラスミドを保有する利点について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、医療技術学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				