

論文審査の要旨

|   |                   |    |       |
|---|-------------------|----|-------|
| 博士の専攻分野の名称  | 博 士 ( 医学 )        | 氏名 | 繁本 憲文 |
| 学位授与の要件   | 学位規則第 4 条第①・2 項該当 |    |       |
| <p>論 文 題 目</p> <p>A novel metallo-β-lactamase, IMP-34, in <i>Klebsiella</i> isolates with decreased resistance to imipenem<br/>                 (イミペネムに対する感受性が低下したクレブシエラ属が保有する新規メタロβラクタマーゼ, IMP-34)</p>   |                   |    |       |
| <p>論文審査担当者</p> <p>主 査 教授 坂口 剛正</p> <p>審査委員 教授 菅野 雅元</p> <p>審査委員 教授 大毛 宏喜</p>  |                   |    |       |
| <p>〔論文審査の要旨〕</p> <p>緑膿菌のカルバペネム耐性の原因は、おもにカルバペネム分解酵素産生や外膜透過性の変化による。また、過日、米国疾病予防管理センターはホームページにてカルバペネム耐性腸内細菌科細菌に対して注意するよう呼びかけているが、これらはおもに <i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase (KPC) や New Delhi metallo-β-lactamase (NDM) などのカルバペネム分解酵素産生がその機序と言われている。</p> <p>本邦においてはイミペネム(以下、IPM)がカルバペネム系抗菌薬の代表として取り扱われており、薬剤感受性試験は IPM 単剤にて行われることが多い。しかし、カルバペネム分解酵素には IPM に対する分解活性が低下しているものもあり、薬剤感受性試験において感受性を示すカルバペネム分解酵素産生菌が存在することが明らかとなってきた。本邦において最も多く検出されているカルバペネム分解酵素は IMP-1 である。一方、DNA 配列で 1 塩基、アミノ酸配列で 1 残基が異なる IMP-6 は IPM に対する分解活性が低いものの、メロペネム(以下 MEPM)に対しては高い分解酵素活性を有していることから、臨床的にカルバペネムが無効であるにもかかわらず検査室ではカルバペネム感受性と判定される危険を有している。そうした株が広島県内の複数施設から検出されていることを、すでに繁本らが報告している。</p> |                   |    |       |

本研究では、カルバペネム分解酵素であるメタロ-β-ラクタマーゼ(以下、MBL)を産生するが、イミペネムに対して耐性と判定されなかった腸内細菌科細菌を近畿耐性菌研究会の協力で収集し、遺伝子変異を検討した。これらの菌株の解析から、近畿地区においても IPM に耐性を示さない MBL 産生腸内細菌の大多数は IMP-6 産生菌であったという重要な知見を得た。また、IMP-1 産生菌も 1 株存在していた。

さらに本研究では、新規 MBL を発見して同定し、IMP-34 と名付けた。IMP-34 は *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* の 2 種から検出され、自然界での遺伝子の伝達が示唆された。IPM と MEPM に対する MIC の差がないことから、IPM に対して IMP-6 より高い分解活性が示唆された。これについて接合伝達を実験的に行ったところ、IMP-34 遺伝子が伝達されることを示した。制限酵素切断断片を用いた電気泳動、およびサザンハイブリダイゼーションにより、IMP-34 を含む plasmid が約 80kbp であり、分離された 5 株で共通していることを明らかにした。薬剤耐性遺伝子を含むインテグロン領域の DNA 配列を明らかにし、遺伝子カセットが共通していることから同一の plasmid と考えられた。これらは、IMP-34 は自然界で種を超えて伝達されていることを示している。また、IMP-34 の活性については、大腸菌に IMP-1, IMP-6, IMP-34 を産生させ、それらの MIC 値の増加を測定して比較したところ、IMP-34 は IMP-6 と比較して IPM や PIPM, BIPM に対して高い分解活性を有していることを示した。

IMP-34 はアミノ酸配列では IMP-1, IMP-3 とそれぞれ 1 アミノ酸残基異なり、DNA 塩基配列では、IMP-1 とは 2 塩基、IMP-3 とは 1 塩基異なっていた。IMP-6 も IMP-1, IMP-3 とそれぞれ 1 アミノ酸残基異なるが、DNA データを比較すると、IMP-1 とは 1 塩基異なり、IMP-3 とは 6 塩基異なっていた。これらの 4 つの IMP は近縁であるが、IMP-3 と IMP-34 がより近く、IMP-1 と IMP-6 がより近いことを示した。

繁本らは、これらの結果を第 60 回日本化学療法学会西日本支部総会で発表した折に、支部長賞を受賞している。

以上の結果から、本論文は新規 MBL である IMP-34 を発見し、自然界において拡散している現状を示した抗生物質耐性菌研究として価値の高いものである。また、IMP-1, IMP-6, IMP-34 が腸内細菌科細菌ではイミペネムに対する耐性のみでは検出できない可能性を示し、臨床的にも重要な知見を示した。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士(医学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。