

第 8 号様式

論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	氏名	清水 亘
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目 Persistence and Epidemic Propagation of a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Sequence Type 235 Clone Harboring an IS26 Composite Transposon Carrying the <i>bla</i>_{IMP-1} Integron in Hiroshima, Japan, 2005 to 2012. (2005 年～2012 年の広島における <i>bla</i>_{IMP-1} インテグロンを含む IS26 複合トランスポゾン保有緑膿菌 (ST235 クローン) の持続的流行伝播)			
論文審査担当者 主 査 教授 坂口 剛正 審査委員 教授 田中 純子 審査委員 准教授 横崎 典哉			
〔論文審査の要旨〕 緑膿菌は院内感染症を引き起こす病原菌のひとつで、治療にはカルバペネム系抗菌薬が使用されることが多い。しかし現在メタロ-β-ラクタマーゼ (MBL) 遺伝子によって、カルバペネム耐性を獲得した緑膿菌が全世界で報告され、MBL 遺伝子を持つ緑膿菌は多剤耐性化し、治療上の重要な問題となっている。 申請者が属する広島大学院内感染症プロジェクト研究センターでは、2004 年度より広島県内の 9 つの病院の協力を得て、薬剤耐性緑膿菌 (イミペネムあるいはセフトジジム耐性緑膿菌) のサーベイランスを行っており、2006 年度までの検討では、<i>bla</i>_{IMP-1} 遺伝子を保有する多剤耐性緑膿菌 (MDRP) が増加傾向であることを報告した。またこの <i>bla</i>_{IMP-1} 遺伝子を保有する MDRP を PCR マッピングにて、7 つのインテグロンカセットタイプに分類すると、広島においてタイプ F と名付けられたインテグロンを保有する MDRP が著明に増加していることが分かった。このタイプ F は宮城県 of 病院にてアウトブレイクを起こした NCGM2. S1 株が保有するクラス 1 インテグロン (In113) (本研究での PCR マッピングではインテグロンタイプ E) と同じタイプであることも同時に報告している。 本研究では、引き続き行っている耐性緑膿菌サーベイランスの 2012 年までの結果につ			

いて、また増加著しいインテグロンタイプ F と In113 との関連性について解析した。

1. 2012 年までのサーベイランスの結果

耐性緑膿菌は 2007 年をピークに減少傾向であり、またこの耐性緑膿菌に占める MDRP の比率は 2004 年から 4 年間は 20%を越えていたが、2008 年以降、漸減傾向で 2012 年は 12%まで減少した。同様に耐性緑膿菌に占める MBL 産生株の比率も、2005 年の 28.1%がピークで、その後徐々に減少し、2012 年は 13.2%まで減少した。

しかし MDRP に占める MBL 産生株の比率は依然として、50~60%と高い比率を示しており、前述したインテグロンタイプ F を保有する MBL 産生緑膿菌が検出され続け、9 病院中 8 病院にて確認された。

2. インテグロンタイプ F と In113 との関連性

宮城県にてアウトブレイクを起こした In113 を保有する NCGM2. S1 株は、すでに全ゲノム塩基配列が判明しており、MLST (Multilocus Sequence Typing) でもタイプ F と同じ ST235 であったため、同一系統と考えられた。さらにタイプ F の代表株 PA058447 のフォスミドライブラリーを作成し、タイプ F の resistance element の塩基配列決定を行った結果、タイプ F は 3 つの IS26 によってはさまれた 2 つのセグメントより構成されており、In113 の resistance element と非常に酷似しているが、IS26 を介して 2 つのセグメントが反転した形となっていることが判明した。また、In113 の resistance element は染色体上の *oprD* 遺伝子に挿入され、*oprD* 遺伝子が破壊された状態であるのに対して、タイプ F 株では *oprD* 遺伝子は完全なままで保存されており、挿入部位に相違を認めた。

タイプ F の代表株 PA058447 のドラフトゲノム塩基配列を取得し、ゲノムレベルで NCGM2. S1 株と比較した結果、両株は酷似していることが判明した。

以上の結果より、タイプ F 株は NCGM2. S1 株と同じ祖先に由来したと仮説を立て、これを検証した。In113 の resistance element がタイプ F の先祖株に挿入され、IS26 を介したゲノムの反転、相同組み換えにより、タイプ F 株に変化することが理論上説明可能であった。

広島ではタイプ F 株が長期間にわたり、地域を越えて存在し続けている。In113 を保有するタイプ E 株はポーリントラックの *oprD* 遺伝子が破壊されることにより、イミペネム流入が少なくなるという耐性菌としてのメリットが考えられるが、栄養などの取り込みが不十分になるというデメリットも考えられる。一方、タイプ F 株は *oprD* 遺伝子をそのまま保存しており、栄養の取り込みが十分行えるため、このことが、長期にわたり広島地区で生き残り続けている要素の一つではないかと考察された。

以上の結果から、本論文は広島地区での耐性緑膿菌サーベイランスにて、タイプ F 株が持続的に検出され続けていることを示した分子疫学的研究として価値の高いものである。またタイプ F 株は宮城県でアウトブレイクを起こした株と同一祖先であるという仮説を理論的に説明し、新しい知見を示した。よって審査委員会委員全員は、本論文が申請者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。