

学位論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第22号		
所属	保健学専攻 医療生命科学分野 医療生命科学領域	氏名	根岸 達哉
学位論文題目	Characterization of clinically isolated thymidine-dependent small-colony variants of <i>Escherichia coli</i> producing extended-spectrum β -lactamase (臨床検体より分離された基質拡張型 β -ラクタマーゼ産生性 <i>Escherichia coli</i> のチミジン要求性 small-colony variants の特徴)		
論文審査担当者	主査 奥村 伸生 副査 長野 則之、小穴 こず枝		
<p>Small-colony variants (SCVs)は非定型のコロニー形態を示す遅発育型の変異株の総称であり、代謝などに関わる遺伝子に変異を有することから栄養要求性やCO₂要求性などを示す。SCVsは臨床材料に由来するグラム陽性球菌の <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSAを含む)や <i>Enterococcus faecalis</i>等や、グラム陰性桿菌の <i>Escherichia coli</i> や <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 等多くの菌種で報告されてきている。これらのSCVsは持続性感染症や再発性感染症に関わるため臨床感染症の観点から検査、治療上重要視すべきである。本研究は先天性胆道閉鎖症の患者から同日に採取された糞便と尿に由来する <i>E. coli</i> のSCV-4474とSCV-4478、さらに27日後に採取された糞便由来 <i>E. coli</i> SCV-4539の3株を対象に形態学的、遺伝学的特性解析を行った。これら3株はチミジン要求性を示し、チミジル酸合成酵素にR21Hのアミノ酸置換を有していたが、SCVsの継代培養により得られた復帰変異株ではこの置換は認められなかった。形態学的解析の結果、グラム染色像及び走査電子顕微鏡像でSCVsの細胞は不均一で膨化、伸長が見られ背景に多くの細胞片が認められた。また、不完全な隔壁形成も観察された。SCV-4478及びSCV-4539は広域セファロsporin系薬に耐性であり、基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ (ESBL)の産生性が示唆された。解析の結果、これら2株は <i>bla</i>_{CTX-M-3}を保有していたが、当該遺伝子をコードするプラスミドは接合伝達実験で受容菌の <i>E. coli</i> CSH2には伝達されなかった。しかしながら、<i>bla</i>_{CTX-M-3}を保有しないSCV-4474は、<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC700603が保有するプラスミド (<i>bla</i>_{SHV-18})を接合伝達により受容し、さらにこのプラスミドを <i>E. coli</i> CSH2に伝達し得た。以上の知見からチミジル酸合成酵素遺伝子 <i>thyA</i>の変異は <i>E. coli</i> のコロニー及び細胞に形態異常をもたらすと同時に、チミジン要求性を引き起こすことを明らかにした。さらにチミジン要求性SCVsが薬剤耐性遺伝子をコードするプラスミドを水平伝播することを立証した。従って、伝達性薬剤耐性プラスミドのリーザーバーとなり得るチミジン要求性SCVsを検出することが重要である。</p> <p>グラム陰性桿菌のSCVsについての詳細な研究はこれまでなされておらず、本研究は臨床高頻度に分離される <i>E. coli</i> でのSCVsの特性解析を行った点で評価できる。研究は適正に行われており、チミジン要求性SCVsの病原性を解明するなど今後の研究への発展が期待できる。また、学位審査においても質疑に対し適切に答えていることから、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。</p>			