

学位論文の要旨

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
題目 Characterization of clinically isolated thymidine-dependent small-colony variants of <i>Escherichia coli</i> producing extended-spectrum β -lactamase (ESBL) (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)			
要旨 <目的> チミジン要求性 small-colony variants (TD-SCVs)は、発育にチミジンを要求し、検出すること、薬剤感受性試験を実施することが困難な変異細菌である。今回、我々は <i>bla</i> _{CTX-M-3} を保有する株と、保有しない株の同一クローンである <i>Escherichia coli</i> TD-SCVs を同一患者より分離した。本研究では、これら分離株の性状について明らかにすることを目的とした。 <方法> 分離株の <i>thyA</i> 遺伝子をシークエンス解析し、本遺伝子変異により引き起こされるコロニーと菌体の形態異常について観察を行った。さらに、TD-SCVs が薬剤耐性遺伝子保有プラスミドを水平伝播するかについて、接合伝達試験により証明を行った。 <結果> 分離された TD-SCVs の <i>thyA</i> 遺伝子には、一塩基変異 c.62G>A が認められ、それに伴うミスセンス変異 p.Arg21His が確認された。また、 <i>E. coli</i> TD-SCVs のコロニーは、野生型株に比べ透明がかっており、扁平であった。さらに、菌体は膨化、伸長しており、時には異常で不完全な細胞分裂を伴っていた。また、背景には多くの壊れた菌体の残骸が観察された。c.62G>A が野生型株の配列に戻ると、これらの形態異常のほとんどが消失した。接合伝達試験では、 <i>bla</i> _{CTX-M-3} 保有 <i>E. coli</i> TD-SCV は <i>E. coli</i> CSH2 に <i>bla</i> _{CTX-M-3} を伝達しなかった。しかし、 <i>bla</i> _{CTX-M-3} を保有しない <i>E. coli</i> TD-SCV は、 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 から <i>bla</i> _{SHV-18} を受け取り、さらにこれを <i>E. coli</i> CSH2 に接合伝達した。 <結論> <i>E. coli</i> において、 <i>thyA</i> 遺伝子変異はチミジン要求性の表現型だけでなく、形態的異常を引き起こす。また、TD-SCVs は薬剤耐性遺伝子を保有するプラスミドを接合伝達により水平伝播する。TD-SCVs は伝達性薬剤耐性プラスミドのため池となりえるため、その性状を踏まえ検出することが重要である。			
研究指導教員 信州大学学術研究院 (保健学系) 教授 長野 則之			