

学位論文の要旨

医学系専攻	保健学分野 医療生命科学ユニット	氏名	林 航
<p>題 目</p> <p>Genomic characterisation and epidemiology of nosocomial <i>Serratia marcescens</i> isolates resistant to ceftazidime and their plasmids mediating rare <i>bla</i>_{TEM-61}</p> <p>(医療関連感染事例由来セフトアジジム耐性 <i>Serratia marcescens</i> の全ゲノム解析による <i>bla</i>_{TEM-61} 保有プラスミド伝播事象の解明)</p>			
<p>要 旨</p> <p><i>Serratia marcescens</i> は病院内環境中に広く分布し、医療関連感染の起因菌の一つとして重要視されている。今回、国内の中規模医療機関でセフトアジジム耐性 <i>S. marcescens</i> による医療関連感染事例を確認した。本研究では1年間にわたり7病棟で確認された20 事例由来セフトアジジム耐性 <i>S. marcescens</i> 20株(呼吸器系材料由来15株, 泌尿器系材料由来4株, 膿由来1株)を対象に薬剤耐性遺伝子の同定, パルスフィールド電気泳動法 (PFGE), <i>Escherichia coli</i> χ1037への接合伝達実験を行なった。さらに, 代表株12株を対象とした全ゲノム解析および接合伝達株におけるプラスミドNGS解析を実施し, それぞれの分子学的特性と医療関連感染事象の動態の解明を試みた。</p> <p><i>S. marcescens</i> 20株 (Sm1~Sm20)はセフトアジジム (MIC : 32 → 128 mg/L)に耐性を示し, 全株が ESBL 遺伝子として極めて稀な <i>bla</i>_{TEM-61} を保有していた。また, 本遺伝子上流にはプロモーター領域 <i>P_a/P_b</i> が存在し, <i>P_b</i> 領域の下流に15塩基 (5'-ATGTCATGATAATAA-3')を1単位とする配列の重複が認められ, 株間で2~4単位と重複配列数が異なっていた (2単位 : 6株, 3単位 : 12株, 4単位 : 2株)。PFGE 型別の結果, 20株は遺伝的に異なる2つのグループに大別された (pulsotype I : 14株, pulsotype II : 6株)。20株のうち pulsotype およびプロモーター領域における重複配列数に基づき選択した12株 (pulsotype I の Sm1, 7, 8, 10, 11, 14, 18 および pulsotype II の Sm2, 3, 4, 6, 20) を対象とし, 全ゲノム解析を実施した。SNP および wgMLST に基づく系統解析の結果, pulsotypes I の7株と pulsotypes II の5株は相互に高い配列類似性を示し, Genotype 1, Genotype 2 の別々のクラスターに分別された。これらクラスターに分類された株は病原遺伝子としてヒト臨床由来 <i>S. marcescens</i> に特徴的であるヘモリジン関連遺伝子 <i>shlB</i> と細菌接触依存性増殖抑制システムに関与する <i>cdiA</i> を保有しており, 環境由来株 (水系環境, 植物等) とは遺伝的に異なり, ヒト臨床由来株の遺伝系統群に属していた。また, 12株全てが <i>S. marcescens</i> に特有な IV 型分泌系遺伝子群を骨格とするプラスミド (約78.9 bp) を共有しており, <i>repA</i> の下流に <i>bla</i>_{TEM-61} を担う TnI (<i>tnpA-tnpR-bla</i>_{TEM-61}) が存在していた。さらに, Sm14は既報の <i>E. coli</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> が保有するプラスミドの全塩基配列と高い相同性を示すプラスミド (約 37.6 kb) も保有していた。注目すべきことに, 本プラスミドと同一の骨格を持ち, <i>bla</i>_{TEM-61} を含む TnI が挿入されたプラスミド (約 42.5 kb) が Sm10 に認められ, さらに <i>E. coli</i> χ1037 に対して非常に高頻度な伝達性を確認した (2.8×10^{-3} CFU/donor cell)。</p> <p>本研究で未だ報告のない <i>bla</i>_{TEM-61} 保有 <i>S. marcescens</i> による医療関連感染事例を確認した。また, 院内伝播事例にはプロモーター領域に異なるコピー数の重複配列を有する <i>bla</i>_{TEM-61} を担う狭宿主域プラスミドの2種の遺伝系統株間での水平伝播とそれを保有するクローン自体の伝播事象に加え, 同時に保有する高頻度伝達能を有する広宿主域プラスミドへの TnI の転移事象が関与していることを明らかにした。本研究は医療関連感染に関連する薬剤耐性菌および可動性遺伝因子の伝播様式の推定におけるゲノム解析の有用性を強調するものである。</p> <p style="text-align: right;">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</p>			