

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	松 島 晶
論文題目	High Prevalence of Mutators in <i>Enterobacter cloacae</i> Nosocomial Isolates and Their Association with Antimicrobial Resistance and Repetitive Detection (院内感染関連エンテロバクタークロアカにおける突然変異頻度上昇株の増加と、それらの菌株における抗菌薬耐性および持続感染性に関する検討)		
(論文内容の要旨)			
院内感染の主要な起因菌の一つである <i>Enterobacter cloacae</i> は、第 3 世代セファロsporin耐性株の増加が臨床上大きな問題であり、染色体性 AmpC 型 βラクタマーゼの脱抑制変異がその主たる機序とみなされている。同じく誘導性の抗菌薬耐性が問題となる緑膿菌においては、嚢胞性線維症の各患者には単一クローンが持続感染し、その経時的な突然変異頻度(変異頻度)上昇が多剤耐性化に寄与しているとされるが、<i>E. cloacae</i> では変異頻度上昇株の薬剤耐性化を含め臨床に与える影響のみならず、そのような株の割合についての検討も未だなされていない。 本研究では 2003 年 1 月から 7 月の期間に京都大学医学部附属病院の外科系病棟から提出された臨床検体より分離された <i>E. cloacae</i>を対象とし、変異頻度を測定し臨床因子との関連を解析した。各患者の初回分離株に加えて、持続感染の有無との関連性を探るため 30 日以上の間隔で 2 回目以降に分離された株も対象とした。変異頻度は 15 時間液体培地中で培養した後の rifampicin 耐性株の出現頻度で測定した。標準株 ATCC13047 に対し 50 倍以上の変異頻度を示した株を変異頻度高度上昇株(高度株)、5 倍以上 50 倍未満を中等度上昇株(中等度株)、5 倍未満を正常株とした。遺伝子型は XbaI 処理ゲノム DNA のパルスフィールド電気泳動パターンで決定した。piperacillin/tazobactam(P/T) 、 ceftazidime(CAZ) 、 imipenem(IPM) 、 gentamicin(GM)、levofloxacin(LVX)について感受性試験を行った。患者の臨床背景についてはカルテレビューを行った。 42 患者由来の 62 株のうち、rifampicin に耐性を示した 3 株を除く 59 株の変異頻度は、5.8×10^{-9} から 8.0×10^{-6} (中央値 5.0×10^{-8})であった。高度株は 7 株(12%)、中等度株は 30 株(52%)であった。P/T(p=0.02)、CAZ(p=0.007)、IPM(p=0.04)、LVX(p=0.04)で MIC 値と変異頻度は正の相関があり、耐性薬剤数の中央値は高度株 2 剤、中等度株 1 剤、正常株 0 剤 (p<0.001、Spearman’s rank correlation) と、変異頻度の上昇と薬剤耐性、多剤耐性化の間は有意に関連していた。対象 59 株は 40 遺伝子型に分類され、高度株 7 株は全て異なる遺伝子型を示し、同一患者内での高度株の持続感染は認められなかった。変異頻度と特定の遺伝子型との相関は認められなかった。患者背景として、ICU 入室(p=0.02)、グリコペプチド系抗菌薬投与(p=0.04)、複数系統抗菌薬投与(p=0.04)、持続感染(p=0.04)が高度株検出と有意に相関していた。 入院患者から分離された <i>E. cloacae</i> では変異頻度高度上昇株が高率にみとめられた。そのような株の由来や変異頻度上昇の分子メカニズムについては未解明であり今後の検討課題であるが、変異頻度上昇株の検出と抗菌薬曝露との関連、および抗菌薬耐性、多剤耐性化、反復検出との相関が示された。			

(論文審査の結果の要旨) 院内感染の主要な起因菌の一つである <i>Enterobacter cloacae</i> は、第 3 世代セファロsporin耐性の獲得が臨床上大きな問題であるが、他菌種で耐性化との関連が報告されている変異頻度上昇株の割合や臨床に与える影響は検討されていない。 2003 年 1 月から 7 月の期間に京都大学医学部附属病院の外科系入院患者由来株について変異頻度を測定し、薬剤耐性や遺伝子型との相関を検討した。また、菌株検出患者の臨床因子との関連を解析した。外科系入院患者由来 <i>E. cloacae</i> では変異頻度高度上昇株が 59 株中 7 株(12%)と高率に存在し、この形質は各種抗菌薬の MIC 値および耐性薬剤数と相関していた。また、患者背景として変異頻度高度上昇株検出と有意な相関を認めたものは、抗菌薬投与歴(グリコペプチド系、複数系統薬剤)、ICU 入室歴、<i>E. cloacae</i> 反復検出であった。一方、変異頻度と特定の遺伝子型との相関は認めなかった。同一遺伝子型株の持続感染が存在した 3 例において変異頻度の経時的上昇は認めなかった。これらの結果から抗菌薬投与歴を持つ患者群由来の <i>E. cloacae</i> において各種薬剤に耐性をもつ変異頻度上昇株が存在し抗菌薬による感染症治療の難治化の一因となっていることが示唆された。 以上の研究は院内感染 <i>E. cloacae</i> の耐性獲得機序や臨床病態解明に貢献し、院内感染の診療適正化に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成 2 2 年 2 月 1 6 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日以降			