

# (近藤 翼) 論文内容の要旨

## 主 論 文

*Escherichia coli* ST131 isolated from urological patients can acquire plasmid-mediated extended spectrum  $\beta$ -lactamase from other bacteria with high frequency

泌尿器科患者由来の ST131 は、他菌種からプラスミド媒介性に基質特異性拡張型  $\beta$  ラクタマーゼを高頻度で獲得する

近藤翼、坂本啓、森永芳智、宮田康好、柳原克紀、酒井英樹

International Journal of Urology • in press

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻

主任指導教員：宮田 康好 准教授

### 緒言：

大腸菌は最も重要な感染症の起炎菌の 1 つであり、尿路感染症においても同様である。また近年ニューキノロン系の抗菌薬に耐性を示す大腸菌や、基質特異性拡張型  $\beta$  ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌大腸菌が世界中で増加し問題となっている。このような薬剤耐性大腸菌に、multi locus sequencing typing (MLST) により sequence type (ST) 131 系統に分類される大腸菌が高頻度に見られることが報告されている。この大腸菌 ST131 はヒト、家畜、食料品など自然界から検出され、交通や物流によって世界中に伝播すると推測されている。しかし、ST131 系統の大腸菌が他の ST の大腸菌に比べ、世界各地で高頻度に見出される理由は未だによくわかっていない。

そこで、本研究では、まず長崎大学病院泌尿器科の患者から検出される大腸菌について MLST を行うとともに薬剤耐性の状況を調査し、ST131 系統の大腸菌の比率と ST131 において抗菌剤耐性遺伝子が高頻度に見られる機序について検討した。

### 対象と方法：

2018 年に長崎大学病院泌尿器科の尿路感染症患者の血液または尿から採取された 65 株の大腸菌について MLST を行い、それらの ST を同定した。ニューキノロン耐性遺伝子については *gyrA* および *parC* 遺伝子のキノロン耐性決定領域 (QRDR) におけるアミノ酸変異の有無、またプラスミド性遺伝子 (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*) の解析を行った。基質特異性拡張型  $\beta$  ラクタマーゼ (ESBL) 遺伝子については CTX-M-1 (15)、CTX-M-2、CTX-M-9、TEM、SHV の有無を PCR により判定した。

大腸菌の ESBL 遺伝子の獲得能については接合伝達試験で評価した。大腸菌の宿主への定着能については C57BL6 系統のマウスに経口投与し、糞便中から検出されたコロニー数で評価した。また、大腸菌を含む腸内細菌科細菌を増加させる目的でマウスにバンコマイシンを経口投与し、腸内における大腸菌の菌量の変化を評価した。

#### 結果：

今回の検討において ST131 系統は全大腸菌の 32%を占め最多であった。また、レボフロキサシン耐性株、ESBL 陽性株のそれぞれ 63%、73%を ST131 系統が占めていた。QRDR の変異を伴う ST131 系統の大腸菌の割合は、非 ST131 系統の割合よりも有意に高かったが、qnr 遺伝子はいずれも認めなかった。ESBL 産生株の 15 株のうち 12 株が CTX-M-9 型の遺伝子を保有していた。特に、すべての ESBL 産生 ST131 株は CTX-M-9 を保有していた。

これらの結果から、我々は、ST131 系統の大腸菌が ESBL 遺伝子を高頻度に保持する原因として、ST131 系統の大腸菌は非 ST131 系統の大腸菌に比べて ESBL がコードされるプラスミドを獲得しやすいという仮説を立てた。そして、この仮説を検証するためにプラスミド接合伝達試験を行ったところ、肺炎桿菌をドナーとして使用した場合、ST131 系統の大腸菌が非 ST131 系統の大腸菌に比べ高頻度にプラスミドの伝達を認めた。

次に、ST131 系統の大腸菌が高頻度に検出される原因として、ST131 株は非 ST131 系統の大腸菌に比べ宿主に定着しやすいという仮説を立てた。そして、その仮説を検証した結果、マウスの腸内に定着した細菌量のピーク値は ST131 系統の株と非 ST131 系統の株で同程度であったが、コロニーカウントで観察される排菌期間は仮説に反し ST131 系統の株の方が短かった。しかし、いずれの系統の菌株も、コロニーが検出限界値以下に低下後もバンコマイシンの経口投与により再び腸内の細菌量が増加した。

#### 考察：

ST131 系統の大腸菌は非 ST131 系統の大腸菌に比べ、接合伝達による ESBL 遺伝子の獲得が高頻度に観察された。この結果は ST131 系統の大腸菌が他の系統の大腸菌に比べて ESBL 遺伝子の保有率が高い現象を説明しうると考えられた。また、ニューキノロン系抗菌薬への耐性化は全て染色体上の QRDR 変異によるものであったが、ST131 系統の大腸菌が高頻度で染色体上にこの変異を持つ理由は今後の検証課題である。

「ST131 系統の大腸菌は非 ST131 株と比較して宿主に定着しやすいため患者からも高頻度に検出される」という仮説に反し、マウスの腸内においてむしろ早期にコロニー検出感度以下まで菌数が低下した。しかし、薬剤耐性であることは、抗菌薬が頻繁に使用される病院内で生存するために有利であり、これが ST131 系統の大腸菌が高頻度に検出される一因となる可能性がある。一方、コロニー数が検出限界を下回った状態でもバンコマイシン投与により菌数が著増したことから、すべて排菌されたわけではなく、実際には定着した菌が存在していたと考えられる。更に言えば、コロニー検出法では ESBL 産生大腸菌の保菌を検出できない危険性を示したとも言える。

#### 結論：

長崎大学病院泌尿器科患者から検出された大腸菌は ST131 系統が最も多かった。また、ST131 系統の大腸菌は他の ST 系統の大腸菌に比べて薬剤耐性遺伝子を高頻度に保有しており、その理由の一部が明らかとなった。