



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Title	Study on Genetic Structures of Drug Resistance associated Bacterial Integrons Isolated from Clinical Specimens(内容の要旨(Summary))
Author(s)	許, 化溪
Report No.(Doctoral Degree)	博士(再生医科学) 乙第1453号
Issue Date	2011-07-20
Type	博士論文
Version	none
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/42911

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏名（本籍）	許 化 溪（中国）
学位の種類	博 士（再生医科学）
学位授与番号	乙第 1453 号
学位授与日付	平成 23 年 7 月 20 日
学位授与要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	Study on Genetic Structures of Drug Resistance Associated Bacterial Integrons Isolated from Clinical Specimens
審査委員	(主査) 教授 中 島 茂 (副査) 教授 高 橋 優 三 教授 伊 藤 善 規 准教授 竹 村 元 三

論文内容の要旨

細菌の *integron* には薬剤耐性因子が集積し、細菌が高度な多剤耐性菌に進化する原動力となっている。本研究では薬剤耐性因子の *integron* への集積状況を解析した。これまで Extended-spectrum β -lactamase (ESBL) を保有する *Klebsiella pneumoniae* および *Escherichia coli* は日本やオーストラリアでは 10%未満、シンガポールでは 30%以上とされ、極東地区に特有の耐性が高度分布していると報告されてきた。しかし、ヨーロッパの ESBL の分離率が急速に増加し、その多くは、CTX-M-14/15 gene が中心となっていると報告されている。そこで本研究では中国での現状を把握し、治療薬剤の選択と耐性化防止へ向けた対応策をとるために、*E. coli* と *Pseudomonas aeruginosa* の臨床分離株 365 株を収集した。この中から薬剤耐性因子保有株を選択し、class 1, 2, および 3 の *integron* の構造解析を行い、耐性遺伝子の集積の現状と構造の特性を解析した。

【対象と方法】

中国で分離された *Escherichia coli* と *Pseudomonas aeruginosa* を中心に 365 株の臨床分離株を使用し薬剤耐性パターンを測定した。この中から *integron* の構造を解析するために、*integron* 領域を PCR 法で増幅し、配列を決定した。Class 1 インテグロン領域は *orf513* との関連が報告されているため、*orf513* の存在を確認するため、*orf513* 領域を増幅しインテグロンのカセット構造を解析した。さらにインテグロンを保有していた多剤耐性の *P. aeruginosa* と *E. coli* 株の特徴を解析するため、Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE) を使い分子疫学的な特徴の解析を試みた。

【結果】

Class 1 *integron* の解析から既知の 8 耐性遺伝子カセット (*dfr17*, *aadA5*, *aadA1*, *aadA2*, *dhfrI*, *aadB*, *aac(60)-II* and *pse-I*) が見つかった。さらに新規の 4 つの耐性遺伝子カセット (EF571855, DQ995286, DQ838665 and EU723083) を発見し GenBank に登録した。この class 1 *integron* には *orf513* を含む *bla_{CTX-M-1}* 遺伝子が集積されており、耐性化で問題になっている ESBL を保有している株が 5 株(1.37%) 含まれていた。この 5 株の構造解析で *bla_{CTX-M-1}* 遺伝子が *orf513* と *IS3000* の間に挿入されており、CTX-M-1 gene が挿入された世界初の class 1 *integron* として GenBank に登録 (EU687490) した。

薬剤耐性の 22 株の *P. aeruginosa* と 5 株の新規構造を持つ *E. coli* 株の PFGE 解析を行った。この解析から同じ PFGE パターンを持つ株が、人の常在菌からも見つかり、class 1 integron が常在菌に水平伝播している実態が実証された。

【考察】

アジアにおける ESBL は CTX-M-14/15 gene が中心でその他は散発的に分布していると推測されてきた。中国株の解析で見つかった新規構造を持つ bla_{CTX-M-1} は *orf513* と *IS3000* に挟まれ、高度に染色体上で転移とインテグレーションを繰り返す可能性がある構造を有していた。さらに常在菌解析でも同じタイプの PFGE パターンを示す菌株が見つかった。現在この新しい integron 保有株は解析した 365 株中 5 株 (1.37%) と分離頻度は低いが class 1 integron に ESBL 耐性が集積された *E. coli* や *P. aeruginosa* 株が、中国では今後重要な課題として顕性化することを予測させた。

論文審査の結果の要旨

申請者 許化溪は、中国の薬剤耐性細菌株の integron の構造を解析し、薬剤耐性が高度に集積された新規 integron 構造を世界で初めて明らかにし、GenBank に登録 (EU687490) した。この成果は臨床細菌学に重要な貢献をしたものと認める。

[主論文公表誌]

- 1) Huaxi Xu, Zhaoliang Su, Shengjun Wang, Xiaoli Dai, Jianguo Chen, Fanzhi Kong, Yazhen Li, Sufang Peng, Qixiang Shao, Liwei Lu, Takayuki Ezaki. Four Novel Resistance Integron Gene-Cassette Occurrences in Bacterial Isolates from *Zhenjiang*, China. *Curr Microbiol* 59, 113-117 (2009)
- 2) Jianguo Chen, Zhaoliang Su, Yingzhao Liu, Shengjun Wang, Xiaoli Dai, Yazhen Li, Sufang Peng, Qixiang Shao, Haifang Zhang, Ping Wen, Jianren Yu, Xinxiang Huang, Huaxi Xu: Identification and characterization of class 1 integrons among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients in *Zhenjiang*, China. *Int J Infect Dis* 13, 717-721 (2009)
- 3) Zhaoliang Su, Xiaoli Dai, Jianguo Chen, Fanzhi Kong, Huifang Wang, Yazhen Li, Peng Sufang, Shengjun Wang, Qixiang Shao, Liwei Lv, Huaxi Xu: The *bla* (*CTX-M-1*) gene located in a novel complex class I integron bearing an *ISCR1* element in *Escherichia coli* isolates from *Zhenjiang*, China. *J Antimicrob Chemother* 62, 1150-1151 (2008)