

学 位 論 文 要 約

博士論文題目 本邦における小児急性中耳炎症例の中耳貯留液より分離されたインフルエンザ菌の
薬剤耐性に関する分子疫学的研究

東北大学大学院医学系研究科医科学専攻

神経・感覚器病態学講座 耳鼻咽喉・頭頸部外科学分野

氏名 角田 梨紗子

インフルエンザ菌は、小児急性中耳炎の原因菌として非常に重要である。近年特に本邦において、隔壁合成酵素である penicillin-binding protein 3 (PBP3) のアミノ酸置換により β -ラクタム系薬の親和性の低下を来す β -ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性 (β -lactamase-nonproducing ampicillin-resistant; BLNAR) インフルエンザ菌が増加している。これらを原因菌とする小児急性中耳炎において、反復例や遷延例が多く見られ、臨床問題となっている。これまで本邦において、小児急性中耳炎の中耳貯留液から分離されたインフルエンザ菌のみを対象とした検討はわずかで、その実態について充分には明らかにされていない。また、アンピシリン耐性インフルエンザ菌の遺伝子学的な関連性についても不明である。本研究では、急性中耳炎を最も発症しやすい 3 歳以下の小児急性中耳炎の原因となったインフルエンザ菌の現状を把握するため、分子疫学的手法を用いて検討した。

全国より収集した 3 歳以下の小児急性中耳炎の中耳貯留液から分離されたインフルエンザ菌 157 株を検討対象とし、微量液体希釈法による薬剤感受性試験、 β -ラクタマーゼ産生の有無、 β -ラクタマーゼ産生遺伝子の検出、PBP3 のアミノ酸置換の有無について DNA シークエンスにより解析し、アンピシリンに対する薬剤耐性機序について検討を行った。さらに、アンピシリン耐性株について、multilocus sequence typing (MLST)、パルスフィールドゲル電気泳動法 (pulsed-field gel electrophoresis; PFGE) による分子疫学的手法を用いてアンピシリン耐性株の遺伝子学的な関連性について検討した。

対象としたインフルエンザ菌 157 株のうち、アンピシリン耐性株の割合は 68.8% (108 株) を占めていた。その内訳として、 β -ラクタマーゼ非産生アンピシリン中等度耐性 (β -lactamase-nonproducing ampicillin-intermediately resistant; low-BLNAR) が 42 株 (26.7%)、BLNAR が 53 株 (33.8%)、 β -ラクタマーゼ産生アンピシリン耐性 (β -lactamase-producing ampicillin-resistant; BLPAR) が 7 株 (4.5%)、 β -ラクタマーゼ産生アンピシリン・クラブラン酸耐性 (β -lactamase-producing amoxicillin/clavulanic acid-resistant; BLPACR) が 6 株

(書式 18) 課程博士
(3.8%)であった。全ての BLNAR と BLPACR、7 株中 5 株の BLPAR インフルエンザ菌においてアンピシリン耐性に関与すると考えられる PBP3 のアミノ酸置換が認められた。アンピシリン耐性株 66 株の MLST は多様性を示し、その中にはこれまで報告されていない 12 の新しいシーケンスタイプ (sequence type; ST) と 2 つのアレルを含んでいた。アンピシリン高度耐性株 43 株の PFGE では、MLST と同様に多様性を示す結果であったが、その中に 2 つのクラスターが認められた。一方のクラスターは 3 株の ST161 から成り、もう一方のクラスターは 2 株の ST549 から成っていた。

本邦における小児急性中耳炎中耳貯留液由来のインフルエンザ菌のアンピシリン耐性機序は、PBP3 のアミノ酸置換によるものが主であった。BLNAR インフルエンザ菌は遺伝子学的多様性を示したが、一部にクラスターを形成するクローンの存在が明らかとなった。今後、これらの高度耐性インフルエンザ菌クローンの蔓延による治療困難例の増加も懸念されることから、BLNAR 株の継続したモニタリングに加え、クラスターを形成した ST161 及び ST549 における細菌学的特徴や病原因子、反復例や遷延例との関連についての検討が急務であると考えられた。