

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 (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。

(書式 1 2)

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。

審 査 結 果 の 要 旨

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

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・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重要であり、近年本邦ではβ-ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性（BLNAR）インフルエンザ菌が増加し、これらを原因菌とする難治性の小児急性中耳炎が問題になっている。しかしながら小児急性中耳炎症例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する研究は少なく、その実態や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は十分に明らかにされていない。角田氏の申請論文はこの問題に立脚し、難治例となり易い3才以下の急性中耳炎症例の中耳貯留液から分離されたインフルエンザ菌の特徴を検討したものである。

本研究は全国から収集したインフルエンザ菌 157 株を対象とし、①薬剤感受性試験、②β-ラクタマーゼ産生の有無、③β-ラクタマーゼ産生遺伝子の検出、④ペニシリン結合蛋白（PBP3）のアミノ酸置換の有無について DNA シークエンスによる解析を行い、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ている。さらにアンピシリン耐性株に対して multilocus sequence typing（MLST）やパルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE）など分子疫学的手法を用い遺伝子学的な関連性について検討を加えている。その結果、アンピシリン耐性株の割合は 68.8% に達し、その約半分（33.8%）が BLNAR 株であり、BLNAR を含むアンピシリン耐性株の 9 割以上に PBP3 のアミノ酸置換がみられることが明らかにされた。アンピシリン耐性株 66 例株の MLST による検討では遺伝子学的多様性が認められ、これまでに報告されていない 12 の新しいシークエンスタイプと 2 つのアレルが含まれていた。アンピシリン高度耐性株 43 株における PFGE による検討では遺伝子学的な多様性がみられ、その中に 2 つのクラスター形成が認められた。

これらの結果から、本邦の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の主たるものは PBP3 のアミノ酸置換によるものであることが示唆された。また BLNAR インフルエンザ菌は遺伝子学的多様性を示し、一部にクラスター形成するクローンの存在が明らかにされた。今後、高度耐性インフルエンザ菌のクローンの蔓延による難治症例の増加が懸念され、クラスターを形成したシークエンスタイプにおける細菌学的特徴、病原因子、難治症例との関連について検討する必要があることが提唱された。

角田氏の論文は以上のように、現在社会問題の一つとなっている幼少児の難治性中耳炎の原因菌となる BLNAR インフルエンザ菌に焦点を当て、本邦におけるその疫学的特徴や遺伝子学的関連性について、MLST を用いて初めて詳細に明らかにしたものである。内容の一部はすでに国際学術誌に投稿中で、感染症学領域ならびに耳鼻咽喉科学領域に新知見を寄与している。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。