

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 加藤 佳久

病原細菌は抗菌薬に対する耐性を遺伝的に獲得し、またバイオフィルムを形成して宿主の免疫機構に抵抗性となる。細菌が難治性・耐性となる理由を理解し、抗菌薬を適切に使用することが、病原細菌による院内感染に対処するために重要である。本研究は、難治性感染症の代表例である緑膿菌バイオフィルム感染症と、最も注目されている耐性菌の一つであるグリコペプチド低感受性黄色ブドウ球菌への対策を基礎と臨床から検討したものである。

第1章は序論であり、研究の背景・意義を述べている。第2章では、緑膿菌の分離頻度が高い尿路バイオフィルム感染症について、抗菌薬療法を *in vitro* で検討している。バイオフィルムは、菌体外多糖に覆われた強固な構造体である。人工尿中で緑膿菌を灌流させることによりシリコンディスク上にバイオフィルムを形成させ、その後抗菌薬を含有する人口尿を灌流させた。ATP量を指標として細菌量を測定した結果、DNA合成阻害剤で尿路感染症の原因菌に対し広い抗菌スペクトルと強い殺菌力を示すキノロン系薬と、細胞壁合成阻害剤であるホスホマイシンを併用すると、それぞれの薬剤の単独使用では減少しなかったATP量が大きく減少した。また、両薬剤を併用すると、バイオフィルムが破壊されることが電子顕微鏡下で観察された。

第3章では、動物実験により抗菌薬療法を調べている。ラット膀胱内にポリエチレンチューブを留置し、緑膿菌バイオフィルムを形成させる実験系を構築し、キノロン系薬とホスホマイシンの併用効果を調べた。その結果、キノロン系薬とホスホマイシンの併用効果が動物実験で初めて明らかとなった。以上の結果から、併用効果の機序を考察し、ホスホマイシンは菌体表層構造に影響を与え、その性質を変化させることによりキノロン系薬の菌体内取り込みを上昇させると結論している。

第4章では、バンコマイシン低感受性黄色ブドウ球菌 (VISA) 出現の原因を遺伝子レベルで明らかにしている。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は、メチシリンなどのβ-ラクタム系薬だけでなく、多剤耐性を示すことが大きな問題となる。治療の切り札とされるバンコマイシンなどのグリコペプチド系薬に対しても、バンコマイシン高度耐性株

(VRSA) が出現し大きな問題となっている。この株の分離頻度はごく稀だが、VISA の出現による治療失敗例が増加傾向にある。VRSA は、*vanA* 遺伝子の獲得が原因であるが、VISA の出現は内因性で、細胞壁の肥厚など細胞壁合成系の異常が原因であることが明らかとなりつつある。一方、VISA に普遍的にみられる変異は明らかとなっておらず、遺伝子レベルでの解明が課題となっている。細胞壁合成系の遺伝子発現に関与することが多い二成分制御系の遺伝子に特に注目し、実験的に分離したグリコペプチド低感受性株では、細胞壁合成を正に制御する二成分制御系のセンサー遺伝子 *vraS* の上流にある機能未知遺伝子 *yvqF* に変異があることを初めて明らかにした。さらに、*vraS* や、そのレスポンスレギュレーターである *vraR* などに変異を持つグリコペプチド低感受性株を高頻度に分離している。これらの結果を基に、YvqF が VraSR と相互作用して働く三成分制御系システムをモデルとして提出している。

第 5 章では、ある病院においてグリコペプチド系薬テイコプラニン低感受性として分離された MRSA の遺伝的背景を調べ、低感受性の原因として *vraS* 変異を明らかとしている。さらに、*vraS* 変異株が流行した原因を抗 MRSA 薬の使用実績から探り、グリコペプチド系薬の使用量と本変異株の分離頻度との間の関連を明らかにしている。

以上、本論文は、難治性・耐性となった病原細菌の遺伝的原因を明らかにし、またそれに対する対処法を基礎と臨床から検討し、明らかにしたものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。