



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Study on Genetic Structures of Drug Resistance associated Bacterial Integrons Isolated from Clinical Specimens

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2014-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 許, 化溪 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/42911">http://hdl.handle.net/20.500.12099/42911</a>

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	<b>Study on Genetic Structures of Drug Resistance Associated Bacterial Integrons Isolated from Clinical Specimens</b>
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  $\beta$ -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<sub>CTX-M-1</sub>* 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<sub>CTX-M-1</sub>* 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*<sub>CTX-M-1</sub> 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)