The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	セラチア菌のβ-ラクタム剤耐性機構
Author(s)	高田, 直樹
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33472
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【30】

氏名・(本籍)	高田直樹（たかた なおき）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5770 号
学位授与の日付	昭和57年7月29日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**セラチア菌のβ-ラクタム剤耐性機構**
論文審査委員	(主査) 教授 神前 五郎
	(副査) 教授 和田 博 教授 井上 公蔵

論文内容の要旨

〔目　的〕

近年，*Serratia marcescens* は，菌交代症や日和見感染の病原体として，分離される頻度が増加し注目されている。本菌は，各種抗生物質に耐性を示し，特に従来のβ-ラクタム剤に対し高度耐性である。この耐性については，β-lactamase による薬剤の不活化によるものと推定され，それ以外の機序については，まったく研究されていない。一方，ごく最近開発されたβ-ラクタム剤のなかには，本菌に強い抗菌力を示すものもある。本研究では，従来のβ-ラクタム剤と新しいβ-ラクタム剤の作用を対比しながら *Serratia marcescens* のβ-ラクタム剤耐性機構を検討した。

〔方法ならびに成績〕

1．抗菌力

使用菌株は *Serratia marcescens* IFO12648，β-ラクタム剤として benzylpenicillin (PCG) と cefazolin (CEZ)，および最近開発され本菌にまで抗菌力を示す apalcillin (APPC)と ceftizoxime (CZX)を使用した。最小発育阻止濃度(MIC)はTrypticase soy broth 液体培地を用い，10^6 cells/mℓ 濃度の菌を接種し，37℃18時間静置培養後，菌の発育の有無によって判定した。PCG, APPC, CEZ, および CZX の使用菌株に対する MICは1,600，3.13，6,400，および0.05μg/mℓで，PCG および CEZ に高度耐性であるが，APPC および CZX には高い感受性を示した。

2．EDTA 存在下における抗菌力の比較

グラム陰性菌外膜に障害を与える EDTA を上記培地に 1/4 MIC 濃度（1.9 μmol/mℓ）添加し，その条件下で求めた薬剤の MIC を，未添加のそれと比較すると，抗菌力の弱い PCG および CEZ

では，EDTA添加により感受性がそれぞれ32倍，64倍と高まるのに対して，APPCとCZXでは感受性はほとんど変化しなかった。この結果はPCGやCEZがAPPCやCZXにくらべて，細菌表層外膜のbarrierを透過しにくいことを示している。

3．β-lactamase 活性と薬剤の不活化

β-lactamase 活性の測定は，酵素源として，破砕菌浮遊液，菌破砕後の細胞膜および可溶画分を用いてマクロヨード法で調べた。使用菌株のβ-lactamase 活性は，構成的にはほとんど産生されないが，PCG添加（0.4 mg/mℓ）によって誘導され，その活性は約10倍高められた。この活性は，主として可溶画分に存在し，また細胞膜画分にも一部認められた。

それぞれの薬剤に対する分解活性を比較すると，APPCはPCGにくらべて26倍以上，CZXはCEZにくらべて約50倍分解をうけにくかった。この結果は，この誘導酵素がβ-ラクタム剤に対する耐性因子の一つであることを示唆している。

4．peptidoglycan 架橋形成

peptidoglycan（PG）の前駆体であるUDP-N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-glutamyl-meso-diaminopimelyl-D-alanyl-D-alanine（UDP-MurNAc-pentapeptide）とUDP-N-[^{14}C]acetylglucosamine（UDP-[^{14}C]GlcNAc）を基質とし，対数増殖期のセラチア菌体をethyleneglycoltetraacetic acid（EGTA）存在下でエーテル処理した全菌（ETB細胞）を酵素源として反応させ，SDSで細胞を可溶化後，不溶性の放射性PGを測定してこれを架橋PG量とした。この反応により，経時的に架橋PGが合成され，PGの架橋形成にあずかるtranspeptidaseがETB細胞に存在することが示された。

5．架橋ＰＧ合成におよぼす薬剤の影響

上記反応系における，それぞれの薬剤の架橋形成阻害を比較すると，ペニシリン系薬剤では，抗菌力に著明な差のあるPCGとAPPCとも10μg/mℓでほぼ完全に架橋形成を阻害した。これらの50%阻害濃度は，それぞれ3.8と1.0 μg/mℓであった。セファロスポリン系薬剤では，CEZの阻害濃度はCZXのそれにくらべて著明に高く，50%阻害濃度は，それぞれ82.0と0.038 μg/mℓであり，CEZによる架橋ＰＧ合成の阻害が著しく悪いことが示された。

〔総　括〕

Serratia marcescens のβ-ラクタム剤耐性機構を明らかにする目的で，薬剤の細菌外膜透過性，β-lactamase による薬剤の不活性，およびβ-ラクタム剤の標的酵素であるＰＧの架橋形成にあずかるtranspeptidase への影響について，ペニシリン系薬剤としてPCGとAPPC，セファロスポリン系薬剤としてCEZとCZXの作用を対比しながら検討した。使用菌株*Serratia marcescens* IFO 12648 のPCGに対する耐性は，PCGが細菌外膜を透過しにくく，しかもβ-lactamase により不活化され，細胞膜上の標的酵素であるtranspeptidase にまで到達できないためで，またCEZに対する耐性は，外膜およびβ-lactamase のbarrier によってこの薬剤が標的酵素への到達がさまたげられ，しかもtranspeptidase にも感受性が低いためであった。一方，この菌が感受性を示すAPPC，CZXは外膜透過性が良好で，β-lactamase の分解をうけず，しかも低濃度でＰＧの架橋形成に関与

する transpeptidase 活性を阻害するためであることが判明した。

論文の審査結果の要旨

セラチア菌は，β-ラクタム系抗生物質に高度耐性である。本研究は，その耐性機構を，はじめて明らかにし，さらに，最近開発されセラチア菌にまで抗菌力を発揮するいわゆる第三世代のβ-ラクタム系抗生物質の作用機作を検討したものである。最近頻度が増加しているセラチア菌感染症の治療薬剤開発やその選択にあたって，本研究で明らかにされた耐性機序は重要であり，意義ある研究であると認められる。