



Title	Gemella 属の分類と薬剤感受性に関する研究
Author(s)	古垣内, 美智子
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/98753
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏名 (古垣内 美智子)	
論文題名	<i>Gemella</i> 属の分類と薬剤感受性に関する研究
論文内容の要旨	
<p>【背景と目的】<i>Gemella</i> 属はカタラーゼ陰性、通性嫌気性のグラム陽性球菌である。ヒトの常在菌であるが、稀に感染性心内膜炎などの重症感染症の原因菌となる。2023 年 11 月現在、10 菌種の <i>Gemella</i> 属が確認されている。そのうち <i>Gemella haemolysans</i>、<i>Gemella parahaemolysans</i>、<i>Gemella taiwanensis</i> の 3 菌種は相同性の高さから 16S rRNA 遺伝子で鑑別できない。これまで <i>Gemella</i> 属の薬剤感受性に関する報告は少なく、薬剤耐性遺伝子解析についてはマクロライドやテトラサイクリンの報告が 2 例あるのみであり、またキノロン耐性機序の報告はこれまでない。本研究では <i>Gemella</i> 属の臨床分離株 52 株の菌種同定後、基準株 6 株と併せた計 58 株について 27 種類の薬剤感受性を検査し、さらにマクロライド、テトラサイクリン、キノロン系薬の薬剤耐性遺伝子を解析した。</p> <p>【方法】臨床分離株の菌種は、まず 16S rRNA 遺伝子配列から解析した。<i>G. haemolysans</i>、<i>G. parahaemolysans</i>、あるいは <i>G. taiwanensis</i> と判別された臨床分離株は、基準株と合わせて <i>groEL</i>、<i>recA</i>、<i>rpoB</i> 遺伝子の連結配列による multilocus sequence analysis (MLSA) も実施した。薬剤感受性検査は Clinical and Laboratory Standards Institute M45-Third Edition に準拠して行い、各株ごとの最小発育阻止濃度 (MIC) ならびに各菌種 (あるいはグループ) に含まれる株の 50% と 90% が発育を阻止する濃度 (MIC₅₀ と MIC₉₀) を算出した。マクロライド耐性遺伝子は <i>mefA/E</i>、<i>ermA</i>、<i>ermB</i>、<i>ermC</i>、<i>ermM</i>、<i>ermTR</i>、<i>msrA</i>、テトラサイクリン耐性遺伝子は <i>tetM</i>、<i>tetO</i>、<i>tetK</i>、<i>tetL</i>、<i>tetT</i>、<i>tetS</i>、<i>tetW</i> を PCR して保有の有無を確認した。キノロン耐性については、DNA ジャイレースの <i>gyrA</i>、<i>gyrB</i> 遺伝子の全長をシークエンス解析し、アミノ酸の変異を感性株と耐性株とで比較した。</p> <p>【結果】16S rRNA 遺伝子の相同性が高く同定できなかった <i>G. haemolysans</i>、<i>G. parahaemolysans</i>、<i>G. taiwanensis</i> は、MLSA による解析により <i>G. taiwanensis</i> は同定できたが、<i>G. haemolysans</i> と <i>G. parahaemolysans</i> は同定できなかったため、両菌種が混在する GH-group とした。臨床分離株と基準株の菌種の内訳は、<i>Gemella morbillorum</i> 22 株、<i>G. haemolysans</i>-<i>parahaemolysans</i> (GH) group (遺伝子学的に鑑別困難な <i>G. haemolysans</i> と <i>G. parahaemolysans</i>) 18 株、<i>G. taiwanensis</i> 13 株、<i>Gemella sanguinis</i> 3 株、<i>Gemella bergeri</i> 2 株であった。薬剤感受性の結果、β-ラクタム系薬と vancomycin に耐性の株は無かった。<i>G. morbillorum</i> 6/22 株 (27.3%) は erythromycin と clindamycin に耐性を示し、<i>ermB</i> 陽性であった。一方、GH-group は 5/18 (27.8%)、<i>G. taiwanensis</i> は 6/13 (46.2%)、<i>G. sanguinis</i> は 1/3 (33.3%) が erythromycin 非感性かつ clindamycin 感性であり、<i>ermB</i> ではなく <i>mefE</i> あるいは <i>mefA</i> 陽性であった。minocycline の MIC₉₀ と <i>tetM</i> の陽性率はそれぞれ、<i>G. morbillorum</i> (2 μg/mL、27.3% (6/22))、GH-group (8 μg/mL、22.2% (4/18))、<i>G. taiwanensis</i> (8 μg/mL、53.8% (7/13)) と菌種間で異なった。キノロン (levofloxacin) 耐性率は <i>G. morbillorum</i> (2/22 9.1%) よりも <i>G. taiwanensis</i> (8/13 61.5%) で有意に高かった (カイ二乗検定 $p < 0.05$)。levofloxacin 耐性株は DNA ジャイレース A (GyrA) の 83 番目のアミノ酸が serine から leucine や phenylalanine や tyrosine へ置換していた。</p> <p>【まとめ】<i>Gemella</i> 属の同定は、MLSA 解析においても <i>G. haemolysans</i> と <i>G. parahaemolysans</i> を鑑別することはできなかった。薬剤感受性は β-ラクタム系薬と vancomycin に耐性を示した株は無かった。erythromycin と clindamycin の耐性機序は <i>Gemella</i> 属の菌種間で異なった。levofloxacin の耐性率は、<i>Gemella</i> 属の菌種間で異なり、キノロン耐性機序は GyrA 単独のアミノ酸変異で起こっていた。本研究は、50 を超える <i>Gemella</i> 属の薬剤感受性について、また <i>Gemella</i> 属のキノロン耐性機序についての初めての報告であり、本研究で得られた知見は臨床微生物学ならびに感染症学の発展に貢献するものである。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名 (古垣内 美智子)	
	(職)
論文審査担当者	氏名
	主査 教授 岡本 成史
	副査 教授 尾路 祐介
	副査 教授 渡邊 幹夫

論文審査の結果の要旨

*Gemella*属細菌は、ヒトの常在菌である一方稀に感染性心内膜炎などの重症感染症を惹起させることが知られている。2023年11月現在、*Gemella*属は10菌種が確認されているが、それらの菌種の薬剤耐性について網羅的な報告は存在しない。本研究では*Gemella*属の臨床分離株52株について16S rRNA遺伝子配列解析ならびに、multilocus sequence analysis (MLSA)を用いて菌種を同定し、基準株6株を含む計58株について27種類の薬剤感受性を検討するとともに、マクロライド、テトラサイクリン、キノロン系の各抗菌剤の薬剤耐性遺伝子の存在状況について解析した。

*Gemella*属の臨床分離株を16S rRNA遺伝子配列より菌種を同定した。一方、その方法では判別できない*Gemella haemolysans*、*Gemella parahaemolysans*、*Gemella taiwanensis*の3菌種について、MLSAにより解析を行ったところ、*G. taiwanensis*は同定できたものの、*G. haemolysans*と*G. parahaemolysans*は同定できなかつたため、両菌種が混在するGH-groupとした。その結果、臨床分離株と基準株の菌種の内訳は、*Gemella morbillorum* 22株、*G. haemolysans*-*parahaemolysans* (GH) group (遺伝子学的に鑑別困難な*G. haemolysans*と*G. parahaemolysans*) 18株、*G. taiwanensis* 13株、*Gemella sanguinis* 3株、*Gemella bergeri* 2株となった。続いてこれらの臨床株の薬剤感受性について検討したところ、 β -ラクタム系薬とvancomycinに耐性の株は存在しなかつた一方、*G. morbillorum* 6/22株 (27.3%) はerythromycinとclindamycinに耐性を示し $ermB$ 陽性だった。さらに、GH-groupは5/18 (27.8%)、*G. taiwanensis*は6/13 (46.2%)、*G. sanguinis*は1/3 (33.3%) がerythromycin非感性かつclindamycin感性であり、 $ermB$ ではなく $mefE$ あるいは $mefA$ 陽性であった。minocyclineのMIC₉₀とtetMの陽性率はそれぞれ、*G. morbillorum* (2 μ g/mL、27.3% (6/22))、GH-group (8 μ g/mL、22.2% (4/18))、*G. taiwanensis* (8 μ g/mL、53.8% (7/13))と菌種間で異なつた。キノロン (levofloxacin) 耐性率は*G. morbillorum* (2/22 9.1%) よりも*G. taiwanensis* (8/13 61.5%) で有意に高かつた (カイ二乗検定 $p < 0.05$)。levofloxacin耐性株はDNAジャイレースA (GyrA) の83番目のアミノ酸がserineからleucineやphenylalanineやtyrosineへ置換していた。

この論文に記載されている研究内容は、50を超える常在菌である一方、日和見感染などにより稀に重篤な感染症を惹起させる可能性もある*Gemella*属の薬剤感受性ならびに*Gemella*属のキノロン耐性機序について詳細に解析した、世界で初めての報告であり、本研究で得られた知見は今後の*Gemella*属細菌による日和見感染において薬剤耐性に警戒を促すなどの意味で、臨床微生物学ならびに感染症学の発展に貢献するものである。以上より、この論文における研究内容は博士の学位を与えるにふさわしいものと考えられる。