

甲 第 号

中野 章代 学位請求論文

審 査 要 旨

奈 良 県 立 医 科 大 学

論文審査の要旨及び担当者

	委員長	教授	伊藤 利洋
論文審査担当者	委員	病院教授	笠原 敬
	委員(指導教員)	教授	矢野 寿一

主論文

Prevalence and relatedness of mcr-1-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolated from livestock and farmers in Japan

日本の家畜と畜産農家から分離した mcr-1 によるコリスチン耐性大腸菌の分布状況と関連性について

Akiyo Nakano, Ryuichi Nakano, Ryuji Nishisouzu, Yuki Suzuki, Saori Horiuchi,

Takane Kikuchi-Ueda, Tsuneyuki Ubagai, Yasuo Ono, Hisakazu Yano

Frontiers in Microbiology 2021 Apr 26;12:664931.

論文審査の要旨

抗菌薬であるコリスチンはヒトや家畜の感染症治療薬や、家畜の飼料添加物として使用されてきた。コリスチンは多剤耐性グラム陰性桿菌感染症に対する最後の砦として使用される重要な抗菌薬であり、この薬剤に対する耐性菌出現は大きな問題となる。本研究は、家畜とその飼育者である畜産農家の糞便を収集し、コリスチン耐性遺伝子 *mcr* を保有する大腸菌の分布状況とその特徴を調査し、関連性を明らかにすることを目的とした。その結果、家畜 295 頭（牛 202 頭と豚 93 頭）、畜産農家 62 名のうち、家畜 25 頭（牛 6 頭と豚 19 頭）と畜産農家 3 名（牛農家 2 名と豚農家 1 名）から *mcr-1* 保有大腸菌を分離し、それぞれ分離頻度は 8.47%と 4.84%であった。3 株は低頻度であるが接合伝達能を認めたことから、プラスミド上に *mcr-1* 遺伝子が存在し、同じ菌種間、さらには他菌種間でこの耐性遺伝子を授受していると推測された。各農場でプラスミドやゲノムのタイピングで同じ株が存在したことから、農場内の家畜と畜産農家の間で、菌株が授受されている可能性が示唆された。*mcr-1* 保有大腸菌における家畜とヒトとの関連性はこれまでの報告で明らかではないが、家畜と毎日密に接する畜産農家と家畜との関連性が今回の研究で初めて明らかになった。

公聴会では、*mcr-1* を保有することのデメリットなどについて質問があったが、カルバペネム耐性菌が *mcr-1* を保有した場合、感染症治療薬の選択肢がなくなるなど説明した。また、豚の方が保有率が高い点についての質問には牛と豚の飼育環境の違いなど、分かりやすく回答した。以上より、本研究は薬剤耐性菌の新しい動態を報告したもので、本領域のさらなる発展に寄与するものと評価される。公聴会における質疑も適切であり参考論文と合わせて学位を授与するに相応しい研究と考える。

参 考 論 文

1. Dysbiosis in the salivary microbiome associated with IgA nephropathy-A Japanese cohort study
Anushka Khasnobish, Lena Takayasu, Ken-ichi Watanabe, Tien Thi Thuy Nguyen, Kensuke Arakawa, Osamu Hotta, Kensuke Joh, Akiyo Nakano, Shuhei Hosomi, Masahira Hattori, Wataru Suda, Hidetoshi Morita. *Microbes and Environments* 2021;36(2):ME21006.
2. Preparation of cerium molybdates and their antiviral activity against bacteriophage $\Phi 6$ and SARS-CoV-2
Takuro Ito, Kayano Sunada, Takeshi Nagai, Hitoshi Ishiguro, Ryuichi Nakano, Yuki Suzuki, Akiyo Nakano, Hisakazu Yano, Toshihiro Isobe, Sachiko Matsushita, Akira Nakajima. *Materials Letters* 2021 May 1;290:129510.
3. *Acinetobacter baumannii* LOS regulate the expression of inflammatory cytokine genes and proteins in human mast cells.
Takane Kikuchi-Ueda, Tsuneyuki Ubagai, Go Kamoshida, Ryuichi Nakano, Akiyo Nakano, Yasuo Ono. *Pathogens* 2021 Mar 3;10(3):290.
4. Molecular and epidemiological characteristics of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Japan
Shinsuke Yonekawa, Tomoki Mizuno, Ryuichi Nakano, Akiyo Nakano, Yuki Suzuki, Tomoko Asada, Ayako Ishii, Naoki Kakuta, Kosuke Tsubaki, Sayaka Mizuno, Miho Ogawa, Hisakazu Yano, Kei Kasahara, Keiichi Mikasa. *mSphere*

2020 Oct 21;5(5):e00490-20.

5. Clinical characteristics and molecular epidemiology of invasive *Streptococcus agalactiae* infections between 2007 and 2016 in Nara, Japan
Nobuyasu Hirai, Kei Kasahara, Ryuichi Nakano, Yoshihiko Ogawa, Yuki Suzuki, Miho Ogawa, Naokuni Hishiya, Akiyo Nakano, Sadahiro Ichimura, Hisakazu Yano, Masahide Yoshikawa. *PLoS One* 2020 Oct 19;15(10):e0240590.
6. Molecular characteristics of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Japan: Predominance of CTX-M-15 and emergence of hypervirulent clones
Naoki Kakuta, Ryuichi Nakano, Akiyo Nakano, Yuki Suzuki, Takashi Masui, Saori Horiuchi, Risako Kakuta, Kohsuke Tsubaki, Miho Ogawa, Hisakazu Yano. *International Journal of Infectious Diseases* 2020 Sep;98:281-286.
7. *Filifactor alocis* brain abscess identified by 16S ribosomal RNA gene sequencing: A case report.
Naokuni Hishiya, Kenji Uno, Masayuki Amano, Kiyokazu Asada, Katsuya Masui, Yasuhito Ishida, Yuki Suzuki, Nobuyasu Hirai, Akiyo Nakano, Ryuichi Nakano, Kei Kasahara, Hisakazu Yano, Keiichi Mikasa. *Journal of Infection and Chemotherapy* 2020 Feb;26(2):305-307.
8. A novel mismatched PCR-restriction fragment length polymorphism assay for rapid detection of *gyrA* and *parC* mutations associated with fluoroquinolone resistance in *Acinetobacter baumannii*

Naoki Kakuta, Ryuichi Nakano, Akiyo Nakano, Yuki Suzuki, Ayako Tanouchi
Takashi Masui, Saori Horiuchi, Shiro Endo, Risako Kakuta, Yasuo Ono, Hisakazu
Yano. *Annals of Laboratory Medicine* 2020 Jan;40(1):27-32.

9. Environmental Presence and Genetic Characteristics of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae from Hospital Sewage and River Water in the Philippines

Yuki Suzuki, Pearl Joy Nazareno, Ryuichi Nakano, Melisa Mondoy, Akiyo Nakano, Mark Philip Bugayong, Josie Bilar, Mauricio Perez V, Emarld Julian Medina, Mariko Saito-Obata, Mayuko Saito, Kazutoshi Nakashima, Hitoshi Oshitani, Hisakazu Yano. *Applied and Environmental Microbiology* 2020 Jan 7;86(2):e01906-19.

10. Comparison of the inoculum size effects of antibiotics on IMP-6 β -lactamase-producing Enterobacteriaceae co-harboring plasmid-mediated quinolone resistance genes.

Naoki Kakuta, Ryuichi Nakano, Akiyo Nakano, Yuki Suzuki, Ayako Tanouchi, Takashi Masui, Saori Horiuchi, Shiro Endo, Risako Kakuta, Yasuo Ono, Hisakazu Yano. *Annals of Laboratory Medicine* 2020 Jan;40(1):27-32.

11. Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid *Helicobacter pylori* detection

Saori Horiuchi, Ryuichi Nakano, Akiyo Nakano, Naokuni Hishiya, Kenji Uno, Yuki Suzuki, Ayako Tanouchi, Naoki Kakuta, Takashi Masui, Noriko Jojima, Hisakazu Yano. *Journal of Microbiological Methods* 2019 Aug;163:105653.

12. Emergence of IMP-34- and OXA-58-producing carbapenem-resistant *Acinetobacter colistiniresistens*
Yuki Suzuki, Shiro Endo, Ryuichi Nakano, Akiyo Nakano, Kyoichi Saito, Risako Kakuta, Naoki Kakuta, Saori Horiuchi, Hisakazu Yano, Mitsuo Kaku. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2019 May 24;63(6):e02633-18.
13. *Mycoplasma genitalium* infection and chronic inflammation in human prostate cancer: detection using prostatectomy and needle biopsy specimens
Makito Miyake, Kenta Ohnishi, Shunta Hori, Akiyo Nakano, Ryuichi Nakano, Hisakazu Yano, Sayuri Ohnishi, Takuya Owari, Yosuke Morizawa, Yoshitaka Itami, Yasushi Nakai, Takeshi Inoue, Satoshi Anai, Kazumasa Torimoto, Nobumichi Tanaka, Tomomi Fujii, Hideki Furuya, Charles J Rosser, Kiyohide Fujimoto. *Cells* 2019 Mar 2;8(3):212.
14. Prevalence and mechanism of fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Proteus mirabilis* in Japan
Ryuichi Nakano, Akiyo Nakano, Michiko Abe, Noriyuki Nagano, Miwa Asahara, Taiji Furukawa, Yasuo Ono, Hisakazu Yano, Ryoichi Okamoto. *Heliyon* 2019 Mar 2;5(3):e01291.
15. Emergence of VIM-2-producing *Citrobacter freundii* in Japan
Sayaka Ando, Ryuichi Nakano, Tomokazu Kuchibiro, Katsutoshi Yamasaki, Yuki Suzuki, Akiyo Nakano, Tomoki Mizuno, Kei Kasahara, Hisakazu Yano. *Infectious Diseases* 2018 Nov-Dec;50(11-12):862-863.

16. Rapid identification of blaIMP-1 and blaIMP-6 by multiplex amplification refractory mutation system PCR
Akiyo Nakano, Ryuichi Nakano, Yuki Suzuki, Kyoichi Saito, Kei Kasahara, Shiro Endo, Hisakazu Yano. *Annals of Laboratory Medicine* 2018 Jul;38(4):378-380.
17. Role of AmpR in the High Expression of the Plasmid-Encoded AmpC β -Lactamase CFE-1
Ryuichi Nakano, Akiyo Nakano, Hisakazu Yano, Ryoichi Okamoto. *mSphere* 2017 Aug 9;2(4):e00192-17.
18. *Acinetobacter baumannii* lipopolysaccharide influences adipokine expression in 3T3-L1 adipocytes
Yuka Unno, Yoshinori Sato, Satoshi Nishida, Akiyo Nakano, Ryuichi Nakano, Tsuneyuki Ubagai, Yasuo Ono. *Mediators of Inflammation* 2017:9039302.
19. The TNF- α of mast cells induces pro-inflammatory responses during infection with *Acinetobacter baumannii*
Takane Kikuchi-Ueda, Go Kamoshida, Tsuneyuki Ubagai, Ryuichi Nakano, Akiyo Nakano, Teruo Akuta, Kenji Hikosaka, Shigeru Tansho-Nagakawa, Hirotohi Kikuchi, Yasuo Ono. *Immunobiology* 2017 Nov;222(11):1025-1034.
20. Suitability of carbapenem inactivation method (CIM) for detection of IMP metallo- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae.

Kyoichi Saito, Ryuichi Nakano, Yuki Suzuki, Akiyo Nakano, Yoshihiko Ogawa,
Shinsuke Yonekawa, Shiro Endo, Fumiko Mizuno, Kei Kasahara, Keiichi Mikasa,
Mitsuo Kaku, Hisakazu Yano. *Journal of Clinical Microbiology* 2017
Apr;55(4):1220-1222.

以上、主論文に報告された研究成績は、参考論文とともに微生物学の進歩に寄与するところが大きいと認める。

令和3年9月14日

学位審査委員長

免疫学

教授 伊藤 利洋

学位審査委員

感染病態制御医学

病院教授 笠原 敬

学位審査委員(指導教員)

微生物学

教授 矢野 寿一