





## 学位論文審査報告書

報告番号	北里大 甲 第 <b>1502</b> 号	氏 名	前田 貴広
論文審査担当者	(主査) 北里大学教授                      岡田 信彦 (副査) 信州大学教授                      長野 則之 (副査) 日本薬科大学教授                  渡邊 峰雄 (副査) ヤマザキ動物看護大学准教授      木村 祐哉	   	
<p>[論文題目] 「溶血性レンサ球菌における定着性・抗菌薬耐性機序の解明」</p> <p>[論文審査結果の要旨]                  近年のペットブームにより、人と伴侶動物との距離が近くなったことから、病原体の伝播による人獣共通感染症が懸念されている。我が国においても、人獣共通感染症などに対して、異なる分野で横断的に連携して取り組む“One Health”に基づいて、薬剤耐性対策アクションプランを推進している。</p> <p><math>\beta</math> 溶血性レンサ球菌である <i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> (SDSE) 及び <i>Streptococcus agalactiae</i> (Group B <i>Streptococcus</i>, GBS) は、人や伴侶動物(犬及び猫)から分離される常在菌である。SDSE は、免疫機能低下者や高齢者に対して、蜂窩織炎や streptococcal toxic shock syndrome を引き起こす。また、SDSE は、薬物治療を困難とさせるバイオフィルム産生を行うが、同属菌と比較して BP 能に関連する報告は少ない。</p> <p>GBS は、新生児・高齢者に対して、髄膜炎や敗血症などを引き起こすことが知られている。また、伴侶動物においても、感染性心内膜炎の原因菌であることが報告されている。GBS においては、バイオフィルム産生能に関連する分子特性は未だ明確となっていない。GBS 感染症の治療において、キノロン系抗菌薬はペニシリンアレルギーを疑われる患者への選択肢となる。近年、同属菌種において、キノロン耐性決定領域(QRDR)のアミノ酸置換と分子特性との関連性が報告されている。</p> <p>本研究では、<math>\beta</math> 溶血性レンサ球菌感染症の原因菌である SDGE 及び GBS の定着性と薬剤耐性機序の解明を目的として、1) SDSE のバイオフィルム産生能に関連する宿主情報及び分子特性、2) GBS におけるバイオフィルム産生能の評価とその関連因子の探索、並びに GBS のバイオフィルム産生に対するベルベリンの影響、3) 伴侶動物由来キノロン耐性 GBS 株とその分子特性との関連性、を明らかにした。</p> <p>1. SDSE のバイオフィルム産生能に関連する宿主情報および分子特性の解析                  2015 年から 2021 年に人及び伴侶動物から分離された SDS E 64 株のバイオフィルム産生能をクリスタルバイオレット染色法により評価した。64 菌株のバイオフィルム産生能を 4 段階に分類すると、強産生 17 株、中程度産生 24 株、弱産生 12 株、非産生</p>			

11 株であった。菌株の特性によりバイオフィーム産生能を比較すると、伴侶動物由来株よりも人由来株、眼/耳由来株よりも膿/皮膚由来株、Lancefield 分類 C 群よりも G 群が有意に高かった。さらに、病原遺伝子 *srtP1* 検出株でバイオフィーム産生能が高く、遺伝子型別では、CC127 よりも CC17 に属する株が、有意にバイオフィーム産生能が高かった。本研究では、バイオフィーム産生能と *emm* 型、薬剤感受性評価及び薬剤耐性遺伝子の検出率との関連性はみられなかった。以上の結果から、SDGE のバイオフィーム産生能に関連する因子として、宿主、分離部位、Lancefield 分類、線毛遺伝子の保有、MLST による遺伝子型別が有用であることが示唆された。

## 2. GBS におけるバイオフィーム産生能の評価とその関連因子の探索、並びに GBS のバイオフィーム産生能に対するベルベリンの影響

2015 年から 2019 年に人及び伴侶動物から分離された GBS 74 株のバイオフィーム産生能を調べた結果、バイオフィーム産生株は 57 株、非産生株は 17 株であった。バイオフィーム産生株群では、病原遺伝子のうち *pilB* 遺伝子の検出率が有意に高く、非産生株群では、*spb1* 遺伝子の検出率が有意に高かった。このことから、*pilB* をコードする pilus island 2a 遺伝子領域を保持することが GBS のバイオフィーム産生能に影響していると示唆された。一方、バイオフィーム強産生株 5 株を低濃度ベルベリンで処理するとバイオフィーム産生が阻害されたことから、ベルベリンは、GBS のバイオフィーム産生阻害に有効であることが示された。





## 3. 伴侶動物由来キノロン耐性 GBS 株とその分子特性との関連性

2017 年から 2019 年に分離された伴侶動物由来 GBS 22 株及び人由来 GBS 6 株のキノロン系抗菌薬の最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。伴侶動物由来株のうち、7 株がキノロン耐性 (MIC 値 : CPFX 32 µg/ml, LVFX 16 - 32 µg/ml, MFLX 2 - 4 µg/ml) を示した。GBS ATCC13813<sup>T</sup> 株における QRDR 配列を基準として、伴侶動物由来キノロン耐性株の QRDR のアミノ酸配列を比較すると、*gyrA* (Ser81Leu) 及び *parC* (Ser79Phe, Ser79Tyr, Gly128Asn) においてアミノ酸置換が確認された。また、人由来キノロン耐性株の *parC* (Ser79Phe, Asp83Asn) にも、同様のアミノ酸置換が確認された。さらに、遺伝子型別 ST10/CC10 に属する株では、伴侶動物由来のキノロン耐性株がキノロン感性株に比較して有意に多かった。この両群間で、*cps* 遺伝子型及び薬剤耐性遺伝子の検出率に有意な差はみられなかった。以上の結果から、伴侶動物由来株のキノロン耐性化は、人由来株と同様の機序によるものと考えられた。

本研究では、人獣共通感染症の原因菌である SDSE 及び GBS について、人由来株と伴侶動物由来株を用いてバイオフィーム産生能と関連する分子特性との関連性、加えて、薬剤耐性機序に関して詳細に検討し、新たな知見を得た。これらの研究成果は、SDSE 及び GBS による人獣共通感染症の予防・治療の分子基盤の構築に大きく貢献するものである。なお、本研究は、原著論文として英文学術誌に投稿受理されている。

以上のことから、本研究は博士 (感染制御科学) の学位に値すると判断し、学位審査を合格と判定した。

# 最終試験結果報告書

報告番号	北里大 甲 第 <b>1502</b> 号	氏 名	前田 貴広
論文審査担当者	(主査) 北里大学教授 岡田 信彦 	(副査) 信州大学教授 長野 則之 	(副査) 日本薬科大学教授 渡邊 峰雄 
	(副査) ヤマザキ動物看護大学准教授 木村 祐哉 		
[成績] 合 格			
[試験結果の要旨] 試験担当者は、前田 貴広 氏に対し、学位論文内容及び関連事項に関し試問を行った結果、合格と判断した。			

2024年 1月 10日

北里大学リポジトリ 登録申請・公開許諾書  
(学位論文)

北里大学図書館長 殿

以下の学位論文について、北里大学学位規程第14条および北里大学リポジトリに関する規程第8条に基づき、無償でインターネットにより学内外へ公開することを許諾し、北里大学リポジトリに登録することを申請します。

学籍番号 ※課程博士のみ	DI-21005	所 属	北里大学 大学院 感染制御科学府 感染症学研究室
氏 名 (要署名)	前田 貴宏	電話番号	090-6505-5497
E-mail	ellark.bbk002@gmail.com		
確認事項	<input checked="" type="checkbox"/> 出版社の著作権ポリシーは確認しています。 <input checked="" type="checkbox"/> 共著者の許諾は得ています。 (学位論文の一部分のみが共著にあたる場合も、共著者に確認すること。)		
論文題目	溶血性レンサ球菌における定着性・抗菌薬耐性機序の解明		
公 開	<input checked="" type="checkbox"/> 学位取得日より一年以内に全文公開可 <input type="checkbox"/> 学位取得日より一年以内に「要約」を公開し、 <u>理由解消後</u> 全文を公開可 <input type="checkbox"/> 学位取得日より一年以内に「要約」を公開し、 <u>将来にわたって</u> 全文は公開不可 理由： <input type="checkbox"/> 特許等出願 <input type="checkbox"/> 出版社等不許諾 <input type="checkbox"/> 共著者不許諾 <input type="checkbox"/> 投稿・出版予定 <input type="checkbox"/> 調査対象・データ提供元等の制約 <input type="checkbox"/> その他 ( )		
備 考			

指導教員確認欄（要署名）

高橋 孝

\*電話番号、E-mailは今後も連絡が可能なものを記載してください。

以

下は事務室使用欄

学位記番号	1502	学位授与年月日	
-------	------	---------	--
