

(論文博士) (様式 4)

学位論文の内容の要旨

(工藤 通明)

主論文

Nosocomial infection caused by vancomycin-susceptible multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* over a long period in a university hospital in Japan.

(バンコマイシン感受性多剤耐性腸球菌 (エンテロコッカス・フェカーリス) による長期間の病院感染—群馬大学医学部附属病院における検討)

*Microbiology and Immunology* 58: 607-624, 2014

Michikai Kudo, Takahiro Nomura, Sachie Yomoda, Koichi Tanimoto, Haruyoshi Tomita

副論文

Closed Continuous Hyperthermic Peritoneal Perfusion Model in Mice with Peritoneal Dissemination of colon 26

(腹膜播種マウスを用いた閉鎖式腹膜灌流温熱療法)

*International Journal of Hyperthermia* 20: 441-450, 2004

Michiaki Kudo, Takayuki Asao, Shinji Hashimoto, Hiroyuku Kuwano

主論文の要旨

1) 研究の背景と目的

国内では、欧米諸国に比べてバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)による院内感染症は少なく散発的な報告例が多い。本研究では群馬大学医学部附属病院での腸球菌感染症、及び臨床分離腸球菌の薬剤耐性についてレトロスペクティブに検討した。

2) 研究方法

1998年から2003年までの6年間に附属病院で分離され冷凍保存された腸球菌*Enterococcus faecalis* (Ef)1711株用いて、抗菌薬8剤 (テトラサイクリン、エリスロマイシン、カナマイシン、ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、クロラムフェニコール、アンピシリン、バンコマイシン) に対する感受性試験、および細菌遺伝学的、分子疫学的解析を行った。

3) 結果

薬剤感受性試験の結果、1241株(72.5%)がいずれかの薬剤に対して耐性であり、881株(51.5%)が2剤以上の抗菌薬に対する多剤耐性 (MDR: Multi-Drug Resistant) 株であった。アンピシリンとバンコマイシンに対する耐性菌、VREは確認されなかった。附属病院は2002年1月の新病棟への改築移転に伴い、ベッド数増加と臓器別 (機能的) 病棟への診療体制の変更が行われた。また集中治療室 (ICU) も8床から30床へと拡充された。病棟移転前後の年度別比較では1ベッドあたりの腸球菌の分離頻度には著明な変化は認められなかったが、ICUで検出される多剤耐性腸球菌 (MDR-Ef) の頻度は移転後約1.5倍に増加した ( $p < 0.05$ )。MDR-Efのうち最多の耐性パターンは5剤耐性 (テトラサイクリン、エリスロマイシン、カナマイシン、ストレプトマイシン、ゲンタマイシン) で、209株 (12.2%) が検出された。これらの5剤耐性株のうち約半数の105株 (移転前59株、移転後

46株) についてパルスフィールド電気泳動法による染色体DNAの比較、菌の類縁性の検討を行った。その結果、互いに同一あるいは極めて近縁の株が複数検出され、その多くは数種類のパターンのいずれかに分類できるクローン株であったことから、それぞれ同一由来の5剤耐性腸球菌株による長期の院内感染が強く示唆された。また病棟の改築移転前後でも同一株による院内感染が疑われる事例も確認され、ある株は解析を行った3年以上の期間にわたり、異なる11の病棟(診療科)、16人もの入院患者から分離され続けていた。主な長期院内感染12株についてMLST (multi-locus sequence typing) 解析による染色体型別を行うと、それらの多くはVREとして欧米で主に検出されるST16型(CC58)、あるいは米国で主に検出されるST64型(CC8)の二つに分類された。代表株を用いた接合伝達実験によって、それら5剤耐性は、テトラサイクリン耐性遺伝子を持つ接合伝達性トランスポゾン(ICE)とその他の4剤(エリスロマイシン、カナマイシン、ストレプトマイシン、ゲンタマイシン)耐性遺伝子を持つ別のICEにそれぞれコードされており、他の腸球菌へ伝達することが確認された。PCR法によって*tet(M)*, *erm(B)*, *lin(B)*, *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, *ant(6')-Ia*, *sat(4)*, *aph(3')-IIIa*の各種耐性遺伝子が検出された。

#### 4) 結果と考察

本研究結果は、バンコマイシンに対して感受性を示す多剤耐性腸球菌株による長期間にわたる院内感染事例の国内初の報告である。これまでVREによる院内感染流行が発生していない当院においても、各種耐性菌を含む未知の病原体を考慮した標準予防策の徹底が重要であること、また耐性菌制御と院内感染制御のために、耐性菌の院内伝播拡散のハブ拠点と成り得るICU(HCU, NICU)においては、時にはより高いレベルの接触予防策の必要性が本研究によって示された。

### 副論文の要旨

#### 1) 目的

消化器癌の治療法として、Biochemical modulation 作用等を利用した副作用が少なく、高い治療効果が期待できる温熱化学療法が注目されている。しかし術後の予後を左右する主要な因子である腹膜播種に対する有効な治療法は未だ確立されていない。そこで、腹腔内温熱化学療法の評価が可能なマウス腹膜播種モデルを考案・作成した。

#### 2) 対象および方法

動物は6週齢BALB/cマウスを用い、腫瘍細胞はColon26を使用した。腹腔内にColon26細胞を  $5 \times 10^4$  個投与したのち、24時間後に腹膜灌流をおこなった。灌流装置を用いて、灌流液の温度が腹腔内で43°Cに維持されるように生食の灌流液を注入した。また対照群は、37°Cの生食で腹膜灌流を行った。腹膜播種の状態は、灌流7日目に小腸間膜の転移巣で検討した。メチレンブルーで染色すると、転移巣が肉眼で確認でき、転移巣の大きさおよび個数の計測が可能であった。また、同部では組織学的にも腹膜播種が確認された。

#### 3) 結果

腸間膜と大網の重量では、有意差は認められない。しかし、転移巣の数では、小腸間膜の腫瘍径が、1 mm以下および1 mm以上3 mm以下の場合では、それぞれ温熱療法群が対照群よりも少ない。さらに腫瘍の総数でも温熱療法群は対照群より少なかった。

#### 4) 結語

本モデルは、腹膜播種に対する温熱化学療法の治療方法を評価するのに有用な方法である。