

論文審査の結果の要旨

氏名：笹野まり

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：LAMP法によるOXA(オキサシリナーゼ)-48型βラクタマーゼ産生遺伝子の検出法

審査委員：(主査) 教授 森岡一朗

(副査) 教授 山上聡 教授 越永従道

教授 権寧博

本論文は、カルバペネマーゼの中で新規薬剤耐性遺伝子であるOXA-48型βラクタマーゼ産生遺伝子を迅速かつ精確に検出する新たなLAMP法の開発を目的としたものである。

OXA-48型βラクタマーゼ産生株から抽出した精製DNAを用いて特異度と感度を調べ、同一検体で行ったPCR法の結果と比較検証した。さらに、臨床応用のために、反応阻害物質を含む臨床検体（髄液、血液、便、尿、喀痰）を処理して得られた抽出液を用いて、開発したLAMP法とPCR法を実施し、反応阻害物質の影響を比較検討した。

設計されたLAMPプライマーは、OXA-48型βラクタマーゼ産生株4株を特異的に検出した。ダイレクトシーケンス解析の結果から、LAMP反応産物は予測された領域と一致することが確認された。OXA-48型βラクタマーゼのバリエーションでカルバペネム耐性を有するOXA-181型もこのLAMPプライマーによって検出できた。OXA-48型βラクタマーゼ産生株以外との交差反応を認めなかった。OXA-48型βラクタマーゼ産生株の精製DNAを用いたLAMP法の感度は一反応あたり10コピーであり、PCR法の 10^2 コピーと比較して、10倍高感度であった。臨床検体（髄液、血液、便、尿、喀痰）より作製したDNAスパイク検体でもLAMP法はすべて一反応あたり10コピーと精製DNAと同等の高い感度であった。一方、PCR法では、一反応あたり尿・喀痰・髄液で 10^3 コピー、血液で 10^4 コピー、そして便では 10^5 コピー以上と著しく低感度であった。6種類のOXA-48型バリエーション（OXA-162、OXA-181、OXA-204、OXA-232、OXA-244、OXA-245）とOXA-48型βラクタマーゼ遺伝子の塩基配列について相同性検索をin silicoで行った結果、本LAMPプライマーは、これらの共通塩基配列をターゲットとしており、OXA-48型バリエーションの検出も可能であることが推測された。

本論文は、新規薬剤耐性遺伝子であるOXA-48型βラクタマーゼ産生遺伝子を迅速かつ正確に検出する新たなLAMP法が開発されたことを示している。

よって本論文は、博士（医学）の学位を授与されるに値するものと認める。

以上

令和2年2月19日