

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Bien Thi Lan Thanh
審査委員	主査 鈴木 聡 副査 渡邊 誠也 副査 足立 真佐雄 副査 多田 邦尚 副査 今城 雅之

論文名 Persistence of multi-drug resistance plasmid in seawater environment
(多剤耐性プラスミドの海水環境での残存)

審査結果の要旨

薬剤耐性菌問題は、2015年のG7サミットで、最重要課題のひとつとして首脳宣言にも盛り込まれた世界規模の問題である。環境中に放出される抗菌物質は、選択圧として環境微生物群集に耐性菌を生み出し、人獣医療現場から放出される薬剤耐性菌と耐性遺伝子 (antibiotic resistance genes, ARGs) は、環境微生物群集に伝播する。すなわち、耐性菌問題は、今や臨床医学・獣医学のみならず、環境問題としても重大である。世界保健機構では、ワンヘルスのコンセプトでこの問題に取り組んでいる。

ARGs は水平伝達で細菌間へ拡散するが、これはプラスミドなどの伝達因子で行われる。これまでは、薬剤の選択圧がなくなると、耐性菌からプラスミドが脱落することが知られてきた。しかし、近年、薬剤汚染のない海洋環境からも多くの ARGs が検出されており、環境中でのプラスミドに担われる ARGs の動態を知ることは耐性菌リスク対策の為に必要な情報である。

本研究では、マイクロコズム実験系で、まず多剤耐性プラスミドを保有する海洋細菌と大腸菌を、選択圧のない貧栄養環境に暴露した時のプラスミド量変化を経時的に定量した。その結果、30日間でプラスミドの脱落は認められず、細菌が viable but non-culturable (VNC)状態になっても保有されていた。このことから、プラスミドは海水環境でも安定して細菌群集に保持されることが明らかになった。

細菌は海洋環境中では原生生物に捕食され、捕食後、プラスミドも消化分解されて環境から除去されると考えられるが、それを証明した例はない。本研究では、繊毛虫2種、鞭毛虫2種を使ったマイクロコズムでの耐性菌捕食実験において、経時的に細菌細胞内外のプラスミドを定量した。その結果、いずれの原生生物種の場合も、細菌が捕食されるのと同調してプラスミドが環境に放出され、その後、環境中でプラスミドは減少するものの、一定量は残存することが分かった。加えて、捕食圧のある環境中で、プラスミドは細菌細胞中にも保持され続けることが分かった。これらの現象は、薬剤存在下・非存在下で観察された。これらのことから、捕食圧のある海洋環境でも、プラスミドは環境中および細菌群集において

除去される事なく，残存することが示唆された．

以上の研究から，これまで知られていなかった ARGs の環境動態において，水圏とくに海水環境では，陸圏由来耐性菌および耐性プラスミドを保有する海洋細菌は，薬剤選択圧がない自然環境でも細菌群集に存在し続け，また耐性菌が原生生物に捕食された場合でも，ARGs は環境に残存し続けることが明らかになった．

本研究は，これまでに行われていない新規なアプローチを考案して ARGs の海水環境中での動態を定量化したものであり，海水環境が，負荷された ARGs のリザーバとなり続けることを実験的に明らかにした初めての成果である．

本論文は環境微生物学，公衆衛生学の見地からみてオリジナルな研究と評価される．さらに世界的に医学・獣医学・環境学分野等で問題となっている薬剤耐性菌リスクの解決への提言を与えうる先駆的研究として，幅広い分野で科学的貢献をしており，博士論文としてふさわしい内容であると考えられる．

本論文に関する公開審査会は，平成 29 年 8 月 5 日に高知大学農林海洋科学部において開催され，学位申請者の適切な説明と応答があった．さらに，その後の学位審査委員会において学位論文の内容と，既報の学術論文等が慎重に検討された結果，審査委員全員一致して博士（学術）の学位を授与するに値するものと判定した．