



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular analysis of drug resistance associating gene mutations in Mycobacterium tuberculosis clinical isolates from Nepal [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Shrestha, Dipti
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第14548号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81654
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Shrestha_Dipti_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：Shrestha Dipti

審査委員	主査	教授	鈴木	定彦
	副査	教授	東	秀明
	副査	准教授	磯田	典和
	副査	教授	中島	千絵

学位論文題名

The title of the doctoral dissertation

Molecular analysis of drug resistance associating gene mutations in
Mycobacterium tuberculosis clinical isolates from Nepal

（ネパールで分離された結核菌の薬剤耐性関連遺伝子変異の解析）

多剤耐性結核は、ネパールにおいて公衆衛生上最も重要な課題の一つである。しかしながら、ネパールの多剤耐性結核菌に関する報告は限られており、また、迅速薬剤感受性試験法の構築に必要な薬剤耐性関連遺伝子変異に関する研究報告も十分ではない。とりわけ、結核療法の第一選択薬として広く使用されているストレプトマイシン、ならびにピラジナミドに対する薬剤耐性獲得に関与する遺伝子変異についての報告例はない。

世界の臨床分離結核菌株の遺伝子解析から、リボゾーム蛋白質 S12 遺伝子 *rpsL*、16S リボゾーム RNA 遺伝子 *rrs* ならびにリボゾーム RNA メチル転移酵素をコードする *gidB* 遺伝子上の変異がストレプトマイシン耐性に関与していることが知られている。一方、*pncA* 遺伝子はピラジナミド耐性に関与するピラジミダーゼをコードしており、その遺伝子上の変異がピラジナミド耐性獲得に関与していることが報告されている。しかしながらネパールで分離された結核菌株において、個々の薬剤に対する耐性獲得機構の解析はこれまでに行われておらず、このような情報を獲得することは、迅速薬剤感受性試験法の構築のために急務であった。

第 1 章において Shrestha Dipti 氏は、ネパールで分離された 197 株のストレプトマイシンに耐性を示す臨床分離多剤耐性結核菌株について *rpsL*、*rrs* ならびに *gidB* 遺

伝子変異を解析し、当該遺伝子上の変異の頻度とその多様性を明らかにした。ストレプトマイシン耐性株の 58.8% において、リボゾーム蛋白質 S12 上の 43 番目のリジンがアルギニンに置換される *rpsL* 遺伝子の塩基置換が見出され、変異株の多くが北京型であることを示した。また、ストレプトマイシン耐性株の 13.2% において *rrs* 上に塩基置換があることを見出した。一方、13.2% においては、*gidB* 遺伝子のみに塩基置換を見出した。Shrestha 氏は、以上の結果より、ネパールで分離される多剤耐性結核菌株の 90% 以上が *rpsL*、*rrs*、ないしは *gidB* 遺伝子上の塩基置換検出によって、ストレプトマイシン耐性であると判別できることを示し、迅速ストレプトマイシン耐性結核菌株検出法構築に有用な情報を提供した。本結果は、ネパールでの結核菌のストレプトマイシン耐性関連塩基置換検出の最初の報告であった。

第 2 章において Shrestha Dipti 氏は、ネパール分離された 211 株の多剤耐性結核菌株の *pncA* 遺伝子の解析を実施し、その結果として、約 53% の多剤耐性結核菌株が *pncA* 遺伝子上にピラジナミド耐性との関連が考えられる塩基置換を有していることを明らかにした。また、薬剤耐性に関わる表現型と *pncA* 遺伝子上に見出された塩基置換の関係から、多剤耐性、並びに前超多剤耐性結核菌株において、有意に *pncA* 遺伝子上のピラジナミド耐性獲得に関連する塩基置換の検出率が高いことを示し、薬剤耐性結核患者の治療前に、ピラジナミド感受性試験が必須であることを示した。本結果は、ネパールでのピラジナミド耐性関連塩基置換検出の最初の報告であった。また、本研究で得られたピラジナミド耐性関連塩基置換に関する情報は、迅速ピラジナミド耐性株検出法構築にとって大変に有用なものであった。

本学位論文において Shrestha Dipti 氏は、ネパールで分離された多剤耐性結核菌株におけるストレプトマイシンならびにピラジナミド耐性に関連する遺伝子解析が実施され、当該抗結核薬に対する耐性獲得の分子基盤が明らかとなった。得られたデータは遺伝子変異検出法を応用した、迅速なストレプトマイシン、ならびにピラジナミド耐性結核菌検出法の構築に寄与し、以て、薬剤耐性結核対策に貢献するものである。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 Shrestha Dipti 氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。