

学生優秀発表賞受賞者：鈴木周朔 演題番号 076

## *in vitro* でのマクロライド系薬剤長期曝露による 緑膿菌への経時的影響

鈴木 周朔\*1§ 越川 拓郎\*1

眞野 容子\*2 古谷 信彦\*1,2

### I. 研究の概要

#### 【背景と目的】

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*: *P. aeruginosa*) は、好気性のグラム陰性桿菌で、重篤な呼吸器感染症の原因となる日和見感染菌である。特に、びまん性汎細気管支炎の緑膿菌感染例は予後不良であったが、現在マクロライド系薬剤少量長期療法の有用性が明らかとなっている。しかし、マクロライド系薬剤は、緑膿菌に対して抗菌活性を持たない。そこで、本療法作用機序解明のため今日まで様々な検討が行われ、菌体への作用として外毒素や Biofilm、Quorum Sensing 機構など緑膿菌病原因子の抑制、生体への作用として抗炎症作用や線毛輸送機構改善などが報告された。

しかし、*in vitro* でマクロライド系薬剤を緑膿菌に長期曝露し、経時的な病原因子の変化を検討した報告は少ない。よって本研究では、マクロライド系薬剤を含む寒天培地に、緑膿菌の長期継代培養を行うことで、マクロライド系薬剤長期曝露菌株を作製し、最小発育阻止濃度 (MIC)、増殖速度、Motility について検討を行った。

#### 【方法】

*P. aeruginosa* PAO1 を 1.6 $\mu$ g/mL Erythromycin

または 0.8 $\mu$ g/mL Clarithromycin 含有 Mueller-Hinton Agar に、1 年間で 52 回継代培養を行い、2 ヶ月毎に凍結保存を行うことで長期マクロライド系薬剤曝露菌株として使用した。MIC は、Clinical and Laboratory Standards Institute M100-S25 基準を遵守した微量液体培地希釈法にて判定を行い、薬剤は Ceftazidime、Imipenem、Meropenem、Gentamicin、Amikacin、Erythromycin、Clarithromycin、Ciprofloxacin を用いた。増殖速度は、菌液を LB Broth へ接種し振盪培養を行い、培養開始 2 時間後から目的とする時間ごとに LB Broth 中の生菌数を算定することで確認を行った。Motility は、各 motility plate に菌液を接種し、培養後コロニー周囲に形成される環状混濁部分の直径を測定することで確認を行った。

#### 【結果】

マクロライド系薬剤の長期曝露で、MIC や増殖速度、swimming motility に変化は認められなかった。swarming motility は、Erythromycin 曝露期間延長に伴い減少し、Clarithromycin 曝露 2 ヶ月目で急激な減少が確認された。twitching motility は、Erythromycin、Clarithromycin 共に曝露期間延長に伴い減少が確認された。

\*1 文京学院大学大学院保健医療科学研究科 § 16ms206@s.bgu.ac.jp

\*2 文京学院大学保健医療技術学部

## 【考 察】

マクロライド系薬剤は、緑膿菌の MIC や増殖速度を変化させないことが示唆された。Biofilm 初期段階に参与する swarming motility や twitching motility の抑制は、細菌付着性や Biofilm 形成に影響し、緑膿菌の病原性を低下させる可能性が示唆された。よって今後さらに、他の病原因子についても検討する必要があると考えている。

## II. 受賞の感想

この度、第 11 回日本臨床検査学教育学会学術大会における優秀発表賞への選出、並びに本誌への投稿機会をいただき、誠にありがとうございます。今回が初めての学会発表であり、当日は緊張や不安と戦いながらの発表ではありましたが、このような名誉ある賞をいただけたことは大変大きな自信となりました。また、今回の受賞は研究室

の先生方のお力添えなくしては不可能であったと考えております。この場をお借りいたしまして、研究のご指導、ご支援いただいたこと深く感謝申し上げます。今回の賞に恥じない研究者を目指し、今後さらに研究、学問に精進していきたいと考えております。

## III. 将来への抱負

今回の研究では、緑膿菌の基礎的な病原因子について検討を行い、実験を通して細菌検査における基本的な技術や知識を深めることができました。今後は、より専門性を追求し、他の病原因子や病原因子制御機構について検討を行いたいと考えております。

また近い将来、医療に貢献できる臨床検査技師となれるようより知識を深め、常に向上心を持って研究を続けていきたいと考えております。