

第 418 回雑誌会
(Sep. 20, 2024)

(1) Extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and antimicrobial resistance in municipal and hospital wastewaters in Czech Republic: Culture-based and metagenomic approaches

Kutilova, I., Medvecky, M., Leekitcharoenphon, P., Munk, P., Masarikova, M., Davidova-Gerzova, L., Jamborova, I., Bortolaia, V., Pamp, S. J. and Dolejska, M.

Environmental Research, **193**, 110487, 2021.

Reviewed by R. Kashima

下水処理場 (WWTP) は、薬剤耐性菌 (ARB) と薬剤耐性遺伝子 (ARG) のホットスポットと考えられている。すなわち、WWTP をモニタリングすることで、薬剤耐性の発生や拡散を追跡することができる。そこで本研究では、病院排水、都市下水、河川水における、基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (ESBL) 産生大腸菌の全ゲノムと排水中の DNA を解析して、ARB と ARG の拡散の実態を評価した。試料は、病院の WWTP (流入水、放流水)、病院から都市下水処理場に流入する下水、都市下水処理場 (流入水、放流水)、都市下水処理場の放流先である河川の 6 地点から採取した。試料から ARB を選択するために、2 mg/L のセフトキシム (CTX) を添加した大腸菌・大腸菌群選択培地で培養した。生育した CTX 耐性菌は、MALDI-TOF-MS で菌種を同定し、大腸菌と同定された 158 株を分離した。分離株はディスク試験によって ESBL 産生を確認し、ディスク拡散法によって薬剤感受性試験を行った。続いて、ESBL 大腸菌 78 株と各試料水から抽出した DNA に対してメタゲノム解析を実施し、それぞれの遺伝子多様性を比較した。

総大腸菌に占める CTX 耐性大腸菌の割合は、0.0~4.8%であった。CTX 耐性株の 95.6% (151/158 株) が ESBL 産生大腸菌であり、82.9% (131/158 株) が多剤耐性菌であった。また、ESBL 産生大腸菌の 98.7% (149/151 株) が *bla_{CTX-M}* を保有していた。CTX 耐性株は、高い遺伝的多様性を示し、66 のクラスターに分類された。メタゲノム解析の結果、ESBL 産生大腸菌は遺伝子の多様性が高く、臨床的に重要な Sequence type が多く検出された (ST38, ST131, ST635, ST10)。また、腸管外病原性大腸菌が 28.2% (22/78 株) 検出され、その内の 10 株は都市下水処理場の放流水から検出されており、放流域の河川における健康リスクとなる可能性がある。各試料水のメタゲノム解析の結果、ARG の多様性は病院 WWTP の流入水において最も高かった。以上のことから、ESBL 産生大腸菌が広範囲に存在し、病原性を有した ESBL 産生大腸菌が河川水中に放流されている実態が明らかになった。

(2) Proteomics analysis of serum and urine identifies VCP and CTSA as potential biomarkers associated with multiple myeloma

Fu, W., Song, Y., Zhao, R., Zhao, J., Yue, Y. and Zhang, R.
Clinica Chimica Acta, **552**, 117701, 2024.

Reviewed by R. Tachibana

多発性骨髄腫 (MM) は、高カルシウム血症、腎不全、貧血、骨病変などを発症する癌である。MM には特定の臨床症状がないため、早期診断が困難である。MM 患者の 1~2%は、診断に用いられる M タンパク質と血清遊離軽鎖の濃度が正常であるため、疾病患者において特異的なバイオマーカーを発見することが求められている。そこで本研究では、血清および尿中の差次的発現タンパク質 (DEP) を同定し、MM の新たなバイオマーカーを特定することを目的とした。試料は 2021 年 4 月から 2022 年 1 月の期間中、北京朝陽病院から新規 MM 患者の血清 (n=4) と尿 (n=8)、MM が完治した患者の血清 (n=4) と尿 (n=8)、対照として健常者の血清 (n=5) と尿 (n=5) を採取した。タンパク質濃縮キットによって、試料からタンパク質を濃縮し、タンパク質を消化した。その後、プロテオミクス解析によって、MM 患者の血清と尿に含まれるタンパク質を同定した。次に、タンパク質間相互作用 (PPI) ネットワーク解析によって、MM のバイオマーカーとして有用な DEP を選定した。また、DEP の特異性は、ヒト MM 細胞株 (2 株) と非ヒト MM 細胞株 (1 株) を用い、選定されたウェスタンブロッティング (WB) によって確認した。さらに、ELISA 法で、新規 MM 患者 (30 人)、完治患者 (30 人) および健常者 (18 人) の血清中の DEP 濃度を測定した。その後、DEP 濃度を用いた ROC 解析により、MM 患者の診断精度を AUC 値 (1 に近いほど特異度および感度が高い) で評価し、MM のバイオマーカーとしての有用性を検討した。

プロテオミクス解析によって、血清から 1,653 種、尿から 4,519 種の DEP が同定された。また、PPI ネットワーク解析結果から 6 つの DEP が MM の発症に関連していることが示唆された。これらの DEP について WB で調べたところ、どちらのヒト MM 細胞株においても、6 つ全ての DEP の発現が確認された。サンプルからの検出の容易さと市販の抗体との親和性を考慮し、2 つの DEP (VCP, CTSA) を最適なバイオマーカーとして選定した。2 つの DEP の濃度を ELISA 法で測定したところ、どちらの濃度も新規患者において有意に高かった。さらに、ROC 解析の結果、VCP と CTSA の組み合わせは、AUC 値が 0.883 と高い値を示した。また、VCP, CTSA, アルブミン、およびヘモグロビンの組み合わせでは、AUC 値は 0.981 とより優れた指標であることを示した (特異度 100%, 感度 86.7%)。以上のことから、VCP と CTSA の組み合わせが MM 診断のためのバイオマーカーとして有用であることが示された。