

学位論文審査結果の要旨

博士課程 ①・乙	第 95 号	氏 名	山田 明輝
審 査 委 員		主 査 氏 名	澤口 朗
		副 査 氏 名	三澤 尚明
		副 査 氏 名	新 竜一郎
[論文題名]			
Detection of microbial genes in a single leukocyte by polymerase chain reaction following laser capture microdissection			
レーザーキャプチャーマイクロダイセクションと PCR を組み合わせた、白血球内の細菌遺伝子検出			
(Journal of microbiological methods, 155: 42-48, 2018. DOI: 10.1016/j.mimet.2018.11.005)			
[要 旨]			
<p>感染症の診断において、起炎菌の同定は必須のプロセスである。しかしながら、グラム染色で菌体が確認できた場合でも、菌が発育しない場合があり菌種同定に苦慮することがある。本研究は、感染症において白血球に貪食された細菌は起炎菌である可能性が高いことに着目し、グラム染色標本からレーザーキャプチャーマイクロダイセクション(LCM)によって菌体を貪食した白血球を回収し、PCR で増幅された細菌由来核酸から菌種の同定を行う新しいアプローチを確立することを目的に実施された。</p> <p>はじめに、臨床で代表的な細菌である <i>Escherichia coli</i> と <i>Staphylococcus aureus</i> をそれぞれ C57BL/6J マウスの腹腔に接種して腹膜炎モデルマウスを作成した。菌液接種後 6 時間後に腹腔内を滅菌生理食塩水で洗浄し、回収した腹腔洗浄液中の好中球が増加している事で腹膜炎を惹起していることが確認された。次にメンブレンスライド上に腹腔洗浄液を塗抹し、グラム染色を行なった。菌体を貪食した白血球 1 細胞を LCM で回収し、溶菌操作で得られたサンプルを鋳型に PCR で 16S rRNA 遺伝子を増幅した。得られた増幅産物がマウスに接種した菌と同一の塩基配列であることを確認した。また、<i>E. coli</i> 及び <i>S. aureus</i> の菌種特異的プライマーを用いた PCR でも接種した菌種であることを確認した。</p> <p>審査の結果、臨床検体に応用するためには、様々な菌種で検討を行う必要があるが、本研究が示した LCM と PCR を組み合わせる方法は、臨床検体より起炎菌を検出するための新たな方法として発展が期待され、大学院博士課程の学位論文に値すると判定した。</p>			