

令和 2 年 6 月 26 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08846

研究課題名(和文) 薬剤耐性菌流行株の拡散機構の解明

研究課題名(英文) The mechanism of spread of epidemic clones of antimicrobial resistant bacteria

研究代表者

鈴木 仁人 (Suzuki, Masato)

国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター・主任研究官

研究者番号：70444073

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：近年、薬剤耐性菌による難治性感染症が世界の公衆衛生上の重大な問題となっている。本研究では、国内外で分離された *Acinetobacter baumannii* (アシネトバクター・baumannii) の多剤耐性流行株の比較ゲノム解析とVI型タンパク質分泌機構(T6SS)の機能解析を行い、T6SSを介して分泌される殺菌性のエフェクタータンパク質の酵素活性、およびT6SSを介した細菌-細菌間競合が薬剤耐性プラスミドの接合伝達に与える影響を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

病原細菌において、菌種・菌株毎に保存性が異なるT6SSの分泌タンパク質は、菌株間のビルレンスの差違や菌株の地域・人種特異性などを説明することが可能な重要な因子であり、最新の細菌学と分子疫学の知見を結び付ける成果を得られることが期待できる。また今後、細菌感染症の創薬やワクチンの開発を考える上で、病原細菌の宿主内生・増殖を阻害することが可能な効果的な標的になることが期待できる。

研究成果の概要(英文)： *Acinetobacter baumannii* is one of the most serious antimicrobial resistant bacteria, and the epidemic clones have acquired antimicrobial resistance genes. In this study, we collected *A. baumannii* clinical isolates in the world, and performed comparative genomic analysis of the isolates and functional analysis of the type VI secretion system (T6SS). Some multidrug-resistant epidemic clones of *A. baumannii* utilized T6SS to compete neighbour bacteria depending on bactericidal activities of effector proteins secreted via T6SS, and seemed to have accumulated useful genes, such as antimicrobial resistant genes and virulence-associated genes, on their genomes and plasmids. We identified enzymatic activities of several T6SS effector proteins, and elucidated the effect of T6SS on bacterial conjugation of antimicrobial resistance plasmids among *A. baumannii*.

研究分野：細菌学

キーワード：薬剤耐性 病原性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、薬剤耐性菌による難治性の感染症が世界的な公衆衛生上の重大な問題となっており、感染症の治療が困難な *Enterococcus faecium* (エンテロコッカス・フェシウム)、*Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌)、*Klebsiella pneumoniae* (肺炎桿菌)、*Acinetobacter baumannii* (アシネトバクター・パウマニ)、*Pseudomonas aeruginosa* (緑膿菌)、*Escherichia coli* (大腸菌)/*Enterobacter* spp. (エンテロバクター属菌) は、その頭文字を取り、“ESKAPE”細菌と称されている。MLST (multilocus sequence typing) による分子疫学分類において、アシネトバクター・パウマニの ST2 (sequence type 2) 株、緑膿菌の ST235 株、大腸菌の ST131 株、肺炎桿菌の ST258 株などは、日和見感染症の起原菌ながら同一クローンが世界中の医療機関に拡散していることが明らかになっている。このような世界的流行株は、しばしば伝達性プラスミドなどで汎用性のある抗菌薬に“多剤耐性”を獲得しており、感染症の治療が難しい。そのため、現時点での臨床における細菌感染症を真に理解するためには、最新の臨床分離株を用いて、実際に問題となっている“high-risk clone”の遺伝的特性を詳細に解析することが重要である。

2. 研究の目的

細菌の VI 型分泌機構は、原核細胞と真核細胞、即ち分類学上の生物界を超えた標的にタンパク質を注入し、クロスキングダム (cross-kingdom) な機能を発揮することが明らかとなってきた。細菌は、菌種・菌株毎に異なる多種多様な VI 型分泌タンパク質を保有しており、真の細菌感染症の理解には、起原菌種の流行株の遺伝的特性を解析することが重要である。本研究では、国際的な問題となっている多剤耐性グラム陰性菌の流行株において、VI 型分泌タンパク質の機能解析を行い、流行株の優位性を生み出す細菌間競合や宿主病原性への役割を解明することを企図した。

3. 研究の方法

重要な“ESKAPE”細菌であるアシネトバクター・パウマニ、緑膿菌、大腸菌の流行株に焦点を絞り、T6SS 必須のトランスロケーターである VgrG とのタンパク質相互作用から、流行株に特異的な VI 型分泌タンパク質 TseX を同定する。細菌および哺乳類細胞において、TseX の細胞障害性の有無を確認し、TseX の標的因子の探索を行う。TseX とその標的因子を交えた細胞生物学的な解析、細菌の野生株と tseX 欠損株を用いた混合培養、培養細胞感染、動物感染による解析を進め、流行株に特異的な VI 型分泌タンパク質 TseX の細菌間競合や宿主病原性への役割解明を試みる。

4. 研究成果

近年、薬剤耐性菌による難治性感染症が世界の公衆衛生上の重大な問題となっている。*Acinetobacter baumannii* (アシネトバクター・パウマニ) は最も薬剤耐性化が深刻な菌種であり、世界中に伝播している同菌の多剤耐性流行株は染色体およびプラスミド上に無数の薬剤耐性遺伝子を集積させている。本研究では、国内外で分離されたアシネトバクター・パウマニの多剤耐性流行株の比較ゲノム解析と VI 型タンパク質分泌機構 (T6SS) の機能解析を行い、T6SS を介して分泌される殺菌性のエフェクタータンパク質の酵素活性、および T6SS を介した細菌-細菌間競合が薬剤耐性プラスミドの接合伝達に与える影響を明らかにした。また、比較ゲノム解析で用いた国内で院内感染アウトブレイクを惹起したアシネトバクター・パウマニの多剤耐性流行株から cyclic GMP-AMP synthase (cGAS) のオーソログ遺伝子がコードされた薬剤耐性プラスミドを発見した。同株の T6SS の活性は非常に強いことから、同株は進化の過程で競合する隣接細菌の殺菌を介して、薬剤耐性遺伝子や cGAS 遺伝子などの有用な遺伝子を水平伝播によって獲得してきた可能性が考えられた。細菌では cGAS は宿主への病原性やファージ耐性などに寄与する cGAMP (cyclic GMP-AMP) 結合エフェクターを介した様々な生命現象を惹起することが報告されている。そのため、アシネトバクター・パウマ

ニにおいて cGAS 遺伝子陽性プラスミドの獲得と宿主内および環境における細菌の生存および拡散との関係性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Akamatsu R, Suzuki M, Okinaka K, Sasahara T, Yamane K, Suzuki S, Fujikura D, Furuta Y, Ohnishi N, Esaki M, Shibayama K, Higashi H	4. 巻 25(5)
2. 論文標題 Novel Sequence Type in <i>Bacillus cereus</i> Strains Associated with Nosocomial Infections and Bacteremia, Japan.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Emerging Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 883-890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3201/eid2505.171890	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kamishima T, Suzuki M, Aoyagi S, Watanabe T, Koseki Y, Kasai H	4. 巻 60(20)
2. 論文標題 A facile synthesis of (+)/(-)-pentenomycin I and analogs, and their antimicrobial evaluation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 1375-1378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2019.04.026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Oinuma KI, Suzuki M, Nakaie K, Sato K, Saeki K, Sakiyama A, Takizawa E, Niki M, Niki M, Yamada K, Shibayama K, Kakeya H, Kaneko Y	4. 巻 in press
2. 論文標題 Genome-based epidemiological analysis of 13 <i>Acinetobacter</i> strains isolated from blood cultures of hospitalized patients from a university hospital in Japan.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2018.403	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoshida M, Fukano H, Miyamoto Y, Shibayama K, Suzuki M, Hoshino Y	4. 巻 6(20)
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of <i>Mycobacterium marinum</i> ATCC 927T, Obtained Using Nanopore and Illumina Sequencing Technologies.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genome Announcements	6. 最初と最後の頁 e00397-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/genomeA.00397-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Mitsunori, Fukano Hanako, Miyamoto Yuji, Shibayama Keigo, Suzuki Masato, Hoshino Yoshihiko	4. 巻 6
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of Mycobacterium marinum ATCC 927T, Obtained Using Nanopore and Illumina Sequencing Technologies	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genome Announcements	6. 最初と最後の頁 e00397 ~ 18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/genomeA.00397-18	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Mitsunori, Fukano Hanako, Miyamoto Yuji, Shibayama Keigo, Suzuki Masato, Hoshino Yoshihiko	4. 巻 6
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of a Type Strain of Mycobacterium abscessus subsp. bolletii, a Member of the Mycobacterium abscessus Complex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genome Announcements	6. 最初と最後の頁 e01530 ~ 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/genomeA.01530-17	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Rimbara Emiko, Mori Shigetarou, Kim Hyun, Suzuki Masato, Shibayama Keigo	4. 巻 62
2. 論文標題 Mutations in Genes Encoding Penicillin-Binding Proteins and Efflux Pumps Play a Role in Lactam Resistance in Helicobacter cinaedi	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Antimicrobial Agents and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 e02036 ~ 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/AAC.02036-17	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsui Mari, Suzuki Masato, Suzuki Masahiro, Yatsuyanagi Jun, Watahiki Masanori, Hiraki Yoichi, Kawano Fumio, Tsutsui Atsuko, Shibayama Keigo, Suzuki Satowa	4. 巻 62
2. 論文標題 Distribution and Molecular Characterization of Acinetobacter baumannii International Clone II Lineage in Japan	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Antimicrobial Agents and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 e02190 ~ 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/AAC.02190-17	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Mitsunori, Izumiya Shinji, Fukano Hanako, Sugiyama Kanji, Suzuki Masato, Shibayama Keigo, Hoshino Yoshihiko	4. 巻 5
2. 論文標題 Draft Genome Sequence of <i>Mycobacterium</i> sp. Strain shizuoka-1, a Novel <i>Mycobacterium</i> Isolated from Groundwater of a Bathing Facility in Shizuoka, Japan	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genome Announcements	6. 最初と最後の頁 e01309 ~ 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/genomeA.01309-17	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kenri Tsuyoshi, Suzuki Masato, Horino Atsuko, Sekizuka Tsuyoshi, Kuroda Makoto, Fujii Hiroyuki, Hashimoto Toru, Nakajima Hiroshi, Ohya Hitomi, Shibayama Keigo	4. 巻 5
2. 論文標題 Complete Genome Sequences of the p1 Gene Type 2b and 2c Strains of <i>Mycoplasma pneumoniae</i> KCH-402 and KCH-405	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genome Announcements	6. 最初と最後の頁 e00513 ~ 17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/genomeA.00513-17	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 鈴木 仁人
2. 発表標題 国内外の緑膿菌分離株の薬剤耐性と病原性機構
3. 学会等名 第53回緑膿菌感染症研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masato Suzuki
2. 発表標題 Plasmidome analysis of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolated in Vietnam
3. 学会等名 U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 21st Acute Respiratory Infections (ARI) Panel Meeting - Bacterial Diseases (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 成瀬 秀則、一久 和弘、井本 裕顕、平林 亜希、柴山 恵吾、鈴木 仁人
2. 発表標題 多剤耐性グラム陰性菌に有効な抗菌ポリマーの開発
3. 学会等名 第47回薬剤耐性菌研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木 仁人
2. 発表標題 ポリミキシン耐性菌感染症の現状とその治療法の開発
3. 学会等名 第101回日本細菌学会関東支部総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masato Suzuki
2. 発表標題 MinION sequencing analysis on antimicrobial resistant bacteria
3. 学会等名 3rd Technology Seminar on the MinION sequencing（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masato Suzuki, Maho Yoshida, Koji Yahara, Keigo Shibayama
2. 発表標題 Type VI secretion systems in bacterial pathogens causing nosocomial infections
3. 学会等名 第91回日本細菌学会総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木 仁人、吉田 真歩、矢原 耕史、柴山 恵吾
2. 発表標題 アシネトバクター属菌における薬剤耐性と細菌間競争
3. 学会等名 第52回緑膿菌感染症研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田 真歩、平林 亜希、荒川 宜親、柴山 恵吾、鈴木 仁人
2. 発表標題 Acinetobacter baumanniiの接合伝達におけるVI型分泌機構の影響
3. 学会等名 第46回薬剤耐性菌研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鈴木 仁人
2. 発表標題 微生物のサバイバルゲーム - 殺す：薬剤耐性菌のVI型分泌機構を介した拡散機構
3. 学会等名 環境微生物系学会合同大会2017（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉田 真歩、平林 亜希、荒川 宜親、柴山 恵吾、鈴木 仁人
2. 発表標題 薬剤耐性プラスミドの接合伝達におけるVI型分泌機構の影響
3. 学会等名 第11回細菌学若手コロッセウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Masato Suzuki, Mari Matsui, Satowa Suzuki, Maho Yoshida, Koji Yahara, Keigo Shibayama
2. 発表標題 The evolution of pandemic antimicrobial-resistant lineages of <i>Acinetobacter baumannii</i>
3. 学会等名 IUMS 2017 (15th International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Masato Suzuki, Mari Matsui, Satowa Suzuki, Takaya Segawa, Koji Yahara, Shizuo Kayama, Motoyuki Sugai, and Keigo Shibayama
2. 発表標題 Large antimicrobial resistance plasmids disseminated among <i>Acinetobacter</i> species
3. 学会等名 ECCMID 2017 (27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考