

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08426

研究課題名(和文) MRSAの網羅的遺伝子情報を基としたバイオフィーム形成過程の病態解明

研究課題名(英文) The association of gene mutation with clinical characyster in MRSA infection

研究代表者

岩田 恭宜 (Iwata, Yasunori)

金沢大学・附属病院・特任教授

研究者番号：90432137

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は、1970年代に出現した多剤耐性菌であるが、未だ克服されていない。本課題では、遺伝子情報に着目し、感染症に及ぼす影響について検討した。MRSAの網羅的遺伝子解析を行い、その変異と、感染症の臨床病態を評価した。その結果、接着・バイオフィーム関連の遺伝子領域に変異を持つ株は、有意に血流感染症を増加させること、接着・バイオフィーム関連の遺伝子発現の制御物質は、新規の感染予防薬となり得ることを明らかにした。さらに、最近増加している市中感染株の薬剤耐性と遺伝子変異の関与を報告した。これらの結果は、細菌の遺伝子情報が感染症の病態に深く関与していることを示していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これらの結果は、菌体側の接着・バイオフィーム関連遺伝子情報が、感染症の病態と相関し、血流感染症の予知因子となる可能性を示していた。さらに、接着・バイオフィーム関連遺伝子が新規治療標的となる可能性も考えられ、新たなバイオマーカーや、新規抗菌薬開発のターゲットとして、有用であることが示された。今後の感染症対策を考えるうえで、重要な結果であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a common pathogenic bacterium that causes nosocomial and community-acquired infections. MRSA infection can cause severe illness not only in immunocompromised patients but also in healthy people. Therefore, the understanding the pathogenesis and developing novel therapeutic option are of important. We have focused on the association between bacterial gene and clinical phenotype on MRSA infection. We revealed that the bacterial genotype affects the clinical characteristics of MRSA infection. Moreover, The frequency of gene mutations on resistant gene loci were gradually decreased along with the increased sensitivity of beta-lactam antibiotics. Then, we found that D-Serine inhibits the attachment and biofilm formation of MRSA by reducing the expression of the related genes. These results highlight the association of gene mutation with phenotype of infection.

研究分野：感染症学

キーワード：MRSA 遺伝子

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会を迎えた本邦では、細菌感染症による死亡者が増加している。年齢が高いほど、肺炎による死亡者の割合が多くなり、感染症対策は健康長寿の達成のため重要である。また最近、多くの抗菌薬に耐性を示す、多剤耐性菌の存在が、感染症管理を困難にしている。伊勢志摩サミットでは、多剤耐性菌が世界的な課題として取り上げられ、また、世界銀行も、多剤耐性菌による経済的損失は、2050年までに610兆円に上ると警告している。多剤耐性菌対策は医学・医療のみならず、多方面から大きな注目を集めている。そのうち、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は、1970年代に出現した多剤耐性菌であるが、未だ克服されていない。本邦のほぼすべての病院から分離され、MRSA感染症による年間死亡者数が1万4千人、医療費が約1900億円増加していると試算されている。その感染症対策は、医学的、医療経済的にも喫緊の課題である。

2. 研究の目的

そこで本研究課題では、MRSAの網羅的遺伝子情報に着目し、その感染症の臨床病態を明らかにすることを目的とした。具体的には以下の項目について検討を行う。

MRSA感染症の臨床病態と遺伝子情報の関係 MRSAの経時的な遺伝子変異と、その表現型の関係 MRSAのバイオフィルムを標的とした新たな抗菌薬の開発 これらの検討を通して、MRSA感染症における遺伝子上の意義を理解し、新たな治療標的の可能性を創出することを目的とした。

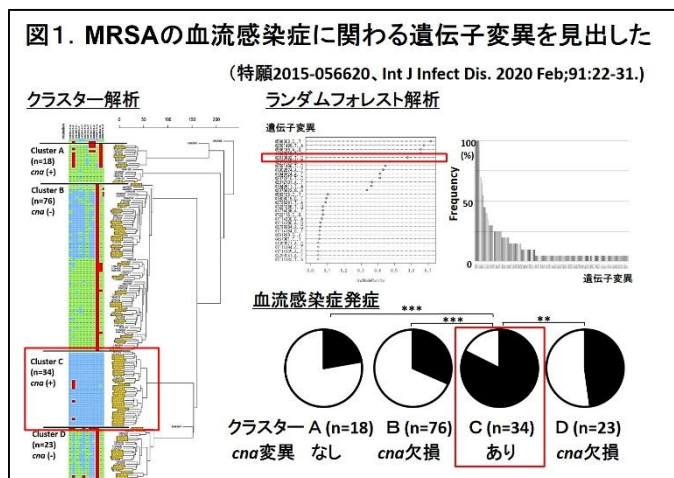
3. 研究の方法

患者より分離されたMRSAより遺伝子を抽出し、網羅的遺伝子解析を行った。得られた遺伝子情報を基に臨床病態、菌体の薬剤感受性との相関を検討した。さらに、新たな抗感染症薬候補として、D-セリンについて検討した。

4. 研究成果

MRSA感染症の臨床病態と遺伝子情報の関係

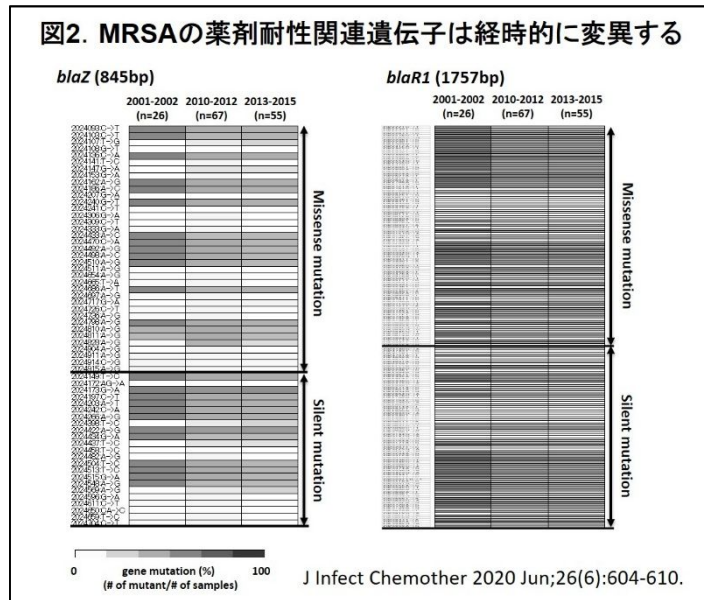
MRSAの遺伝子情報が、臨床病態に関与するという仮説でMRSA154株の網羅的遺伝子情報と、その患者臨床病態を検討した。MRSAは遺伝子情報の類似性により、4つのクラスターに分類された。そのうち、1つのクラスターで、有意に血流感染の発症が高かった。感染症の発症に関与する遺伝子変異を検討したところ、相関係数の上位には、接着・バイオフィルム関連遺伝子領域の変異が多く認められた。さらに、相関係数上位の変異を、ランダムフォレストによる機械予測で抽出した結果、12の遺伝子変異が、感染症の発症を予測する因子として挙げられた。これら12の変異を、各クラスターで検討したところ、接着・バイオフィルム関連遺伝子領域である*cna*の有無が、クラスター分類と一致し、また血流感染の多いクラスターは*cna*領域の変異を多く持つことが明らかとなった。これらの結果は、MRSA感染症において、接着・バイオフィルム関連因子が重要な



役割を持ち、かつ *cna* 領域の遺伝子変異が特に血流感染症に關与する可能性を示していると考えられた(図1)。ついで、遺伝子変異が *cna* 蛋白の機能に及ぼす影響を検討した。*cna* の変異蛋白を抽出、精製し、各コラーゲンへの接着能を検討した。興味深いことに、変異 *cna* 蛋白は、野生型 *cna* に比較し、コラーゲンへの接着能が低下した。実際、変異 *cna* を持つ MRSA 株は野生株に比較し、接着能の低下がみられた。臨床的に、血流感染による感染巣の拡大は、増殖した菌塊が離脱し、新たな場に定着する必要があるが、変異株はこの離脱の過程が、野生株より容易におこることで血流感染が拡大する可能性が示された。これらの結果は、菌体遺伝子が臨床病態に關与する可能性を示していた。本研究結果を基に、*cna* 領域の遺伝子変異を、血流感染症の予知マーカーとして特許出願した。また、結果を英文誌に掲載した。

MRSA の経時的な遺伝子変異と、その表現型の関係

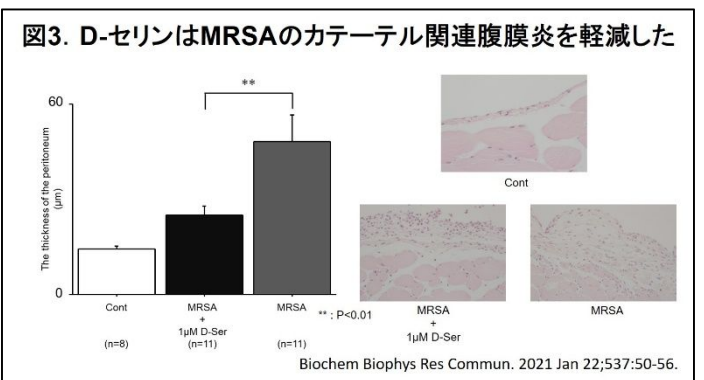
近年、病院内で分離される MRSA は、市中感染株の割合が増加していることが知られている。市中感染株の特徴の一つに、院内感染株と異なった薬剤感受性パターンを示すことが挙げられる。その機序を、遺伝子情報を基にして、検討を進めた。MRSA 臨床分離株 154 株の網羅的遺伝子解析を行い、経年的に検討した結果、ラクタム系抗菌薬の感受性が上昇していることが明らかとなった。また、菌体遺伝子の



ラクタマーゼをコードする遺伝子領域の変異数が経年的に低下した。遺伝子変異に対応するアミノ酸配列を検討したところ、ラクタム環の結合部位近傍の変異であった。これらの変異が経年的に変化した結果、薬剤感受性が上昇したものと考えられた。これらの成果は、日本感染症学会の英文誌に掲載された。

MRSA のバイオフィルムを標的とした新たな抗菌薬の開発

これまで我々は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の接着・バイオフィルム関連蛋白をコードする *cna* の遺伝子変異が、菌体の早期播種に關与し、血流感染を高率に発症することを報告した。近年、この菌体の接着能が、アミノ酸により制御されているという可能性が示唆されている。そこで、我々は、D-アミノ酸の、MRSA における接着、バイオフィルム形成能に関して検討を行った。D-アミノ酸のうち、D-セリン(Ser)が、MRSA のプレートへの接着を阻害した。カテーテル関連腹膜炎モデルを用いた検討においても、D-Ser 投与によりカテーテルへの接着が阻害され、腹膜炎も軽減した。一方で、細菌の増殖能は変化がなかった。大腸菌を用いた接着実験によっても、D-Ser は



一方で、細菌の増殖能は変化がなかった。大腸菌を用いた接着実験によっても、D-Ser は

接着阻害効果を示した。これらの結果は、D-Ser が菌体の接着阻害を介して、感染症発症を予防する可能性を示していた。これらの結果は、Biochemical and Biophysical Research Communications 誌に掲載された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Iwata Y, Sakai N, Yoneda I, Senda Y, Sakai-Takemori Y, Oshima M, Nakagawa-Yoneda S, Ogura H, Sato K, Minami T, Kitajima S, Toyama T, Yamamura Y, Miyagawa T, Hara A, Shimizu M, Furuichi K, Matsushima K, Wada T.	4. 巻 22
2. 論文標題 D-Serine inhibits the attachment and biofilm formation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 50-56
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.12.078.	査読の有無 有
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 Iwata Y, Kitajima S, Yamahana J, Shimomura S, Yoneda-Nakagawa S, Sakai N, Furuichi K, Ogura H, Sato K, Toyama T, Yamamura Y, Miyagawa T, Hara A, Shimizu M, Ohkawa R, Kurano M, Yatomi Y, Wada T.	4. 巻 24
2. 論文標題 Higher serum levels of autotaxin and phosphatidylserine-specific phospholipase A 1 in patients with lupus nephritis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Rheum Dis.	6. 最初と最後の頁 231-239
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1756-185X.14031	査読の有無 有
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 Minami T, Iwata Y, Wada T.	4. 巻 40
2. 論文標題 Renal complications in coronavirus disease 2019: a systematic review	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Inflamm Regen.	6. 最初と最後の頁 31
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s41232-020-00140-9	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 Makino T, Izumi K, Hiratsuka K, Kano H, Shimada T, Nakano T, Kadomoto S, Naito R, Iwamoto H, Yaegashi H, Shigehara K, Kadono Y, Nakata H, Saito Y, Nakagawa-Goto K, Sakai N, Iwata Y, Wada T, Mizokami A.	4. 巻 11
2. 論文標題 Anti-proliferative and anti-migratory properties of coffee diterpenes kahweol acetate and cafestol in human renal cancer cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 675
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-80302-4	査読の有無 有
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 Toyama T, Kitagawa K, Oshima M, Kitajima S, Hara A, Iwata Y, Sakai N, Shimizu M, Hashiba A, Furuichi K, Wada T.	4. 巻 21
2. 論文標題 Age differences in the relationships between risk factors and loss of kidney function: a general population cohort study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Nephrol.	6. 最初と最後の頁 477
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12882-020-02121-z.	査読の有無 有
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 Nguyen VA, Ogura K, Matsue M, Takemoto N, Mukai K, Nakajima Y, Hoang TL, Iwata Y, Sakai N, Wada T, Hashimoto W, Okamoto S, Ichimura H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Novel Hyaluronate Lyase Involved in Pathogenicity of Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Microbiol	6. 最初と最後の頁 552418
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2020.552418.	査読の有無 有
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 Iwata Y, Satou K et al	4. 巻 91
2. 論文標題 Collagen Adhesion Gene Is Associated With Bloodstream Infections Caused by Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Infect Dis	6. 最初と最後の頁 22-31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijid.2019.11.003.	査読の有無 有
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 Yasuda H, Iwata Y, Nakajima S, Furuichi K, Miyake T, Sakai N, Kitajima S, Toyama T, Shinozaki Y, Sagara A, Miyagawa T, Hara A, Shimizu M, Kamikawa Y, Sato K, Oshima M, Yoneda-Nakagawa S, Kaneko S, Wada T.	4. 巻 24
2. 論文標題 Erythropoietin Signal Protected Human Umbilical Vein Endothelial Cells From High Glucose-Induced Injury	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nephrology (Carlton)	6. 最初と最後の頁 767-774
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/nep.13518.	査読の有無 有
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 Nakade Y, Iwata Y, Furuichi K, Mita M, Hamase K, Konno R, Miyake T, Sakai N, Kitajima S, Toyama T, Shinozaki Y, Sagara A, Miyagawa T, Hara A, Shimizu M, Kamikawa Y, Sato K, Oshima M, Yoneda-Nakagawa S, Yamamura Y, Kaneko S, Miyamoto T, Katane M, Homma H, Morita H, Suda W, Hattori M, Wada T.	4. 巻 3
2. 論文標題 Gut microbiota-derived D-serine protects against acute kidney injury.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JCI Insight.	6. 最初と最後の頁 97957
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.97957	査読の有無 有
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 Wada Y, Gonzalez-Sanchez HM, Weinmann-Menke J, Iwata Y, Ajay AK, Meineck M, Kelley VR.	4. 巻 30
2. 論文標題 IL-34-Dependent Intrarenal and Systemic Mechanisms Promote Lupus Nephritis in MRL-Faslpr Mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Am Soc Nephrol.	6. 最初と最後の頁 244-259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1681/ASN.2018090901	査読の有無 有
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 該当する

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 岩田恭宜、中出祐介、和田隆志
2. 発表標題 The gut-kidney axis in diabetic kidney disease
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩田 恭宜
2. 発表標題 細菌遺伝子情報の病態への関与
3. 学会等名 第61回日本腎臓学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------