

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10599

研究課題名(和文) ミャンマーのカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌を分子疫学・地政学的視点で解明する

研究課題名(英文) Investigation on carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Myanmar from a molecular epidemiological and geopolitical point of view

研究代表者

萩谷 英大(Hagiya, Hideharu)

岡山大学・医歯薬学域・准教授

研究者番号：30718531

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ミャンマーにおいてヒト・家畜・環境より検出されたCPE株について、プラスミドを含めた全ゲノム解析を行うことで、その感染経路の軌跡を辿ることを目指した。しかし国内クーデターと新型コロナウイルスの世界的パンデミックにより、現地調査を断念せざるを得ず、軌道修正の結果、ミャンマーからのReady-to-Eat食品を対象にCPEのスクリーニング調査を実施することとした。合計138の食品サンプルを調査したがCREは検出されなかった。国際化が進む中、薬剤耐性菌対策は今後も国内外で考えていく必要があり、今後も調査を継続してその可能性を検討していく必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果、海外輸入食品が薬剤耐性菌の国内流入ルートになりうるという証拠を示すことはできなかった。しかし、サンプル数が少ないことからその可能性を否定できるものではない。コロナ禍が収束し国際化が再び進む中、薬剤耐性菌対策はこれまで以上に推進していく必要がある。本研究の方法論・アプローチ過程が今後の薬剤耐性菌スクリーニングの発展に寄与することが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to trace the infection route of CPE strains detected from humans, livestock, and the environment in Myanmar by whole-genome analysis. However, due to a domestic coup d'etat and a global pandemic of the novel coronavirus 2019, we had to give up the field survey. Instead, we decided to conduct a CPE screening survey targeting Ready-to-Eat foods imported from Myanmar. A total of 138 food samples were investigated but no CPE strains was detected. As internationalization progresses, it is increasingly necessary to continue to consider measures against antimicrobial-resistant bacteria.

研究分野：臨床感染症

キーワード：薬剤耐性 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 スクリーニング 感染制御

1. 研究開始当初の背景

薬剤耐性菌(AMR, antimicrobial resistance)の拡散は世界の公衆衛生に多大な脅威を与え始めていた。欧米各国は AMR 対策を喫緊の政治的課題と位置づけ、新規抗菌薬開発を含む包括的戦略を展開し、日本国内でも 2016 年 4 月に AMR 対策アクションプランが策定された。さらに同年 5 月の伊勢志摩サミットでは AMR 問題が主要議題として取り上げられ、「世界経済・移民問題・テロ対策などと並ぶ世界的な課題として、AMR 問題について各国が協調して取り組んでいく」ことが首脳宣言として強調された。これらの動きを受けて、国内では AMR 啓発・教育活動、サーベイランス調査の強化、抗微生物薬の適正使用の推進など、具体的な対策活動が進められてきた。

AMR の中で中心的存在を果たしているのが、カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (CPE, carbapenemase-producing Enterobacteriaceae) である。腸管内を中心に、ヒト体内に広く存在する腸内細菌科細菌が耐性化することで CPE となるため、CPE の出現・拡散は大きな問題となっている。この CPE 拡散の原因として、プラスミド性の耐性機序、多様な遺伝子型が原因であることが挙げられる。プラスミド性の耐性機序により、高度な薬剤耐性が菌種を超えて容易に拡散する。また、遺伝子型が多岐にわたることは CPE の検出に苦慮することを意味しており、有効な拡散防止策の早期実施が困難となる。

本研究計画をたてた段階で、世界中のヒト・家畜・環境から検出される CPE がどのように関連しているのか、または関連していないのか、“One-Health” 的アプローチとして包括的な調査を推進することが重要であるが、これら三者のフィールドをつなげた網羅的調査は世界的に不足していた。

ミャンマー連邦共和国は第二次大戦以降、軍政による鎖国政策が続いたことで政治・経済的な発展が妨げられ、長らく世界的な最貧国であった。政治体制の改革により民主化が進み、産業・工業の発展が急速に進み、ミャンマーは東南アジアのラストフロンティアとして世界中が注目してきた。しかし経済的発展とは裏腹に、医療インフラは未整備のままであり、感染症をはじめとした疾患疫学データが存在しない。我々は、2015 年よりミャンマー連邦共和国において、保健省管轄の国立医学研究所(Department of Medical Research)と国際共同研究契約を結び、CPE 疫学調査を進めてきた。その結果、ヤンゴン市内の病院・生活環境・マーケット食材、そして健康人ですら、我々の想像以上に CPE に汚染されている現状が明らかとなった。これらの研究はパイロットスタディとして小規模に実施したものであり、ミャンマーにおける CPE 疫学の全貌を明らかとしたわけではなかった。

2. 研究の目的

「ミャンマー国内での CPE の伝播・拡散状況について、分子疫学・地政学的視点で追跡・解明する」ことを本研究の主目的に設定し、ヒト・家畜・環境より検出された CPE 株について、プラスミドを含めた全ゲノム解析を行うことで、その感染経路の軌跡を辿ることを目指した。特に地理的情報とゲノム疫学的手法に基づいて解析を進めることで、ヒト・環境・家畜といった“ One-Health ”の中での CPE の感染経路の一端を明らかとすることが可能であると考へた。バングラディッシュ国境付近では昨今のロヒンギャ難民問題、タイ国境付近はカレン族との長期的難民問題がある地域であり、こういった人的交流が複雑化する難民問題を抱えた地域で、薬剤耐性菌がどのように拡散しているのか、地政学的視点も踏まえて検討することは今後の世界的な薬剤耐性菌対策に有用であると期待された。

本研究課題は 2019 年 4 月から開始となった。現地のカウンターパートナー (保健省関連組織) との打ち合わせを 2020 年 1 月にミャンマーに渡航して行い、研究活動は順調な滑り出しであった。ところが、ちょうどその頃から新型コロナウイルス感染症の世界的パンデミックが始まり海外渡航ができなくなり、加えて 2021 年 2 月には軍事クーデターが勃発しミャンマー国内は混沌とした状態に陥ることとなった。本報告書を記載している 2022 年 3 月段階で国内政治の安定化の見通しは立っていない状態である。

こうした状況を鑑みて、本研究課題に期待された成果を達成するために、日本国内で実施可能な研究内容への方向転換を図った。熟慮の結果、ミャンマーからの輸入食品をスクリーニングすることで同国における CPE 蔓延状態を間接的に評価できると考え、輸入され小売・ネット通販されている Ready-to-Eat 食品 (火を通さずにそのまま食べられる食品) を対象に CPE のスク



リーニング調査を実施することとした。検出された CPE 株に対してゲノム解析を行い既存データベースと比較することで、食品由来株の薬剤耐性遺伝子のタイピング・ルーツなどを明らかにするとともに、ヒト由来株との相違点を模索することにつながると期待された（図参照）。

3. 研究の方法

食料品の回収

研究対象である Ready-to-Eat 食品は、小売販売・ネット販売の形で一般流通している海外輸入食料品とする。主にミャンマー由来の食品を対象とすることとした。購入後に火を通して食すものは除外し、野菜・果物・加工食品などのうち入手したままの状態で摂取することを前提とした食品とした。

薬剤耐性菌のスクリーニング

本研究で対象とするのは、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）および基質拡張型ラクタマーゼ（ESBL）産生腸内細菌科細菌とする。この両者を同時スクリーニングするために、メーカー市販の ESBL・CRE 選択培地を用いた（クロモアガー-KPC/ESBL 分画培地，関東化学）。

菌種・薬剤感受性・タイピング・薬剤耐性メカニズムの同定

上記手法により得られた薬剤耐性菌を疑う菌株については、菌種同定（質量分析法：MALDI-TOF-MS, Bruker）薬剤感受性試験（MicroScan WalkAway 96 Plus; Beckman Coulter, Brea, CA およびドライプレート栄研; Eiken Chemical Co., Tokyo, Japan）さらに責任遺伝子を同定するためのシーケンス検査を行うこととした。Multilocus sequence typing (MLST)の判別は Enterobase (<http://enterobase.warwick.ac.uk/>) および Institute Pasteur 's MLST database (<http://bigsd.b.pasteur.fr/klebsiella/klebsiella.html>)に照会のうえ判定することとした。さらに網羅的に薬剤耐性遺伝子を検出するために、得られたシーケンスデータを ResFinder database (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>) で解析することとした。

リスク分類

食品ごとの薬剤耐性菌保有リスクを算出するために、輸入元や食品の種類などのカテゴリー別に汚染率を算出する予定とした。（なお、データ発表にあたっては、個人の業者などが特定されないように配慮する。）

4. 研究成果

研究期間中に 138 サンプルの海外輸入商品をクロモアガー-KPC/ESBL 分画培地でスクリーニングした。輸入元国はミャンマー118件、パキスタン9件、ベトナム6件、タイ4件、バングラディッシュ1件であった。図に調査した食品サンプル写真の一部を例として提示する。

CPE を疑うコロニーは 1 サンプル（ミャンマー由来）から得られたが、菌種同定の結果、感受性良好な *Vibrio* 属であった。また、ESBL 産生菌を 1 サンプル（ミャンマー由来）から得られた。全体を通して CPE は検出されなかったため遺伝子型タイピング・薬剤耐性メカニズムの同定までは実施しなかった。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	濱口 重人 (Hamaguchi Shigeto) (20735360)	大阪大学・医学部附属病院・特任助教(常勤) (14401)	
研究分担者	朝野 和典 (Tomono Kazunori) (40202204)	大阪大学・医学系研究科・教授 (14401)	
研究分担者	明田 幸宏 (Akedo Yukihiro) (60444527)	大阪大学・医学部附属病院・講師 (14401)	
研究分担者	菅原 庸 (Sugawara Yo) (70452464)	国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター・室長 (82603)	

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