

令和 6 年 4 月 20 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K18326

研究課題名(和文)黄色ブドウ球菌肺炎の重症化に関わる病原因子の解明

研究課題名(英文)Elucidation of virulence factors involved in the severity of *Staphylococcus aureus* pneumonia

研究代表者

稲川 高紘 (Inagawa, Takahiro)

広島大学・病院(医)・医科診療医

研究者番号：30773783

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)：広島大学病院のICU患者の鼻腔から分離された菌の全ゲノム配列データと臨床データを用いて、黄色ブドウ球菌の分子疫学研究を実施した。MRSAとMSSAの鼻腔保菌率は、それぞれ7.0%と20.1%だった。CA-MRSAの保菌率は2.3%で、全MRSA分離株の32.8%を占めた。MRSA(CA-MRSAおよびHA-MRSAも同様に)の多数がCC8, ST8およびSCCmec IV型に属していた。

次に、黄色ブドウ球菌感染症の病巣・病態と病原因子の関連性を評価した。MRSA/JおよびMSSA/Jは深部膿瘍感染と、ST764は肺炎・菌血症・ARDSと、tst-1陽性株はDICの原因となる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ICUに入院している患者の鼻腔内でのMRSAの定着は、MRSA感染の発症を予測する可能性があります。しかし、黄色ブドウ球菌感染症発症のリスク評価を行うための細菌学的データは存在しない。

この単一施設の2年間の遺伝子観察研究では、ICUに入院した患者の鼻腔から分離された黄色ブドウ球菌と、ICUで感染症を発症した入院患者の血液または病変から分離された黄色ブドウ球菌をすべて分析した。さらに、ICUで感染症を引き起こす原因となっている毒性のクローンを特定した。

この情報は、毒性の強いMRSA株を特定して、選択的除菌を行い、ICUでの黄色ブドウ球菌の院内感染を減らす治療戦略につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We conducted a molecular epidemiological study of *Staphylococcus aureus* using whole-genome sequence data and clinical data of isolates from nasal swabs of patients admitted to ICU of Hiroshima University hospital. The nasal carriage rates of MRSA and MSSA in ICU patients were 7.0% and 20.1%, respectively. The carriage rate of CA-MRSA was 2.3%, accounting for 32.8% of all MRSA isolates. Most, including CA-MRSA and HA-MRSA, belonged to CC 8 (ST 8) and SCCmec type IV. Furthermore, results for disease foci and the assessment of virulence factor genes associated with disease conditions (bacteremia, ARDS, DIC, and septic shock) suggested that nasal colonization of *S. aureus* clones could represent a risk for patients within the ICU. Particularly, MRSA/J and MSSA/J may be more likely to cause deep abscess infection; ST764 may cause ventilation-associated pneumonia, hospital-acquired pneumonia and subsequent bacteremia, and ARDS, and tst-1-positive isolates may cause DIC onset.

研究分野：救急集中治療

キーワード：S. aureus MRSA MSSA DNAシーケンス DNA解析 病原因子

1. 研究開始当初の背景

S. aureus は、肺炎、皮膚・軟部組織感染症、髄膜炎、感染性心内膜炎、カテーテル関連血流感染症、手術創感染症などの感染の原因菌ともなり、特に院内感染や ICU での感染で問題となる。Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS) の 2016 年度の報告では、ICU 患者の Ventilator associated pneumonia (VAP) の原因菌として、methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) は 10.6%、methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) は 9.1% を占め、第 2 位、第 3 位であった。

MRSA 肺炎患者の 30 日死亡率は約 28% にものぼり (Tadros et al. PLoS One 2013)、ICU 滞在中の *S. aureus* 感染による患者死亡率は MRSA 29.1%、MSSA 20.5% (Hanberger et al. International Journal of Antimicrobial Agents) という報告がある。このように、ICU 患者の *S. aureus* 感染症・肺炎は、死亡率が高く、ICU 患者の予後改善のため、新規治療戦略を構築することが求められる。

一方で、*S. aureus* の肺炎に対する病原因子として、 α -hemolysin (hla)、phenol-soluble modulins (PSM) などが関与すると言われているが、未解明な部分が多い。海外では、市中型 MRSA いわゆる Community-associated (CA)-MRSA による壊死性肺炎と Pantone-Valentine leukocidin (PVL) の関連が指摘されているが、本邦において PVL 産生菌の検出はまれである。しかし、本邦においても *S. aureus* による重症肺炎・壊死性肺炎は多く、PVL 以外の病原因子の存在が示唆されるが、その研究はほとんどない。

また、近年、従来の院内型 MRSA である Hospital-associated (HA)-MRSA とは異なったタイプの CA-MRSA の増加や、院内に蔓延する HA-MRSA の遺伝子タイプも、経年的に変化しており、現在の疫学に沿った研究が必要である。

このように *S. aureus* による感染は、現在も臨床において大きな脅威であり、その病原性は未知な部分も多い。遺伝子タイプも経年的に変化し、地域によっても存在する株が異なる。本研究では、*S. aureus* の肺炎に関する病原因子を、現在の本邦の疫学に即しながら、臨床的側面と微生物学的側面から解明していく。

2. 研究の目的

以上の研究背景を踏まえて、本研究の目的は以下の通りである。

S. aureus の遺伝学的疫学調査

S. aureus の重症感染症と関連した病原因子の同定

同定した病原因子を標的とした、*S. aureus* 感染の新規予防・治療戦略の検討

3. 研究の方法

患者の臨床情報の収集

2017 年 6 月から 2019 年 5 月までの間に、広島大学病院高度救命救急センター・ICU に入室した患者のカルテから入室理由、入室時の重症度 (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) スコア、臓器障害スコア (Sequential organ failure assessment score, SOFA score)、*S. aureus* 感染の有無、感染の Focus、ARDS の有無、菌血症の有無、敗血症性ショックの有無、DIC の有無、微生物学的検査結果、酸素化、人工呼吸器装着期間、カテコラミン使用・透析の有無、予後、生存期間などの情報を収集する。

S. aureus 株の収集・DNA の解析

2017年6月から2019年5月までの間に、広島大学病院高度救命救急センター・ICUに入室した患者から得られた *S. aureus* 株を全て使用。同施設ではMRSAサーベイランスのため鼻腔スワブを提出しており、その検体から得られた株や、臨床的に感染症の治療目的で採取された際に得られた株を使用する。研究目的に新規の検体採取は行わない。収集した菌株からDNAを抽出し、NGSによる遺伝子解析を行う。遺伝子情報は、Clonal Complex (CC)型、Coagulase型、accessory gene regulator (agr)型、Sequence type(ST)型、Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*)型などのgenotypeの分類、病原因子として、staphylococcal enterotoxins (*SEs*), *PVL*, *toxic shock syndrome toxin-1 (tsst-1)*, *chemotaxis inhibitor protein of S. aureus (CHIPS)*, *staphylokinase (sak)*, *staphylococcal complement inhibitor (SCIN)*, *epidermal cell differentiation inhibitor (edin)*, *hla*, *psm* などの遺伝子の保有の有無を評価する。

ICU入室患者の *S. aureus* の遺伝子学的疫学調査

上記患者の鼻腔から採取された *S. aureus* 株を分離し、全ゲノム解析を行い、遺伝子学的疫学手調査を行う。

ICU入室患者の *S. aureus* 感染を引き起こした株の遺伝子調査

上記患者のうち、*S. aureus* 感染を発症した患者から得られた *S. aureus* 株を分離し、全ゲノム解析を行い、遺伝子学的調査を行う。

患者臨床情報と virulence gene の比較

患者臨床情報から、重症感染症の原因となった *S. aureus* 株と非感染性の保菌株の保有する virulence gene を比較することで、感染巣や病態に關与する virulence gene を同定する。

4. 研究成果

これまでの様々な報告や論文から、*S. aureus* の保有する病原因子は、遺伝子タイプ毎に規定されることが知られており、肺炎と *S. aureus* の関連性を調べることに、本邦に存在する *S. aureus* の遺伝子タイプの割合と、肺炎の原因菌となった *S. aureus* の遺伝子タイプを比較することで、肺炎を比較的引き起こしやすい遺伝子タイプの *S. aureus* を同定する方針とした。ただ、現在の本邦に優位に存在する、*S. aureus* の遺伝子タイプの疫学的研究がほとんどなく、まず Base となる *S. aureus* の疫学的検討を行った。そのため、広島大学病院のICUに入院している患者の鼻腔ぬぐい液から分離された菌の全ゲノム配列データと臨床データを用いて、黄色ブドウ球菌の分子疫学研究を実施した。ICUに入院した患者におけるMRSAとMSSAの鼻腔保菌率は、それぞれ7.0%と20.1%だった。CA-MRSAの保菌率は2.3%で、全MRSA分離株の32.8%を占めた。MRSA分離株の全ゲノム配列解析により、CA-MRSAおよびHA-MRSAの多数がCC8、ST8およびSCC*mec* IV型に属していた。続いて、重症化に關連する病原因子を同定するため、肺炎、皮膚軟部組織感染症、深部膿瘍などの病巣や菌血症、ARDS、DIC、敗血症性ショックの病態と病原因子の関連性を評価した。MRSA/JおよびMSSA/Jは深部膿瘍感染と、ST764は肺炎、菌血症、にARDSに關連している可能性が示唆された。また、*tst-1*陽性分離株はDICの原因となる可能性があることが示唆された。

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
研究協力者	菅井 基行 (Sugai Motoyuki)		
研究協力者	久恒 順三 (Hisatsune Junzo)		

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