

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：20101
研究種目：基盤研究(B) (一般)
研究期間：2020～2023
課題番号：20H03933
研究課題名(和文) 日本とアジアにおける新種・新興薬剤耐性ブドウ球菌の分子疫学と感染制御の基盤構築

研究課題名(英文) Molecular epidemiological study of novel species and emerging drug-resistant staphylococcus in Japan and Asia, and basic construction of their infection control

研究代表者
小林 宣道 (Kobayashi, Nobumichi)
札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：80186759
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、日本(北海道)およびアジアニカ国(バングラデシュ、ミャンマー)を対象とし、新種ブドウ球菌種 *S. argenteus* およびメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)における新興菌株の蔓延状況とその特徴を調査した。*S. argenteus*は日本、アジアニカ国ともに数種類の菌株が低頻度に分布している状況が明らかとなった。北海道ではMRSAのある特定の群(CC1)が増加しつつあるとともに、米国で優勢なMRSAに類似する菌株が低頻度に分布していることが判明した。アジアニカ国では、高病原性に関与するPVL毒素遺伝子を持つ黄色ブドウ球菌の割合が日本に比べ大幅に高いことが特徴的であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ブドウ球菌はヒトの常在菌であるとともに様々な感染症の原因となる細菌であり、特に黄色ブドウ球菌は高い病原性を有する。最近、黄色ブドウ球菌に類似する新たな菌種が新興病原菌として認識され、世界的に報告が増加している。またグローバル化や医療状況の変化に伴い、代表的な薬剤耐性菌であるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の特徴の変化や国際的な菌株の伝播が懸念されている。本研究では、それら新興ブドウ球菌の分布状況、遺伝子学的特徴、薬剤耐性等について、日本とアジアニカ国で調査を行った。得られた成果は、アジアにおけるブドウ球菌感染症に対する予防、対策の基礎資料となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the prevalence and characteristics of new species of staphylococcus, i.e., *S. argenteus*, and emerging clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Japan (Hokkaido) and Asia (Bangladesh, Myanmar). Some clones of *S. argenteus* were found to be distributed at low frequencies in Japan and two Asian countries. It was revealed that a specific group of MRSA (CC1) has recently been increasing in Hokkaido, and that MRSA strains resembling to those prevalent in the United States are distributed at low frequencies. It was characteristic in the two Asian countries that proportions of *S. aureus* isolates having PVL toxin gene associated with increased pathogenicity were considerably higher than in Japan.

研究分野：衛生学

キーワード：ブドウ球菌 *Staphylococcus argenteus* メチシリン耐性 MRSA PVL ミャンマー バングラデシュ

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は今なお世界中で対策が必要とされる最も重要な薬剤耐性菌の一つであり、MRSA を含むブドウ球菌属は多様な市中・医療関連感染症の原因となる。現在 MRSA 等、薬剤耐性菌の制御に向けた世界的な取り組みが始められているが、ブドウ球菌感染症を取り巻く状況には最近次のような変化があり、新たな対応が必要とされる局面を迎えている。それは、(1)新規ブドウ球菌種の発見、(2)市中感染型 MRSA (CA-MRSA) の台頭、(3)抗 MRSA 薬耐性菌の拡がり、(4)コアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (CoNS) の高度薬剤耐性化、である。

(1) *Staphylococcus argenteus* はコアグララーゼを産生するため従来黄色ブドウ球菌と同定されていたと考えられる菌種であるが、2015 年に新たな菌種として独立したブドウ球菌種である。黄色ブドウ球菌に特有の、黄色のカロテノイド色素を産生する遺伝子群を持たず、白色のコロニーを示すことが特徴である。全ゲノムレベルでは黄色ブドウ球菌と 87% の相同性を有するが、黄色ブドウ球菌とは異なる病原性・薬剤耐性を示し、中には致死的な重症感染症の原因となったとの報告もある。本菌種は新興病原体として東南アジア (おもにタイ)、中国、豪州、南米を中心に様々な感染性疾患から分離され、その拡がりが増進されており、感染対策に向けて本菌種の分布の実態を把握することは重要である。しかしタイと中国を除き、アジアでの疫学的状況はよく分かっていない。

(2) 従来から知られていた医療施設に由来する病院感染型 MRSA (HA-MRSA) とは起源を異にする市中感染型 MRSA (community-acquired MRSA; CA-MRSA) の存在が 2000 年代初頭より知られるようになり、その後先進国・途上国を含め世界的な増加傾向が報告されている。メチシリン耐性に関与するゲノムカセット SCCmec-IV, V を有し、一部の菌株は白血球障害毒素 Pantone Valentine leucocidin (PVL) を持ち高病原性であるほか、クローンにより多剤耐性を示す。米国で優勢な USA300 クローン (遺伝子型 ST8) など、地域特有のクローンが 10 種類以上存在し、それらの世界的な伝播と増加が懸念されている。

(3) 抗 MRSA 薬として、バンコマイシン、テイコプラニン (グリコペプチド系)、リネゾリド (オキサゾリジノン系)、ダプトマイシン (環状リポペプチド系) が世界的に使用され、またアルベカシン (アミノグリコシド系) はおもに日本で使用されている。これら抗 MRSA 薬に対する MRSA の耐性化は、現在、感染対策上最も懸念されるものであり、検出は稀ではあるが、すでに耐性化の報告と耐性に関与する遺伝子・遺伝子変異が報告されている。

(4) コアグララーゼ陰性ブドウ球菌 (coagulase-negative *Staphylococci*; CoNS) には少なくとも 45 種類が含まれ、黄色ブドウ球菌に比して病原性が低く、皮膚、粘膜の常在菌として定着しているものが多い。しかし病院感染、日和見感染症の原因となることがあり、一部の菌種 (例えば *S. haemolyticus*) は極めて速く薬剤耐性化し、難治性感染の原因となる。CoNS の高度耐性化は世界的に潜在的に進んでいることが示唆されており、また CoNS の薬剤耐性遺伝子が近縁菌種である MRSA に伝播する可能性が高いことから、その監視は重要である。

2. 研究の目的

本研究では、日本 (北海道) およびアジア (バングラデシュ、ミャンマー) を対象地域とし、新規に出現・増加しつつある新興および薬剤耐性ブドウ球菌 (新規ブドウ球菌種 *Staphylococcus argenteus*、CA-MRSA、CoNS)、抗 MRSA 薬耐性の蔓延状況に関し包括的な分子疫学的解析を行うことを目的とする。北海道において我々は 2009 年より CA-MRSA、HA-MRSA の解析を継続しており、本研究の期間を含めて、MRSA の分子疫学的特徴に関して経時的变化についても解析を行う。バングラデシュ、ミャンマーにおいてはブドウ球菌に関する情報は極めて少なく、MRSA の検出率も正しく評価されていないため、本研究では黄色ブドウ球菌臨床分離株に関する現状を正確に記述することを目標とする。*S. argenteus* については、黄色ブドウ球菌に比べての相対的な検出頻度、遺伝子型、薬剤耐性、病原因子の分布などについて解析する。CoNS は、健康人の皮膚・口腔に定着する菌や食品に付着する菌を主に対象として薬剤耐性およびそれに関与する遺伝子等を解析する。抗 MRSA 薬耐性については、上記の疫学的解析の中で検出された菌株について、分子疫学的解析を行うこととする。以上より得られる成果は、日本・アジアにおける新興薬剤耐性ブドウ球菌の分布に関する実態解明に寄与し、最終的な目的である耐性菌の制御に資することが期待される。

3. 研究の方法

(1) 対象菌株の分離・保管

日本 (北海道) での調査は、研究協力機関である札幌臨床検査センターにおいて分離・同定された黄色ブドウ球菌・MRSA・*S. argenteus* を研究対象とする。それらは北海道全域の医療機関より送付された臨床材料から培養、分離された菌株である。バングラデシュでは、共同研究代表者が勤務するマイメンシン医科大学、ミャンマーではヤンゴン小児病院を共同研究機関とし、国内の複数の医療機関においてコアグララーゼ陽性ブドウ球菌 (CoPS、黄色ブドウ球菌および *S. argenteus*) の収集を行う。日本では質量分析で同定された菌株、アジア 2 か国では細菌学的検査に基づいて CoPS と判定されたものを用いることとし、後で遺伝子学的に菌種の同定を行う。

(2) 遺伝子学的菌種同定、遺伝子型の解析

CoPS は、多重 PCR により黄色ブドウ球菌特異的遺伝子 *nuc*、メチシリン耐性遺伝子 *mecA*、PVL 遺伝子等の検出を行う。*S. argenteus* は NRPS 遺伝子の PCR、CoNS は 16S rRNA 遺伝子の配列を決定することにより菌種を同定する。CoPS は全株に対しコアグラエゼ遺伝子型 (*coa*)、MRSA に対しては SCC*mec* 型別を行い、選択された一部の菌株に対し多座位遺伝子配列解析 (MLST) を行い遺伝子型 ST を決定する。プロテイン A 遺伝子型 (*spa* type) の型別も必要に応じて行う。一部の興味深い菌株に対しては、次世代シーケンサーにより全ゲノム配列を決定し、既知の菌株との関連を解析する。

(3) 薬剤感受性検査、薬剤耐性遺伝子・耐性関連変異、病原因子解析

微量液体希釈法に基づいて 18 薬剤に対する感受性 (MIC) を測定する。耐性を示した菌株に対し、各種薬剤耐性関連遺伝子及び遺伝子変異を PCR-ダイレクトシーケンスによって同定する。キノロン耐性株に対しては、*gyrA*、*parC* 遺伝子のキノロン耐性決定領域の配列を決定し、変異を同定する。各種の病原因子遺伝子 (エンテロトキシン (様) 遺伝子、表皮剥奪毒素遺伝子、TSST-1 遺伝子等) を多重 PCR により検出する。PVL については、その全遺伝子 (*lukS-lukF-PV*) 配列を決定し、特定の塩基の違いにより PVL 遺伝子型を同定する。さらに PCR を用いて PVL ファージの種類を同定する。

4. 研究成果

(1) 北海道における市中感染型 MRSA の分子疫学的解析

1) 2017 年 8 月から 2 年間、血液検体から 277 株の MRSA が分離された。それらの遺伝子解析の結果、最も多かったのは SCC*mec*-IIa/*coa*-II 型 (171 株、61.7%) で ST5/ST764/ST2389 の菌株であった。次に多く見られたのは SCC*mec*-IVa (78 株、28.2%)、SCC*mec*-IV1 (10 株、3.6%) で、SCC*mec*-IVa 株のうち 14 株 (全体の 5.1%) は米国で優勢な USA300 クローンと同じ特徴 (ST8/*coa*-IIIa/*spa*-t008、PVL (Sa2usa) および ACME-I (アルギニン代謝系遺伝子要素) 陽性) を有していた。Sa2usa/ACME-I 陰性 MRSA-IV 株 (64 株) は *coa*-IIa、IIIa、VIIa、VIIb に属し、*coa*-VIIa/*spa*-t1784/ST1 が最も多かった。少数見られたクローンのうち SCC*mec*-V/ST1232 株は PVL 陽性であった。USA300 株に特徴的である ACME-I の遺伝子要素である *speG* (spermidine N-acetyltransferase 遺伝子) が、USA300 クローンではない 2 株の MRSA (ACME-II' 陽性 SCC*mec*-IIa/ST764、ACME-II 陰性 SCC*mec*-IVa/ST1) に検出されたことが注目された。これらの菌株は spermine への耐性を示し、*speG* は SCC*mec* 近傍にある新たな SCC に存在することが分かった。以上より、北海道において ST8 の USA300 クローンが増加していること、spermine 耐性を示す新たな菌株の存在が明らかとなった。

2) 2019 年 ~ 2021 年の 2 年間、279 株の血液検体由来 MRSA を分離し解析した。それらの菌株では SCC*mec*-IIa/*coa*-II 型 (132 株、47%) は最多であったものの、SCC*mec*-IVa/CC1 (ST1/ST2725/ST2764) (116 株、42%) の割合も高かった。CC8-SCC*mec*-IVa の割合は 5% と低く、7 株 (2.5%) が ST8/*spa*-008/*agr*-I/*coa*-IIIa に属し PVL 陽性 (Sa2usa) であったため、USA300 クローンであると考えられた。ただし 7 株のうち ACME-I を保有していたのは 6 株のみであった。そこで ACME 陰性の 1 株 (R3-8) について全ゲノム解析を行ったところ、この株は米国の USA300 クローン TCH1516 と最も高いゲノム配列一致率を示したが、ACME のみ欠落していることが判明した。すなわち R3-8 株は、ACME を欠失した USA300 クローンであると考えられた。以上より、SCC*mec*-IVa/CC1 の増加の傾向とともに、USA300 クローンの変異株の出現が明らかとなった。

3) 2023 年 4 月 ~ 12 月の期間、血液検体から分離される MRSA および MSSA (メチシリン感受性黄色ブドウ球菌) を解析した。今回 MSSA を対象に入れたのは、MSSA 臨床分離株に関する情報が MRSA に比して少なく、分子疫学的比較のために必要と考えたためである。この期間、MRSA 163 株、MSSA 138 株 (計 301 株) が分離された。MRSA では SCC*mec*-IVa/CC1 (ST1/ST834/ST2725) (85 株、52%) が最も多く、SCC*mec*-IIa/CC5 (36%)、SCC*mec*-IV/CC8 (12%) の順であった。USA300 クローンは 4 株 (2.4%)、日本特有の CA-MRSA とされる CA-MRSA/J も 4 株 (2.4%) 同定された。USA300 クローンのうちの 1 株は ACME-I 陰性であった。MRSA で見られた *coa* 型は 3 種、ST は 8 種であったが、MSSA では 13 種の *coa* 型、23 種の ST が同定された。MSSA で多い遺伝子型は *coa*-Xa-ST15 (14 株)、*coa*-IVa/ST30 (11 株)、*coa*-VIIa/ST1 (9 株)、*coa*-VIIb-ST45 (9 株)、*coa*-VIIb-ST398 (7 株)、*coa*-VIIIa-ST20 (5 株) であった。MSSA の中には家畜関連 MSSA (livestock-associated MSSA、LA-MSSA) とされる CC398 (9 株)、CC97 (14 株)、CC20 (6 株) が多数見つかったことが注目された。

(2) 北海道における症例報告事例より分離された市中感染型 MRSA の解析

本研究期間中、北海道内で発生した市中感染型 MRSA、MSSA の感染例について札幌医科大学医学部小児科学講座より黄色ブドウ球菌株の提供を受け解析を行った。

1) 4 ヶ月齢男児、発熱と頸部化膿性リンパ節炎のため入院となった症例の咽頭より MRSA が分離された。本菌株は SCC*mec*-IVc/ST834/*spa*-t9624/*coa*-VIIa と型別され、各種エンテロトキシン遺伝子、*tst*-1 陽性であったが、PVL 遺伝子は陰性であった。ST834 は稀な遺伝子型で、世界的に分布していると考えられるがアジアでの分離例と小児からの検出の報告が多い。

2) 10 歳男児、骨髄炎、骨盤膿瘍、化膿性肺塞栓症を併発した症例の血液および喀痰から MRSA が

分離された。本菌株は SCCmec-IVa/ST6562/*spa*-t1188/*coa*-IIIa、PVL 陽性、ACME 陰性であった。また発症に前後して、母親と2人の姉妹に乳腺膿瘍、膿痂疹、麦粒腫が発生し、それらより分離された菌株は同じ ST6562-MRSA であったため、同一菌株による家族内感染と考えられた。ST6562 は北海道で以前初めて報告された遺伝子型であり、ST8 と遺伝子学的に類似 (single-locus variant) しており、米国で多い USA300 クローンが、日本国内で変異してできた菌株であることが推測された。

3) 2歳児、頸部膿瘍の膿より MRSA が分離された。本菌株は SCCmec-IVa/ST6562/*spa*-t20855/*coa*-IIIa、PVL 陽性、ACME 陰性であった。上述の菌株と極めて類似する性状を示しており、PVL 陽性 ST6562 株の日本国内での拡がり示唆された。

4) 4ヶ月齢児、膿痂疹および多発性脳膿瘍を発症した症例の膿瘍(脳室)膿痂疹部位から MRSA が分離された。本菌株は SCCmec-IVa/ST2725(CC1)/*spa*-t1784 であったが、PVL 陰性、TSST-1 遺伝子陰性であった。この遺伝子型は稀であるが、日本国内では3例(関東、信越地方)の報告がある。PVL 陰性、CC1 に属する MRSA の重症感染症起因菌としての重要性が示唆された。

(3) 北海道における新規ブドウ球菌種 *S. argenteus* の分子疫学と細菌学的特徴

1) 2019年8月より1年間、札幌臨床検査センターで分離された *S. argenteus* は82株であった。これは同じ期間に分離された黄色ブドウ球菌の0.66%に相当した。*S. argenteus* は3つの遺伝子型に分けられ、それらは ST2250/*coa*-XI d (45.1%)、ST1223/*coa*-XV (30.5%)、ST2198/*coa*-XIV (24.4%) であった。エンテロトキシン(様)遺伝子のうち enterotoxin gene cluster, *seb*, *sel/w* は ST1223 株、*sec*, *sey*, *sel/26-27*, *tst-1* は ST2250 のみで検出された。多くの *S. argenteus* は多剤感受性であったが、ST2198 はペニシリン系、マクロライド系、アミノグリコシド系薬剤に対し、他の ST よりも高い耐性を示した。メチシリン耐性株は ST2250 で1株のみ検出され、SCCmec-IVc を有していた。以上より、日本(北海道)における *S. argenteus* の疫学的特徴、すなわち分離頻度、3つの遺伝子型の分布とそれらの病原遺伝子、薬剤耐性の違いが明らかとなった。

2) 2020年8月より2023年12月まで、*S. argenteus* 臨床分離株の収集を継続して行い、2019年からの1年間での82株を加えて、計213株が得られた。各年での黄色ブドウ球菌分離数に対する比率は0.37~0.51であり、ほぼ一定で推移していると考えられた。遺伝子型は2019~2020年の解析時と同じく、ST1223、ST2198、ST2250の3つのみが見られたが、2022年以降、ST1223、ST2198の頻度は減少傾向にあった。菌株は外来患者が入院患者の2倍ほどであり、喀痰、便、膿、耳漏からの分離数が多かった。ST2198株は64%の株が *blaZ* 遺伝子を保有しアンピシリンに耐性で22%がマクロライド耐性、16%がゲンタマイシン耐性であったが、他の薬剤への耐性率は8%未満であり、ST1223、ST2250株もアンピシリン(13-24%耐性)以外の多くの薬剤に90%以上の感受性を示していた。

(4) ミャンマーにおける黄色ブドウ球菌・MRSA・*S. argenteus* の分子疫学

1) ヤンゴン小児病院において2019年の1年間に臨床検査材料から分離された黄色ブドウ球菌244株を解析した。*mecA*の検出に基づくMRSAの割合は19.7%であり、SCCmec-III, -IV, -Vが検出された。PVL遺伝子の検出率は全体で61.5%と高く、MSSA(67.9%)ではMRSA(35.4%)よりも高かった。MRSAではSCCmec-III/ST239が最も多く、これはPVL遺伝子陰性であったが、PVL陽性MRSAの多くはSCCmec-V/ST361、SCCmec-V/ST772に属していた。MSSAではST121、ST2990、ST88、ST1930が多く、PVL遺伝子の検出率も高かった。

2) ヤンゴン小児病院において、2020年の1年間に分離されたすべての細菌株1019株について、菌種と薬剤耐性を調査した。もっとも多かった菌種は大腸菌で、次いで肺炎桿菌、黄色ブドウ球菌の順に多く、これら3菌種で全体の43%を占めた。黄色ブドウ球菌は全体の12%を占め、そのうちMRSA株(オキサシリン、セフォキシチン耐性)は22%であった。黄色ブドウ球菌全体では殆どの株がペニシリン耐性で、ST合剤耐性が46%であったが、マクロライド、アミノグリコシド、キノロン系薬剤への耐性率は約2割に認められた。

3) 2020年4月から2年間、ヤンゴン総合病院において、226株の黄色ブドウ球菌/*S. argenteus* を分離し解析を行った。MRSAは全株中の19%であり、SCCmec-IVまたはVを保有していた。PVL遺伝子はMSSAで39%、MRSAで22%に検出された。MRSAの中では、ST361(CC361)、ST772(CC1)、ST239(CC8)が高頻度に見られ、MSSAではST2990(CC1)、ST121、CC8が多かった。4株のMSSAに新規コアグラエゼ遺伝子型XVIが同定された。同定された *S. argenteus* は15株で、すべてST2250に分類され *mecA* 陰性であった。2株の *S. argenteus* はMSSAと同時に喀痰、膿から分離された。すなわち2菌種が混合感染を起こしていたことが示され、そのような事例の報告は初めてであり、*S. argenteus* の病因論的な役割について新たな示唆を与えた。

(5) バングラデシュにおける黄色ブドウ球菌・MRSA・*S. argenteus* の分子疫学

2021年1月~2022年12月の2年間、マイメンシン医科大学附属病院において、臨床検査材料から分離された黄色ブドウ球菌・*S. argenteus* 計172株を解析した。このうちMRSAは36%を占め、2株が *S. argenteus* であった。PVL遺伝子陽性率はMSSAで62%と高く、MRSAでは26%であった。MRSAはSCCmec-IVまたは-Vを有し、ST6/*spa*-t304株が最も多かった。MRSAの1株はST8/*spa*-t008/*coa*-IIIaに型別されPVL遺伝子(Sa2usa)とACME-Iを有しており、USA300ク

ローンであると考えられた。MSSA では CC1、CC88、CC398 に属する ST が多く同定され、そのうち CC88 は PVL 遺伝子陽性株が最も多かった。ST8/*spa*-t008 の MSSA1 株は PVL 遺伝子、ACME-I 陰性であったが、*cfr* 遺伝子、*fexA* 遺伝子を有し、クロラムフェニコール、florfenicol に耐性を示した。リネゾリドへの MIC は 4 µg/ml であり、tedizolid とともに感受性と判定された。*S. argenteus* 2 株はメチシリン感受性で、ST2250/*coa*-X1d と型別された。バングラデシュにおける *S. argenteus* はこの研究で初めて報告されたが、黄色ブドウ球菌に対する分離比は 0.012 であり、蔓延度は低いことが分かった。

(6) 健康人に定着する黄色ブドウ球菌と *S. argenteus*

1) 市中感染型 MRSA を含むブドウ球菌の健康人への定着状況を調べるため、口腔および手指からの菌株分離と解析を行った。歯科健診目的で来院した患者(小児を含む)および歯科スタッフで、全身状態が良好な者を対象者とした。2019 年 12 月から 2021 年 2 月までの間に、133 人の被験者(患者 91 人、スタッフ 42 人)から検体を収集し、87 株の CoPS (黄色ブドウ球菌 83 株、*S. argenteus* 4 株)と 162 株の CoNS を分離した。口腔から分離された 3 株が MRSA (黄色ブドウ球菌分離株の 3.6%)で、SCC*mec*-IV1/ST8、SCC*mec*-IVa/ST4775 (CC1)、SCC*mec*-IVa/ST6562 と同定された。ST6562 MRSA は、PVL 遺伝子、ACME-I を持ち、また ST6562 が ST8 の単一座位変異型であることから、USA300 クローンの変異株であることが示唆された。*S. argenteus* はメチシリン感受性株で、ST1223 と ST2250 に型別された。CoNS は 14 菌種に分けられ、メチシリン耐性株は 5 菌種 11 株 (CoNS の 13%) に検出され、*S. saprophyticus* と *S. haemolyticus* に多かった。ACME は *S. epidermidis* と *S. capitis* のみに検出された。本研究で、日本の健康人における MRSA、MR-CoNS、*S. argenteus* の分布状況が明らかとなった。

2) 健康成人に分布する市中感染型 MRSA/CoNS を解析するため、歯科系大学学生 332 人の口腔と手指からブドウ球菌の分離を行った。その結果、105 人から MRSA6 株、MSSA110 株、*S. argenteus* 2 株が分離された。黄色ブドウ球菌・*S. argenteus* の分離率は全被験者の 32% であり、MRSA は 4 人の口腔と 2 人の手指から分離され、検出率は全被験者の 2% であった。MRSA は SCC*mec*-IV または -V を有し、ST は CC5、CC8、CC45、CC59 に属し、うち 1 株は ST6562 で PVL 遺伝子、ACME-I 陽性であった。*S. argenteus* は ST1223 と型別された。CoNS は 154 人から 172 株が分離され、その中で最も多い菌種は *S. capitis* (38%) であり、*S. warneri* (24%)、*S. epidermidis* (12%) の順であった。メチシリン耐性株は 9 株検出され、*S. capitis*、*S. epidermidis*、*S. hominis* と同定された。*S. capitis* は *arcA* 遺伝子の配列に基づいて大きく 2 つのグループと 6 つのサブクラスターに分けられた。大部分の *S. capitis* は 6-TG (チオグアニン) 合成遺伝子を保有し、世界的に注目される NRCS-A クローン特異的な 3 遺伝子のうち、1 つまたは 2 つを有する株が認められた。NRCS-A は新生児に血流感染を起こす強毒型のメチシリン耐性菌で、フランスで最初に報告され世界的に見つかっている。日本での報告はないが、今回の解析で NRCS-A クローンに遺伝的に近いサブクローンが健康人に定着していることが確認された。

(7) 食品に分布する黄色ブドウ球菌と CoNS の解析

市中感染型および薬剤耐性ブドウ球菌の、市中の生活環境中での分布状況を調べるため、市販の食品(挽肉)を調査した。5 ヶ月間に複数の商業施設より購入した挽肉(鶏、豚、豚・牛混合)を計 146 検体収集し、10 株の黄色ブドウ球菌(検出率 6.8%)と 112 株の CoNS を分離した。黄色ブドウ球菌はすべて MSSA で、各種薬剤への感受性率は高かったが、アンピシリンには 50% の耐性率を示した。MSSA は ST5、ST9、ST15、ST398、CC97 など動物・家畜関連黄色ブドウ球菌の遺伝子型に属していた。CoNS もすべてメチシリン感受性で薬剤感受性率は高かったが、ホスホマイシン耐性遺伝子 *fosB* を有する菌が 27% に検出され、これは主に *S. capitis*、*S. saprophyticus*、*S. warneri* に分布していた。また *fosB* 遺伝子の配列を解析すると、菌種毎に異なるクラスターを形成し、遺伝子配列の多様性が高いことが判明した。以上より、市中感染型メチシリン耐性菌は、今回調べた市販挽肉には分布していないと考えられた。

(8) 黄色ブドウ球菌におけるバンコマイシン中等度耐性、リネゾリド耐性の検出

抗 MRSA 薬耐性菌は今回行った疫学的解析の中では検出されなかった。バングラデシュでは上述のように *cfr* 遺伝子、*fexA* 遺伝子を有する ST8-MSSA が分離されたが、リネゾリド耐性は認められなかった。一方、本研究の開始時期に、地方の中核病院入院症例からバンコマイシン中等度耐性 (MIC、4 µg/ml) MRSA の解析を行う機会を得た。症例は 75 歳男性で、ペースメーカーの装着を機に菌血症と皮膚感染、発熱を起こし、バンコマイシンを投与される中で中等度耐性菌が分離された。この菌は SCC*mec*-IV/ST81/*spa*-t7044/*coa*-VIIa、多剤耐性であったが、マクロライド系薬、リネゾリド、アルベカシン等には感受性を示し、抗菌薬療法は奏功した。抗菌薬による治療経過の中で抗 MRSA 薬に対する感受性の低下が起きる場合があることを示した事例であった。

本研究全体を通じ、由来の異なる多数の菌株を調べる中で、リネゾリド耐性遺伝子 (*optrA*、*cfr* 等) を有さず感受性を示すものの、すなわちやや高い MIC である 2 µg/ml を示すものが認められた。その原因や意義は明確ではないが、リネゾリド耐性化への潜在的な兆候として注視してゆく必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 5件／うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Osada M, Aung MS, Urushibara N, Kawaguchiya M, Ohashi N, Hirose M, Kobayashi N.	4. 巻 11
2. 論文標題 Prevalence and antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus and coagulase-negative Staphylococcus/Mammaliococcus from retail ground meat : identification of broad genetic diversity in fosfomycin resistance gene fosB.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 469
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/pathogens11040469	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 Hirakawa S, Mori T, Ohkoshi Y, Aung MS, Kobayashi N.	4. 巻 48
2. 論文標題 An infant case of cervical purulent lymphadenitis caused by ST834 community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus with SCCmec-IVc in Japan.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 New Microbes and New Infections	6. 最初と最後の頁 100998
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.nmni.2022.100998	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 Hirose M, Aung MS, Fujita Y, Kato T, Hirose Y, Yahata S, Fukuda A, Saitoh M, Urushibara N, Kobayashi N	4. 巻 11
2. 論文標題 Genetic Characterization of Staphylococcus aureus, Staphylococcus argenteus, and Coagulase-Negative Staphylococci Colonizing Oral Cavity and Hand of Healthy Adults in Northern Japan.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 849
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/pathogens11080849	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 Kyaw WK, Aung MS, San T, Maw WW, Mu KK, Mon WLY, T MM, San N, Than CC, Urushibara N, Kobayashi N	4. 巻 29
2. 論文標題 Molecular epidemiological characterization of Staphylococcus aureus and Staphylococcus argenteus clinical isolates from a national tertiary care hospital in Myanmar: co-isolation of multiple clones and identification of novel staphylocoagulase genotype.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbial Drug Resistance	6. 最初と最後の頁 127-137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/mdr.2022.0191	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 該当する

1. 著者名 Hirose M, Aung MS, Fukuda A, Yahata S, Fujita Y, Saitoh M, Hirose Y, Urushibara N, Kobayashi N	4. 巻 10
2. 論文標題 Antimicrobial resistance and molecular epidemiological characteristics of methicillin-resistant and susceptible staphylococcal isolates from oral cavity of dental patients and staff in northern Japan.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Antibiotics	6. 最初と最後の頁 1316
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/antibiotics10111316	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 Aung MS, San T, Urushibara N, San N, Hlaing MS, Soe PE, Htut WHW, Moe I, Mon WLY, Chan ZCN, Kobayashi N.	4. 巻 28
2. 論文標題 Clonal diversity and molecular characteristics of methicillin-susceptible and -resistant Staphylococcus aureus from pediatric patients in Myanmar.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbial Drug Resistance	6. 最初と最後の頁 191-198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/mdr.2021.0051	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 該当する

1. 著者名 San T, Aung MS, San N, Aung MMZ, Mon WLY, Thazin TE, Kobayashi N.	4. 巻 14
2. 論文標題 Bacterial species and antimicrobial resistance of clinical isolates from pediatric patients in Yangon, Myanmar, 2020.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Infectious Disease Reports	6. 最初と最後の頁 26-32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/idr14010004	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

1. 著者名 伊藤政彦、村木晴菜、池美代、幅寺敏、森岡正信、Meiji Soe Aung、川口谷充代、小林宣道 .	4. 巻 19
2. 論文標題 血液培養および咽頭培養からスタフィロコッカスチン非産生Staphylococcus argenteus (ST2250) を分離した1症例 .	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 北臨技会誌	6. 最初と最後の頁 3-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Aung MS, Urushibara N, Kawaguchiya M, Hirose M, Ito M, Habadera S, Kobayashi N	4. 巻 24
2. 論文標題 Clonal diversity of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) from bloodstream infections in northern Japan : identification of spermidine N-acetyltransferase gene (speG) in staphylococcal cassette chromosomes (SCCs) associated with type II and IV SCCmec	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Global Antimicrobial Resistance	6. 最初と最後の頁 207-214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jgar.2020.12.008	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 Aung MS, Urushibara N, Kawaguchiya M, Hirose M, Ike M, Ito M, Kobayashi N.	4. 巻 10
2. 論文標題 Distribution of virulence factors and resistance determinants in three genotypes of Staphylococcus argenteus clinical isolates in Japan.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 163
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pathogens10020163	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 Roy S, Aung MS, Paul SK, Nasreen SA, Haque N, Mazid R, Khan MS, Barman TK, Arafa P, Sathi FA, Nila SS, Jahan A, Urushibara N, Kawaguchiya M, Ohashi N, Kobayashi N.	4. 巻 10
2. 論文標題 Genetic characterization of methicillin-resistant / susceptible Staphylococcus aureus (MRSA/MSSA) and Staphylococcus argenteus clinical isolates in Bangladesh: dominance of ST6-MRSA-IV/t304 and detection of cfr/fexA in ST8-MSSA/t008.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 IJID Regions	6. 最初と最後の頁 132-139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijregi.2023.12.006.	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

1. 著者名 Sakurada M, Sumi H, Kaji K, Kobayashi N, Sakai Y, Aung MS, Urushibara N, Kobayashi N	4. 巻 35
2. 論文標題 Pacemaker-associated infection caused by ST81/SCCmec IV methicillin-resistant, vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus in Japan.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 New Microbes and New Infections	6. 最初と最後の頁 100656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nmni.2020.100656	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 Aung MS, Urushibara N, Kawaguchiya M, Ohashi N, Hirose M, Kimura Y, Kudo K, Ito M, Kobayashi N.	4. 巻 30
2. 論文標題 Molecular Epidemiological Characterization of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus from Bloodstream Infections in Northern Japan: Increasing Trend of CC1 and Identification of ST8-SCCmec IVa USA300-Like Isolate Lacking Arginine Catabolic Mobile Element.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Microbial Drug Resistance	6. 最初と最後の頁 63-72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/mdr.2023.0203	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 Kudo K, Noda T, Sasaoka Y, Togashi A, Aung MS, Sakai Y, Tsugawa T, Kobayashi N.	4. 巻 58
2. 論文標題 Severe cervical abscess due to PVL-positive ST6562 MRSA-IVa, a presumptive variant of ST8-IVa USA300 clone in northern Japan.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 New Microbes and New Infections	6. 最初と最後の頁 101230
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nmni.2024.101230	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 Harada N, Togashi A, Aung MS, Kunizaki J, Nogami K, Nagaoka Y, Ishii A, Kosukegawa I, Aisaka W, Nakamura S, Wakabayashi T, Tsugawa T, Kobayashi N.	4. 巻 8
2. 論文標題 Acute osteomyelitis/septic pulmonary embolism associated with familial infections caused by PVL-positive ST6562 MRSA-IVa, a presumptive variant of USA300 clone.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 IJID Regions	6. 最初と最後の頁 16-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijregi.2023.05.006	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 Maw WW, Aung MS	4. 巻 65
2. 論文標題 Present situation of epidemiology and genetic characteristics of <i>Staphylococcus argenteus</i> , a novel coagulase-positive staphylococcal species	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Myanmar Medical Journal	6. 最初と最後の頁 32-45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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16件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Urushibara Noriko, Aung Meiji Soe, Kawaguchiya Mitsuyo, Ohashi Nobuhide, Kobayashi Nobumichi.
2. 発表標題 Genomic analysis of a vancomycin-intermediate <i>S. aureus</i> strain from pacemaker-associated septicemia, Hokkaido, Japan
3. 学会等名 The IUMS 2022 Congress. (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 長田雅子、川口谷允代、小林宣道.
2. 発表標題 市販挽肉における各種ブドウ球菌種の分布状況と薬剤感受性.
3. 学会等名 第81回日本公衆衛生学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 阿部裕、稲澤奈津子、浅沼秀臣、植木将弘、小林宣道.
2. 発表標題 遺伝子型ST2725 (CC1)、t 1784のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) による多発性脳膿瘍の乳児例.
3. 学会等名 第54回日本小児感染症学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原田なお、野上和剛、國崎純、富樫篤生、春日亜衣、長岡由修、和田励、石井玲、要藤裕孝、津川毅、Meiji Soe Aung、小林宣道、中村慧、若林知宏、酒井好幸。
2. 発表標題 遺伝子学的解析で家族内感染を証明したPanton-Valentine Leukocidin陽性MRSAによる化膿性髄膜炎・肺化膿症。
3. 学会等名 第54回日本小児感染症学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林宣道、アウンメイジソウ、漆原範子、川口谷充代、伊藤政彦、幅寺敏。
2. 発表標題 北海道におけるスタフィロコッカス・アルジェンテウス臨床分離株の分子疫学的解析。
3. 学会等名 第93回日本衛生学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 漆原範子、アウン メイジソウ、川口谷充代、小林宣道
2. 発表標題 ミャンマーにて分離されたST9-MRSAの全ゲノム解析
3. 学会等名 第92回日本衛生学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 アウン メイジソウ、漆原範子、川口谷充代、伊藤政彦、幅寺敏、廣瀬弥奈、小林宣道。
2. 発表標題 北日本における血流感染由来MRSAの分子疫学
3. 学会等名 第95回日本細菌学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林宣道、アウン メイジソウ、川口谷充代、漆原範子、伊藤政彦、幅寺敏
2. 発表標題 北海道における新規ブドウ球菌種Staphylococcus argenteusの分子疫学的解析.
3. 学会等名 第91回日本衛生学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 アウン メイジソウ、漆原範子、川口谷充代、小林宣道.
2. 発表標題 北日本の北海道におけるスタフィロкокカス・アルジェンテウスの分子疫学.
3. 学会等名 第94回日本細菌学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Meiji Soe Aung
2. 発表標題 Molecular epidemiology of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus and Staphylococcus argenteus clinical isolates in Japan.
3. 学会等名 26th Congress of the Latin American Federation of Parasitology, 15th Central American and Caribbean Congress of Parasitology and Tropical Medicine. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 漆原範子、アウン メイジソウ、川口谷充代、小林宣道
2. 発表標題 ミャンマーにて分離されたST9黄色ブドウ球菌の全ゲノム解析.
3. 学会等名 第94回日本細菌学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林宣道、アウンメイジソウ、漆原範子、川口谷充代、伊藤政彦、幅寺敏.
2. 発表標題 北海道におけるスタフィロкокカス・アルジェンテウス臨床分離株の分子疫学的解析
3. 学会等名 第93回日本衛生学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 漆原範子、アウンメイジソウ、川口谷充代、大橋伸英、小林宣道
2. 発表標題 市販鶏・豚肉より分離されたブドウ球菌属細菌の性状解析
3. 学会等名 第93回日本衛生学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 アウン メイジソウ、小林宣道、チョウ ウィンカラヤ、サン ティダ
2. 発表標題 ミャンマーにおける黄色ブドウ球菌の分子疫学的解析
3. 学会等名 第94回日本衛生学会総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 小林宣道、アウン メイジソウ、漆原範子、川口谷充代、大橋伸英、荒木落羽、松原加奈、伊藤政彦
2. 発表標題 北海道における血流感染症由来MRSAの分子疫学的解析
3. 学会等名 第94回日本衛生学会総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 富樫篤生、原田なお、Meiji Soe Aung、野上和剛、國崎純、中村慧、若林知宏、津川毅、高橋聡、小林宣道
2. 発表標題 遺伝子学的解析で家族内感染を証明した Panton-Valentine Leukocidin陽性 ST6562 MRSA による化膿性骨髄炎・敗血症性肺塞栓
3. 学会等名 第64回日本ブドウ球菌研究会
4. 発表年 2023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
研究分担者	アウン メイジソウ (Aung Meiji Soe) (10749584)	札幌医科大学・医学部・講師 (20101)	
研究分担者	川口谷 充代 (Kawaguchiya Mitsuyo) (70733062)	札幌医科大学・医学部・講師 (20101)	
研究分担者	漆原 範子 (Urushibara Noriko) (80396308)	札幌医科大学・医学部・准教授 (20101)	

	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	大橋 伸英 (Ohashi Nobuhide)	札幌医科大学・医学部・助教	

6. 研究組織（つづき）

	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	廣瀬 弥奈 (Hirose Mina)	北海道医療大学・歯学部・准教授	
研究協力者	長田 雅子 (Osada Masako)	天使大学・助産研究科・講師	
研究協力者	伊藤 政彦 (Ito Masahiko)	札幌臨床検査センター	
研究協力者	ロイ サンジュクタ (Roy Sangjukta)	マイメンシン医科大学	
研究協力者	サン ティダ (San Thida)	ヤンゴン小児病院	

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			
ミャンマー	ヤンゴン小児病院			
バングラデシュ	マイメンシン医科大学			