

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07496

研究課題名（和文）ゲノム及び疫学情報を基盤としたカルバペネム耐性大腸菌の病原性・伝播性の解析

研究課題名（英文）Analysis of the pathogenicity and transmissibility of carbapenem-resistant E. coli based on genomic and epidemiological information

研究代表者

菅原 庸（Sugawara, Yo）

国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター・室長

研究者番号：70452464

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）：カルバペネム耐性大腸菌の蔓延が世界的な問題となっているが、それらの伝播性・病原性についてはあまり明らかではない。本研究では、臨床・環境・健康人から共通して分離されたカルバペネム耐性大腸菌ST8453株に着目して解析を進めた。近縁な系統との比較ゲノム解析の結果、ST8453に特異的なDNA修飾酵素を見出した。その遺伝子欠失株を作成し野生株との比較実験を行ったが、表現型に大きな差異は見いだされなかった。一方、RNA-seqにより複数の遺伝子の発現に差異が見いだされた。今後当該遺伝子の機能についての解析により、ST8453株の特性についての知見が得られることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌に対しては、有効な抗菌薬がほとんど存在せず、患者の予後も極めて深刻であることから、臨床現場での蔓延が世界で大きな問題となっている。特に大腸菌は、他の腸内細菌科細菌に比べ優勢にヒトの腸内に保菌され、更なる拡散のリスクが高く、実際に一部のアジア諸国においてはすでに市中に蔓延している。本研究では、臨床・環境・市中で広く拡散している大腸菌系統に着目した解析を行った。得られた知見は、このような拡散を可能にする菌の特性やその病原性を理解するための今後の研究の足掛かりとなることが期待される。

研究成果の概要（英文）：The spread of carbapenem-resistant E. coli is a global problem, but their transmissibility and pathogenicity is less clear. The study focused on the carbapenem-resistant E. coli strain ST8453, which was commonly isolated from clinical, environmental and healthy individuals. Comparative genomic analysis with closely related strains revealed a DNA-modifying enzyme specific to ST8453. A strain lacking the gene was generated and compared with the wild strain, but no significant phenotypic differences were found. On the other hand, RNA-seq revealed differences in the expression of several genes. Further analysis of the function of these genes is expected to help characterize the ST8453 strain.

研究分野：細菌学

キーワード：カルバペネム耐性 大腸菌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

カルバペネム系抗菌薬は、その強力な幅広い抗菌活性から、重篤な細菌感染症に対する最後の砦として使用されてきた。しかし、近年はカルバペネムに耐性を示す腸内細菌科細菌 (CRE) が世界各地で急速に拡散しており、世界的な規模で医療上および公衆衛生上の脅威となっている。カルバペネムに対する耐性化のメカニズムの主なものは、カルバペネムを分解する酵素であるカルバペネマーゼの産生である。カルバペネマーゼ遺伝子はプラスミドにコードされており、菌個体間を容易に伝播することから様々な腸内細菌科細菌に広く拡散している。これらの細菌はヒト腸管内に常在しうることから、下水施設に不備が多い地域や手指衛生が不十分な場合には容易に拡散しう。また、ヒト腸管内に定着した CRE は敗血症や尿路感染症などの腸管外感染症の起原菌となりうる。本研究代表者らの研究により、アジアの一部の国においては、カルバペネム耐性の大腸菌が臨床のみならず、環境排水や小売店で売られている食品、健康者の便からも分離されており、カルバペネム耐性大腸菌が既に市中に拡散していることが明らかになりつつあった。このような状況に至っては、保菌されたカルバペネム耐性大腸菌の病原性 (侵襲性) を評価することが感染予防の観点から非常に重要であると考えられた。大腸菌については、EHEC や EPEC などの病原性株のゲノム解析や病原性に関わる因子の解析について既に多くの報告がなされている。しかしながら、本研究代表者らが収集した大腸菌については、病原性に関わるものが明確な遺伝子は保持しておらず、これらの菌がどのようにして血流に移行したのかについては不明であった。

以上のとおり、CRE の拡散は深刻な事態にあるが、これら CRE のうち、どのようなタイプのものが伝播しやすいのか?、またどういったタイプのものが感染症を引き起こしやすいのか?、については明らかではなかった。

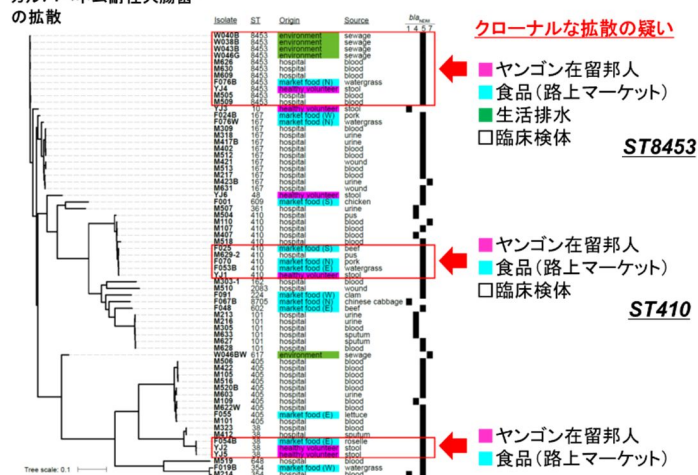
### 2. 研究の目的

本研究では、CRE の中でも特に大腸菌に的を絞って、本研究代表者らのこれまでの研究により収集した分離株とその全ゲノム配列データを用いることにより、カルバペネム耐性大腸菌の伝播性・病原性に寄与する形質とそれらを決定づける遺伝子の同定を目的とした。

### 3. 研究の方法

解析には、ミャンマー・ヤンゴンにおける臨床分離株や、病院でのスクリーニング検体やヤンゴンにおける病院施設外の環境排水、路上マーケットで売られている食品、健康者の糞便検体からの分離されたカルバペネム耐性株を用いた。菌株のゲノム情報については、本研究代表者らによって以前に取得済みである。カルバペネム耐性大腸菌の拡散・伝播・病原性に関わる特性を明らかにするべく、これらの中でも、MLST (multilocus sequence typing) 法によるシーケンスタイプ (ST) 8453 株に着目して解析を進めた (図)。本系統は、上記ミャンマー由来の臨床、環境、食品、及び当地の健康な在留邦人から共通して分離され、新規の ST として登録された系統である。この系統には広い拡散を可能にする何らかの特性を有することが予想された。遺伝子欠失変異体の作出は、スーサイドベクター pYAK1 を用いて行った。菌株の増殖試験は吸光度法により、接合伝達プラスミドの伝達性はフィルターメイトングによりそれぞれ行った。

図 ヤンゴンにおけるカルバペネム耐性大腸菌の拡散



めに、RNA-seq による解析を行った。その結果、複数の遺伝子の発現に差異が見られたが、菌の表現型に与える影響は不明であった。当該遺伝子の機能についての解析をより詳細に行うことにより、ST8453 株の特性についての知見が得られることが期待された。

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------