

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 9 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591294

研究課題名（和文）新規分子疫学的手法を用いた市中感染型 MRSA の蔓延状況の解明

研究課題名（英文）Molecular characteristic of Community-Acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates by using New Genetic Diagnosis

研究代表者

柳原 克紀（YANAGIHARA KATSUNORI）

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：40315239

研究成果の概要（和文）：

米国で市中感染型の判定基準とされる遺伝子タイプ SCCmecIV型は我が国ではそれほど高い頻度ではなく、我が国の判定基準とするにはさらなる検討が必要と思われた。また、毒素産生性も大きく異なり、我が国では PVL を産生する強毒株は少なかった。PVL 産生株が少ないことが我が国で市中感染型 MRSA 感染症の重症例が少ない理由と予想された。

研究成果の概要（英文）：

This study is a nationwide survey of all clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates, including community-acquired MRSA (CA-MRSA), in Japan. Only 4 (2.3%) of 171 SCCmec type IV strains were Panton-Valentine leukocidin (lukS/F-PV)-positive. Thus, this result indicates a unique feature of SCCmec type IV strains in Japan. The information in this study not only is important in terms of local public health but will also contribute to an understanding of epidemic clones of CA-MRSA

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・感染症内科学

キーワード：MRSA、分子疫学解析、薬剤耐性菌、病原因子

## 1. 研究開始当初の背景

これまで MRSA は院内感染対策上で重要な細菌として一般的に認識されてきたが、1981 年にはじめて市中で感染した症例が米

国にて報告された。その後 1997 年から 1999 年にかけて、米国において壊死性肺炎や敗血症による死亡 4 例（12 ヶ月—13 歳）が相次ぎ、以後、フランス、オランダ、オース

トラリアでも死亡例が報告されたため、従来の院内感染型の MRSA とは異なり、重症感染症を惹き起こす市中感染型 MRSA として認識されるようになった。(Lancet Infect Dis. 5:275-86, 2005) 我が国においても市中感染型 MRSA による劇症肺炎症例や死亡例が新聞等で報道されるなど、大きな関心が集まっている。全米あるいは州単位の大規模サーベイランスがいくつも実施され、発生状況、分離株の分子疫学ならびに臨床的背景が報告された。SCCmec (staphylococcal cassette chromosome mec)タイプは疫学解析に重要な指標であるが、市中感染型 MRSA ではIV型であり、院内感染型のII型とは異なっていることが明らかにされた。米国では Panton-Valentine Leucocidin (PVL) を産生し強い病原性を有する「USA300」と呼ばれるクローンによる感染症がほとんどを占めている。(Ann. Intern. Med. 144:309-317, 2006) 我が国の研究者によって、1. 市中感染型 MRSA の存在、2. PVL 陰性株も存在する(他の病原因子の存在を示唆)、等が明らかにされた。PVL 陰性株が多数認められており、米国とは状況が違うことは予想されるものの、全国規模のサーベイランスが実施されていないため、我が国全体の動向が不明であり、患者数や危険因子、菌の特徴などが把握できていなかった。

## 2. 研究の目的

この研究の目的は、1. MRSA を遺伝子解析できる簡便な PCR 検査を構築し、2. それを用いて全国調査を実施し、我が国における市中感染型 MRSA の動向を明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

我が国全体の実態を明らかにするためには全国16施設からMRSAを収集し、我が国で初めてとなる市中感染型MRSAの多施設共同調査を実施した。MRSA 857株について薬剤感受性および遺伝子解析を行った。

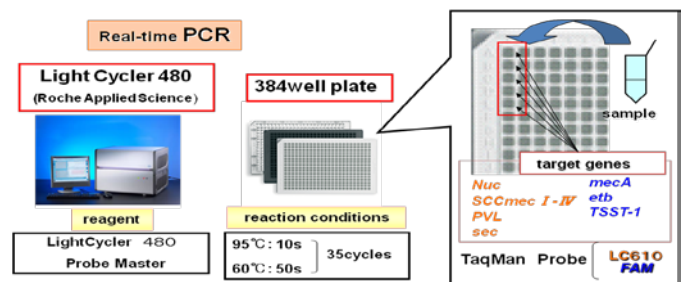
### MRSAの遺伝子診断システムの構築

1. 遺伝子型として重要である SCCmec 型と Panton-Valentine Leucocidins (PVL) などの病原因子を検出する multiplex PCR を構築する。
2. 当院の臨床分離株を用いて、有用性を検証する。

### 市中感染型MRSAの全国サーベイランスの実施

本研究の組織は、主として院内感染型 MRSA を収集する感染制御部・感染症科から構成されるグループと、主として市中感染型 MRSA を収集する皮膚科から構成されるグループからなる。それぞれのグループにおいて臨床検体から分離された MRSA について以下の諸点を明らかにすることを目的とする。

1. 感染制御部、検査部、皮膚科(16施設程度)より菌株を分与していただく。
2. 薬剤感受性ならびに遺伝子解析を実施する。
3. 市中感染型 MRSA の発生状況、分離頻度や分子疫学的特徴を明らかにする。
4. 分離された市中感染型 MRSA の clonarity を検討する。



分子疫学解析の概略

## 4. 研究成果

市中感染型の薬剤感受性は米国と類似する傾向がみられ、β-ラクタム系抗菌薬以外には感受性が保たれていた。米国で市中感染型の判定基準とされる遺伝子タイプ SCCmecIV型は我が国ではそれほど高い頻度ではなく、我が国の判定

基準とするにはさらなる検討が必要と思われた。また、毒素産生性も大きく異なり、我が国では PVL を産生する強毒株は少なかった。PVL 産生株が少ないことが我が国で市中感染型 MRSA 感染症の重症例が少ない理由と予想された。このように我が国と米国の現状とは大きな隔たりがあり、我が国独自の診療体制や予防対策の確立が求められる。市中感染型 MRSA の蔓延を抑止するためには、今後も厳重にサーベイランスを継続的に実施していく必要がある。

5. 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

1. Yanagihara K, Araki N, Watanabe S, Kinebuchi T, Kaku M, Maesakii S, Yamaguchi K, Matsumoto, Mikamo H, Takesue Y, Fujita J, Kadota J, Iwatsuki K, Hino H, Kaneko T, Asagoe K, Ikeda M, T Yasuoka A, Kohno S: Antimicrobial susceptibility and molecular characteristic of 857 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from 16 medical centers in Japan (2008-2009): Nationwide survey of community-acquired and nosocomial MRSA. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 72: 253-257, 2012
2. Yamada K, Yanagihara K, Hara Y, Araki N, Harada Y, Morinaga Y, Matsuda J, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Kohno S, Kamihira S: Clinical characteristics of bacteremia caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary hospital. *Tohoku J Exp Med.* 224: 61-67, 2011
3. Nakamura S, Yanagihara K, Araki N, Morinaga Y, Yamada, K, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Kamihira S, Kohno: High dose tobramycin inhibits lipopolysaccharide-induced MUC5AC production in human lung epithelial cells. *European Journal of Pharmacology.* 659: 67-71, 2011
4. Motoshima M, Yanagihara K, Morinaga Y, Matsuda J, Sugahara K, Yamada Y, Kohno S, Kamihira S: Genetic

diagnosis of community-acquired MRSA:  
A multiplex real-time PCR method for  
staphylococcal cassette chromosome mec  
typing and detecting toxin genes. Tohoku  
J Exp Med. 220: 165-170, 2010

5. Yanagihara K, Kitagawa Y, Tomonaga M,  
Tsukasaki K, Kohno S, Seki M, Sugimoto  
H, Shimazu T, Tasaki O, Matsushima A,  
Ikeda Y, Okamoto S, Aikawa N, Hori S,  
Obara H, Ishizaka A, Hasegawa N, Takeda  
J, Kamihira S, Sugahara K, Asari S,  
Murata M, Kobayashi Y, Ginba H,  
Sumiyama Y, Kitajima M: Evaluation of  
pathogen detection from clinical samples  
by real-time polymerase chain reaction  
using a sepsis pathogen DNA detection  
Kit. Critical Care. 14: R159, 2010

6. Yanagihara K, Kihara R, Araki N,  
Morinaga Y, Seki M, Izumikawa K, Kakeya  
H, Yamamoto Y, Yamada Y, Kamihira S,  
Tsukamoto K, Kohno S: Efficacy of  
linezolid against PVL-positive MRSA in a  
mouse model of hematogenous pulmonary  
infection. Int J Antimicrob Agents. 34:  
477-481, 2009

[学会発表] (計0件)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等  
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柳原 克紀 (YANAGIHARA KATSUNORI)  
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・  
准教授

研究者番号：40315239

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし