

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：82603

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15432

研究課題名（和文）Phylogenetics of regional Streptococcus pneumoniae serotype 19A-ST320 lineage in Okinawa prefecture and the analysis of pbp1a transmission between different pneumococcal clones in Japan

研究課題名（英文）Phylogenetics of regional Streptococcus pneumoniae serotype 19A-ST320 lineage in Okinawa prefecture and the analysis of pbp1a transmission between different pneumococcal clones in Japan

研究代表者

中野 哲志（Nakano, Satoshi）

国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター・主任研究官

研究者番号：30794987

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は肺炎球菌がどのように伝播し、地域に流行を引き起こすかを明らかにするために、本邦において沖縄県でのみ頻繁に検出される肺炎球菌のクローンの全ゲノム情報を用いて解析したものである。本研究では肺炎球菌19A-ST320という、2000年代以降に全世界で流行した多剤耐性肺炎球菌クローンを解析した。解析の結果、沖縄県で検出される同クローン株は米国より2000年以前に流行し、その結果2010年以降に沖縄県で流行をきたした可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、高齢者の市中肺炎の最も主要な起炎菌の一つである肺炎球菌が海外から流入し、時間経過の後に地域流行を引き起こすことを提案するものである。

研究成果の概要（英文）：To clarify the transmission route and the spread dynamic of Streptococci in a local region, we analyzed serotype 19A-ST320 isolates collected in Okinawa prefecture using whole genome sequencing. This clone is known as one of the multi-drug resistant pneumococcal clones that was spread globally after the introduction of 7-valent-pneumococcal conjugate vaccine, however, it was endemic only in Okinawa prefecture in Japan.

Our study showed that the ancestor of the endemic 19A-ST320 isolates in Okinawa seemed to have imported from the U.S. before 2000 resulting in the regional spread in Okinawa, Japan.

研究分野：臨床微生物学

キーワード：肺炎球菌 全ゲノム解析 系統地理解析

## 1. 研究開始当初の背景

肺炎球菌はヒトに肺炎や髄膜炎を引き起こし、現在でも市中感染症において最も重要な起炎菌のひとつである。結合型肺炎球菌ワクチンや抗菌薬の普及により世界各地で新規の肺炎球菌クローンが出現しているが、これらのクローンがどのように発生し、国間を伝播しているかは不明である。さらに本邦では広域抗菌薬であるカルバペネムに耐性を示す肺炎球菌の増加が問題となっている。

肺炎球菌は遺伝子組み換えによって、表現型を短期間に大きく変化させることが可能な菌種である。この“易遺伝子組み換え性”が臨床上問題となるのは、ワクチン型から非ワクチン型への莢膜型変化によるワクチン無効化と、penicillin binding protein (PBP) などのプラスミド性ではない耐性遺伝子の組み込みによる薬剤耐性化である。これらの非ワクチンクローンあるいは薬剤耐性クローンが世界各地で次々と発生し、その地域特有の選択圧力(抗菌薬・ワクチン・保育園、3世代同居などの生活様式など)によって、いくつかのクローンは増加、拡散に成功する。しかし、各地域で流行したクローンが国をまたいで拡散するかについては議論が残っている。なぜなら、成人の肺炎球菌保菌率は5-10%以下と低頻度であるからである。一方で多剤耐性 19A-ST320 クローンのように結合型肺炎球菌ワクチン(PCV)導入後に世界各地で増加した共通クローンが存在するのも事実であり、これが世界的な伝播によるものなのか、世界各地で似通った選択圧力のもとで同じ方向性をもって進化(平行進化)した結果なのかは不明である。

我々はPCV定期接種化後の肺炎球菌の形質変化(莢膜型、薬剤耐性、遺伝子型等)を観察する目的で2012年から全国小児肺炎球菌感染症サーベイランスを行い、全国300以上の施設から1600株以上を収集し解析を行ってきた。それによると、本邦株はPBP1A領域にpbp1a-13が挿入されたためカルバペネム耐性化したと考えられるが、このpbp1a-13の起源となる肺炎球菌クローンは本邦では見つかっていない。海外のデータベースを見てみると、PCV導入後日本以外の多くの国で流行した、多剤耐性クローン serotype 19A-ST320(以下 19A-ST320)がこのpbp1a-13を保持している(19A-ST320はペニシリン、セファロスポリン、カルバペネム、マクロライド、テトラサイクリンに耐性である)。しかし、我々が2012年から2017年に収集したおよそ1600株の中には同クローンは4株しか存在しなかった。一方で、Suga、Oishiらが2008年~2015年に沖縄県で収集した菌株に多数の19A-ST320が存在することが報告された(unpublished data)。この事実は沖縄県の19A-ST320が保有するpbp1a-13が遺伝子組み換えを通じて日本本島で検出される他クローンに挿入され、拡散している可能性を提起している。

## 2. 研究の目的

本研究では結合型肺炎球菌ワクチン導入後世界各地で増加した多剤耐性 serotype 19A-ST320 クローンの全ゲノム解析を行い、遺伝子組み換え領域同定やベイズ解析により同クローンの発生源、伝播経路を推定する。さらに沖縄県で検出される同クローンが本邦における他クローンにおけるカルバペネム耐性株の増加に寄与しているかを、比較ゲノム解析により検討する。これらの解析により肺炎球菌全般の新規クローン発生・伝播メカニズムが明らかになり、将来日本を含む世界各国におけるワクチン政策に影響を与えることが期待される。

### 3 . 研究の方法

本邦（沖縄県を含む）で検出された serotype 19A-ST320 クローン株の全ゲノムデータと海外で検出され公共データベース上に公開されている同クローン株の全ゲノムデータとの比較ゲノム解析を行った。

さらに、35B-CC558 という別の多剤耐性肺炎球菌クローンの解析も行った。

### 4 . 研究成果

沖縄県で検出される 19A-ST320 クローン株は米国より 2000 年以前に流行し、その結果 2010 年以降に沖縄県で流行をきたした可能性が示唆された。

35B-CC558 クローンについては複数回に渡って、海外から本邦に流入してきたことが判明した。

Nakano S, Fujisawa T, Chang B, Ito Y, Akeda H, Fujita J, Matsumura Y, Yamamoto M, Suga S, Oishi K, Nagao M, Ohnishi M. Whole-Genome Analysis-Based Phylogeographic Investigation of *Streptococcus pneumoniae* Serotype 19A Sequence Type 320 Isolates in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2022 Feb 15;66(2):e0139521.

Shinohara K, Fujisawa T, Chang B, Ito Y, Suga S, Matsumura Y, Yamamoto M, Nagao M, Ohnishi M, Sugai M, Nakano S. Frequent Transmission of *Streptococcus pneumoniae* Serotype 35B and 35D, Clonal Complex 558 Lineage, across Continents and the Formation of Multiple Clades in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2023 Feb 16;67(2):e0108322.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nakano Satoshi, Fujisawa Takao, Chang Bin, Ito Yutaka, Akeda Hideki, Fujita Jiro, Matsumura Yasufumi, Yamamoto Masaki, Suga Shigeru, Oishi Kazunori, Nagao Miki, Ohnishi Makoto	4. 巻 66
2. 論文標題 Whole-Genome Analysis-Based Phylogeographic Investigation of Streptococcus pneumoniae Serotype 19A Sequence Type 320 Isolates in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Antimicrobial Agents and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 e01395-21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/aac.01395-21	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 Shinohara Koh, Fujisawa Takao, Chang Bin, Ito Yutaka, Suga Shigeru, Matsumura Yasufumi, Yamamoto Masaki, Nagao Miki, Ohnishi Makoto, Sugai Motoyuki, Nakano Satoshi	4. 巻 67
2. 論文標題 Frequent Transmission of Streptococcus pneumoniae Serotype 35B and 35D, Clonal Complex 558 Lineage, across Continents and the Formation of Multiple Clades in Japan	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Antimicrobial Agents and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/aac.01083-22	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 中野哲志
2. 発表標題 本邦のベータラクタム薬耐性肺炎球菌増加の主たる原因はPCV導入以前のPBP1A水平伝播とクローン性拡散である
3. 学会等名 第97回日本感染症学会総会・学術講演会第71回日本化学療法学会学術集会 合同学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Satoshi Nakano
2. 発表標題 Molecular epidemiology of pneumococcal isolates in Japan
3. 学会等名 第3回アジア肺炎球菌シンポジウム（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中野哲志
2. 発表標題 病原細菌の全ゲノム解析と肺炎球菌の分子疫学解析
3. 学会等名 第55回小児感染症学会（招待講演）
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

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