

令和 6 年 5 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16278

研究課題名（和文）エピゲノム解析によるMRSAのアウトブレイク株解析と予防法の樹立

研究課題名（英文）Epigenomic analysis of MRSA outbreak strains to establish preventive methods

研究代表者

山崎 由里子（Yamazaki, Yuriko）

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任助教（常勤）

研究者番号：70915272

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は皮膚の重症感染症の原因となる他、病院内でアウトブレイクを起こし免疫不全の患者に時に致死的な感染症を引き起こすこと世界中で問題となっている。代表者グループは、単施設内で1つのMRSA株がエピゲノム的な修飾によって抗生剤寛容性、外来遺伝子取り込み能、バイオフィーム産生能を獲得しつつアウトブレイクを引き起こしたことを突き止めた。本研究では病院適応型の菌株でメチル化様式に関わる遺伝子の欠損株を解析することで、アウトブレイク株の臨床的特徴を引き起こした遺伝子やエピゲノム進化を押し進めた責任遺伝子を解明することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではMRSAのゲノム、エピゲノム解析技術によって、アウトブレイクを起こす細菌側の特徴を明らかにするという新しいアプローチを行った。複数のエピゲノム解析を組み合わせた結果、アウトブレイクを起こした株のメチル化の特徴を同定することができた。また、そのエピゲノムパターンを促すメチル化遺伝子を一部特定することもできた。本研究の知見により今後、アウトブレイクを起こしやすい株をモニタリングするシステムを構築することや、進化の獲得を促した環境因子を明らかにして細菌学的根拠のある予防法や治療法の確立に繋げることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a worldwide problem not only because it causes severe skin infections but also causes outbreaks in hospitals in immunocompromised patients. We found that a single MRSA strain in a single institution caused an outbreak while acquiring antibiotic tolerance, foreign gene incorporation ability, and biofilm production ability through epigenomic modification. By analyzing hospital-adapted strains deficient in genes involved in methylation patterns, this study elucidated the genes that caused the clinical characteristics of the outbreak strain and the genes responsible for driving the epigenomic evolution of the outbreak strain.

研究分野：皮膚科学

キーワード：MRSA

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)は皮膚の重症感染症の原因となる一方、病院内でアウトブレイクを起こし、免疫抑制状態の患者に時に致死的な感染症を起こすことがしばしば問題となっている。一般的な対策として現在行われている医療従事者の接触感染対策や適切な抗生剤使用、除菌ではアウトブレイクを十分に予防・制御することはできていない。代表者は先行研究として、単施設内で1つのMRSA株がエピゲノム進化によって抗生剤寛容性、外来遺伝子取り込み能、バイオフィーム産生能を獲得しつつアウトブレイクを引き起こしたことを世界で初めて突き止めた。しかしどのような環境・ホスト要因がMRSAのエピゲノム進化を引き起こすかは依然不明である。

2. 研究の目的

本研究ではMRSAのゲノム、エピゲノム解析技術によって、アウトブレイクを起こす細菌側の特徴を明らかにし、アウトブレイクの予防や制御につなげるという新しいアプローチを行った。本研究ではアウトブレイク臨床株に対してエピゲノム解析を行い、アウトブレイク株に特有のエピゲノム変化パターンを同定し、それに対するモニタリングシステムを構築することや、そうした変化を起こす環境因子を明らかにして細菌学的根拠のある予防法や治療法の確立に繋げることを目指す。

3. 研究の方法

アウトブレイク株の性質解析とAgrサイレンシングのメカニズム解析

申請者らのグループは病院内でアウトブレイクを起こした菌株のゲノム解析により、特定の市中感染型MRSA株から派生した株がAgr機能を環境に応じて発現あるいはサイレンスするようになったことで病院環境に適応したことを発見した。Agr機能とはブドウ球菌が自らの菌の密度を感知して、菌の濃度が高い時に特定の毒素を分泌する機構である。

この環境に応じたAgr機能の可逆的な制御(環境適応型Agrと命名)を手に入れる進化が遺伝子変異に寄らないことはすでに全ゲノム解析で明らかにしたので、この環境適応型Agrを起こす前後の株に対してエピゲノム解析を行い、どのようなエピゲノム的な修飾がこの現象を起こしているのかを解析する。特に細菌のエピゲノム形式として知られているメチル化のパターンを網羅的に解析するためいくつかのエピゲノム解析を組み合わせることで総合的に責任部位を同定する。

4. 研究成果

細菌のエピゲノム形式として知られている5mC、6mA、4mA形式をそれぞれ読み取るべくSingle-molecule real-time sequence, nanopore sequencing, bisulfate sequencingを行った。その結果、環境適応型Agrを有する株ではゲノム全体に5mC形式のメチル化が少ない傾向にあることがわかった。5mCのメチル化を起こすメチル化酵素のうち既知のものについてトランスクリプトーム解析を行ったところ一つの酵素はAgr陽性の株と環境適応型Agr株では発現が有意に異なっていた。そのためこの酵素について欠損株を作成し、臨床株と同様の環境適応型Agrという性質が再現できるかどうかを検討した。メチル化酵素欠損株は、予想通り、培養条件依存性

に Agr を発現ないしサイレンスした。また、メチル化酵素欠損および環境適応型 Agr によってマクロファージ内での生存率が上がることも再現ができた。よって本研究では 5 mC 形式のメチル化を起こす機構に依存してゲノム全体のメチル化率が変化することが環境適応型 Agr の獲得に繋がったと結論づけた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yuriko Yamazaki, Hiroki Takahashi, Akiko Takaya, Yumi Matsuoka-Nakamura, Manabu Fujimoto
2. 発表標題 Staphylococcus aureus reversibly regulates Agr quorum sensing to cause an outbreak in a hospital
3. 学会等名 INTERNATIONAL SOCIETIES FOR INVESTIGATIVE DERMATOLOGY MEETING (国際学会)
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
---------------------------	-----------------------	----

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