

令和元年6月23日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08777

研究課題名(和文) 糖尿病由来CA-MRSA-ST8-SCCmecIV1株の侵襲性感染症に関する研究

研究課題名(英文) Research related to invasive infection of CA-MRSA-ST8-SCCmecIV1 derived from diabetic patient

研究代表者

菅井 基行 (Sugai, Motoyuki)

国立感染症研究所・薬剤耐性研究センター・センター長

研究者番号：10201568

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚感染症由来の黄色ブドウ球菌株において、PCRによるgenotypingを行いCA-MRSA-ST8-SCCmecIV1株の分離頻度を調査した。560株のうちST8に属する株が22.7%で褥瘡、開放膿、非開放膿の順で検出された。全体に占めるST8-SCCmecIV1は4.8%、ST8全体の21.3%がSCCmecIV1であった。ST8-SCCmecIV1株の毒素産生制御機構を明らかにする為、RNA-SeqによりTSST-1を保有するST5と比較した結果、tst1遺伝子の発現はST5よりもST8で高値あり、agrオペロンの発現量がST8で極めて高く、agr制御下の遺伝子群も高発現していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で得られた研究成果は、近年増加傾向にある全身播種性CA-MRSA感染症、特に、日本固有に分離されるCA-MRSA-ST8-SCCmecIV1クローンのゲノム構造の特徴性から、疫学解析と病原因子の比較解析から病態形成機構が分子レベルでの究明につながるものである。これにより、侵襲性MRSA感染症の予防及び治療戦略の情報を基礎から臨床へのフィードバックできる極めて重要な研究であると位置付けている。

研究成果の概要(英文)：We investigated the detection rate of the skin infection isolated CA-MRSA-ST8-SCCmecIV1 clone used by PCR genotyping. Over 560 strains isolated from skin infection, ST8 clone was detected 22.7% by the decubitus, open pus and unopen pus, especially decubitus and open pus. Detection rate of ST8-SCCmecIV1 was 4.8% on 560 strains, 21.3% on ST8 group. We investigated that comparative analysis of TSST1 positive ST5 and ST8 used by RNA-Seq, because of TSST-1 production control of ST8-SCCmecIV1 clone clearly. As a result, tst1 gene expression of ST8-SCCmecIV1 clone was significantly increased than TSST1 positive ST5 clone. Gene expression of agr operon was extremely high in ST8-SCCmecIV1 clone, as well as transcriptional regulator genes under agr operon control.

研究分野：細菌学

キーワード：CA-MRSA ST8 TSST-1

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

MRSA は、医療関連施設で感染が見られる医療施設関連型 MRSA(Healthcare-Associated MRSA:HA-MRSA)と、主に市中で感染が見られる CA-MRSA に大別される。CA-MRSA は、健常人において皮膚・軟部組織感染症、敗血症や組織深部の膿瘍など重篤な病態を来す起炎菌として 1990 年代以降に急増してきた。当初は MLST タイプの ST1 が大部分を占めていたが、現在の優勢株として、ST8(主に USA300)、ST30、ST59、ST80 等が変遷してきて世界各地から報告されてきた。特に ST8 型に分類される USA300 株は高病原性を有する株として 米国を中心に世界中からの多くの報告がある。日本では海外より持ち込まれた USA300 株による 感染症事例が散発的にしている。しかしながら、近年、USA300 クローンには分類されない ST8 型 CA-MRSA が日本固有株(CA-MRSA/J)として報告された(Iwao Y, et al, 2012 J Infect Chemother. 18:228-240)。我々のグループも同時期の 2012 年に CA-MRSA/J 株による全身播種性重症感染症を経験した(Hagiya H, et al, 2014 Intern Med. 53:907-912) (図 1)。その後も現在に至るまでに、他の医療機関からもいくつか検出されている。非常に興味深い事が、分離された多くの株は、“糖尿病”の基礎疾患を持つ患者から分離されているという点である。この因果関係については不明である。

## 2. 研究の目的

市中感染型メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(Community-Acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: CA-MRSA)は重症感染症の起炎菌として知られ、多様なゲノタイプが存在する。近年、これまでと異なるゲノタイプ(CA-MRSA-ST8-SCCmecIV1 型)の株が増加傾向にある。この株が分離された患者の多くに、糖尿病の基礎疾患を持ち、化膿性関節炎、脊椎炎、筋膿瘍、敗血症など侵襲性の強い感染症を来す場合がある。

本研究の目的は、この CA-MRSA-ST8-SCCmecIV1 株の分子疫学的な調査および侵襲性疾患への病原発現機序についての究明である。

## 3. 研究の方法

CA-MRSA-ST8-SCCmecIV1 株の侵襲性感染症における病原性解析を行う為に、次の項目を設定し、本研究を遂行する。

- 1 分子疫学的な調査及び比較ゲノム解析
  - ・臨床分離株の遺伝学的解析
  - ・比較ゲノム解析による糖不応答性に寄与する因子の同定
- 2 病原因子の性状及び病態形成解析
  - ・糖不応答性の毒素産生機序の解析
  - ・糖尿病モデルマウスを用いた感染実験

## 4. 研究成果

福山臨床検査センターより皮膚感染症由来の *Staphylococcus aureus* の分与を受け、PCR によるゲノタイピングを行い CA-MRSA-ST8-SCCmecIV1 株の分離頻度を調査した。皮膚感染症由来 560 株のうち ST8 に属する株が 22.7%で褥瘡、開放膿、非開放膿の順で検出され、特に褥瘡、開放膿が多かった。全体に占める ST8-SCCmecIV1 は 4.8%、ST8 全体の 21.3%が ST8-SCCmecIV1 であった。また OS-MRSA として、ST121 系統株で見つかった。ゲノム解析した結果、*mecA* プロモーター領域に indel を見出した。トランスクリプトーム解析 昨年度から引き続きに、ST8-SCCmecIV1 株の毒素産生制御の全体像を明らかにするために、MiSeq システムを用いた RNA-Seq 法により TSST-1 を保有する ST5 株と比較解析した。その結果、*tst1* 遺伝子の発現は ST5 よりも ST8-SCCmecIV1 株で顕著に高かった。また、*agr* オペロン遺伝子群の発現量が ST8-SCCmecIV1 株で極めて高いことが判明し、*agr* 制御下の遺伝子群も高発現していた。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 14 件)

- 1) Kitagawa Hiroki, Ohge Hiroki, Hisatsune Junzo, Kajihara Toshiki, Katayama Keijiro, Takahashi Shinya, Sueda Taijiro, Sugai Motoyuki, Prosthetic Valve Endocarditis Caused by ST8 SCCmecIV1 Type Community-associated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Internal Medicine, 2019, DOI: 10.2169/internalmedicine.1415-18.
- 2) Moriwaki Masaya, Iwamoto Kazumasa, Niitsu Yoshie, Matsushima Ayako, Yanase Yuhki, Hisatsune Junzo, Sugai Motoyuki, Hide Michihiro, *Staphylococcus aureus* from atopic dermatitis skin accumulates in the lysosomes of keratinocytes with induction of IL-1 secretion via TLR9, Allergy, 2018, DOI: 10.1111/all.13622.

[学会発表](計 5 件)

- 1) 増田加奈子、久恒順三、高橋伸、奥原俊彦、大毛宏喜、菅井基行、西日本における皮膚感染症由来 ST8 CA-MRSA/J の分子疫学調査、第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、

2019年

- 2) 小幡祥子, 川崎洋, 福島彩乃, 持丸奈央子, 関口文世, 海老原全, 久恒順三, 于連升, 菅井基行, 天谷雅行, ゲノタイプ解析を用いたアトピー性皮膚炎患者皮膚に特異的な黄色ブドウ球菌株に関する検討, 第 67 回日本アレルギー学会, 2019 年
- 3) 久恒順三, 川崎洋, 于連升, 増田加奈子, 沓野祥子, 荒井千夏, 小幡祥子, 福島彩乃, 持丸奈央子, 関口文世, 海老原全, 天谷雅行, 菅井基行, アトピー性皮膚炎患者と健常人の皮膚由来黄色ブドウ球菌株の解析, 第 63 回日本ブドウ球菌研究会, 2018 年
- 4) Aziz F, Hisatsune J, Liansheng Y, Masuda K, Sato'o Y, Ono K H, Kajimura J, Kusunoki Y, Sugai M, A unique staphylococcal enterotoxin SEY : prevalence and it's characterization, 第 63 回日本ブドウ球菌研究会, 2018 年
- 5) 北川浩樹, 久恒順三, 増田加奈子, 大毛宏喜, 菅井基行, 広島大学病院における ST8 CA-MRSA/J 系統株による菌血症の臨床像と遺伝学的検討, 第 63 回日本ブドウ球菌研究会, 2018 年
- 6) 増田加奈子, 久恒順三, 大毛宏喜, 菅井基行, Cica Geneus Staph POT KIT を用いた黄色ブドウ球菌分子疫学解析の有用性, 第 87 回日本感染症西日本地方会学術集会, 2017 年
- 7) 久恒順三, 菅井基行, 我が国の臨床分離黄色ブドウ球菌のゲノム多様性, 第 62 回日本ブドウ球菌研究会, 2017 年
- 8) 久恒順三, 増田加奈子, 萩谷英大, 澤佳奈, 水谷哲, 寺地つね子, 大毛宏喜, 菅井基行, 市中感染型黄色ブドウ球菌が保有する病原性プラスミド pEDINA の分子疫学解析, 第 91 回日本感染症学会総会・学術講演会, 2017 年
- 9) 久恒順三, 増田加奈子, 佐藤祐介, 萩谷英大, 澤佳奈, 水谷哲, 寺地つね子, 胡東良, 大毛宏喜, 菅井基行, 侵襲性感染症由来 Staphylococcus aureus が保有する表皮細胞分化抑制因子 EDINA-エンテロ トキシン SEZ プラスミドの解析, 第 86 回日本感染症学会西日本地方会学術集会・第 59 回日本感染症学会中日本地方会学術集会・第 64 回日本化学療法学会西日本支部総会, 2016 年
- 10) 増田加奈子, 久恒順三, 大毛宏喜, 菅井基行, 西日本における皮膚感染症由来 Staphylococcus aureus の分子疫学, 第 86 回日本感染症学会西日本地方会学術集会・第 59 回日本感染症学会中日本地方会学術集会・第 64 回日本化学療法学会西日本支部総会, 2016 年
- 11) 菅井基行, MRSA のすべて-疫学・病態から治療・対策まで-, 第 32 回日本環境感染症学会(招待講演), 2017 年
- 12) 増田加奈子, 久恒順三, 高橋伸, 奥原俊彦, 大毛宏喜, 菅井基行, 西日本における皮膚感染症由来 Staphylococcus aureus の分子疫学, 第 69 回日本細菌学会中国・四国支部総会, 2016 年
- 13) Kanako Masuda, Junzo Hisatsune, Motoyuki Sugai, Molecular characterization of S. aureus isolated from skin infection in West Japan, ISSSI 2016 Seoul(国際学会), 2016 年
- 14) Motoyuki Sugai, Junzo Hisatsune, Hitoshi Komatsuzawa, Takayuki Yamaguchi, Fuminori Kato, Yusuke Sato, Hideki Hirakawa, Ikuo Uchiyama, Naomasa Gotoh, Kosuke Tashiro, Satoru Kuhara, Catalogue of Japan clones, clinically isolated Staphylococcus aureus in Japan, ISSSI 2016 Seoul(国際学会), 2016 年

〔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:  
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：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：久恒 順三

ローマ字氏名：Junzo Hisatsune

所属研究機関名：国立感染症研究所

部局名：薬剤耐性研究センター

職名：主任研究官

研究者番号(8桁)：40513180

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。