

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10027

研究課題名（和文）薬剤耐性肺炎桿菌感染症の制御を目指した耐性菌出現機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* emerging mechanisms to prevent the infection

研究代表者

中野 竜一（Nakano, Ryuichi）

奈良県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80433712

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）：本研究では臨床現場で問題となっているカルバペネム耐性腸内細菌科（CRE）について、耐性機構ならびにその菌株の遺伝学的特徴を明らかにした。カルバペネム耐性肺炎桿菌の耐性機構を解明したところ、多くがIMP型カルバペネマーゼを産生していた。カルバペネマーゼ非産生カルバペネム耐性肺炎桿菌ではいずれもポーリン欠損株であった。カルバペネマーゼ産生肺炎桿菌の中には高病原性株も多く含まれていることも明らかになった。さらにカルバペネマーゼNmxA型を産生するCREを検出できる方法として、ディスク法ならびに遺伝子増幅法であるLAMP法を開発した。いずれも感度・特異度とも高いものであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦の医療機関で分離されるCREについて、海外とは異なる独特な特徴が明らかになった。IMP型カルバペネマーゼが優性であり、遺伝学的特徴からプラスミドに共通性があった。プラスミドの伝達性も高いことから菌種を越えた拡がりの可能性も考えられた。また病原性肺炎桿菌が多く含まれていたことから、臨床現場においてこの耐性株の拡がりについては注視していく必要があるだろう。臨床現場での応用を想定したCREの検出法も開発した。感度・特異度とも高いため、迅速検出や診断に貢献することが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we characterized clinical isolates of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) in Japan, in terms of their carbapenem resistance mechanisms, genotypes, plasmid types, and virulence determinants. Molecular analysis indicated that carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* were harboring IMP type carbapenemase. Mechanisms of non-carbapenemase-producing-CRE was production of ESBLs or AmpC in combination with porin loss/deficiency. Our results also show that highly virulent carbapenemase-producing *K. pneumoniae* clinical isolates are emerging in Japan. Furthermore, we have developed a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method and double-disk synergy test for detection of NmxA carbapenemase producing Enterobacteriaceae with high specificity and sensitivity. It may be routinely applied for detection of carbapenemase producers in the clinical laboratory.

研究分野：薬剤耐性菌

キーワード：カルバペネム耐性腸内細菌科（CRE） カルバペネマーゼ産生腸内細菌科（CPE） ゲノム型 プラスミド型 病原因子 検出法 ディスク法 LAMP法

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。

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

薬剤耐性菌は、感染症治療を難渋化させるだけでなく、院内感染などで蔓延する危険性がある。特にカルバペネム耐性腸内細菌科（CRE）感染症は、感染症治療において極めて重要な抗菌薬であるカルバペネムに耐性を示す腸内細菌科（大腸菌や肺炎桿菌）による感染症であり、その致死率の高さと世界的規模で増加傾向にあることが問題視されている。新たな抗菌薬の開発は減少傾向にあることから、WHO や CDC は今後世界的な脅威になることを警戒し、その対策の重要性を訴えている。これを受け本邦では、感染症法の改正や「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン」を提示し、国を挙げて対策を取ることをサミットで宣言した。ここではサーベイランスや抗菌薬の適正使用の推進、予防・診断・治療手段に向けた研究開発などを目標として挙げている。

この耐性菌の出現背景には、抗菌薬の使用頻度が高い家畜から食肉を通じたヒトへの伝播や、臨床における抗菌薬の不適切な使用が挙げられている。申請者はこれに先立ち家畜とヒトにおける薬剤耐性菌について遺伝学的解析をしたところ（科研費 課題番号 26860773）、ヒトで多く分離されるセファロスポリナーゼ産生大腸菌はその遺伝学的特徴が家畜由来株と異なることを明らかにした。この新たな知見により家畜からヒトへ伝播する可能性は低い事が推測され、ヒトの耐性菌は臨床における抗菌薬の不適切な使用が大きな要因であると考えられた。

CRE は、そのほとんどがカルバペネマーゼを産生することにより耐性化するとされ、申請者もこれまで世界中で問題となっているカルバペネマーゼ NDM-5 産生菌を日本で初めて分離した（Nakano *et al.* AAC. 2014）。しかし臨床現場においては、カルバペネマーゼ非産生の CRE も存在しており、その鑑別と対応に苦慮している（表 1）。この耐性機構は、セファロスポリナーゼ産生かつ膜タンパク質ポーリンの機能欠損（変異）による相乗作用で、カルバペネム系薬のみならずその他広範の抗菌薬に高度耐性化する特徴がある。この耐性菌出現の背景には抗菌薬への暴露、細菌の特性、生体内での反応などの要因が複雑に関係していると推測される。しかし検出法が困難なため研究報告が少なく、その実態や特徴など不明な点が多い。抗菌薬の治療効果や予後、分離状況とその鑑別方法など多くの研究課題が残されている。

表 1. カルバペネム耐性腸内細菌科（CRE）の耐性機構別にみる特徴

	カルバペネマーゼ産生菌	カルバペネマーゼ非産生菌
耐性機構	カルバペネマーゼ (薬剤不活化)	セファロスポリナーゼ（薬剤不活化） +ポーリン欠損（薬剤の侵入阻害）の相乗作用
耐性遺伝子	カルバペネマーゼ (IMP, KPC, NDM など)	セファロスポリナーゼ（CTX-M, AmpC など） +ポーリン欠損（OmpK35, OmpK36 など）
カルバペネム耐性	低い～高い	高い
検査室での検出	CIM 法, PCR 法などで検出可能	検出困難（PCR 法や SDS-PAGE などが必要）
分離状況	本邦では IMP 型が多い	不明

### 2. 研究の目的

本研究では、臨床で問題となっている CRE について、どのような耐性機構を持っているのか、またその耐性菌がどのような遺伝学的特徴を持っているのか明らかにすることを目的とする。特に肺炎桿菌に着目し、耐性菌感染症の制御に貢献したい。具体的には、次の 3 つの研究課題を目的として取り組む。

#### 課題 1. カルバペネム耐性腸内細菌科の耐性機構の解明

- (1) 本邦におけるカルバペネム耐性大腸菌の耐性機構ならびにその遺伝学的特徴の解明
- (2) 本邦で初めての分離例となる NmcA 型カルバペネマーゼ産生菌の耐性機構の解明
- (3) 本邦で初めての分離例となる VIM 型カルバペネマーゼ産生 *Citrobacter freundii* の耐性機構の解明
- (4) 環境中における CRE の分離状況ならびに耐性機構の解明

#### 課題 2. 本邦における臨床分離カルバペネム耐性肺炎桿菌の耐性機構と遺伝学的特徴の解明

- (1) カルバペネマーゼ産生肺炎桿菌の耐性機構の解明
- (2) カルバペネマーゼ非産生カルバペネム耐性肺炎桿菌の耐性機構の解明
- (3) カルバペネム耐性肺炎桿菌のゲノム型別や病原因子など遺伝学的特徴の解明

#### 課題 3. カルバペネマーゼ産生菌の検出法の解明

- (1) 本邦での分離頻度の高い IMP 型カルバペネマーゼについて、その亜型である IMP-1 と IMP-6 を迅速に検出できる方法の開発
- (2) NmcA 型カルバペネマーゼを検出できる遺伝子増幅技術 Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法ならびにディスク法の開発

これら研究課題に取り組むことで、CRE の現状が明らかになり新しい検出法が開発される。現状を考慮した感染症治療と耐性菌の蔓延防止への貢献が期待できる。

### 3. 研究の方法

#### 課題 1. カルバペネム耐性腸内細菌科の耐性機構の解明

- (1) 材料ならびに菌株は次の通りそれぞれ収集した。
  - ① 臨床分離カルバペネマーゼ産生大腸菌について、全国の医療機関 54 施設より分離した 146 株を対象とした。カルバペネマーゼの産生性は CIM 法により決定した。
  - ② CIM 法陽性であるものの耐性遺伝子が不明な CRE 2 株を本邦医療機関 2 施設より収集した。
  - ③ 環境中の CRE について、フィリピンの河川水と病院排水の 83 検体を収集し、カルバペネム添加培地にて選択し、菌種同定にて腸内細菌科と同定された合計 124 株を用いた。
- (2) 菌種同定は質量分析装置 (TOF-MS) ならびに 16SrRNA の解析により決定した。
- (3) 薬剤感受性試験は CLSI に準拠した寒天平板希釈法に従って行った。
- (4) 耐性遺伝子について、 $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子の有無を PCR ならびに DNA シークエンシングにより決定した。
- (5) ゲノム型別 (MLST 解析) ならびにプラスミド型別 (不和合性) を遺伝学的手法により決定した。
- (6) 耐性遺伝子をコードしたプラスミドの伝達性について、大腸菌 J53 を用いた接合伝達実験にて明らかにした。
- (7) NmcA 産生株の誘導機構の解明において、各種抗菌薬添加条件における酵素産生量の変化を UV 法に基づいた酵素活性測定により決定した。

#### 課題 2. 本邦における臨床分離カルバペネム耐性肺炎桿菌の耐性機構と遺伝学的特徴の解明

- (1) カルバペネム耐性肺炎桿菌について、全国の医療機関 37 施設より分離した 104 株を対象とした。カルバペネマーゼの産生性は CIM 法により決定した。
- (2) カルバペネマーゼ遺伝子について PCR ならびに DNA シークエンシングにより決定した。
- (3) カルバペネマーゼ非産生株については、CTX-M や AmpC の産生の有無を PCR ならびに DNA シークエンシングにより決定した。さらにポーリン欠損の有無を SDS-PAGE ならびに遺伝子解析により決定した。
- (4) ゲノム型別 (MLST 解析) ならびに病原遺伝子について遺伝学的手法により決定した。
- (5) 薬剤感受性試験は CLSI に準拠した寒天平板希釈法に従って行った。

#### 課題 3. カルバペネマーゼ産生菌の検出法の解明

- (1) 材料ならびに菌株は次の通りそれぞれ収集した。
  - ① 材料は課題 1, 2 で収集した IMP 型カルバペネマーゼ産生株を用いた。
  - ② NmcA 産生株は課題 1 で収集されたもの、さらにその他のカルバペネマーゼ産生株とカルバペネマーゼ非産生カルバペネム耐性株を課題 1, 2 より選択して用いた。
- (2) IMP-1 と IMP-6 を迅速に検出・識別できる方法として、ARMS-PCR 法を原理とする混合プライマーの組み合わせによってバンドサイズの変化で識別できるように改良した。
- (3) NmcA カルバペネマーゼ産生株の迅速検出法として、LAMP 法を応用して NmcA 遺伝子の増幅が高感度に行えるプライマーの組み合わせを検討した。
- (4) NmcA カルバペネマーゼ産生株を検出・識別出来る方法として、酵素産生機構 (誘導) の特徴を考慮した薬剤ディスクの組み合わせと配置によるディスク法を開発した。

### 4. 研究成果

#### 課題 1. カルバペネム耐性腸内細菌科の耐性機構の解明

- (1) 本邦におけるカルバペネム耐性大腸菌の耐性機構ならびにその遺伝学的特徴の解明

臨床分離カルバペネマーゼ産生大腸菌 146 株について耐性遺伝子ならびに遺伝学的特徴を明らかにした (表 2)。IMP-6 産生株がそのほとんどを占めており、多くがゲノム型は ST131 のものが多いことが判った。これまで ESBL 産生大腸菌においても多いゲノム型であることから、このタイプの菌株がカルバペネマーゼ産生大腸菌においても拡散していることが判った。プラスミドの伝達性を調べたところ、約 9 割が伝達可能であり、耐性プラスミドが拡散している可能性も推測された。

表2. カルバペネマーゼ産生大腸菌の耐性遺伝子とその特徴

カルバペネマーゼ (株数)	ST131の株数	伝達性
IMP-1 (3)	2	1/2
IMP-6 (140)	121	73/78
IMP-11 (1)	0	1/1
IMP-66 (2)	2	0/2
Total (146)	125	75/83

(2) 本邦で初めての分離例となる NmcA 型カルバペネマーゼ産生菌の耐性機構の解明

CRE の中からこれまで本邦での報告例のない NmcA 産生 *Enterobacter ludwigii* NR1491 を分離した。カルバペネマーゼの中で唯一調節遺伝子 NmcR も同時に保有することによる誘導型の酵素産生機構を持っていることから、誘導条件を検証した (図 1)。第 3 世代セファロスピリンの CPDX や  $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤の CVA では酵素産生量の変化は低かったが、カルバペネム (IPM と MEPM) は濃度上昇に従い酵素産生量も増加していることが判った。セファマイシン (CFX) は濃度に依存せず酵素産生量が高いことが判った。これらに対する MIC 値も高いことから、薬剤の分解活性ならびに薬剤による誘導効果が薬剤感受性に影響していることが推測された。また変異株作製実験にて AmpD 変異が耐性に大きく寄与していることも明らかになった。

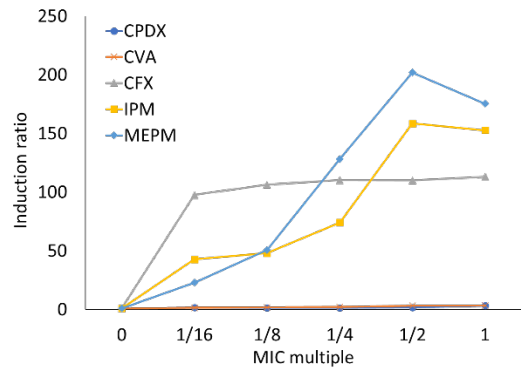


図1. NmcA産生株の薬剤添加による酵素産生量の変化

(3) 本邦で初めての分離例となる VIM 型カルバペネマーゼ産生 *Citrobacter freundii* の耐性機構の解明

VIM 型カルバペネマーゼは、本邦において緑膿菌から分離される事がある。腸内細菌科からの分離例は初めてであり、その特徴は表 3 に示すとおりであった。耐性遺伝子として VIM-2 以外にホスホマイシン耐性遺伝子 *fosE* も保有していた。これら耐性遺伝子は接合伝達実験にて大腸菌と緑膿菌に伝達可能であった。MIC が低値であるものの、幅広く拡散する可能性があり注視する必要がある。

表3. VIM-2産生 *C. freundii* NR1374ならびに伝達株の薬剤感受性

Strain	Resistance genes	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )					
		TZP	CPDX	FEP	IPM	LVX	FOF
<i>C. freundii</i> NR1374	<i>bla</i> <sub>VIM-2</sub> , <i>fosE</i>	16	256	0.5	1	2	>256
pNR1374/ <i>E. coli</i> J53	<i>bla</i> <sub>VIM-2</sub> , <i>fosE</i>	2	4	$\leq 0.06$	0.25	$\leq 0.06$	>256
<i>E. coli</i> J53	-	2	0.5	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	$\leq 0.06$	8
pNR1374/ <i>P. aeruginosa</i> PAO1	<i>bla</i> <sub>VIM-2</sub> , <i>fosE</i>	64	>256	32	32	0.25	>256
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	-	2	>256	1	2	0.5	64

(4) 環境中における CRE の分離状況ならびに耐性機構の解明

フィリピンの河川水と病院排水の 83 検体から CRE 124 株を分離収集した。CIM 法ならびに遺伝学的解析によってカルバペネマーゼ産生菌が様々な菌種 51 株から検出された (表 4)。いずれも NDM 型が最も多く検出されたが、この耐性遺伝子はフィリピンのヒト臨床において同様に多く分離されている。さらに大腸菌のゲノム型を解析したところ CC10 に分類されるものが多かった。これはヒト・環境・動物を含め幅広く定着するゲノム型であることから、ヒト由来株と環境由来株に関連性があることが示唆された。フィリピンの病院では下水処理システムの運用率が低いことなどから耐性菌が排出・拡散されていると想定された。

表4. フィリピンの環境から分離されたカルバペネマーゼ産生菌

菌種	由来		カルバペネマーゼ				
	病院排水	河川水	NDM	KPC	GES	OXA-48	IMI
<i>Klebsiella</i> spp.	8	6	9	4	1		
<i>Enterobacter</i> spp.	8	7	13		1		1
<i>Escherichia coli</i>	3	8	7	2		2	
<i>Citrobacter</i> spp.	6	2	7	1			
<i>Serratia marcescens</i>	1		1				
<i>Kluyvera ascorbata</i>	1		1				
<i>Raoultella ornithinolytica</i>		1	1				
全体	27	24	39	7	2	2	1

課題 2. 本邦における臨床分離カルバペネム耐性肺炎桿菌の耐性機構と遺伝学的特徴の解明

(1) カルバペネマーゼ産生肺炎桿菌の耐性機構の解明

本邦におけるカルバペネム耐性肺炎桿菌について詳細は不明であることから、カルバペネマーゼ産生肺炎桿菌 104 株についてその耐性機構を明らかにした (表 5)。いずれも IMP 型であり、IMP-6 産生株がそのほとんどを占めていた。プラスミド型は多くが IncN を保有しており、その約 9 割が伝達可能であった。大腸菌と同様の特徴があり、プラスミドが伝播することで拡がった可能性が示唆された。

表5. カルバペネマーゼ産生肺炎桿菌の特徴

カルバペネマーゼ (株数)	IncN保有株	伝達性
IMP-1 (21)	12	9/21
IMP-6 (83)	80	76/83
Total (104)	92	85/104



(2) カルバペネマーゼ非産生カルバペネム耐性肺炎桿菌の耐性機構の解明

カルバペネマーゼ非産生カルバペネム耐性肺炎桿菌 19 株について、その耐性機構を明らかにした(表 6)。いずれもカルバペネム、セファマイシン、第 3 世代セファロスポリンに対して耐性を示した。このうち 16 株がポーリン (OmpK35 もしくは OmpK36) を欠損しており、同時に ESBL もしくは AmpC を産生していた。ポーリンの欠損様式は IS などの挿入によるフレームシフトや遺伝子の欠損や挿入、ナンセンス変異などであった。ゲノム型は ST11 や ST23 など多様に型別されたが、優勢な ST は認められなかった。

表6. カルバペネマーゼ非産生カルバペネム耐性肺炎桿菌のMIC

Number of strain	Resistance genes*	MIC range (μg/ml)				
		TZP	CPDX	CMZ	IPM	MEPM
12	ESBL	64->256	4->256	16->256	0.5-16	1-16
6	AmpC	4->256	32->256	256->256	2-16	1-8
1	AmpC, ESBL	64	>256	>256	2	4

\* ESBLはSHV型もしくはCTX-M型を含む

AmpCがプラスミド性AmpCのCMY-2もしくはDHA-1を含む

(3) カルバペネム耐性肺炎桿菌のゲノム型別や病原因子など遺伝学的特徴の解明

莢膜型別 (K1 や K2) や病原因子 (*rmpA*, *rmpA2*, *iroN*, *iutA*) について調べたところ、約 4 割が何かしらの病原因子を含む高病原性肺炎桿菌であることが判った。カルバペネマーゼ産生株とカルバペネマーゼ非産生株とも多様なゲノム型に分類され、病原因子の保有状況も同様であることから、今後の動向にも注意が必要である。

課題 3. カルバペネマーゼ産生菌の検出法の解明

(1) 本邦での分離頻度の高い IMP 型カルバペネマーゼについて、その亜型である IMP-1 と IMP-6 を迅速に検出できる方法の開発

IMP-1 (214 Ser (AGT)) と IMP-6 (214 Gly (GGT)) はわずか 1 アミノ酸の違いによりカルバペネムへの基質特異性が異なっている。従来であれば DNA シークエンス解析により決定するところであるが、迅速に検出・識別出来る方法として Multiplex ARMS-PCR 法を開発した。4 本のプライマーを混合させることでそれぞれ特異的に反応し図 2 に示されるように異なるバンドサイズを得ることができた。臨床現場での耐性菌検査や疫学解析において有効だと思われる。

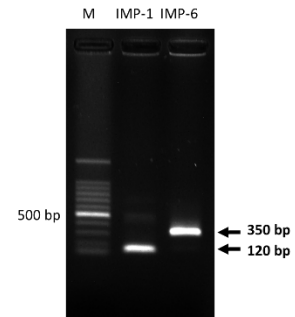


図2. Multiplex ARMS-PCR によるIMP遺伝子の型別

(2) NmcA 型カルバペネマーゼを検出できる LAMP 法ならびにディスク法の開発

NmcA 型カルバペネマーゼを検出する LAMP 法のプライマーを常法に従い設計した。3 通り設計したうちの 1 つが図 3 のように迅速に検出することができた。最速 15 分で検出可能であり、検出感度も高かった。同様のカルバペネマーゼ遺伝子を試験したが、偽陽性を生じることもなく特異度も高かった。

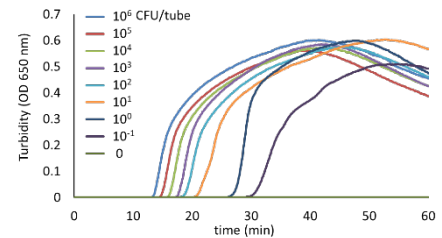


図3. LAMP法によるNmcA遺伝子の検出

課題 1 (2) で得られた情報よりディスク法を応用した検出法を開発した。NmcA 産生株はカルバペネマーゼとしてカルバペネムに耐性を示すと同時にカルバペネムによってその産生量が誘導される特徴がある。第 3 世代セファロスポリンの CPDX に対しては従来感性を示すが、MEPM を近接することによる誘導作用で酵素産生量が増大し、CPDX に対して耐性を示す特徴を利用し、図 4 のように薬剤ディスクを配置した。NmcA 産生株は阻止円の変形が認められたが、その他のカルバペネマーゼ産生株については変化がなかった。本法によりカルバペネム耐性菌の検出ならびに NmcA 産生株の識別が可能になり検査室での検出が容易になると思われる。

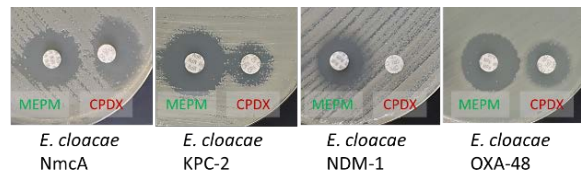


図4. ディスク法によるNmcA産生株の検出

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Eda Ryotaro, Nakamura Masaki, Takayama Yoko, Maehana Shotaro, Nakano Ryuichi, Yano Hisakazu, Kitasato Hidero	4. 巻 26
2. 論文標題 Trends and molecular characteristics of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Japanese hospital from 2006 to 2015	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 667 ~ 671
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.jiac.2020.02.002">https://doi.org/10.1016/j.jiac.2020.02.002</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Yuki, Nazareno Pearl Joy, Nakano Ryuichi, Mondoy Melisa, Nakano Akiyo, Bugayong Mark Philip, Bilar Josie, Perez Mauricio, Medina Emerald Julian, Saito-Obata Mariko, Saito Mayuko, Nakashima Kazutoshi, Oshitani Hitoshi, Yano Hisakazu	4. 巻 86
2. 論文標題 Environmental Presence and Genetic Characteristics of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae from Hospital Sewage and River Water in the Philippines	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Applied and Environmental Microbiology	6. 最初と最後の頁 e01906-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/AEM.01906-19	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 該当する
1. 著者名 Kakuta Naoki, Nakano Ryuichi, Nakano Akiyo, Suzuki Yuki, Tanouchi Ayako, Masui Takashi, Horiuchi Saori, Endo Shiro, Kakuta Risako, Ono Yasuo, Yano Hisakazu	4. 巻 40
2. 論文標題 A Novel Mismatched PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Assay for Rapid Detection of gyrA and parC Mutations Associated With Fluoroquinolone Resistance in Acinetobacter baumannii	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Laboratory Medicine	6. 最初と最後の頁 27 ~ 27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3343/alm.2020.40.1.27	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayakawa Kayoko, Nakano Ryuichi, Hase Ryota, Shimatani Michitsugu, Kato Hideaki, Hasumi Jumpei, Doi Asako, Sekiya Noritaka, Nei Takahito, Okinaka Keiji, Kasahara Kei, Kurai Hanako, Nagashima Maki, Miyoshi-Akiyama Tohru, Kakuta Risako, Yano Hisakazu, Ohmagari Norio	4. 巻 75
2. 論文標題 Comparison between IMP carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and non-carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a multicentre prospective study of the clinical and molecular epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Antimicrobial Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 697 ~ 708
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jac/dkz501	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yaita Kenichiro, Gotoh Kenji, Nakano Ryuichi, Iwashita Jun, Sakai Yoshiro, Horita Rie, Yano Hisakazu, Watanabe Hiroshi	4. 巻 20
2. 論文標題 Biofilm-Forming by Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae May Contribute to the Blood Stream Infection	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5954 ~ 5954
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20235954	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa Yoshihiko, Nakano Ryuichi, Kasahara Kei, Mizuno Tomoki, Hirai Nobuyasu, Nakano Akiyo, Suzuki Yuki, Kakuta Naoki, Masui Takashi, Yano Hisakazu, Mikasa Keiichi	4. 巻 14
2. 論文標題 Comparison of the inoculum size effects of antibiotics on IMP-6 -lactamase-producing Enterobacteriaceae co-harboring plasmid-mediated quinolone resistance genes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0225210
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0225210	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 Suzuki Yuki, Endo Shiro, Nakano Ryuichi, Nakano Akiyo, Saito Kyoichi, Kakuta Risako, Kakuta Naoki, Horiuchi Saori, Yano Hisakazu, Kaku Mitsuo	4. 巻 63
2. 論文標題 Emergence of IMP-34- and OXA-58-Producing Carbapenem-Resistant Acinetobacter colistiniresistens	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Antimicrobial Agents and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 e02633-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/AAC.02633-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa Yoshihiko, Kasahara Kei, Lee Sang-Tae, Ito Takamitsu, Hasegawa Hideo, Hirose Sachie, Santo Shigeru, Yoshida Atsushi, Nakano Ryuichi, Yano Hisakazu, Mikasa Keiichi	4. 巻 24
2. 論文標題 Rat-Bite Fever in Human with Streptobacillus notomytis Infection, Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Emerging Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 1377 ~ 1379
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.3201/eid2407.171580	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ando Sayaka, Nakano Ryuichi, Kuchibiro Tomokazu, Yamasaki Katsutoshi, Suzuki Yuki, Nakano Akiyo, Mizuno Tomoki, Kasahara Kei, Yano Hisakazu	4. 巻 50
2. 論文標題 Emergence of VIM-2-producing Citrobacter freundii in Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 862 ~ 863
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1080/23744235.2018.1498592">https://doi.org/10.1080/23744235.2018.1498592</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito Kyoichi, Nakamura Kiwamu, Harada Rie, Nakano Ryuichi, Yano Hisakazu, Kanemitsu Keiji	4. 巻 72
2. 論文標題 Indication of Minimum Inhibitory Concentration of $\beta$ -Lactam Antimicrobials for the Primary Extraction of IMP-Producing <i>Enterobacteriaceae</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 68 ~ 70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2018.297">https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2018.297</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakano Ryuichi, Nakano Akiyo, Abe Michiko, Nagano Noriyuki, Asahara Miwa, Furukawa Taiji, Ono Yasuo, Yano Hisakazu, Okamoto Ryoichi	4. 巻 5
2. 論文標題 Prevalence and mechanism of fluoroquinolone resistance in clinical isolates of <i>Proteus mirabilis</i> in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e01291 ~ e01291
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01291">https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01291</a>	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 Nakano Akiyo, Nakano Ryuichi, Suzuki Yuki, Saito Kyoichi, Kasahara Kei, Endo Shiro, Yano Hisakazu	4. 巻 38
2. 論文標題 Rapid Identification of blaIMP-1 and blaIMP-6 by Multiplex Amplification Refractory Mutation System PCR	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Laboratory Medicine	6. 最初と最後の頁 378 ~ 380
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.3343/alm.2018.38.4.378">https://doi.org/10.3343/alm.2018.38.4.378</a>	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 Nakano Ryuichi, Nakano Akiyo, Yano Hisakazu, Okamoto Ryoichi	4. 巻 2
2. 論文標題 Role of AmpR in the High Expression of the Plasmid-Encoded AmpC $\beta$ -Lactamase CFE-1	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 mSphere	6. 最初と最後の頁 e00192-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1128/mSphere.00192-17	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27件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 中野竜一、中野章代、山田友紀、成田和也、鈴木由希、諏訪部章、矢野寿一
2. 発表標題 誘導実験にともなうカルバペネマーゼNmcAの発現機構の変化
3. 学会等名 第93回日本細菌学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中野竜一、中野章代、鈴木由希、山田友紀、諏訪部章、矢野寿一
2. 発表標題 Enterobacter属のカルバペネム耐性機構を識別するディスク法の開発
3. 学会等名 第31回日本臨床微生物学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中野竜一、中野章代、鈴木由希、水野友貴、山田友紀、諏訪部章、矢野寿一（4/
2. 発表標題 カルバペネム耐性Enterobacter属の耐性機構を識別するディスク法の開発
3. 学会等名 第67回日本化学療法学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野竜一、中野章代、山田友紀、成田和也、鈴木由希、諏訪部章、矢野寿一
2. 発表標題 カルバペネマーゼNmcA産生株の誘導機構の解明
3. 学会等名 第92回日本細菌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野竜一、中野章代、山田友紀、鈴木由希、諏訪部章、矢野寿一
2. 発表標題 カルバペネマーゼNMC-A産生株の耐性機構解明ならびに検出法の構築
3. 学会等名 第93回日本感染症学会総会・学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野竜一
2. 発表標題 パネルディスカッション4 GNR耐性菌検査法を極める；腸内細菌科細菌 AmpC産生菌の検出を極める
3. 学会等名 第31回日本臨床微生物学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中野竜一
2. 発表標題 シンポジウム4 薬剤耐性菌の分子疫学; One Healthの視点から見た薬剤耐性菌の分子疫学
3. 学会等名 第67回日本化学療法学会西日本支部総会、第89回日本感染症学会西日本地方会学術集会、第62回日本感染症学会中日本地方会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野竜一
2. 発表標題 シンポジウム16 院内感染 病院から病院外へ 病院外から病院へ; 家畜とヒトにおけるESBL産生菌の現状
3. 学会等名 第68回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第66回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野竜一
2. 発表標題 耐性菌について
3. 学会等名 日臨技近畿支部微生物部門研修会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野竜一、中野章代、山田友紀、成田和也、鈴木由希、諏訪部章、矢野寿一
2. 発表標題 カルバペネマーゼNMC-A産生株検出のためのディスク法ならびにLAMP法の検討
3. 学会等名 第30回日本臨床微生物学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野竜一、山田友紀、中野章代、鈴木由希、諏訪部章、矢野寿一
2. 発表標題 NMC-A産生株の調節遺伝子に関わる高度耐性機構の解明
3. 学会等名 第66回日本化学療法学会西日本支部総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野竜一、鈴木由希、田内絢子、矢野寿一
2. 発表標題 フィリピンの環境水より分離されたカルバペネム耐性グラム陰性桿菌の解析
3. 学会等名 第38回近畿腸管微生物研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野竜一、山田友紀、中野章代、鈴木由希、諏訪部章、矢野寿一
2. 発表標題 カルバペネマーゼNMC-A産生株の発現調節機構の解明
3. 学会等名 第66回日本化学療法学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 R Nakano, A Nakano, Y Yamada, K Narita, Y Suzuki, A Suwabe, H Yano
2. 発表標題 Development of loop-mediated isothermal amplification and double-disk synergy test for the detection of NmcA-producing <i>Enterobacter cloacae</i> complex
3. 学会等名 29th European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野竜一
2. 発表標題 耐性菌シンポジウム B : 耐性メカニズムにみる細菌の進化 -ラクタム薬耐性菌の耐性獲得機構
3. 学会等名 第30回日本臨床微生物学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野竜一
2. 発表標題 薬剤耐性グラム陰性桿菌の最近の話題～カルバペネマーゼ新規検出法を含めて～
3. 学会等名 第30回日本臨床微生物学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野竜一
2. 発表標題 耐性菌対策に細菌学的検査をどう生かすか 基礎教室の立場から - グラム陰性菌について -
3. 学会等名 第61回日本臨床検査医学会近畿支部総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野竜一
2. 発表標題 カルバペネム耐性腸内細菌科 細菌対策 UP TODATE カルバペネム耐性遺伝子の拡散機構
3. 学会等名 第66回日本化学療法学会西日本支部総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野竜一、山田友紀、中野章代、鈴木由希、諏訪部章、矢野寿一
2. 発表標題 カルバペネマーゼNMC-A産生株の発現調節機構の解明
3. 学会等名 第66回日本化学療法学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野竜一、山田友紀、中野章代、成田和也、鈴木由希、諏訪部章、矢野寿一
2. 発表標題 本邦で分離されたカルバペネマーゼNMC-A産生株の酵素産生機構の解明
3. 学会等名 第91回日本細菌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野竜一、中野章代、斎藤恭一、鈴木由希、安藤冴佳、水野友貴、遠藤史郎、斧康雄、矢野寿一
2. 発表標題 ミスマッチPCR-RFLP法による多剤耐性アシネトバクターの迅速検出法の開発
3. 学会等名 第29回日本臨床微生物学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野竜一、山田友紀、中野章代、成田和也、斎藤恭一、鈴木由希、諏訪部章、矢野寿一
2. 発表標題 本邦にて臨床より分離されたカルバペネマーゼNMC-A産生Enterobacter cloacaeについて
3. 学会等名 第65回日本化学療法学会西日本支部総会 合同学会
4. 発表年 2017年



1. 発表者名 R Nakano, A Nakano, Nishisouzu, K Hikosaka, K Kasahara, Y Ono, H Yano
2. 発表標題 Molecular characteristics of CTX-M $\beta$ -lactamase-producing <i>Escherichia coli</i> isolated from livestock and human patients in Japan
3. 学会等名 ECCMID2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 R Nakano, Y Yamada, A Nakano, S Ando, T Mizuno, Y Suzuki, K Narita, A Suwabe, H Yano
2. 発表標題 Analysis of NMC-A expression in <i>Enterobacter ludwigii</i> first isolated in Japan
3. 学会等名 ECCMID2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 R Nakano, A Nakano, K Kasahara, Y Suzuki, S Ando, T Mizuno, K Mikasa, H Yano
2. 発表標題 Emergence of multidrug-resistant <i>Escherichia coli</i> strain harbouring blaCTX-M-55, rmtB, and fosA3-encoding plasmid isolated from a food poisoning patient in Japan
3. 学会等名 ECCMID2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野 竜一
2. 発表標題 薬剤耐性菌について
3. 学会等名 近畿臨床微生物講習会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中野 竜一
2. 発表標題 薬剤耐性菌、その問題点と識別について
3. 学会等名 平成29年度第1回感染制御部門研修会（招待講演）
4. 発表年 2017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
研究分担者	矢野 寿一  (Yano Hisakazu)  (20374944)	奈良県立医科大学・医学部・教授   (24601)	
研究分担者	遠藤 史郎  (Endo Shiro)  (40614491)	国際医療福祉大学・国際医療福祉大学塩谷病院・教授   (32206)	