

令和 3 年 5 月 7 日現在

機関番号：32659

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06797

研究課題名(和文) 高病原性MRSAによる感染症の早期診断・治療を目指した網羅的分子疫学研究

研究課題名(英文) Molecular epidemiological analysis designed to diagnosis and treatment for infectious diseases caused by highly pathogenic MRSA

研究代表者

中南 秀将 (Nakaminami, Hidemasa)

東京薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：20548515

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：2017年～2019年に東京都多摩地域に位置する11病院、2013年から2017年に日本各地の20皮膚科クリニックにおいて分離されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)を解析し、以下のことを明らかにした。

強力な白血球破壊毒素Panton-Valentine leukocidin(PVL)を産生する強毒型MRSAの遺伝子型を決定したところ、非常に多様性に富んだ菌株が海外から流入していることが明らかとなった。このうち、家畜関連MRSAとして問題となっている遺伝子型の菌株を本邦で初めて同定した。さらに、市中の皮膚感染症患者において、PVL陽性MRSAの分離率が上昇していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果によって、重症感染症を起こしやすいPVL陽性MRSAの分子疫学的特徴と抗菌薬感受性が明らかになった。また、病院と市中では、PVL陽性MRSAの流行型がわずかに異なることが示唆された。本研究では、入院するほどの重症感染症を引き起こすPVL陽性MRSAに共通した病原性因子を特定することはできなかった。しかし、本研究期間である2018年から2020年の3年間で多くのPVL陽性MRSAを収集できたため、これらの菌株をゲノムレベルで解析し、病院内で増加しているPVL陽性CA-MRSAの分子疫学的特徴を解明できれば、重症感染症を起こしやすい菌株の早期発見に繋がると考える。

研究成果の概要(英文)：I analyzed methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) isolated from 11 hospitals located on Tama district, Tokyo, Japan, and 20 dermatology clinics throughout Japan and revealed the following findings.

When genotypes of highly virulent MRSA producing a potent pore-forming toxin, Panton-Valentine leukocidin (PVL), were determined, diverse strains which entered from abroad were found. Among them, a problematic strain called as a livestock-associated MRSA was firstly identified in Japan.

Furthermore, isolation rate of PVL-positive MRSA in patients with skin infections in community clinics has been increasing in Japan.

研究分野：臨床微生物学

キーワード：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

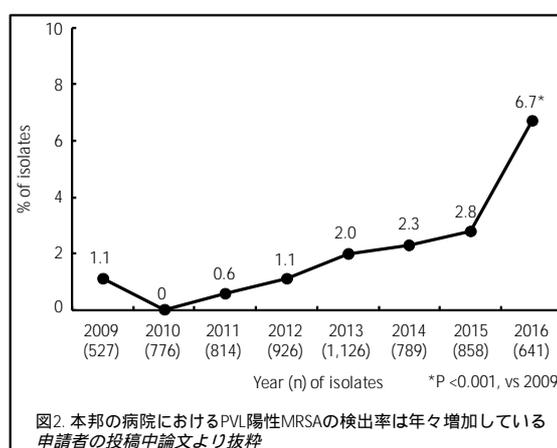
### 1. 研究開始当初の背景

黄色ブドウ球菌は、ヒトの皮膚や鼻腔内の代表的な常在菌の一種である。その一方で、病院などの易感染者が多く入院する医療施設において、院内感染(アウトブレイク)を起こす主要な細菌でもある。また、毒素のデパートとも呼ばれ、健康なヒトに対しても、皮膚感染症をはじめ様々な化膿性疾患を惹起する。

黄色ブドウ球菌が産生する毒素として、食中毒の原因となるエンテロトキシン、小児の代表的な皮膚感染症である伝染性膿痂疹(トビヒ)の原因となる表皮剥脱毒素、毒素性ショック症候群の原因となる毒素性ショック症候群毒素、壊死性肺炎や壊死性筋膜炎の原因となる白血球破壊毒素(Panton-Valentine leukocidin: PVL)などが知られている。このうち、PVL陽性の黄色ブドウ球菌は、最も重篤な感染症に関与すると考えられている。特に、PVL陽性黄色ブドウ球菌のうち、薬剤耐性菌であるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)による感染症は難治化しやすい。

MRSAは、主に入院患者から分離されるHA-MRSAと、市中の外来患者や健康なヒトから分離されるCA-MRSAに大別される。HA-MRSAは、抗菌薬の使用頻度が高い(選択圧が高い)病院内に定着しているため、多剤高度耐性を示す。一方、CA-MRSAは抗菌薬の選択圧が低い市中に存在するため、HA-MRSAよりも抗菌薬感受性が高い。しかし、CA-MRSAはHA-MRSAよりも皮膚への定着能が高く、PVL陽性株が多いことから、病原性が高いとされている。近年、PVL陽性CA-MRSAの病院内への流入が世界中で大きな問題となっている。

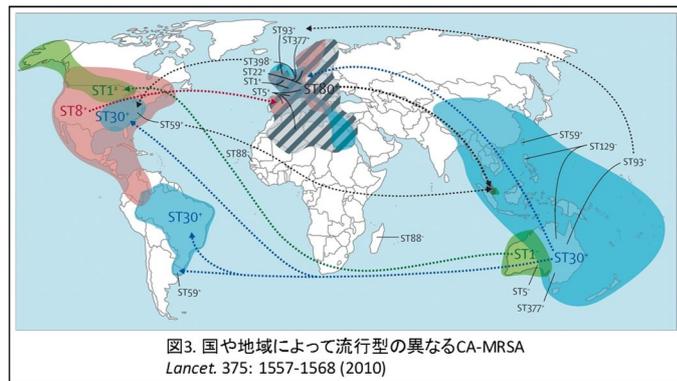
これまで、本邦ではPVL陽性CA-MRSAの分離頻度は非常に低く、問題視されることはほとんどなかった。しかし、近年、本邦においてもPVL陽性CA-MRSAによる重症感染症例が報告され、その動向が注目されている(図1)<sup>3)</sup>。申請者は、東京都多摩感染制御ネットワークに参画し、当該地域の11病院で分離されるHA-MRSAのサーベイランスを行っている。その結果、PVL陽性MRSAの検出率が、2009年ではわずか1.1%であったのに対し、2016年では6.7%と有意に増加していることが分かった。さらに、2013年に全国の皮膚科クリニックから得られたCA-MRSAのサーベイランスを行った結果、PVL陽性株の検出率(13.2%)が過去の報告よりも有意に高いことが分かった。このように、申請者のこれまでの研究によって、本邦においてもPVL陽性CA-MRSAが増加し、病院内への流入が増加していることが強く示唆さ



れた。

MRSA の分子疫学的特徴は、様々な手法を用いることで識別できるようになった。これによって、CA-MRSA は、国や地域によって流行型が異なることが分かってきた(図3)。つまり、CA-MRSA の分子疫学的特徴が分かれば、その菌株の由来を推測することができる。現在、世界中で最も流行している高病原性の PVL 陽性 CA-MRSA は USA300 clone と称され、ACME type I- sequence type( ST ) 8-SCCmec type IV ( ST8-IV ) の特徴を有する。しかし、本邦の病院内で増加している PVL 陽性 CA-MRSA の分子疫学的特徴は明らかとなっていない。

本邦で使用されている抗 MRSA 薬の多くが注射薬である。そのため、MRSA による感染症が疑われる場合でも、市中のクリニックでは抗 MRSA 薬で治療することが難しい。市中のクリニックで様々な抗菌薬を投与され、それでも治療できなかった高病原性 MRSA による感染症患者は、最終的に病院に入院するケースが多いと考えられる。したがって、病院内に流入した PVL 陽性 CA-MRSA は、すでに多剤高度耐性化していることが予想される。



## 2. 研究の目的

本研究の目的は、重症感染症を起こしやすい PVL 陽性 CA-MRSA の分子疫学的特徴と抗菌薬感受性を明らかにすることである。申請者は、これまでに、本邦の市中に存在する PVL 陽性 CA-MRSA は、USA300 clone だけでなく、ACME negative-ST8-IV や ACME negative-ST59-V の特徴を有することを明らかにした。さらに、大学病院を受診した難治性重症感染症患者から分離された PVL 陽性 CA-MRSA は、USA300 clone、ACME negative-ST30-IV、ACME negative-ST30-I、ACME negative-ST1-V、ACME negative-ST59-V の特徴を有することを明らかにしている。これらの研究成果は、市中と病院内では PVL 陽性 CA-MRSA の分子疫学的特徴が異なることを示している。また、入院するほどの重症感染症を引き起こす PVL 陽性 MRSA には、何らかの共通した分子疫学的特徴があると考えられた。したがって、病院内で増加している PVL 陽性 CA-MRSA の分子疫学的特徴を解明できれば、重症感染症を起こしやすい菌株の早期発見に繋がると考えた。

通常、病院内は抗菌薬の選択圧が高く、薬剤感受性株よりも耐性株の方が優位に生存し、定着することが知られている。そのため、病院内では CA-MRSA は淘汰されると考えられてきた。しかし、市中のクリニックで多剤高度耐性化した PVL 陽性 MRSA は、病院内においても定着できる可能性が高く、高病原性かつ多剤耐性を示す CA-MRSA による深刻なアウトブレイクの発生が危惧される。これを防ぐためには、PVL 陽性 CA-MRSA による感染症患者を市中のクリニックにおいて確実に治療し、高病原性 MRSA を病院内に持ち込ませないことが重要である。本研究では、PVL 陽性 CA-MRSA の抗菌薬感受性マップ(アンチバ

イオグラム)を作成することによって、高病原性 MRSA に最も有効な抗菌薬を明らかにする。

本邦において、上述のような発想・目的で実施されている MRSA の研究はない。また、申請者は、すでに多くの臨床分離 PVL 陽性 CA-MRSA を保有している。以上の理由から、本研究は、学術的独自性および創造性に富み、得られる研究成果は高病原性 CA-MRSA による重症感染症の流行を抑制し、抗菌薬の適正使用に繋がるのが強く期待できる。

### 3. 研究の方法

申請者は、2009 年から、東京都多摩感染制御ネットワークに参加する 11 基幹病院(東京医科大学八王子医療センター、日本医科大学多摩永山病院、東海大学医学部付属八王子病院、国立病院機構災害医療センター、公立阿伎留医療センター、青梅市立総合病院、公立福生病院、日野市立病院、立川相互病院、武蔵村山病院、武蔵野赤十字病院)において入院患者から分離された MRSA を収集している。さらに、2013 年から、北海道、東北(青森、秋田)、北陸(新潟)関東(東京、千葉、神奈川)、東海(静岡)、四国(香川)、九州(熊本)、沖縄の皮膚科クリニックを受診した外来患者の MRSA を収集している。本研究では、これまでに収集した PVL 陽性 MRSA に加え、2020 年までに収集する菌株について、各種抗菌薬感受性試験( $\beta$ -ラクタム系薬、マクロライド系薬、リンコマイシン系薬、アミノグリコシド系薬、ニューキノロン系薬、テトラサイクリン系薬、抗 MRSA 薬)、各種抗菌薬耐性遺伝子の検出( $\beta$ -ラクタム系薬耐性遺伝子、マクロライド・リンコマイシン系薬耐性遺伝子、アミノグリコシド系薬耐性遺伝子、テトラサイクリン系薬耐性遺伝子)、各種病原性因子の検出(PVL 遺伝子、毒素性ショック症候群毒素遺伝子、表皮剥脱毒素遺伝子、エンテロトキシン遺伝子、接着因子、溶血毒素遺伝子)、Multilocus sequence typing (MLST)、Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)、arginine catabolic mobile element (ACME) typing、Staphylococcal cassette chromosome (SCC) *mec* typing などを行い、網羅的な分子疫学解析を行う。

### 4. 研究成果

2017 年～2019 年に東京都多摩地域に位置する 11 病院、2013 年から 2017 年に日本各地の 20 皮膚科クリニックにおいて分離された MRSA を解析し、以下のことを明らかにした。

PVL を産生する強毒型 MRSA の遺伝子型を決定したところ、非常に多様性に富んだ菌株が海外から流入していることが明らかとなった。このうち、家畜関連 MRSA として問題となっている遺伝子型の菌株を本邦で初めて同定した。さらに、市中の皮膚感染症患者において、PVL 陽性 MRSA の分離率が上昇していることを明らかにした。

本研究結果によって、重症感染症を起こしやすい PVL 陽性 MRSA の分子疫学的特徴と抗菌薬感受性が明らかになった。また、病院と市中では、PVL 陽性 MRSA の流行型がわずかに異なることが示唆された。本研究では、入院するほどの重症感染症を引き起こす PVL 陽性 MRSA に共通した病原性因子を特定す

ることはできなかった。しかし、本研究期間である 2018 年から 2020 年の 3 年間で多くの PVL 陽性 MRSA を収集できたため、これらの菌株をゲノムレベルで解析し、病院内で増加している PVL 陽性 CA-MRSA の分子疫学的特徴を解明できれば、重症感染症を起こしやすい菌株の早期発見に繋がると考える。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nakaminami Hidemasa	4. 巻 26
2. 論文標題 Arthritis Caused by MRSA CC398 in a Patient without Animal Contact, Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Emerging Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 3015 ~ 3105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3201/eid2612.203738	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 Nakaminami Hidemasa, Miyata Toshiko, Yokomori Shiho, Fusegawa Takehito, Murata Shinya, Noguchi Norihisa	4. 巻 23
2. 論文標題 Detection of Panton?Valentine leukocidin-positive livestock-associated Staphylococcus aureus CC398 clone in a Vietnamese patient in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Global Antimicrobial Resistance	6. 最初と最後の頁 72 ~ 73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jgar.2020.08.010	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 Nakaminami Hidemasa, Kawasaki Hinako, Takadama Shunsuke, Kaneko Hiroshi, Suzuki Yoshiko, Maruyama Hiroshi, Noguchi Norihisa	4. 巻 74
2. 論文標題 Possible Dissemination of a Panton-Valentine Leukocidin?Positive Livestock-Associated Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> CC398 Clone in Tokyo, Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 82 ~ 84
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2020.345	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 Takadama Shunsuke, Nakaminami Hidemasa, Kaneko Hiroshi, Noguchi Norihisa	4. 巻 75
2. 論文標題 A novel community-acquired MRSA clone, USA300-LV/J, uniquely evolved in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Antimicrobial Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 3131 ~ 3134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jac/dkaa313	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 Nakaminami Hidemasa, Ozawa Kazuya, Sasai Nao, Ikeda Masami, Nemoto Osamu, Baba Naoko, Matsuzaki Yasushi, Sawamura Daisuke, Shimoe Fumiko, Inaba Yoichi, Kobayashi Yoko, Kawasaki Satoru, Ueki Toru, Funatsu Sakae, Shirahama Shigeho, Noguchi Norihisa	4. 巻 47
2. 論文標題 Current status of Pantone?Valentine leukocidin positive methicillin resistant Staphylococcus aureus isolated from patients with skin and soft tissue infections in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 1280 ~ 1286
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15506	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 Nakaminami Hidemasa, Hirai Yuji, Nishimura Hirotsuke, Takadama Shunsuke, Noguchi Norihisa	4. 巻 26
2. 論文標題 Arthritis Caused by MRSA CC398 in a Patient without Animal Contact, Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Emerging Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 795 ~ 797
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3201/eid2604.190376	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 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 横森 詩穂, 高玉 駿介, 中南 秀将
2. 発表標題 日本と韓国で分離されたPanton-Valentine leukocidin陽性MRSAの流行状況と分子疫学的特徴の比較
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中南 秀将, 野口 雅久
2. 発表標題 皮膚感染症患者における強毒型メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の流行状況
3. 学会等名 第119回日本皮膚科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川崎 日菜子, 中南 秀将, 高玉 駿介, 福田 夏稀, 野口 雅久
2. 発表標題 病院で分離されるMRSAの流行型と抗菌薬感受性の推移
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金井 美樹, 中南 秀将, 小澤 和也, 野口 雅久
2. 発表標題 市中における強毒型MRSAの特徴と流行状況
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中南 秀将, 高玉 駿介, 野口 雅久
2. 発表標題 本邦で分離されるMRSAの変遷
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 Hidemasa Nakaminami, Shunsuke Takadama, Takeaki Wajima, and Norihisa Noguchi
2. 発表標題 Dissemination of diverse Panton-Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Japan
3. 学会等名 31st International Congress of Antimicrobial Chemotherapy (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中南 秀将, 野口 雅久
2. 発表標題 市中におけるUSA300 cloneの流行状況
3. 学会等名 第66回日本化学療法学会東日本支部総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高玉 駿介, 中南 秀将, 野口 雅久
2. 発表標題 PVL陽性MRSAの流行と院内型MRSAの変化
3. 学会等名 第31回微生物シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中南 秀将, 野口 雅久
2. 発表標題 MRSAの変遷 - 10年間で大きく変化した日本の現状 -
3. 学会等名 MRSAフォーラム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高玉 駿介, 中南 秀将, 野口 雅久
2. 発表標題 本邦で分離されたPVL陽性MRSAの遺伝子型とその特徴
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 高玉駿介、中南秀将、野口雅久
2. 発表標題 本邦で分離されたPVL陽性MRSAの遺伝子型とその特徴
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 小澤和也、中南秀将、笹井菜央、宮嶋英里、野口雅久
2. 発表標題 日本の市中におけるPVL陽性MRSAの流行状況
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中南秀将、高玉駿介、野口雅久
2. 発表標題 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）の変化 - 病院内で急増する市中型MRSA -
3. 学会等名 第30回微生物シンポジウム
4. 発表年 2018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			
韓国	Seoul National University			