

令和 5 年 6 月 29 日現在

機関番号：34438

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16658

研究課題名（和文）血流感染症関連大腸菌を対象とした新規パンデミッククローンの探索と全ゲノム解析

研究課題名（英文）Investigation of a new pandemic clone for bloodstream infection-associated Escherichia coli.

研究代表者

大瀧 博文 (Hirofumi, Ohtaki)

関西医療大学・保健医療学部・准教授

研究者番号：00733172

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は血流感染症関連Escherichia coliの424株を用いてO25・ST131クローンとO75・ST1193クローンを中心に、ESBL産生株、キノロン耐性株の占める割合およびそれらの遺伝学的背景を調査した。特に、O75・ST1193クローンは検出した全株でキノロン耐性を認め、O25・ST131クローンに次ぐ流行クローンになる可能性が推察された。これまでO75・ST1193クローンを対象とした解析は少なく、今後の疫学に大きく寄与するデータと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでE. coliのパンデミッククローンの解析はESBL産生菌、特に、O25・ST131クローンに関して盛んに行われてきた。今後のパンデミッククローンの移り変わりを明確に推測することは困難であるが、何らかの薬剤耐性を保有しているクローンは抗菌薬の選択を受けやすいため新規パンデミッククローンの候補としての可能性を秘めているものと思われる。今回着目したO75・ST1193クローンは現時点で感染症例に占める割合は顕著とは言えないが、キノロン系抗菌薬に対して全株で耐性を示したため、引き続き注視すべき対象と考えられる。今後の耐性菌の流行を予測するうえでも、学術的、社会的意義は大きいと言える。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the percentage of O25/ST131 and O75/ST1193 clones and drug resistance factors in 424 bloodstream infection-associated Escherichia coli strains. Particularly, the O75/ST1193 clone showed resistance to quinolone antimicrobial agents in all strains, suggesting the possibility of it becoming a new epidemic clone. Since few analyses have been performed on this clone, the data were considered to contribute to the epidemiology of drug-resistant E. coli.

研究分野：臨床微生物学

キーワード：Escherichia coli 薬剤耐性菌 ST1193

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大腸菌に代表される腸内細菌科細菌による感染症の対策は、近年の薬剤耐性菌の多様化と相まって非常に重要な課題となっており、分子疫学解析の重要性も増してきている。特に、基質拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) の産生に加えキノロン系薬にも耐性を示す大腸菌が世界的なパンデミッククローン (O25・ST131) として以前より注目されており、これまでにその詳細が研究されてきた。近年、O75・ST1193 クローンの大腸菌が高頻度にキノロン耐性を獲得している新たなパンデミッククローンの可能性があるのと報告が米国の研究グループよりなされた。わが国において、このクローンを含めた新規パンデミッククローンの研究報告は無く、これらの詳細な解析は今後の大腸菌感染症対策において極めて有益な知見になると考えられる。

2. 研究の目的

菌血症は本来無菌である血液中に細菌が認められる状態であり、炎症の遷延により敗血症状態に移行し、重篤な経過を辿る可能性のある極めて深刻な病態である。大腸菌は菌血症患者の血液から検出されるケースも多く、厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) の集計においても、血液培養検体における検出菌のトップに挙げられている。

近年、腸内細菌科細菌における基質拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌やカルバペネマーゼ産生菌、キノロン耐性菌などが大きな問題となっている。特に、ESBL 産生大腸菌においては 2000 年以前に 1% 以下であった検出率が現在では約 20% と推定され、また、大腸菌感染症で頻繁に処方されるキノロン系抗菌薬に対する耐性菌も増加している。ESBL 産生遺伝子はプラスミドに存在しているため、他菌に伝達可能であり、どのタイプの大腸菌においても保有する可能性があるが、これまでの研究である特定のクローン (O 抗原: O25, Sequence type: ST131) での保有が極めて顕著であることが明らかになっている (Nicolas-Chanoine MH. et al. Clin Microbiol Rev. 27: 543-574, 2014)。加えて、このタイプの株の多くは同時にキノロン系抗菌薬に対して耐性を獲得していることが知られている。これらの詳細な研究は欧米を中心に実施されてきており、ST131 の中でも CTX-M-15 型 ESBL を産生し、fimH タイプ 30 を有する H30Rx サブクローンが世界的に主要なタイプとされている。しかし、本科学研究費にてわが国の状況を検討した京都大学・松村らのグループは、これらを含んだ 3 種類のサブクローンに分かれることを報告した。すなわち、わが国では世界的に流行しているサブクローンの拡散もあるものの、それら以外のサブクローンも一定の割合を占めているとした。これらは、他のクローンに存在しない特異的遺伝子を保有した新規クローンであり、世界的に分布しているパンデミッククローンである可能性も示唆された (Matsumura Y. et al. Antimicrob Agents Chemother. 61, e00179-17, 2017)。

以上のように、わが国における O25・ST131 クローンに対するいくつかの研究報告はあるが、それ以外のクローンに関する研究は非常に少ない。近年、ST131 とは異なる別のクローンの大腸菌 (O75・ST1193) が、キノロン耐性菌におけるメジャークローンの 1 つである可能性が高いことが米国の研究グループから報告された (Tchesnokova VL. et al. Clin Infect Dis. 2018)。このクローンにおける ESBL 産生菌は現時点では少ないものの、高率にキノロン耐性を獲得していることから、詳細な解明が必要であると考えられる。ST131 以外のクローンに関して、わが国での臨床分離株を用いた研究報告はほとんど無いため、今回はこれらの詳細な解析を通じて臨床微生物分野、臨床検査分野の進展に寄与することを目的とし研究を実施した。

3. 研究の方法

今回の調査では、菌血症患者より検出された大腸菌を対象とし、各種疫学マーカーや薬剤耐性因子を中心として遺伝学的解析を実施した。サンプルとして、2009 年から 2018 年までの 10 年間で血液培養ボトルより検出された大腸菌 (424 株) を用いた。

4. 研究成果

2009 年～2018 年の間に収集された血流感染症関連 *Escherichia coli* の 424 株のうち、O25 *E. coli* は 112 株 (26.4%)、O75 *E. coli* は 22 株 (5.2%) 存在していた (Table 1)。O25 *E. coli* は 112 株のうち、93 株が ST131 (ESBL 産生率: 50.5%、キノロン耐性率: 86.0%)、19 株が non-ST131 (ESBL 産生率: 10.5%、キノロン耐性率: 10.5%) であった。O75 *E. coli* は 22 株のうち、13 株が ST1193 (ESBL 産生率: 15.4%、キノロン耐性率: 100%)、9 株が non-ST1193 (ESBL 産生率: 0%、キノロン耐性率: 0%) であった。

Table 1 血流感染関連大腸菌における O 抗原の分布および ESBL 産生菌、キノロン耐性菌の割合

O antigen	2009-2018 (n=424)				Total (%)	ESBL (%)	QNS (%)
	non-ESBL		ESBL				
	QS	QNS	QS	QNS			
O25	28	35	2	47	112 (26.4%)	49 (43.8%)	82 (73.2%)
O1	33	6	0	2	41 (9.7%)	2 (4.9%)	8 (19.5%)
O6	26	0	0	0	26 (6.1%)	0 (0%)	0 (0%)
O2	23	1	2	0	26 (6.1%)	2 (7.7%)	1 (3.8%)
O75	9	11	0	2	22 (5.2%)	2 (9.1%)	13 (59.1%)
O18ab	17	2	0	0	19 (4.5%)	0 (0%)	2 (10.5%)
O4	17	0	0	0	17 (4.0%)	0 (0%)	0 (0%)
O15	9	4	0	0	13 (3.1%)	0 (0%)	4 (30.8%)
O133	10	1	0	0	11 (2.6%)	0 (0%)	1 (9.1%)
O13	8	0	0	0	8 (1.9%)	0 (0%)	0 (0%)
O16	5	0	1	1	7 (1.7%)	2 (28.6%)	1 (14.3%)
O86	3	1	2	1	7 (1.7%)	3 (42.9%)	2 (28.6%)
O44	4	1	0	0	5 (1.2%)	0 (0%)	1 (20.0%)
other type	59	13	1	1	74 (17.5%)	2 (2.7%)	14 (18.9%)
non-type	25	5	1	5	36 (8.5%)	6 (16.7%)	10 (27.8%)
Total	276	80	9	59	424	68 (16.0%)	139 (32.8%)

ESBL: extended-spectrum β -lactamase

QS: quinolone susceptible

QNS: quinolone non-susceptible

ESBL の遺伝子型においては、O25 では CTX-M1 group を 17 株 (M15 : 16 株, M28 ; 1 株), CTX-M9 group を 28 株 (M14 : 6 株, M27 : 22 株) 認めた。O75 株では CTX-M9 group を 2 株 (M14 : 2 株) 認めた。キノロン耐性因子においては、O25・ST131 株でキノロン耐性の 96% が、4 箇所の変異を有しており、いずれも gyrA の S83L および D87N, parC の S80I および E84V であった。O75・ST1193 E. coli においては全株が 3 箇所の変異を有しており、いずれも gyrA の S83L, parC の S80I および E84V であった。O75・ST1193 E. coli においては、全株でキノロン耐性を認める結果となり、キノロン耐性の変異解析においてもすべて同一の変異パターンであった (Table 2)。

Table 2 キノロン耐性決定領域の変異解析

Number of mutations	Mutation sites	O25		O75
		O25・ST131		O75・ST1193
		QS (n=13)	QNS (n=80)	QNS (n=13)
0	gyrA (WT), parC (WT)	9	0	
1	gyrA (S83L), parC (WT)			
	gyrA (D87N), parC (WT)			
	gyrA (D87Y), parC (WT)	2		
	gyrA (D87G), parC (WT)			
2	gyrA (S83L & D87N), parC (WT)		1	
	gyrA (S83L & D87G), parC (WT)			
3	gyrA (S83L), parC (E84G)	1		
	gyrA (S83L & D87N), parC (S80I)		2	13
4	gyrA (S83L), parC (S80I & E84V)	1		
	gyrA (S83L & D87N), parC (S80I & E84V)		77	

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------