

令和 3 年 6 月 29 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23965

研究課題名（和文）大腸菌で最も拡散しているラクタマーゼの水平伝播因子の解明

研究課題名（英文）Mobile genetic element TEM-1 beta-lactamase

研究代表者

野口 太郎（Noguchi, Taro）

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：10847578

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,200,000円

研究成果の概要（和文）：感染症の主たる原因菌である大腸菌で最も多いTEM-1ラクタマーゼの拡散要因を明らかにするために日本の複数の病院から収集した大腸菌のゲノム配列を解析した。大多数の株でトランスポゾンがTEM-1に隣接していたが、ある株ではこの構造がプラスミドと推測される構造内に存在した。このTEM-1を含む構造と相同性の高い構造が遺伝系統の異なる他の株でも見られ、トランスポゾンより大きな可動性遺伝子によりTEM-1が水平伝播している可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細菌感染症治療の中心を担うラクタム薬に耐性を示すラクタマーゼ産生細菌が世界的な脅威となっている。本研究は、そのラクタマーゼの拡散要因の解明に寄与するもので、ラクタマーゼ産生菌拡散の制御に向けた研究への発展が期待できる。

研究成果の概要（英文）：β-lactam has a critical role in treatment of bacterial infections, β-lactamase producing bacteria has become a major public health threat worldwide. To investigate mechanisms underlying spread of TEM-1, the most common β-lactamase in Escherichia coli, we performed genome analysis of E. coli collected from multiple Japanese hospitals. TEM-1 in most isolates was flanked by transposon. In one isolate, TEM-1 with transposon was found in putative plasmid structure. The structure with high similarity was also found in isolates with different genetic phylogeny, which implies horizontal transfer of TEM-1 by larger mobile genetic element than transposon. These results will contribute to control TEM-1 producing E. coli.

研究分野：感染症内科学

キーワード：薬剤耐性大腸菌 水平伝播

## 1. 研究開始当初の背景

ラクタム薬は細菌感染症治療の中心を担う治療薬であるが、ラクタマーゼを産生する細菌はラクタム薬耐性となり治療抵抗性を示す。その結果、ラクタム薬耐性大腸菌血症ではラクタム薬感受性大腸菌血症と比べて死亡率が2倍以上も上昇するという報告がある。申請者は、TEM-1というラクタマーゼが、3割もの大腸菌が保有する最多のラクタマーゼであることを明らかにした。さらに、アンピシリン・スルバクタムという日本で使用量が3番目に多いラクタム薬に耐性を示す大腸菌において、TEM-1が最も多いラクタマーゼであることを明らかにした。このTEM-1保有大腸菌の頻度の高さは海外でも同様で、半数の大腸菌がTEM-1を保有している。

このTEM-1保有大腸菌の増加要因として、TEM-1保有大腸菌のクローン性増殖である垂直伝播のみならず、TEM-1が大腸菌から大腸菌へと移動する水平伝播の可能性を報告した(論文業績1)。この水平伝播は、プラスミドなどの可動性遺伝子が移動することに起因する。その実証として、TEM-1保有大腸菌において半数ものTEM-1が水平伝播可能であった。ただし、可動性遺伝子を含むTEM-1周辺の詳細な遺伝子構造について菌株間での横断的比較検証は行われておらず、どのような可動性遺伝子がTEM-1拡散に影響しているのか明らかとなっていない。

## 2. 研究の目的

TEM-1にはトランスポゾンという小さな可動性遺伝子が隣接していたことが報告されている。一方で、そのTEM-1とトランスポゾンを含む構造がプラスミドというサイズの大きな可動性遺伝子に存在していることが知られている。どんな可動性遺伝子がTEM-1の拡散に寄与しているのか、未解明である。そこで、TEM-1保有大腸菌の全ゲノムデータを菌株間で比較することで、TEM-1伝播を担う可動性遺伝子を明らかにしたいと考えている。

## 3. 研究の方法

### 【対象菌株】

多施設から収集した96株のTEM-1保有大腸菌臨床分離株

### 【接合伝達試験】

TEM-1の可動性を検証するために、接合伝達試験を行った。上記臨床株を供与株、K-12由来のJ53大腸菌を受容株とした。

### 【塩基配列解析】

サンガーシーケンサー、一部の株については、次世代シーケンサーを用いて、TEM-1の周辺構造の解析を行った。

## 4. 研究成果

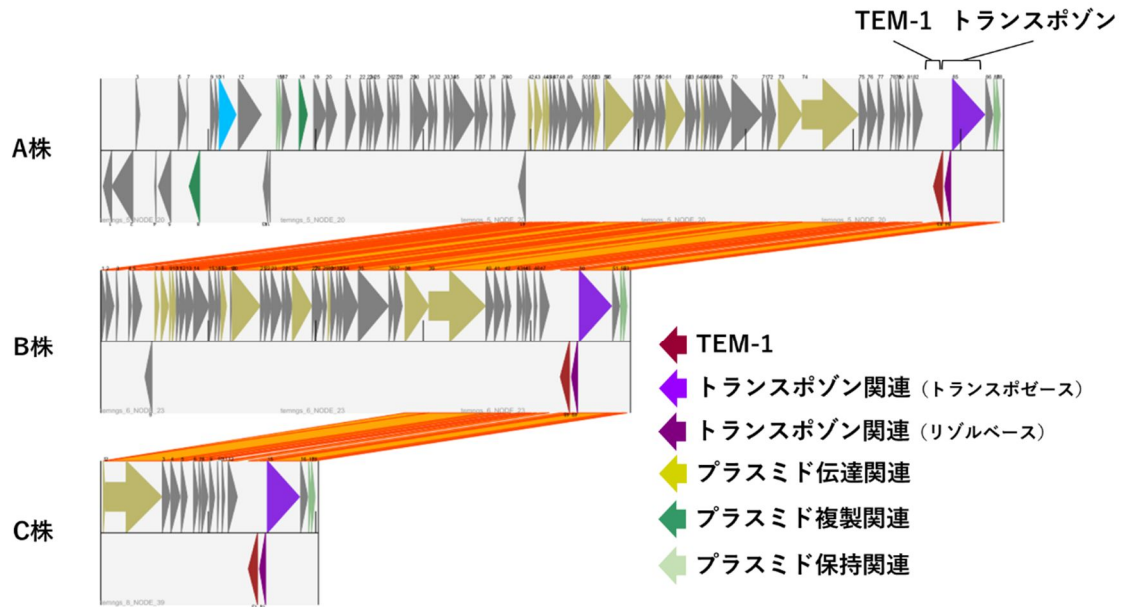
サンガーシーケンサーでの解析を行った96株のうち、全てトランスポゾンが隣接していたが、一部の株では挿入配列がトランスポゾン構造を中断するように挿入されていた。接合伝達試験では、46株でTEM-1の受容株へのTEM-1伝達を確認できた。

96株のうち、接合伝達を確認された株、確認されなかった株を異なる遺伝系統から12株選択し、ショートリードシーケンス解析を行った。全株で周囲のトランスポゾンが確認されたが、3株ではコンティグ長の限界でさらに周辺の構造については十分に解析できなかった。

1株(A株)については、TEM-1を含む約84kbのコンティグが得られた。プラスミド接合伝達に関わる遺伝子が含まれていたことからプラスミドと推測される構造であった。このA株のTEM-1は接合伝達を確認されており、TEM-1伝播を担う可動性遺伝子が接合伝達可能なプラスミドである可能性が示唆された。

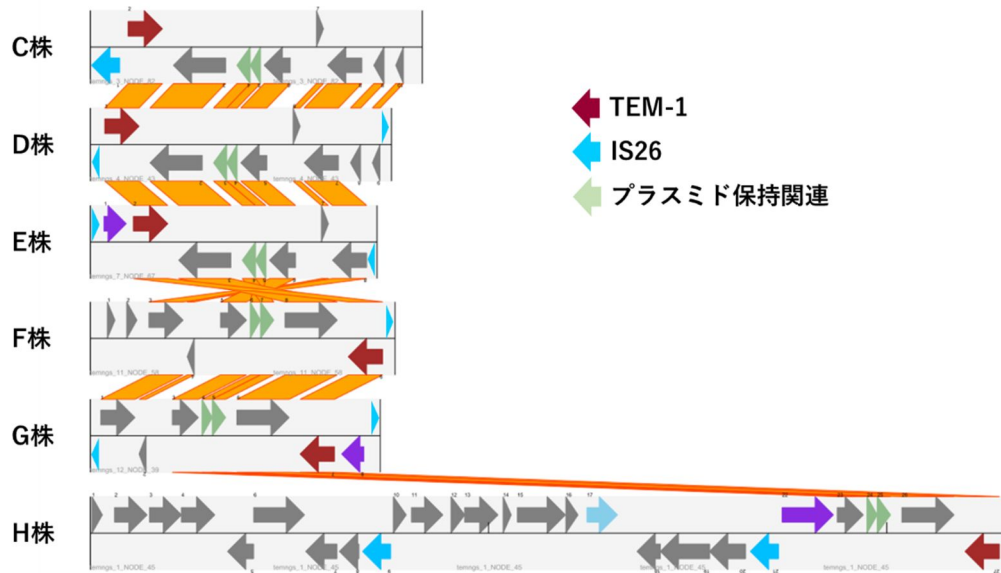
このA株のTEM-1周辺構造と相動性の高いTEM-1周辺構造を持った株が2株存在した(B、C株)(図1)。この3株はいずれもTEM-1の接合伝達が可能であった。遺伝系統の異なる株で相同性の高いTEM-1周辺構造が横断的に確認されたことになり、TEM-1の水平伝播が示唆された。そのTEM-1の水平伝播の要因としては、プラスミドなどの大きな可動性遺伝子が考えられる。

図1 A, B, C株の TEM-1 周辺構造



残りの6株については、相動性の高いTEM-1を含む構造が確認でき、水平伝播の可能性が示唆された(図2)。ただし、D、E、F株ではTEM-1の接合伝達は確認できなかった。D~H株のいずれもIS26という挿入配列がTEM-1の近傍に存在していたことから、TEM-1を含む遺伝子構造がIS26の移動などに伴うゲノムの再構成が行われ、その過程でTEM-1が染色体へ移動している、あるいはTEM-1保有プラスミドの伝達性が失われている可能性がある。

図2 C~H株の TEM-1 周辺構造



本研究によって、TEM-1を含む遺伝子構造が水平伝播している可能性が示唆された。本研究は、大腸菌で最も多いTEM-1ラクタマーゼの拡散要因解明に寄与するもので、ラクタマーゼ産生菌拡散の制御に向けた研究への発展が期待できる。本研究では判明したTEM-1周辺の遺伝子構造は部分的であり、ロングリードシーケンス解析によるTEM-1周辺構造の全容解明が今後の課題である。

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 0件）

1. 発表者名 野口太郎、篠原浩、中野哲志、山本正樹 松村康史、長尾美紀
2. 発表標題 京都滋賀地区の4病院において血液培養から検出されたESBL陽性大腸菌ST131株の特徴
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

〔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
---------	---------