

## 新たな薬剤耐性菌の耐性機構の解明及び薬剤耐性菌のサーベイランスに関する研究

### 分担研究課題：新型のグラム陰性多剤耐性菌等の分子機構の解明 黄色ブドウ球菌の薬剤耐性に関する研究

研究分担者 荒川 宜親（名古屋大学大学院医学系研究科・分子病原細菌学 / 耐性菌制御学・教授）  
研究協力者 山田 景子（同上・助教）

研究要旨：国内の医療機関で 2013 年 11 月までに分離された黄色ブドウ球菌計 2329 株について抗 MRSA 薬を中心に薬剤感受性を調査した。バンコマイシン(VCM)、テイコプラニン(TEIC)、リネゾリド(LZD)については全株、感性和判定された。ダプトマイシン(DAP)に対して低感受性(MIC  $\geq 2\mu\text{g/ml}$ )を示す 5 株について、低感受性化に関して関連が指摘されている遺伝子をいくつか調査した結果、*mprF* 遺伝子に未報告の変異が見つかった。アルベカシン ABK に高度耐性(MIC 256  $\mu\text{g/ml}$ )を示す N1006 株については *aac(6')/aph(2'')* の発現量解析を行い、高度耐性株では遺伝子発現量が増加していることが明らかとなり、そのメカニズムについてはさらに解析を進めている。抗 MRSA 薬に関して今後も動向を注視し、得られた知見について周知する必要があると考えられた。

#### A. 研究目的

臨床分離された黄色ブドウ球菌の中に臨床的に問題となるような薬剤耐性菌が出現あるいは拡散していないか調査を行う。特に抗 MRSA 薬ダプトマイシン(DAP)は国内では 2011 年に販売された比較的新しい抗 MRSA 薬であり、耐性菌の存在は国内では報告されていないが、国内での大規模な感受性データが乏しく、国内分離の臨床株について広く調査が必要と考えられた。解析結果について学会などで報告・周知し、耐性機序や疫学についての理解を深め耐性菌対策を促すことを目的とした。

#### B. 研究方法

昨年度より引き続き *S. aureus* 臨床分離株の感受性調査を行った。計 2329 株の中から抗 MRSA 薬に対して低感受性あるいは耐性を示す菌株についてその疫学や耐性機序を調査した。具体的には DAP 低感受性株 5 株については DAP の MIC 上昇に関わると報告されている *rpoB*、*rpoC*、*ycfFG*、*mprF*、*MW2528* 遺伝子の変異について調査し、ABK に高度耐性(MIC 256  $\mu\text{g/ml}$ )を示す N1006 株については *aac(6')/aph(2'')* のゲノム上での挿入位置の探索を行い周辺遺伝子を含めた発現量解析を行った。

#### 倫理面への配慮

患者の個人情報などは取り扱わず、菌株は連結不可能匿名化された番号により管理されてお

り、倫理審査対象外の研究である。

#### C. 研究結果

VCM、TEIC、LZD については全株、感性和判定された。ABK 耐性を示す株はこれまでの報告同様に散見された。DAP に対する感受性は CLSI 判定基準(S:  $\leq 1\mu\text{g/ml}$ , I および R は基準なし)により感性和判定されない株(低感受性株; MIC 2  $\mu\text{g/m}$ )が認められた。関連が指摘されている *rpoB*、*rpoC*、*ycfFG*、*mprF*、*MW2528* 遺伝子の変異を解析しゲノム解析株である N315 株、COL 株、MW2 株と比較したところ、*mprF* 遺伝子配列についてのみ 5 株中 2 株にそれぞれ別の 1 か所のアミノ酸置換が見られ、うち 1 つは既報での変異個所とは異なった。また、遺伝子上流に変異がある株が 1 株あったものの、リアルタイム RT-PCR による相対的遺伝子発現量解析では明らかな発現量の減少などは認められなかった。新しく認められた *mprF* 遺伝子変異による影響については現在検討を継続している。

ABK 高度耐性株に関しては、リアルタイム RT-PCR により *aac(6')/aph(2'')* の mRNA が亢進していることが明らかとなった(図 1)。ゲノム上での *aac(6')/aph(2'')* の挿入位置の探索を終え、*aac(6')/aph(2'')* 発現量に与えるメカニズムについて解析中である。

#### D. 考察

DAP 低感受性株は潜在的に低感受性化が起こ

る可能性が考えられた。今後も低感受性株の動向に注意が必要である。ABK 耐性をもたらす *aac(6')/aph(2'')* の発現量は菌株ごとに変動があり、その調整メカニズムについては今後詳細に検討する必要がある。

#### E. 結論

調査した 2329 株の中には抗 MRSA 薬 VCM、TEIC、LZD に対し耐性を示す菌株はなかった。DAP 低感受性の株が認められたが、低感受性化には様々な遺伝子が関わるということが指摘されており国内での発生動向も注意が必要である。

#### F. 健康危険情報

無し。

#### G. 研究発表

1. 論文発表 無し。

2. 学会発表

1) 山田景子、金万春、岡本陽、和知野純一、木村幸司、荒川宜親「ニワトリ Ig Y 抗体を用いたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 MRSA の検出」第 51 回日本細菌学会中部支部会、金沢、平成 26 年

2) 畑中公基、山田景子、武田 明、木戸裕勝 佐川美恵、吉川誠一、小野伸高、荒川宜親「骨髓炎患者から検出された Daptomycin 非感受性 *Staphylococcus capitis* subspecies *urealyticus* 株の検討」第 26 回日本臨床微生物学会総会学術集会、東京、平成 27 年

3) 川辺佳苗、山田景子、金万春、和知野純一、木村幸司、荒川宜親「Development of a rapid detection system of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci」第 88 回日本細菌学会総会、岐阜、平成 27 年

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべきもの無し