

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

抗酸菌の omni log に関する研究

研究分担者 松本 智成（大阪府結核予防会大阪病院・診断検査部・部長）

研究協力者 飯沼 由嗣（金沢医科大学・臨床感染症学講座・教授）

研究協力者 鈴木 匡弘（愛知県衛生研究所・生物学部細菌研究室・主任研究員）

研究協力者 星野 仁彦（国立感染症研究所・ハンセン氏病研究センター・感染制御部・室長）

研究要旨

結核菌の型別は、形態、生化学性状、遺伝子の差異によって分類される。現在は、遺伝子による型別が主流であり IS6110 RFLP、スポリゴタイピング、VNTR解析、SNP解析、whole genome解析が用いられるがこれらの解析にて得られた結果からは結核菌の性状を推測する事は理論上不可能である。結核菌には北京株など感染力が強いと言われている株が存在し、株による特徴が推測出来る分子疫学解析法が求められる。我々は、この研究班における研究によりMRSA株において市中感染型の代表としてUSA300株1株、MRSA-POT法でPOT1値が106である4株、院内感染型の代表としてPOT1値が93である4株をそれぞれomni logにて解析し市中感染株は、院内感染株に対して亜硝酸ナトリウム、ならびに安息香酸ナトリウムに対して抵抗性があることが明らかとして報告した。さらに、Small Genomic Island (SGI)の有無で判定するPOT表現法が細菌の機能と相関している可能性を示した。そこで、結核菌遺伝子上のSGIパターンの有無による新規結核菌分子疫学解析法 Small genomic island pattern (SGIP)による解析法を開発した。

A. 研究目的

我々は、以前の研究において、MRSA株について市中感染型の代表としてUSA300株 1株、MRSA-POT法でPOT1値が106である4株、院内感染型の代表としてPOT1値が93である4株をそれぞれomni logにて解析し市中感染株は、院内感染株に対して亜硝酸ナトリウム、ならびに安息香酸ナトリウムに対して抵抗性があることが明らかにした。さらにSmall Genomic Island (SGI)の有無で判定するMRSA-POT表現法が細菌の機能と相関している可能性を示し、一昨年当報告書で報告した。

一方、結核菌の型別は、形態、生化学性状、遺伝子の差異によって分類される。

現在は、遺伝子による型別が主流であり

IS6110 RFLP、スポリゴタイピング、VNTR解析、SNP解析、whole genome解析が用いられるがこれらの解析にて得られた結果からは結核菌の性状を推測する事は理論上不可能である。

結核菌には北京株など感染力が強いと言われている株が存在し、株による特徴が推測出来る解析法が求められる。Small genomic islandには機能を有すると思われる遺伝子群が含まれ、small genomic islandの有無を調べることで、それに含まれる遺伝子の有無がわかる。将来的にはその有無で結核菌の株間の機能の差異が推測出来る可能性がある。

MRSA-POT 法が small genomic island の有無による解析方法であり、POT パターンの違う菌の omni log 法による比較から POT 法は菌の性状を区別できる可能性があることが明らかになったことから、結核菌の POT 法である small genomic island pattern (SGIP)法を開発することを目的とする。

B. 研究方法

結核菌遺伝子配列から代表的な結核菌菌株間で保有の有無の差がある small genomic island を選び出しその有無を PCR にて解析し既存の結核菌分子疫学法である VNTR、スポリゴタイピング、IS6110 RFLP と比較した。

倫理面への配慮

検体の扱いには個人情報が出ないように配慮した。

C. 研究結果

Small genomic island pattern (SGIP) による解析はスポリゴタイピングとほぼ同程度の解像度が得られ、特に北京株と T3-Osaka 株の検出に有用であった。また、VNTR 法からえら得た minimum spanning tree と SGIP 法を比較した結果、ほぼ同等の結果が得られ SGIP 法による解析は結核菌の進化様式を表す可能性があることが判明した。

D. 考察

Small genomic island には機能を有するであろう遺伝子群が含まれ、その small genomic island の有無を調べることで、それらに含まれる遺伝子の有無がわかる。MRSA-POT 法と omni log 法から我々が示した研究結果からは将来的にはその有無で結核菌の株間の機能の差異が推測出来る可能性がある。

E. 結論

結核菌 SGIP による解析は、既存の spoligotyping と解像度が等しく、また

VNTR による minimum spanning tree による解析と同等の結果が得られた。Small genomic island は結核菌遺伝子群を含んでいるので SGI の有無は結核菌遺伝子上の遺伝子群の有無を反映すると推察される。今後各 small genomic island の機能が明らかになれば TB-SGIP 解析により簡便にその株の機能が推測出来る可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Tomoshige Matsumoto, Masahiro Suzuki, Yoshitsugu Inuma, Shinji Maeda, Hiromi Ano, Yuriko Koshii, Tomomi Murakawa, Koichi Suzuki and Yoshihiko Hoshino A Molecular Typing Methodology of Mycobacterium tuberculosis using Small Genomic Islet Patterns (TB-SGIP): A Novel Genotyping Methodology to Discriminate Clinical Strains between Beijing Family and T3-OSAKA Journal of Infectious Diseases and Therapeutics, 2, 2014 pp35-45

2) Tomoshige Matsumoto, Incidence of Influenza after Vaccination in Southeast Osaka, Japan Journal of Infectious Diseases and Therapeutics, 2, p5-11, 2014

4) Tomoshige Matsumoto, The Incidence and the Number of Death Reports of Tuberculosis during the Treatments with Biologics in Japan. Journal of Infectious Diseases and Therapeutics, 2, p4-4, 2014

5) Tomoshige Matsumoto, Masako Ohno, and Junichi Azuma Future of pharmacogenetics-based therapy for tuberculosis Pharmacogenomics 15(5) 1-7, 2014

2. 学会発表

- 1) 松本智成 第25回日本臨床微生物学会
総会 ベーシックレクチャー「多剤耐性菌
の分子疫学解析」平成26年2月2日 名古屋
国際会議場 名古屋
- 2) 松本智成、永井崇之、田村義孝、黒川雅
史、川瀬一郎、藤井隆、相良憲幸 第89回
日本結核病学会総会 一般演題 QIAxcel™
Advanced Systemを使用した結核菌
Supply 's 15-MIRU VNTR解析 2014年5月9
日 長良川国際会議場
- 3) 竹中日登美、山田淳子、山田泰子、松本
智成 第89回日本結核病学会総会 一般演
題 患者理解度からみた教育方法の課題
2014年5月9日 長良川国際会議場
- 4) 松本智成、永井崇之、田村義孝、黒川雅
史、川瀬一郎、藤井隆、相良憲幸 第89回
日本結核病学会総会 一般演題 結核合併
関節リウマチ、クローン病患者24名に対す
る抗TNF製剤および抗IL-6受容体抗体製剤
投与の安全性と有効性(第3報) 2014年5月
9日 長良川国際会議場

- 5) 松本智成 第89回日本結核病学会総会
シンポジウム 抗酸菌の分子疫学解析
2014年5月9日 長良川国際会議場
 - 6) 松本智成 第89回日本結核病学会総
会・東ソー株式会社共催アフターヌーンセ
ミナー1 抗酸菌核酸増幅検査の展望
2014年5月9日 長良川国際会議場 5階 国
際会議室
 - 7) 松本智成 第113回日本結核病学会近畿
地方会・第83回日本呼吸器学会近畿地方会
教育講演「呼吸器内科医が知っておくべき
生物学的製剤と抗酸菌症」 2004年6月28
日 姫路商工会議所
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 該当なし
 2. 実用新案登録 該当なし
 3. その他