

研究課題名：食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究

分担課題名：ヒト・家畜・食品等由来耐性菌が保有する薬剤耐性伝達因子の解析及び伝達過程の関連性の解明

研究分担者：石井 良和 東邦大学医学部微生物・感染症学講座・教授

研究参加者：青木 弘太郎 東邦大学医学部微生物・感染症学講座・助教

研究要旨

ヒト、家畜、食品、および伴侶動物に加えて環境に由来する薬剤耐性菌が保有する薬剤耐性伝達因子を解析し、拡散様式ならびに過程を明らかにすることは、薬剤耐性菌を制御する上で重要な情報である。我々のグループでは、ヒト、家畜、食品、伴侶動物、および環境に由来する第三セファロスポリン系薬耐性あるいはカルバペネム系薬耐性腸内細菌目細菌を対象に、全ゲノム解析により薬剤耐性遺伝子ならびに薬剤耐性伝達因子を解析した。海外渡航がない患者から分離されたカルバペネマーゼ産生大腸菌を解析した結果、*bla*_{NDM-5} は IncX3 プラスミド上に検出され、そのプラスミドは東京湾の海水から分離された大腸菌から検出された *bla*_{NDM-5} 搭載プラスミドと酷似していた。また、本プラスミドは中国および香港において農場の動物および環境サンプルから高頻度に検出されるプラスミドにも構造が酷似していた。これらの結果から、海外で問題となる薬剤耐性遺伝子伝達因子が家畜、食品、および環境を介して本邦に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

A. 研究目的

薬剤耐性菌の制御にはその拡散様式および過程を理解することが重要である。海外渡航歴がない患者からカルバペネム耐性大腸菌が分離されたことから、全ゲノム解析によりその薬剤耐性遺伝子および伝達性遺伝因子を解明することを目的とした。

B. 研究方法

海外渡航歴のない患者から分離された 3 株カルバペネム耐性大腸菌について、全ゲノム解析を行った。全ゲノム解析は次世代シーケンサーの MiSeq (イルミナ) および MinION (オックスフォード ナノポアテクノロジー) の 2 機種を組合せて行った。2 機種から出力された塩基

配列を *in silico* で組み合わせた *de novo* assembly により、完全長ゲノム (各複製単位で環状化) 塩基配列の取得を試みた。得られたゲノムを分子疫学および分子生物学的見地から解析し、得られた結果について解釈した。プラスミド構造の比較ゲノム解析には、類似するプラスミド塩基配列情報を公共データベース (National Center for Biotechnology Information, NCBI) からダウンロードして用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針および病原体等安全管理規程を遵守して行われた。

C. 研究結果

渡航歴の患者の感染部位 (TUM18530) および便 (TUM18780) から分離された大腸菌はいずれも multilocus sequence typing (MLST) により sequence type (ST) 1011 に属していた。また、便から分離された異なる薬剤感受性パターンの大腸菌 (TUM18781) は ST2040 に属していた (表 1)。これらの全ゲノム解析の結果、3 株が共通して *bla*_{NDM-5} 搭載 IncX3 プラスミドを有していたことが明らかになった。一方で、ST1011 に属する菌株は、IncFIC および IncFII ハイブリッドプラスミドおよび IncHI2 プラスミドを有していたが、ST2040 に属する菌株はそれらのプラスミドを有していなかった (表 1)。

*bla*_{NDM-5} 搭載 IncX3 プラスミドの構造は互いに酷似しており、接合伝達による伝達性が確認された。既報のプラスミドと類似性を比較した結果、東京湾の海水サンプルから分離された大腸菌から検出された *bla*_{NDM-5} 搭載 IncX3 プラスミドと構造が酷似していた (図 1)。また、本プラスミドは中国および香港において農場の動物および環境サンプルから高頻度に検出されるプラスミドにも構造が酷似していた。これらの成果は論文投稿中である。

D. 考察

海外で問題となる薬剤耐性遺伝子伝達因子が

家畜、食品、および環境を介して本邦に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

E. 結論

全ゲノム解析により本邦の市中に *bla*_{NDM-5} 搭載 IncX3 プラスミドが拡散していることを明らかにした。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1. カルバペネム耐性大腸菌の

Strain	ST	Replicon and plasmid Inc/Rep type	Antibiotic resistance gene
TUM18530 and TUM18780	ST1011	Chromosome	<i>aac(3)-lid</i> , <i>aadA2</i> , <i>bla_{TEM-1B}</i> , <i>mdf(A)</i> <i>mph(A)</i> , <i>catA1</i> , <i>sul1</i> , <i>dfrA12</i>
		IncFIC and IncF II plasmid	<i>tetA</i>
		IncHI2 plasmid	<i>aac(3)-lid</i> , <i>aadA22</i> , <i>aph(6)-Id</i> , <i>aph(3')-Ia</i> , <i>rmtB</i> <i>bla_{TEM-1B}</i> , <i>bla_{CTX-M-55}</i> , <i>qnrS1</i> , <i>fosA3</i> , <i>lnu(F)</i> , <i>mph(A)</i> <i>floR</i> , <i>ARR-2</i> , <i>sul3</i> , <i>tet(A)</i> , <i>dfrA14</i>
		IncX3 plasmid	<i>bla_{NDM-5}</i>
TUM18781	ST2040	IncX3 plasmid	<i>bla_{NDM-5}</i>

図 1. *bla_{NDM-5}* 搭載 IncX3 プラスミド完全長構造比較

