

	たかの ともみ
氏 名	高野 智洋
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第232号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名	Novel Characteristics of Community-Acquired Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> Belonging to Multilocus Sequence Type 59 in Taiwan (台湾に分布する市中感染型メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (Multilocus Sequence Type 59)の新しい遺伝性状)
論文審査委員	主査 教授 鈴木 宏 副査 教授 山本 達男 副査 教授 藤井 雅寛

博士論文の要旨

【目的】

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) は感染の状況により院内感染型 MRSA と市中感染型 MRSA とに分類される。市中感染型 MRSA は 1997 年-1999 年頃から注目された新興 MRSA で、健康な小児や若年層の皮膚軟部組織疾患と関連し、時に深刻な壊死性肺炎等を惹起し、死亡例も報告されている。特徴として、Panton-Valentine ロイコシジン (PVL 毒素) を産生し、 β ラクタム系以外の薬剤に感受性を示す。この PVL 毒素が高病原性因子と考えられている。

台湾では、院内感染型 MRSA は 7 種類の世界流行型クローンのうち Hungarian クローンが流行している。一方、市中感染型 MRSA は multilocus sequence type (ST) 59 型が流行しており、さらに多剤耐性化が報告されている。

本研究では台湾の多剤耐性市中感染型 MRSA を収集し、MRSA の遺伝学的進化を解明する一助とすべく、その分子遺伝学的特徴を解明した。

【材料と方法】

菌株には、2000 年～2006 年にかけて台湾大学付属病院で分離された 42 株の MRSA (PVL 陽性 25 株、PVL 陰性 17 株) を用いた。

薬剤感受性試験は Mueller-Hinton 寒天培地を用い、寒天平板希釈法を行った。

MRSA の型別は、multilocus sequence typing (MLST)、*spa*、*agr*、staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) の遺伝型別とコアグラマーゼの血清型別を解析した。

遺伝子解析として、ブドウ球菌の病原性遺伝子全部と、薬剤耐性遺伝子の PCR を行った。

PVL 遺伝子多型解析として、PVL 遺伝子の塩基配列後、系統解析を行った。

プラスミドは、黄色ブドウ球菌 RN2677 に導入し、解析した。

【結果】

1. 台湾の主要な PVL 陽性 MRSA は、ST59、SCCmecV_T、*spa143*、*agr1* という遺伝型で、コアグラマーゼは VII 型であった。さらに staphylococcal enterotoxin (SE) B が陽性、オキサシリン耐性レベルが 32 µg/ml 以下で低値という性状であった。一方、PVL 陰性の院内感染型 MRSA の場合には、主要なクローンは、Hungarian クローン (ST239) と ST59 型で、ともにオキサシリン耐性レベルが 256 µg/ml 以上と高値の性状を持っていた。この ST59 型は、市中感染型 MRSA ST59 と似た性状を示したが、SCCmec は IVx 型 (サブタイプ不明の IV 型) であった。
2. 市中感染型 MRSA ST59 の薬剤耐性に関して、カナマイシン耐性遺伝子 (*aph(3')*-IIIa)、ストレプトマイシン耐性遺伝子 (*aadE*)、エリスロマイシン/クリンダマイシン耐性遺伝子 (*ermB*) がクラスターを形成し、Tn5405 と Tn551 からなる複合トランスポソンに存在することが判明した。
3. 市中感染型 MRSA ST59 の SCCmec 構造には 2 つの *ccrC* 遺伝子が離れて存在した。1 つは既知の *ccrC2* で、他方は新しい *ccrC* (*ccrC8* と命名) であった。既知の SCCmec の場合、2 つの *ccrC* 遺伝子がコードされる例はない。そこで、SCCmec 上に離れて存在する 2 種類の *ccr* (*ccrC2-C8*) を *ccr* アレンジメントと名付け、このアレンジメントを持つ SCCmec を SCCmecVII と提案した。
4. 30 株の PVL 遺伝子配列を解析した結果、PVL 遺伝子配列と ST 型には強い関連を有することが判明した。市中感染型 MRSA ST59 の PVL 遺伝子は ST59 特異的であった。

【考察】

台湾には多様な MRSA が分布していた。市中感染型と考えられた ST59 の MRSA が、入院患者からも多く検出された。市中感染型 MRSA ST59 の多剤耐性は、新しい複合トランスポソン (Tn5405 と Tn551) が原因の 1 つと考えられ、台湾での薬剤使用の過程で選択されたと考えられた。市中感染型 MRSA ST59 の SCCmec 型は V_T 型と報告されていたが、2 種類の *ccr* (*ccrC2-C8*) 遺伝子をもつ新しい型であることが分かり、SCCmecVII と提案した。さらに、PVL 毒素遺伝子の塩基配列は ST 型と強い関連があることを明らかにした。

(論文審査の要旨)

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は院内感染の主要菌であるが、近年市中で感染を繰り広げる市中感染型 MRSA (CA-MRSA) が出現し、注目されている。CA-MRSA は健康な小児や若年層に感染し、皮膚軟部組織疾患を惹起する他、稀に深刻な壊死性肺炎を惹起する。CA-MRSA は多様なクローンの集団である。申請者らは、CA-MRSA の遺伝学的進化を解明することを目的として、台湾に分布する CA-MRSA を解析した。

台湾由来 CA-MRSA の多くは ST59、SCC*mecV*_T、*spa*143、*agr*1 コアグラマーゼ VII 型であった。また、Tn5405 と Tn551 による複合トランスポゾンを持ち、多剤耐性化していた。CA-MRSA ST59 の SCC*mec* 型は 2 種類の *ccr* (*ccrC2- C8*) 遺伝子をもつ新しい SCC*mec*VII 型であった。さらに、PVL 遺伝子は ST 型と強い関連をもっていた。

以上、台湾の多剤耐性機構を明らかにした点と、新型 SCC*mec* を発見した点、PVL 遺伝子と ST 型の関連性を明らかにした点に学位論文としての価値を認める。