

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

佐藤高広より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 764 号

学位申請者 : さ とう たか ひろ
佐 藤 高 広

学位論文 : Whole-genome sequencing analysis of molecular epidemiology and silent transmissions causing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in a university hospital

(全ゲノム配列解析による大学病院におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌血流感染症の分子疫学とサイレントトランスミッションの解析)

著 者 : Takahiro Sato, Tetsuo Yamaguchi, Kotaro Aoki, Chiaki Kajiwara, Soichiro Kimura, Tadashi Maeda, Sadako Yoshizawa, Masakazu Sasaki, Hinako Murakami, Junzo Hisatsune, Motoyuki Sugai, Yoshikazu Ishii, Kazuhiro Tateda, Yoshihisa Urita

公表誌 : Journal of Hospital Infection 139: 141-149, 2023
DOI: 10.1016/j.jhin.2023.05.014

論文内容の要旨 :

背景・目的 : 市中感染型メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*:MRSA) や家畜関連 MRSA などの新規ゲノム型クローンの出現と病院内への侵入が世界的に大きな問題となっているが、日本における MRSA の有病率に関する情報はほとんどない。ホールゲノムシーケンシング (Whole-genome sequencing:WGS) は、世界中でさまざまな病原体の解析に用いられている。従って、日本で入手可能な臨床 MRSA 分離株のゲノムデータベースを構築することは重要である。日本の大学病院の血流感染患者から分離された MRSA 株の分子疫学的解析を、WGS および一塩基多型 (single nucleotide polymorphism:SNP) 解析を用いて行った。さらに、患者の臨床的特徴のレビューを通じて、他の方法では見逃される可能性のある院内感染を検出するツールとしての SNP 解析の有効性を、様々な環境および様々な検出時点において評価した。

対象・方法：ポリメラーゼ連鎖反応に基づくブドウ球菌カセット染色体 *mec* (staphylococcal cassette chromosome *mec*: SCC*mec*) タイピングは、2014年から2018年の間に得られた135分離株を用いて行い、WGSは2015年から2017年の間に得られた88分離株を用いて行った。

結果：2009年1月から2018年12月までの間に、東邦大学医療センター大森病院微生物検査室で血液検体から724株の *S. aureus* が分離された。このうち317株(43.9%)がMRSA分離株であった。同一年の同一患者における重複株については、最初に検出された株のみをカウントした。例外として、感受性が明らかに異なるMRSA株が1症例で検出されたため、同一患者由来であっても各株をカウントした。MRSA/*S. aureus* の比率は、2009年の64.0%から2014年には33.3%に減少した。しかし、2014年から2017年にかけては33.3%から45.2%へとわずかに増加した。さらに、ミノサイクリンに感受性のあるMRSA株の割合は、2014年(52.6%)と比較して2018年(81.8%)は増加していた。2014年から2018年の間に分離された146株のうち、保存されていた135株を用いて Polymerase chain reaction 法に基づく遺伝子解析が行われた。2014年に流行していた SCC*mec* type II株は2018年にはまれとなったが、SCC*mec* type IV株の有病率は18.8%から83.9%に増加し、優勢なクローンとなった。2015年から2017年にかけてクローン複合体 (Clonal complex: CC) -5、CC8、CC1が検出され、CC1が優勢であった。88症例において、SNP解析により20人の患者の院内感染が明らかになり、その中には相同性の高い菌株が関与していた。

考察：SNPが10個未満の菌株の臨床情報を解析した結果、すべての菌株について院内伝播経路を推定できることが示された。MRSAのゲノム変異能は2.0e5.8 SNP/年と推定されることがLagos ACらによって報告されており、我々は院内感染のスクリーニングには10 SNP未満という基準が妥当であると考えた。8グループ20例の患者において、診療科内または病棟内での感染が疑われ、6ヵ月以上の間隔において菌血症を発症した症例もあった。カテーテル関連血流感染症は院内で発症した症例が多く、院内病棟、医療従事者、医療機器を介した院内感染が推察された。今回の研究では、血液培養から分離された限られた菌株のみを調査したため、感染経路の詳細が不明瞭になった可能性がある。院内伝播をより詳細に解明するためには、今後、積極的なサーベイランスにおいて、環境由来を含むすべての培養株を分析することが必要であろう。SNP解析は10個未満のSNPを持つ株に対してのみ行われたが、同一株に対して何個のSNPを考慮すべきかの明確な基準は得られておらず、SNP数の多い株同士の関連を解析することで、新たな院内感染が示唆される可能性がある。

結論：WGS解析によるMRSAのモニタリングは、分子疫学の特徴づけと病院における院内感染経路の推定に有用であることが明らかになった。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 764 号	氏 名	佐 藤 高 広
学位審査担当者	主 査	松 瀬 厚 人
	副 査	大 塚 由 一 郎
	副 査	高 橋 寛
	副 査	船 戸 弘 正
	副 査	濱 崎 祐 子

学位論文の審査結果の要旨 :

近年、世界中で従来の院内感染型メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (Hospital-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*: HA-MRSA) に変わって、市中感染型 MRSA (Community-associated MRSA: CA-MRSA) などの新規ゲノム型クローンの出現と病院内への侵入が大きな問題となっている。しかし、日本における院内感染の原因菌としての、MRSA の分子疫学的情報はほとんど存在しない。本研究で申請者は、東邦大学医療センター大森病院において、血流感染患者から分離された MRSA 株の分子生物学的解析を、ホールゲノムシーケンシング (Whole-genome sequencing: WGS) および一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) 解析を用いて行っている。さらに、患者の臨床的特徴のレビューと SNP 解析を組み合わせることで、通常の臨床的手法では見逃される可能性のある院内感染経路を検出することを試みている。2009 年 1 月から 2018 年 12 月までの間に、東邦大学医療センター大森病院微生物検査室で血液検体から 724 株の黄色ブドウ球菌が分離され、このうち 317 株 (43.9%) が MRSA 分離株であった。黄色ブドウ球菌に占める MRSA の比率は、2009 年の 64.0% から 2014 年には 33.3% に減少していたが、2014 年から 2017 年にかけては 45.2% へとわずかに増加していた。2014 年から 2018 年の間に分離された 146 株のうち、保存されていた 135 株を用いて Polymerase chain reaction 法に基づく遺伝子解析が行われ、2014 年に流行していた SCCmec type II 株は 2018 年にはまれとなったが、SCCmec type IV 株の有病率は 18.8% から 83.9% に増加し、優勢なクローンとなったことが示された。2015 年から 2017 年にかけてクローン複合体 (Clonal complex: CC) 5、CC8、CC1 が検出され、CC1 が優勢となっていることが示された。SNP が 10 個未満の菌株の臨床情報を解析した結果、すべての菌株について院内伝播経路を推定できることが示された。以上より申請者は WGS 解析による MRSA のモニタリングが、分子疫学の特徴づけと院内感染経路の推定に有用であることを明らかにした。

2024 年 1 月 26 日に開催された学位審査会において、研究要旨をプレゼンテーションした後、内容について活発な質疑応答がなされた。本研究における申請者の役割、実際に院内感染を防ぐための具体的な方策、2018 年以降の状況、CA-MRSA に対する抗菌薬の選択法、CA-MRSA の定義、本研究結果と他施設や他国との比較、患者からの同意取得法、SCCmec type IV の死亡率が低かった理由、HA-MRSA が CA-MRSA へ置き換わっている機序など本研究の内容について、主査及び副査から申請者に多くの質問がなされた。それらの質問すべてについて、自身の研究や参考文献を基にして申請者は適切かつ論理的に返答した。以上より、最新の分子生物学的手法を用いて、MRSA の分子疫学的情報と院内感染経路を明らかにした本研究の意義は高く、本論文は学位に値すると結論に審査委員の満場一致で達し、学位審査会を終了した。