

論文内容要旨

Persistence and Epidemic Propagation of a *Pseudomonas aeruginosa* Sequence Type 235 Clone Harboring an IS26 Composite Transposon Carrying the *bla*_{IMP-1} Integron in Hiroshima, Japan, 2005 to 2012.

(2005年～2012年の広島における *bla*_{IMP-1} インテグロンを含む IS26 複合トランスポゾン保有緑膿菌 (ST235 クローン) の持続的流行伝播)

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 59(5):2678-2687, 2015

主指導教員：末田 泰二郎教授

(応用生命科学部門 外科学)

副指導教員：大毛 宏喜教授

(広島大学病院 感染症科)

副指導教員：菅井 基行教授

(基礎生命科学部門 細菌学)

清水 亘

(医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻)

緑膿菌は院内感染症を引き起こす病原菌のひとつで、治療にはカルバペネム系抗菌薬が使用されることが多い。しかし現在メタロβラクタマーゼ (metallo-β-lactamase : MBL) 遺伝子によって、カルバペネム耐性を獲得した緑膿菌が全世界で報告され、MBL 遺伝子を持つ緑膿菌は多剤耐性化し、治療上の重要な問題となっている。

そこで私どもは 2004 年度より広島県内の 9 つの病院の協力を得て、薬剤耐性緑膿菌 (イミペネムあるいはセフトジジム耐性緑膿菌) のサーベイランスを行っており、2006 年度までの検討では、*bla_{IMP-1}* 遺伝子を保有する多剤耐性緑膿菌 (multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* : MDRP) が増加傾向であることを報告した。またこの *bla_{IMP-1}* 遺伝子を保有する MDRP を PCR マッピングにて、6 つのインテグロンカセットタイプに分類すると、広島においてタイプ F と名付けられたインテグロンを保有する MDRP が著明に増加していることが分かった。このタイプ F は宮城県の病院にてアウトブレイクを起こした NCGM2.S1 株が保有するクラス 1 インテグロン (In113) (本研究での PCR マッピングではインテグロンタイプ E) に酷似しており、またタイプ F は In113 に IS26 が挿入されることにより *intI1* 遺伝子が破壊された形のクラス 1 インテグロンであることも同時に報告している。

本研究では、引き続き行っている耐性緑膿菌サーベイランスの 2012 年までの状況と解析結果、また増加著しいインテグロンタイプ F と In113 との関連性について解析した。

1. 2012 年までのサーベイランスの結果

耐性緑膿菌は 2007 年をピークに減少傾向であり、またこの耐性緑膿菌に占める MDRP の比率は 2004 年から 4 年間は 20% (ピークは 2005 年の 37.3%) を越えていたが、2008 年以降、漸減傾向で 2012 年は 12% まで減少した。同様に耐性緑膿菌に占める MBL 産生株の比率も、2005 年の 28.1% がピークで、その後徐々に減少し、2012 年は 13.2% まで減少した。

しかし MDRP に占める MBL 産生株の比率は依然として、50~60% と高い比率を示しており、前述したインテグロンタイプ F を保有する MBL 産生緑膿菌が検出され続け、9 病院中 8 病院にて確認された。

2. インテグロンタイプ F と In113 との関連性

宮城県にてアウトブレイクを起こした In113 を保有する NCGM2.S1 株は、すでに全ゲノム配列が判明しており、MLST でもタイプ F と同じ ST235 であったため、同一系統と考えられた。

さらにタイプ F の代表株 PA058447 のフォスミドライブラリーを作成し、タイプ F の resistance element の塩基配列決定を行うと、3 つの IS26 によってはさまれた 2 つのセグメントより構成されており、In113 の resistance element と非常に酷似しているが、IS26

を介して 2 つのセグメントが反転した形となっていた。しかし In113 の **resistance element** は染色体上の *oprD* 遺伝子に挿入され、*oprD* 遺伝子が破壊された状態であるのに対して、タイプ F 株では *oprD* 遺伝子は完全なままで保存されており、挿入部位に相違を認めた。

タイプ F の代表株 PA058447 のドラフトゲノム塩基配列を取得し、ゲノムレベルで NCGM2.S1 株と比較した結果、PA058447 株は NCGM2.S1 株と酷似していることが判明した。

以上の結果より、タイプ F 株は NCGM2.S1 株と同じ祖先に由来したと仮説を立て、これを検証した。In113 の **resistance element** がタイプ F の先祖株に挿入され、IS26 を介したゲノムの反転、相同組み換えにより、タイプ F 株に変化することが理論上説明可能であった。

広島ではタイプ F 株が長期間にわたり、地域を越えて存在し続けている。In113 を保有するタイプ E 株はポーリントンパクの *oprD* 遺伝子が破壊されることにより、イミペネム流入が少なくなるメリットはあるが、栄養などの取り込みが不十分にあるというデメリットもある。しかしタイプ F 株には *oprD* 遺伝子はそのままだ存在しており、栄養の取り込みが十分行えるため、このことが長期にわたり、広島地区で生き残り続けている重要な要素かもしれない。