

氏 名	いのまた しんや 猪股 真也
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	東北大学病院で分離されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の分子疫学的解析
論文審査委員	主査 教授 賀来 満夫 教授 館 正弘 教授 久志本 成樹

論 文 内 容 要 旨

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, MRSA)は入院患者に医療関連感染症を引き起こす院内感染原因菌として問題となっているだけでなく、医療行為との関連が明らかでない個人に感染する市中感染原因菌としても問題となっている薬剤耐性菌である。米国疾病管理予防センター (Centers for Disease Control and Prevention, CDC)により、市中感染型 MRSA (community-associated MRSA, CA-MRSA)は医療行為曝露歴のない患者から検出された MRSA として臨床定義が作成され、従来から知られている院内感染型 MRSA (hospital-associated MRSA, HA-MRSA)とは異なるさまざまな細菌学的特徴が解明されてきた。近年、CA-MRSA の細菌学的特徴を有する MRSA が入院患者から検出されうることから、患者の臨床情報に基づく CDC の定義が必ずしも MRSA の細菌学的特徴を反映していないことが認識されるようになってきた。また、CA-MRSA に対する感染制御策はまだ定まったものではなく、そのための疫学的研究が必要とされている。病院内で分離される MRSA における分子疫学的解析法を用いた遺伝子学的な集団構成の解析が効果的な感染制御策の構築に必要と考えられている。そこで本研究では、東北大学病院内の MRSA の疫学的状況について把握し、特に CA-MRSA の分離状況とその細菌学的な特徴、遺伝子学的な集団構成を明らかにし、MRSA に対してより効果的な院内感染制御策を構築していくための基礎データとすることを目的とした解析を行った。

2012 年 10 月から 2013 年 9 月までの 1 年間に東北大学病院で検出された各患者の MRSA 初回分離株のうち遺伝子学的に MRSA と同定された 231 株を対象として、CDC の定義による CA-MRSA と HA-MRSA の臨床的分類、staphylococcal chromosomal cassette *mec* (SCC*mec*)領域の型別による CA-MRSA と HA-MRSA の細菌学的分類を行った。また細菌学的特徴の解析として CA-MRSA の特徴的病原性因子である Pantone-Valentine leukocidin (PVL)産生遺伝子および arginine catabolic mobile element (ACME)関連遺伝子の検索、薬剤感受性試験を行った。さらに当院で分離される MRSA の遺伝子学的な集団構成の解析として、分子疫学的解析法の phage-open reading frame typing (POT)法による CA-MRSA と HA-MRSA の POT 分類、菌染色体の open reading frame 領域の違いに基づくクローン識別、各クローンの病棟ごとの分離状況の調査、multi-locus sequence typing (MLST)による当院の CA-MRSA と既知の国際的な流行クローンとの比較、および pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)による CA-MRSA クローン同士の類縁関係の検討を行った。

対象 231 株のうち、CDC の定義による臨床的 CA-MRSA は 28 株 (12.1%)、SCC*mec* 型による細菌学的 CA-MRSA は 78 株 (33.8%)であった。PVL 産生遺伝子陽性株は 3 株、ACME 遺伝

子陽性株は1株のみで、いずれも外来もしくは入院時検出株であったが、PVL陽性1株は壊死性筋膜炎症例からの分離株であった。臨床的 CA-MRSA のスルバクタム・アンピシリン、イミペネム、ドキシサイクリンに対する非感性率は臨床的 HA-MRSA より有意に低かった。一方、細菌学的 CA-MRSA はスルバクタム・アンピシリン、イミペネム、セファゾリン、セフェピム、アミカシン、レボフロキサシン、ミノサイクリン、ドキシサイクリン、クリンダマイシン、エリスロマイシンの合計10種類の抗菌薬に対する非感性率が細菌学的 HA-MRSA より有意に低かった。POT解析では、4株を除いてPOT分類による CA-MRSA と HA-MRSA の判定は SCC*mec* 型別試験によるものと一致した (98.2%)。また231株の MRSA は88種類のクローナル・グループに分別され、そのうち30種類のクローナル・グループ (34.1%) が細菌学的 CA-MRSA であった。細菌学的 CA-MRSA で最も多く検出されたクローンは MLST 解析によりこれまで本邦で報告のされなかった ST5-SCC*mec*IV の遺伝子型の MRSA クローンであった。入院48時間以降に患者から分離された MRSA166 株においては、単一の病棟での集積状況や複数の病棟にわたる分離状況などがクローンごとに異なっていた。POT で分別された CA-MRSA クローナル・グループの間には PFGE 解析によって4通りの組み合わせで高い相同性が見られた。

東北大学病院で分離される MRSA の細菌学的特徴や、分子疫学的解析による遺伝子学的な集団構成が判明した。特に、クローン毎に病院内での分離状況が異なっていたことから、MRSA の中で分離頻度の高いクローンの特定とそれに対する感染制御的介入の必要性が示唆されるなど、病院内の MRSA に対する感染制御策を考える上で重要な知見が得られた。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 東北大学病院で分離されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の分子疫学的解析

所属専攻・分野名 医科学専攻・内科病態学講座感染制御検査診断学 分野

氏名 猪股 真也

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA）は病院内で検出される薬剤耐性菌として最も頻度が多く、院内感染型 MRSA（hospital-associated MRSA, HA-MRSA）として入院患者に医療関連感染症を来し、難治化や重症化の原因となることから問題視されている。近年、こういった医療行為との関連に乏しい個人における MRSA 感染事例から市中感染型 MRSA（community-associated MRSA, CA-MRSA）の存在が認識されている。現在では、CA-MRSA の細菌学的特徴を有する MRSA による病院内でのアウトブレイクなどが臨床的に問題視されており、CA-MRSA を含めた MRSA に対する新たな院内感染制御策構築のための疫学的情報が必要と考えられている。

本研究は、東北大学病院で 2012 年 10 月からの 1 年間に臨床分離された MRSA 231 株を解析対象として、臨床的定義および細菌学的特徴（staphylococcal chromosomal cassette *mec* (SCC*med*)領域の型別）による CA-MRSA と HA-MRSA の分類や病原性・薬剤耐性などの評価に加え、本研究の独自性として、本邦で開発された分子疫学的解析法の phage-open reading frame typing (POT) を用いて、東北大学病院で分離される MRSA の遺伝子学的な集団構成の解析と病院内分離状況の評価を行っている。

これらの結果、東北大学病院の臨床分離株においては、細菌学的な CA-MRSA の分離率が本邦の報告と比較して多いことが示された。また東北大学病院で 1 年間のうちに臨床分離された MRSA が POT により計 88 種類のクローンで構成される遺伝子学的に多様な集団であることや、CA-MRSA の細菌学的特徴を有するクローンの中で最も多く分離されたものの遺伝子型が sequence type 5 かつ SCC*med*IV 型という、本邦でこれまでに検出報告の見られない国際的な流行クローンの Pediatric clone であることが判明した。このように、CA-MRSA に関連する疫学的状況が既知の知見から変化している可能性が示されたことは、感染制御や感染症診療にとって非常に重要であると考えられた。また、MRSA クローンごとに分離される頻度や病棟での分離パターンが異なっていたことを示し、優先的に対策すべき MRSA クローンの特定の必要性を提案するなど、新たな感染制御策を構築するための基礎的データとなりうると考えられた。

以上、本研究は、東北大学病院における MRSA の分子疫学的解析を通じ、特に CA-MRSA の疫学的状況について新しい知見を得ており、また MRSA に対する新たな院内感染制御策を構築するための知見をもたらしたと考えられ、審査の結果、十分学位に値することが確認された。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。