



Title	Temporal shifts in the predominant carbapenemase gene types among carbapenemase-producing <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolated in Bangkok, Thailand, during 2013-2016
Author(s)	坂本, 典子
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101490
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	坂本 典子
論文題名 Title	Temporal shifts in the predominant carbapenemase gene types among carbapenemase-producing <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolated in Bangkok, Thailand, during 2013-2016 (タイ・バンコクで分離されたカルバペネマーゼ産生肺炎桿菌分離株の 主要なカルバペネマーゼ遺伝子型の2013-2016年における経時的変化)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (CPE) はカルバペネム系抗菌薬を含む広範囲の抗生物質に耐性を示す。カルバペネマーゼをコードする遺伝子は通常伝達性プラスミド上に存在し、さまざまな菌種に拡散していく。CPEによるアウトブレイクは世界各地の医療現場で報告されており、公衆衛生上の深刻な問題となっている。CPEにおけるカルバペネマーゼの優勢なタイプは、地理的に異なることが報告されている。KPC型は米国で広く検出されているのに対し、欧州諸国では、KPC、OXA及びNDM型が検出されている。一方、インド亜大陸およびタイやミャンマーを含む東南アジア諸国では、NDM型が優勢である。また、タイではNDM型とともにOXA型の報告がなされている。しかし、タイにおいてプラスミドの詳細な情報を含めてCPEの疫学調査を行った例は無く、優勢なカルバペネマーゼ遺伝子等の時間的推移を解析した報告もない。本研究では、2013年から2016年にタイ・バンコクの大学病院から分離されたCPE株についてゲノム解析を行い、現在の分子疫学とCPE分離株におけるカルバペネマーゼ遺伝子型の時間的推移を明らかにした。また、ロングリードシーケンシングを用いた詳細なプラスミド解析により、カルバペネマーゼ遺伝子搭載プラスミドのゲノム構造を決定した。 〔方法 (Methods)〕 2013年から2016年の間に得られた77株のカルバペネマーゼ産生肺炎桿菌 (CPKP) 臨床分離株をIlluminaによるショートリードシーケンシングに供し、薬剤耐性遺伝子の検索、MLST型の分類及び系統樹解析をおこなった、さらに、採取年ごとにカルバペネマーゼ遺伝子及びMLST型の検出数及び割合を比較し、その時間的推移を解析した。さらに、カルバペネマーゼ遺伝子搭載プラスミドの時間的推移とゲノム構造を解析するため、すべてのCPKPに対してパルスフィールドゲル電気泳動によるプラスミドの分離とカルバペネマーゼ遺伝子及びレプリコン遺伝子をターゲットとしたサザンブロッティングを実施し、各菌株が保有するカルバペネマーゼ遺伝子搭載プラスミドのサイズとレプリコンタイプを決定し、採取年及びMLST型ごとに検出数を比較した。さらに一部の株をロングリードシーケンシングに供することでそれぞれのプラスミドにおける詳細なゲノム構造を決定した。 〔結果(Results)〕 2014～2015年のカルバペネマーゼ遺伝子の主なタイプはNDM-1型カルバペネマーゼ遺伝子 (<i>bla</i>_{NDM-1}) であったが、2016年の分離株は<i>bla</i>_{NDM-1}よりもOXA-232型カルバペネマーゼ遺伝子 (<i>bla</i>_{OXA-232}) を多く保有していた。さらに、この期間中に、<i>bla</i>_{NDM-1}と <i>bla</i>_{OXA-232}または<i>bla</i>_{OXA-181}の2つの遺伝子を持つCPKPが出現したことも明らかになった。また、MLST解析の結果、ST11やST340を含む国際パンデミッククローナルコンプレックス (CC258) の分離株数はサーベイランス期間中に年々減少し、一方、ST14、ST16、ST231の分離株は同期間に主要なMLST型となったことが明らかになった。プラスミド解析の結果、<i>bla</i>_{OXA-232}は全て6 kbpからなるColKP3プラスミドにコードされ、ST14、ST16、ST231の3つのMLST型に出現していることが明らかとなった。なかでも <i>bla</i>_{NDM-1}と <i>bla</i>_{OXA-232}または<i>bla</i>_{OXA-181}の2つの遺伝子を持つCPKPは3つのMLST型で出現し、一部は<i>bla</i>_{NDM-1}保有株による<i>bla</i>_{OXA-232}獲得で生じたことが示された。また、<i>bla</i>_{NDM-1}はIncN2、IncF及びIncH1B型プラスミドなどから検出された。IncN2プラスミドは複数のMLST型から検出されており、過去にタイで報告されたプラスミドと高い相同性を示した。このことから、このプラスミドはタイ国内で広範囲に拡散していると考えられる。一方、IncF及びIncH1B型プラスミドはカルバペネマーゼ遺伝子以外の複数の薬剤耐性遺伝子をコードしており、CPEの多剤耐性化に寄与していると示唆された。 〔総 括(Conclusion)〕 本研究において、カルバペネマーゼ型及びMLST型の時間的推移を解析し、優勢なカルバペネマーゼ遺伝子型がNDM-1からOXA-232へ推移した流れをプラスミドレベルで明らかにした。この結果はNDM型が優勢とされてきたタイおよび東南アジア諸国でCPEに大きな変化が生じた可能性を示唆している。近年、世界的な傾向として<i>bla</i>_{OXA-232}及び<i>bla</i>_{OXA-181}が属する<i>bla</i>_{OXA-48-like}がCPEの間で広がっており、本研究の結果はその流れと合致していることが示された。2つのカルバペネマーゼ遺伝子を持つCPKPは世界各地で報告されており、カルバペネマーゼ遺伝子の組み合わせも多岐にわたる。このことは、CPEが世界中に伝播し、地域内で異なるカルバペネマーゼ遺伝子搭載プラスミドが伝播することにより、異なる複数のカルバペネマーゼ遺伝子を併せ持つ様々なタイプのCPEが生成されたことを示唆している。最近の研究で<i>bla</i>_{NDM-1}と <i>bla</i>_{OXA-232}を併せ持つCPEはフィットネス、病原性、バイオフィーム産生が増加することが示されており、近年における<i>bla</i>_{OXA}獲得株増加の要因の一つになっていると考えられる。このようなCPEによって引き起こされた感染症は、単一のカルバペネマーゼを保有する他の多剤耐性菌による感染症に比べて、利用可能な抗菌薬に顕著な影響を及ぼす可能性がある。このことは、医療分野における憂慮すべき脅威であり、詳細な研究を開始する必要があることを示している。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		坂本典子	
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授	飯 田 哲 也 署 名
	副 査	大阪大学教授	塩 田 達 丁 署 名
	副 査	大阪大学教授	塩 田 安 子 署 名

論文審査の結果の要旨

カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌（CPE）はカルバペネム系抗菌薬を含む広範囲の抗生物質に耐性を示すことから、医療現場での拡散は世界各地で深刻な問題となっている。CPEにおけるカルバペネマーゼの優勢なタイプは、地理的に異なることが報告されている。東南アジア諸国ではNDM型が優勢であり、タイではNDM型とともにOXA型の報告がなされている。しかし、これまでタイにおいてはカルバペネマーゼをコードするプラスミドの情報を含めたCPEの疫学調査や優勢なカルバペネマーゼ遺伝子等の時間的推移を解析した研究は実施されていなかった。本研究では、タイ・バンコクの一大学病院における4年間の調査により分離されたCPE株についてプラスミドの完全長配列決定を含めた全ゲノム解読を行うことにより、当該施設内に存在するCPEの遺伝型の時間的推移を解析し、優勢なカルバペネマーゼ型がNDM-1からOXA-232へ推移した流れをプラスミドレベルで明らかにした。OXA型産生CPEの増加が独立した異なる様式で起こっていることは興味深い解析結果である。またこの結果は、これまでNDM型が優勢とされてきたタイおよび東南アジア諸国においてCPEの疫学に大きな変化が生じうることを示唆しており、学位の授与に値すると考えられる。