

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Molecular analysis of blaKPC 2 harboring plasmids: Tn4401a interplasmid transposition and Tn4401a carrying ColRNAI plasmid mobilization from Klebsiella pneumoniae to Citrobacter europaeus and Morganella morganii in a single patient
別タイトル	blaKPC 2搭載プラスミドの分子生物学的解析:1 患者体内における Tn4401a のプラスミド間転移と Klebsiella pneumoniae から Citrobacter europaeus および Morganella morganii への Tn4401a 搭載 ColRNAI プラスミドのモビライゼーション
作成者 (著者)	杉田(清水)香代子
公開者	東邦大学
発行日	2022.03.16
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査 : 赤羽悟美 / タイトル : Molecular analysis of blaKPC 2 harboring plasmids: Tn4401a interplasmid transposition and Tn4401a carrying ColRNAI plasmid mobilization from Klebsiella pneumoniae to Citrobacter europaeus and Morganella morganii in a single patient / 著者 : Kayoko Sugita, Kotaro Aoki, Kohji Komori, Tatsuya Nagasawa, Yoshikazu Ishii, Satoshi Iwata, Kazuhiro Tateda / 掲載誌 : mSphere / 巻号・発行年等 : 6(6): e0085021, 2021 /
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第1041号
学位記番号	甲第720号
学位授与年月日	2022.03.16
学位授与機関	東邦大学
DOI	10.1128/mSphere.00850 21
その他資源識別子	https://journals.asm.org/doi/10.1128/mSphere.0085021?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%20%20pubmed
メタデータのURL	https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD73618949

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

杉田（清水）香代子より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 720 号

学位申請者 : すぎ た し み ず か よ こ
 杉 田 (清水) 香 代 子

学位論文 : Molecular analysis of *bla*_{KPC-2}-harboring plasmids: Tn4401a interplasmid transposition and Tn4401a-carrying ColRNAI plasmid mobilization from *Klebsiella pneumoniae* to *Citrobacter europaeus* and *Morganella morganii* in a single patient

(*bla*_{KPC-2} 搭載プラスミドの分子生物学的解析 : 1 患者体内における Tn4401a のプラスミド間転移と *Klebsiella pneumoniae* から *Citrobacter europaeus* および *Morganella morganii* への Tn4401a 搭載 ColRNAI プラスミドのモビライゼーション)

著 者 : Kayoko Sugita, Kotaro Aoki, Kohji Komori, Tatsuya Nagasawa, Yoshikazu Ishii, Satoshi Iwata, Kazuhiro Tateda

公 表 誌 : mSphere 6(6): e0085021, 2021

論文内容の要旨 :

Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC)は、1996年に米国で発見されたカルバペネマーゼである。KPC産生の腸内細菌目細菌は米国のみならずギリシャをはじめとするヨーロッパ各国、イスラエル、中国など世界各地で分離されている。KPC産生株は多剤耐性を示し本菌による感染症では治療薬に限られること、*K. pneumoniae*以外の腸内細菌目細菌や *Pseudomonas aeruginosa* など多くの菌種で分離されていることから、これらの増加は世界的な問題となっている。KPCをコードする遺伝子 *bla*_{KPC}は、*K. pneumoniae*のなかでも主としてST258、ST11などが含まれるCC258群に属する菌株によって拡散されるが、*bla*_{KPC}を保持するIncFIIK1、IncFIIK2、IncFIA、IncN、IncI2、IncX、IncA/C、IncR、およびColE1プラスミドが水平伝播することによっても拡散することが知られている。日本におけるKPC産生株の検出は極めてまれで、そのほとんどが海外からの持ち込み例

である。201x年、都内の大学病院において海外での入院加療歴を有する患者1名の日常検査検体から3菌種 (*K. pneumoniae*, *Citrobacter freundii* complex, *Morganella morganii*) の bla_{KPC-2} 保有株が3ヶ月の間に相次いで分離された。分離された3菌種間における bla_{KPC-2} 搭載伝達性遺伝子の関連性を解明するため、次世代シーケンサー (MiSeq および MinION) を用いたドラフトあるいは完全長全ゲノム解析、プラスミド伝達実験を実施した。3菌種は Average Nucleotide Identity によりそれぞれ *K. pneumoniae*, *Citrobacter europaeus*, *M. morganii* と同定された。解析した20株すべての菌株が bla_{KPC-2} を含む可動性遺伝子 Tn4401a を保有していた。15株の *K. pneumoniae* は流行株である ST258 に属していたが、コアゲノム SNP 系統解析によって、GeneBank に登録されている代表的な ST258 株20株とは独立してクラスターを形成し、当該患者から分離された時期より約8年前に分岐していたことが判明した。また、*K. pneumoniae* は15株すべてが Tn4401a を含む IncN と IncR の両方を併せ持つマルチレプリコンタイプのプラスミド (IncN+IncR) を保有していた。これらのうち3株の *K. pneumoniae* は Tn4401a を保持する ColRNAI プラスミドも保有しており、菌体内で Tn4401a が IncN+IncR プラスミドから ColRNAI プラスミドへとプラスミド間を複製的に転移したことが示唆された。さらに、これら3つの ColRNAI プラスミドのうち1つは *C. europaeus* 2株が、2つは *M. morganii* 3株が保有する ColRNAI プラスミドと同一構造であった。ColRNAI プラスミドはその構造上、自己伝達能を欠いているが、*K. pneumoniae* の Tn4401a を保有する IncN+R プラスミドの接合伝達に伴って伝達されたこと (mobilization) が確認された。患者体内での bla_{KPC-2} 陽性 *C. europaeus* と *M. morganii* 出現には、*K. pneumoniae* 菌体における Tn4401a の IncN+R プラスミドから ColRNAI プラスミドへのプラスミド間転移と、Tn4401a を持つ ColRNAI プラスミドの mobilization が重要な役割を果たしていた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 720 号	氏 名	杉 田 (清水) 香 代 子
学位審査担当者	主 査	赤 羽 悟 美
	副 査	中 野 裕 康
	副 査	武 城 英 明
	副 査	近 藤 元 就
	副 査	渡 邊 学

学位論文の審査結果の要旨 :

カルバペネム分解酵素カルバペネマーゼ *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC) は、1996 年に米国北東部で発見されて以降、全世界に拡散した。KPC をコードする遺伝子 *bla_{KPC}* は、クローン性に菌株間で拡散するとともに *bla_{KPC}* を搭載するプラスミドを介して水平伝播により拡散するため、耐性遺伝子の急速な拡散が危惧されている。KPC 産生株は多剤耐性を示すため治療が困難であり、腸内細菌目細菌など多くの菌種に拡散していることから、WHO や欧米において喫緊の対応が必要な耐性菌とされている。日本では KPC 産生株の検出は極めてまれであるが、海外から持ち込まれる例がある。201x 年、北米で医療行為を受けて帰国した日本人 1 名から、KPC 型酵素遺伝子 (*bla_{KPC}*) を保有する 3 種類 20 株の腸内細菌科細菌が分離された (Table 1)。申請者は、同一個体内での *bla_{KPC}* の伝播の機序を明らかにすることを目的として、これらの株を用いて伝達性遺伝因子を解析した。次世代シーケンサー (MiSeq および MinION) を用いたドラフトゲノム解析および完全長ゲノム解析の結果、*K. pneumoniae* (ST258)、*Citrobacter europaeus* (ST497)、*M. morgani* を同定し、すべての株が *bla_{KPC-2}* を含む可動性遺伝因子 *Tn4401a* を保有していた (Table S1, S2, S3, Fig. S2)。*K. pneumoniae* 15 株のコアゲノム SNP 系統解析の結果を GeneBank に登録されている海外で分離された ST258 株と比較し、当該患者から分離される約 8 年前に感染して分岐クワスターを形成していたと推定した (Fig. S3, Table S4)。*K. pneumoniae* 15 株すべてが可動性遺伝因子 *Tn4401a* を含む IncN と IncR の両方を併せ持つマルチレプリコンタイプのプラスミド (IncN+IncR) を保有しており、加えて 3 株の *K. pneumoniae* は *Tn4401a* を保持する CoIRNAI プラスミドも保有していたことから、菌体内で *Tn4401a* が IncN+IncR プラスミドから CoIRNAI プラスミドへと転移したことを明らかにした (Fig. 1, Fig. S2)。さらにこれらと *C. europaeus* と *M. morgani* が保有する CoIRNAI プラスミドの構造が同一であったことから、自己伝達能を欠く CoIRNAI プラスミドが、*K. pneumoniae* の *Tn4401a* を保有する IncN+R プラスミドの接合伝達に伴って菌株間を伝達された (mobilization) 可能性を見出した。以上の結果より、申請者は、当該患者体内での *bla_{KPC-2}* の異種菌間の伝播の機序として、*K. pneumoniae* 菌体における *Tn4401a* の IncN+R から CoIRNAI へのプラスミド間転移と *Tn4401a* 搭載 CoIRNAI の mobilization が重要な役割を果たしたことを明らかにした。

学位審査会は、2022 年 1 月 28 日 13 時から開催され、副査の中野教授、武城教授、近藤教授、渡邊教授 (書面審査)、主査・赤羽の出席のもと開催された。申請者は、学位論文の内容について、今後の課題も含めて明快に説明した。審査委員からは、プラスミドの接合伝達と mobilization の定義、プラスミドの自己伝達能に関わる構造、接合伝達メカニズム、プラスミドのコピー数の影響、プラスミド間の伝達解析により明らかになったこと、IncN+R プラスミドと CoIRNAI プラスミドの共存の意義、*Tn4401a* のプラスミド間転移の再現性の検証、本研究の臨床的意義など多数の質問およびコメントがあった。申請者は個々の質問に対して結果と文献情報を踏まえて的確に回答した。以上より、本研究は貴重な臨床検体を用いて同一個体内におけるカルバペネム系薬耐性遺伝子の拡散の機序を明らかにした臨床的・学術的に重要な知見を提示するものであり、審査委員全員一致の下、学位に値する論文であると結論した。