

## 学 位 論 文 の 要 旨

医学系専攻保健学分野 医療生命科学ユニット	氏名	小出 将太
題 目  Genomic traits associated with virulence and antimicrobial resistance of invasive group B <i>Streptococcus</i> isolates with reduced penicillin susceptibility from elderly adults (高齢患者由来侵襲性ペニシリン低感受性 B 群レンサ球菌の病原性・薬剤耐性に関わるゲノム特性)		
要 旨 <p>【背景】B 群レンサ球菌(group B <i>Streptococcus</i>, GBS)は新生児侵襲性感染症の主要な原因菌である。また、近年では GBS による高齢者や基礎疾患を有する成人の侵襲性感染症事例も増加してきている。特に65歳以上では原発性血流感染症が優位で高い死亡率をもたらす。ペニシリン系薬剤が感染症治療及び分娩時予防投与の第一選択薬であるが、2008年に長野らの研究グループがペニシリン低感受性 GBS (GBS with reduced penicillin susceptibility, PRGBS)を初めて報告して以降、米国をはじめ諸外国で PRGBS の報告が相次いでいる。国内の GBS 臨床分離株におけるペニシリン非感受性の割合は2008年の4.8%から2020年の5.8%と増加傾向にある。しかしながら、PRGBS の臨床的意義については未だ不明であり、成人侵襲性感染症由来 PRGBS のゲノムレベルでの分子学的特性は解明されていないことから、本研究では侵襲性 PRGBS 株の病原性、薬剤耐性に関する特性解析を行った。</p> <p>【材料と方法】同一医療機関の予後不良事例に由来する血清型 Ia で sequence type (ST) 1 の4株と、他の複数医療機関で収集した血清型 III-ST1の2株、Ib ST10及び III-ST464の各1株の血液由来多剤耐性 PRGBS8株を対象に全ゲノム解析を実施した。また、NCBI 登録のヒト、動物、魚類などに由来する PRGBS とペニシリン感性 GBS を含む92株のゲノム配列を加えた比較解析を行った。</p> <p>【結果と考察】ゲノム配列間の OrthoANI に基づく ANI 値は PRGBS 8 株で<math>\geq 98.02\%</math>、さらに同一医療機関の血清型 Ia-ST1 の 4 株の間では 99.96-99.98%、これらと他施設の III-ST1 の 2 株の間では<math>\geq 98.43\%</math>であった。PRGBS8 株の pan-genome の総遺伝子数は 3,531 個で、そのうち core-genome 遺伝子数は 1,694 個であった。Pan-genome のサイズはゲノムの添加に伴い継続的に増加していき、べき指数 (power-law exponent) 0.210 をもってオープンパンゲノムの特性を示したことから水平伝播による遺伝子獲得事象が高頻度に存在する可能性が示唆される。アクセサリ遺伝子には株間で多様性が認められたが、血清型 Ia-ST1 の 4 株はほとんどのアクセサリ遺伝子を共有していた。また、アクセサリ遺伝子の clusters of orthologous groups (COGs)分類では COG 機能カテゴリー[L] Replication, recombination, and repair と[K] Transcription に属する蛋白が多く分布していたが、これは GBS における既報の知見と類似していた。</p> <p>PRGBS 8 株はペニシリン結合蛋白 (PBPs)に既報のアミノ酸置換を有し、ペニシリンの MIC は 0.25-1 <math>\mu\text{g/mL}</math> で他系統の薬剤にも耐性を示した。また、1 株で PBP2A のヌクレオチド位 567 への 1 塩基挿入によるフレームシフト変異に起因する未熟終止コドンが生じていたが、増殖能に影響はなかった。本研究の PRGBS 株は多剤耐性であったが、薬剤耐性遺伝子 <i>tet(M)</i>, <i>erm(B)</i>, <i>mef(A)</i>-</p>		

msr(D)の保有に加え, GBS では極めて稀なアミノグリコシド高度耐性遺伝子 *aac(6')-aph(2'')* が 1 株で確認された。また, キノロン耐性の 6 株ではキノロン耐性決定領域にアミノ酸置換を認めた。

PRGBS 株は主要な病原遺伝子群 (*bibA*, *fbsA*/-B/-C, *cspA*, *cfb*, *hylB*, *scpB*, *lmb*, and the *cyl* operon) を保有し, 侵襲性 GBS と同等の病原性を有する可能性が示唆される。さらに ST1 に特異的な AlpST-1 付着因子遺伝子が Ia-ST1 株で確認された。

PRGBS8株を含む全100株のゲノムの Gubbins 解析で得られた core SNPs 系統樹で, 本報の血清型 Ia-ST1 及び III-ST1 の PRGBS 株は組換え変異率3.97で一つの独立したクレードに属した。この変異率はヒト血液由来株が優位な V-ST1 GBS が形成するクレードの組換え変異率0.11より36倍高値であった。血清型 Ia や III は ST1 GBS 株では非常に稀である。よって, Ia-ST1 及び III-ST1 の PRGBS 株の遺伝系統は ST1 の集団の中から組み換えにより出現してきた可能性が考えられる。

本研究知見は, 侵襲性 PRGBS 株が GBS で報告されている主要な病原因子遺伝子群を保有し, さらには多剤耐性であることから早期診断, 早期治療の重要性を強調している。

研究指導教員 信州大学学術研究院(保健学系)教授 長野 則之