

博士学位論文

学位論文内容の要旨および審査結果の要旨

氏 名 佐藤 友美

学位の種類 博士（獣医学）

学位授与の条件 酪農学園大学学位規程第3条第3項に該当

学位論文の題目 **Studies on molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* originated from livestock animals, meat products, and humans**
(家畜、食肉、およびヒト由来 MRSA の分子疫学に関する研究)

審査委員

主査	教授	樋口 豪紀（獣医衛生学）
副査	教授	萩原 克郎（獣医ウイルス学）
副査	教授	内田 郁夫（獣医細菌学）
副査	准教授	臼井 優（食品衛生学）

ABSTRACT IN JAPANESE

先進国における新規抗菌薬の開発が停滞している一方、ヒトに対する抗菌薬の不適切な使用を背景として新たな薬剤耐性菌が増加している。そのため薬剤耐性菌の出現と拡散は世界的脅威となっており対策が必要とされている。さらに医療現場だけでなく、家畜に対しても多くの抗菌薬が治療および成長促進目的として使用され、それに伴う薬剤耐性菌が出現している。動物で出現した薬剤耐性菌は獣医療分野の治療効果を減弱させるほか、畜産物等を介してヒトに伝播することが危惧されている。世界保健機関（WHO）は2011年、世界保健デーで薬剤耐性菌の問題を取り上げ、薬剤耐性菌の抑制と減少のためにヒト、動物という垣根を超えた一体的な取り組み（ワンヘルス・アプローチ）の必要性を訴えた。この考えは国際的に受け入れられ、薬剤耐性に関するワンヘルス・アプローチの取組が強化されている。

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）はわが国において院内感染の主要な原因である。MRSAは黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* が可動性遺伝子カセット(SCCmec)により運ばれる *mecA* 遺伝子を外部から獲得することでメチシリンに対して耐性を獲得する。MRSAはヒトへの病原性が非常に強く、感染した場合に死亡する例も多い。そのため医療現場ではMRSAに対する様々な対策が取られているが、2014年の厚生労働省の調査によると入院患者からのMRSAの分離率は49.1%と諸外国に比べ非常に高く、MRSAの制御は院内感染対策の最優先課題の一つである。

海外では家畜が高率（11-46%）にMRSAを保有している事実が報告されている。家畜から分離されたMRSAはMulti Locus Sequence Typingで主にST398に型別

され、獣医療で多く使用されるテトラサイクリン系抗菌薬へ高度耐性を示すなど、医療現場由来株と性状が異なることから「家畜関連型 Livestock-associated(LA-)MRSA」と名付けられ、新型の MRSA として注目された。LA-MRSA は、家畜にとどまらず医療現場へ侵入し、院内感染を起こした報告もあることから、家畜—ヒト間の MRSA の伝播防止対策のために、家畜現場における MRSA の保菌状況に関する調査が海外で活発に実施されている。わが国でも毎年多くの抗菌薬が家畜へ使用され、その量は医療現場の使用量のおよそ2倍とされる。家畜由来薬剤耐性菌の出現への懸念から、その動向は農林水産省の家畜由来細菌の薬剤耐性モニタリング事業 (JVARM) により監視されている。しかし JVARM によるモニタリングは大腸菌やカンピロバクターなどを対象菌種としており、MRSA の動向は明らかにされていない。

本研究では、ワンヘルス・アプローチに基づき、わが国の家畜における MRSA の現状の解明とヒトへの伝播防止対策への応用を目的とした。第1章では、家畜における MRSA の分布状況を明らかにするため、国内における畜産地域の1つである茨城県の豚100頭から MRSA を分離した。続いて第2章では、より詳細に国内における MRSA の分布状況を調査するため調査対象家畜および対象地域を拡大し、北海道の牛と豚の合計436頭から MRSA の分離を試みた。また同時に、MRSA 同様に *SCCmec* を保有し、*SCCmec* のリザーバーとされるメチシリン耐性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌 (MRCNS)、およびメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) を分離し性状解析を実施した。最後に、第3章では家畜由来 MRSA とヒト由来

MRSA との関連、および食肉が MRSA の伝播媒体となる可能性について検討するため、家畜、食肉、ヒト由来 MRSA の性状を比較した。

第 1 章における研究の結果、茨城県のと畜場搬入豚 100 頭中 8 頭（8%）から MRSA が分離された。分子疫学解析の結果、海外の LA-MRSA の 1 つである ST97/SCCmec V が分離され、テトラサイクリン耐性、マクロライド系感受性、リンコサミド系耐性と LA-MRSA に特徴的な薬剤感受性パターンを示した。日本では多くの家畜を輸入しており、海外から持ち込まれた可能性が考えられた。本研究では、海外で流行する LA-MRSA に類似する MRSA が、わが国の豚にも分布することを初めて明らかにした。

第 2 章では、北海道のと畜場に搬入された豚 217 頭、牛 219 頭から MRSA、MRCNS、および MSSA の分離を行った。MRSA は豚および牛から分離されなかったが、6–44%の MRCNS が、21–70%の MSSA が分離された。さらに、豚由来 MSSA は CC9 及び CC398、牛由来 MSSA は CC97 が優勢なタイプで、海外の LA-MRSA と遺伝子型が同じ MSSA が分布していることが明らかとなった。今回得られた結果より、日本の家畜における MRSA の保菌割合は海外に比べ低いものの、今後海外と同じ LA-MRSA が発生するおそれがあることが示唆された。

第 3 章では、第 1 章で分離された豚由来 8 株、分与を受けた食肉由来 8 株、牛乳房炎由来 7 株、ヒト由来 100 株の MRSA を対象に分子疫学解析を実施し、その性状を比較した。結果、牛乳房炎由来、食肉由来、ヒト由来市中感染型 MRSA（CA-MRSA）が非常に近縁であったことを明らかとした。これら近縁な MRSA は日本の市中で近年急激に広まっているタイプの MRSA（CA-MRSA/J）で、牛および

食肉からの分離報告は本研究が初めてとなった。これまでの調査より、日本の家畜における MRSA 分布状況は非常に低く、CA-MRSA/J の分離報告は無い。また、食肉から分離される MRSA は多くがヒト由来で、ハンドリングなどによる汚染であることが疑われている。こうした背景より、本研究において食肉由来 MRSA の汚染源を特定することはできないが、ヒト由来であった可能性が高いことが考えられた。本研究において牛—食肉—ヒト間において、何らかの伝播経路が存在しうることが示唆された。

以上の成績から、わが国の豚および牛の MRSA、MRCNS、および MSSA に関する新たな分子疫学情報を提供することができた。さらに、牛、食肉、ヒト由来 MRSA に遺伝学的関連があり、これらの中で伝播経路が存在する可能性を示した。本研究により、伝播経路を遮断するという、新たな薬剤耐性菌対策を構築するための有用な知見を提供することができた。

論文審査の要旨および結果

1 論文審査の要旨および結果

審査は、1)体裁を整え、新規性があり、明確に十分な根拠があるか、2)科学および獣医学の発展に寄与する内容であるかの2点を重点に行われた。

研究の背景と目的

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) はわが国において院内感染の主要な原因菌である。近年、海外では家畜が高率に MRSA を保有している事実が数多く報告され、家畜から分離された MRSA は医療現場由来株と性状が異なることから「家畜関連型 MRSA (LA-MRSA)」と分類される。LA-MRSA は医療現場へ侵入し、院内感染を起こした報告もあることから、家畜-ヒト間の MRSA の伝播防止対策のために、家畜現場における MRSA の保菌状況に関する調査が海外で活発に実施されている。しかし、国内における実態は明らかにされていない。

本研究では、ワンヘルスアプローチに基づく効果的な MRSA 制御対策への応用のため、国内の家畜における MRSA の現状の解明と MRSA の伝播経路として食肉の可能性について検討することを目的とした。

研究の成果

1) 家畜における MRSA の分布状況を明らかにするため、国内における畜産地域の1つである茨城県のと畜場搬入豚 100 頭から MRSA を分離したところ、100 頭中 8 頭 (8%) から MRSA が分離され、海外の LA-MRSA と同じ性状を示した。海外で流行する LA-MRSA に類似する MRSA が、わが国の豚にも分布することを初めて明らかにした。

2) より詳細に国内における MRSA の分布状況を調査するため調査対象家畜および対象地域を拡大し、北海道の牛と豚の合計 436 頭から MRSA の分離を試みた。また同時に、MRSA 同様に *SCCmec* を保有し、*SCCmec* のリザーバーとされるメチシリン耐性コアグラマーゼ陰性ブドウ球菌 (MRCNS)、およびメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) を分離し性状解析を実施した。北海道の家畜から MRSA は分離されなかったが、MRCNS および MSSA が高率に分布することが明らかとなった。さらに、家畜由来 MSSA の遺伝子型は、海外の LA-MRSA と同じ遺伝子

型であった。日本の家畜における MRSA の保菌割合は海外に比べ低いものの、畜産現場に分布する MSSA が *SCCmec* を獲得することで、今後海外と同じ LA-MRSA が蔓延するおそれがあることが示唆された。

3) 家畜、食肉、ヒト由来 MRSA の性状を比較し、それぞれの関連について検討した。その結果、牛乳房炎由来、食肉由来、ヒト由来市中感染型 MRSA (CA-MRSA) が非常に近縁であることを明らかにした。これら近縁な MRSA は日本の市中で近年急激に広まっているタイプの MRSA (CA-MRSA/J) で、牛および食肉からの分離報告は本研究が初めてとなった。

本研究において牛—食肉—ヒト間において、何らかの伝播経路が存在しうることが示唆された。

研究の評価

本研究は、これまで十分に検討されていなかった国内における家畜由来 MRSA の分離状況を明らかにするとともに、ヒト由来 CA-MRSA が牛—食肉—ヒトで伝播していることを初めて明らかにしたものである。また、家畜から分離された MSSA の遺伝子型は海外で流行するものであり、SCC*mec* を獲得することにより海外で主流の LA-MRSA がわが国にも蔓延する可能性を示した。2015 年に WHO 総会で採択されたワンヘルスに基づく耐性菌対策が世界的に重要視されている現在、本研究は今後のわが国のワンヘルス耐性菌対策の策定に重要な情報を提示した。また、本研究は海外の専門科学雑誌に 3 編の論文として受理され、医学系を含む各種の学術集会でも表彰されており、細菌学及び獣医公衆衛生学の進歩に大きく貢献した。

したがって本研究は、新規性に富み、科学および獣医学の発展に寄与する内容を有するものであり、よって申請者である佐藤 友美 氏は博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有すると審査員一同は認めた。

2 最終試験の結果

審査委員 4 名が最終試験を行った結果、合格と認める。

2018年2月8日

審査委員

主査	教授	樋口	豪紀
副査	教授	萩原	克郎
副査	教授	内田	郁夫
副査	准教授	白井	優