

黄色ブドウ球菌が抗生物質耐性を獲得・伝搬する仕組みを解明

抗生物質が効かない薬剤耐性細菌の発生と伝播は、世界中で大きな問題となっています。その代表格ともいえる黄色ブドウ球菌については、菌体が *SCCmec* と呼ばれる大きな遺伝子群を獲得して、抗生物質メチシリンに対する耐性を持つ黄色ブドウ球菌（MRSA）になることが知られていますが、*SCCmec* がどのような仕組みで伝播していくのかは、過去半世紀に渡る大きな謎です。

本研究では、細菌分子遺伝学的手法を用いて、バイオフィーム（微生物がコミュニティを作って増殖した膜状のもの）が形成された際に、自然形質転換によって異種の間で *SCCmec* が伝播する仕組みを世界で初めて明らかにしました。具体的には、二成分制御系と呼ばれる環境応答遺伝子群の変異株を網羅的に作成し、①バイオフィーム形成に関わる二成分制御系遺伝子 *AgrCA* と *BraSR* が、黄色ブドウ球菌の自然形質転換遺伝子の発現に必要であること、②バイオフィーム形成下で自然形質転換遺伝子が発現し、*SCCmec* が個体に取り込まれ定着すること、③バイオフィーム形成下で、抗生物質に感受性の黄色ブドウ球菌が、別株の MRSA や異種のブドウ球菌から *SCCmec* を獲得して、MRSA となることが分かりました。

加えて、抗生物質の使用が、自然形質転換による *SCCmec* 獲得の効率に与える影響も示しました。

本研究成果は、薬剤耐性黄色ブドウ球菌を生み出さない治療方法の確立に向けた基盤的知見となると期待されます。

研究代表者

筑波大学医学医療系

森川 一也 教授

研究の背景

これまで、人類には、抗生物質の乱用によって多くの多剤耐性菌（複数の抗生物質に耐性を持つ細菌）を生んできた歴史があり、多剤耐性菌は今この瞬間にも世界のどこかで生まれています。抗生物質の効かない薬剤耐性細菌の発生と伝播は、世界中で大きな問題となっています。一般に、薬剤耐性菌が生まれるメカニズムとして、①遺伝子の突然変異（抗生物質のターゲットが変化して薬が効かなくなる）、②外来遺伝子の獲得（抗生物質が効かない代替遺伝子を獲得する）、の2つが知られています。薬剤耐性菌の代表格ともいえるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)）は、②の外来遺伝子の獲得によって生じます。外来遺伝子の獲得メカニズムには、ファージ（細菌に感染するウイルス）が遺伝子を運び込む方式（形質導入など）、菌体同士が直接つながって DNA を移動させる方法（接合）、菌体が外来 DNA を直接取り込む方式（自然形質転換）などがあります。

MRSA は、SCC*mec* (Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*) と呼ばれる一連の薬剤耐性発揮に必要な遺伝子を持つ長い DNA (20 キロ塩基対^{注1)} から 60 キロ塩基対) を取り込むことで生まれますが、45 キロ塩基対以上の長い DNA は、ファージにとってはサイズが大きすぎて自身に格納できないことから形質導入が成立しません。接合で伝達させる試みも完全には成功しておらず、これも SCC*mec* の伝達メカニズムとして認められるには至っていません。そして、黄色ブドウ球菌では、近年まで自然形質転換は観察されず、起こらないものだと言われてきました。一方、本研究グループはこれまでに、極めて特殊な環境条件で、極めて少ない割合の黄色ブドウ球菌が形質転換に必要な遺伝子群を発現し、外来 DNA（精製した DNA）を菌体に取り込み、かつ、自身のゲノム DNA に定着させることができる可能性を示唆しています。しかし、この現象が自然に発生する環境条件は不明であり、また、細胞間の自然形質転換による SCC*mec* の伝播も示すことができていませんでした。

研究内容と成果

本研究は、細菌分子遺伝学的手法^{注2)}を用いて、バイオフィーム（微生物がコミュニティを作って増殖した膜状のもの）の形成下で、自然形質転換によって異種の細菌間で SCC*mec* が伝播することを世界で初めて明らかにしました。まず、この現象が発生する環境条件を探索するため、黄色ブドウ球菌が持つ、二成分制御系と呼ばれる環境応答・転写制御の一連の遺伝子群に着目し、これらを一つずつ網羅的に欠損させた細菌株を作成して検証しました。その結果、バイオフィーム形成に関与する AgrCA と BraSR という二成分制御系遺伝子が、自然形質転換に必要な遺伝子群の発現に必要であることを見いだしました。続いて、黄色ブドウ球菌にバイオフィーム形成させると、自然形質転換に必要な遺伝子群の発現が向上し、実際に SCC*mec* を取り込んでゲノム DNA に定着させることを証明しました。さらに、バイオフィーム形成下において、別株の MRSA や別種で SCC*mec* を持つ菌体から、SCC*mec* が伝播し、もともとメチシリン感受性であった黄色ブドウ球菌が SCC*mec* を獲得して MRSA へと変化することを突き止めました。このように、過去半世紀にわたって不明であった MRSA が生まれる仕組みが、バイオフィーム中の自然形質転換である可能性が示されました。

また、上記の二成分制御系の中で、抗生物質耐性に関わる遺伝子の欠損も、自然形質転換遺伝子の発現に影響を与えたことから、抗生物質によって自然形質転換能力が変化するか検証したところ、バシトラシンという抗生物質では形質転換遺伝子の発現が抑制されました。このことから、使用するの抗生物質の種類によって、薬剤耐性菌の発生を減速させたり加速させてしまう可能性が示唆されます（参考図）。

今後の展開

本研究成果は、多剤耐性菌の発生を抑えながら感染症を治療したり、畜産における抗生物質をより適切に利用する上で応用できると考えられます。本研究では、SCC の切り出しおよび組み込みに必要な遺伝子 *ccrAB* が、SCC*mec* の自然形質転換に必要なことも示しており、MRSA 発生の詳細な仕組みが明らかになりつつあります。今後、解明した環境条件（バイオフィルムや抗生物質使用）における MRSA 発生について、さらに解析を進める予定です。

参考図

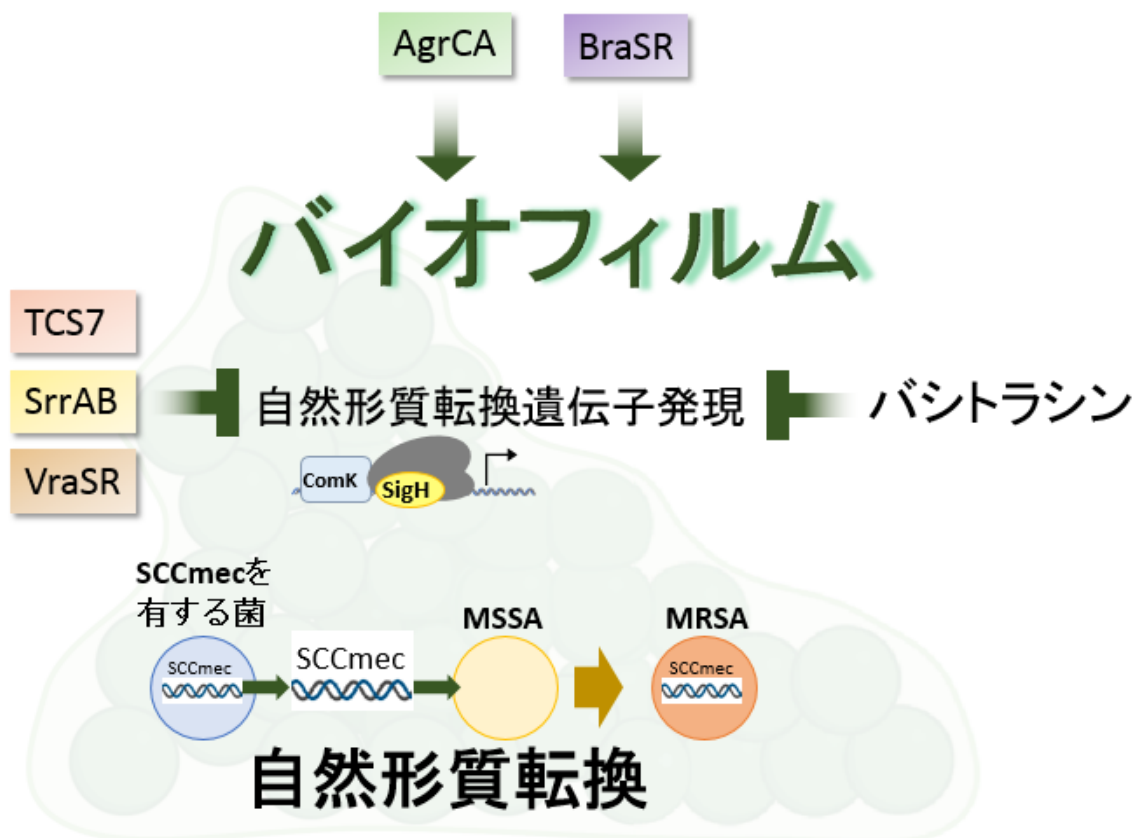


図 本研究の概要

本研究では、二成分制御系の遺伝子 (AgrCA, BraSR, TCS7, SrrAB, VraSR) や抗生物質 (バシトラシン) が、バイオフィルム形成や自然形質転換遺伝子の発現を制御し、メチシリン耐性に必要な SCC*mec* の自然形質転換の誘導を促進したり抑制したりしていることが明らかとなった。バイオフィルム中では、SCC*mec* を有する菌体から、SCC*mec* のメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) への自然形質転換による伝播が進み、MSSA がメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) に変化する。

用語解説

注1) キロ塩基対

DNA の長さを、構成する塩基対の数を基に表す単位で、塩基対が 1000 個連なったものが 1 キロ塩基対。20 キロ塩基対から 60 キロ塩基対の分子の長さは、およそ 6.8 μm ~20.4 μm 程度。

注2) 細菌分子遺伝学的手法

細菌を対象に、特定の遺伝子を発現させたときに生じる変化を調べることによって、遺伝現象の仕組みを分子レベルで理解する研究手法。

研究資金

本研究は、科研費、JSPS 二国間交流事業、武田科学振興財団、ワックスマン財団、ファイザーアカデミックコントリビューション、MEXT テニュアトラック普及事業、他、の支援を受けて実施されました。

掲載論文

【題 名】 Natural transformation allows transfer of SCC*mec*-mediated methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* biofilms.

(自然形質転換が黄色ブドウ球菌バイオフィーム中で SCC*mec* 媒介のメチシリン耐性を伝達する)

【著者名】 Mais Maree, Thi Nguyen Le Thuy, Ryosuke L. Ohniwa, Masato Higashide, Tarek Msadek, and Kazuya Morikawa

【掲載誌】 Nature Communications

【掲載日】 2022 年 5 月 5 日

【DOI】 10.1038/s41467-022-29877-2

問合わせ先

【研究に関すること】

森川 一也 (もりかわ かずや)

筑波大学医学医療系感染生物学 (微生物学) 教授

URL: <https://www.md.tsukuba.ac.jp/basic-med/infectionbiology/microbiology/>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報室

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp