

研究課題番号	5RF-2005
研究課題名	環境中における薬剤耐性遺伝子の伝播ポテンシャルと伝達機構の解明
研究代表者名（所属）	西山正晃（山形大学）
研究期間	2020年度～2022年度
研究キーワード	薬剤耐性 薬剤耐性遺伝子 水環境 遺伝子伝播 ゲノムタイピング

【研究概要と成果】 薬剤耐性菌への対策は全人類が直面している喫緊の課題であるにもかかわらず、環境中における薬剤耐性菌ならびに関連する耐性遺伝子の存在実態に関する情報は不足している。本研究では、(1) 環境中における薬剤耐性菌の調査を行い、水環境中で薬剤耐性菌の実態と空間的分布状況を調査すること、(2) 環境中に排出された耐性菌が新しく耐性菌を生む（遺伝子の水平伝播）かの可能性を評価することを目的とした。

【成果①】 東北地方の河川を対象とした調査によって、大腸菌汚染の低い日本の一級河川（採水日でA類型の環境基準を満たす）から、WHOにより危険性が高いと位置づけられるESBL産生大腸菌が検出された。山形県の赤川と最上川を対象とした1年間の河川モニタリングから、ESBL産生大腸菌108株が分離された。その分離株からは、21種類のESBL産生遺伝子（*bla*）のうち17種類が検出され、*bla*_{CTX-M-group-1}（65株）が最も多く検出された（図1）。下水処理場の直下で分離された株（40株）から最も多い15種類の*bla*が検出され、臨床に加えて市中で生活する健常者もまた、河川に生息する耐性菌の排出源になっていることを示す結果が得られた。ESBL産生大腸菌を対象としたゲノムタイピングでは、世界の臨床で流行しているST131型のESBL産生大腸菌が分離株の中で優占しており、東北地方の空間的に離れている河川からも検出されたことは、ヒトから環境中へ耐性菌が拡散していることを表している。

【成果②】 環境を模擬したin vitro伝達実験によって耐性遺伝子の伝播を評価した結果、腸球菌では*vanA*のみ伝播が確認され、供与菌と受容菌の組み合わせによって伝播ポテンシャルが 10^{-3} ～ 10^{-7} での範囲であった。その一方で、*bla*_{CTX-M}を保有する腸内細菌科細菌を用いた場合は、いずれの環境を模擬した条件でも伝播が確認された（ 10^{-4} ～ 10^{-8} ）。グラム陰性細菌は、グラム陽性細菌と比較して、耐性遺伝子を伝播する場（伝場）のポテンシャルが高いことが示され、環境中で耐性遺伝子の伝播も十分に考えられた。

Fig.1 東北河川ごとのESBL産生大腸菌の*bla*の構成割合

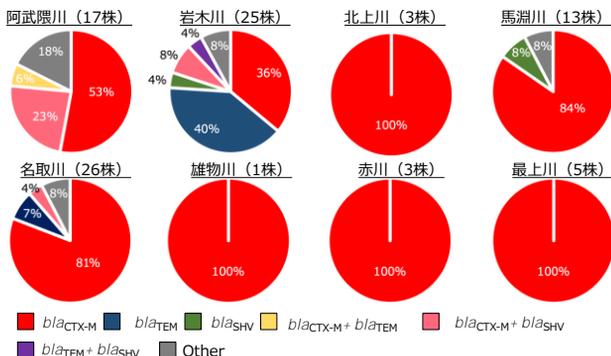


Fig.2 赤川と最上川における*bla*の検出数

blaのクラス	blaの型	赤川上流					赤川下流		最上川	合計
		地点1 (1株)	地点2 (10株)	地点3 (21株)	地点4 (13株)	地点5 (40株)	地点6 (11株)	地点7 (12株)		
ClassA	CTX-M group1	1	10	14	7	21	7	5	65	
	CTX-M group2	ND	10	12	2	18	2	4	48	
	CTX-M group9	ND	10	11	2	30	2	5	60	
	CTX-M group8/25	ND	ND	ND	1	1	3	2	7	
	TEM	ND	ND	1	1	6	ND	ND	8	
	SHV	ND	ND	ND	ND	4	ND	ND	4	
ClassC	KPC	ND	ND	2	ND	4	ND	1	7	
	VER	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	GES	ND	ND	1	1	ND	ND	ND	2	
	PER	ND	ND	ND	ND	1	ND	ND	1	
	ACC	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	FOX	ND	ND	2	5	8	1	ND	16	
	MOX	ND	10	16	7	23	2	4	62	
	DHA	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	GT	ND	ND	1	1	2	2	ND	6	
	ETC	ND	ND	1	ND	2	ND	2	5	
ClassD	OXA-1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	OXA-48	ND	ND	ND	ND	1	ND	2	3	
	IMP	ND	ND	1	4	1	1	2	9	
ClassB	VIM	ND	ND	2	ND	2	3	2	9	
	NDM	ND	ND	1	ND	ND	1	3	5	

環境政策等への貢献

- 我が国の主要河川に存在する指標細菌（今回は、大腸菌と腸球菌）の何%が重要な薬剤に対して耐性を保有しているのか、どの環境条件で薬剤耐性を獲得するのか、あるいは耐性遺伝子を伝播する可能性はどの程度であるかなどの重要課題に対して、上記の調査から解答を得ることが期待できる。
- 耐性菌の分布調査に基づく情報は、環境政策を策定する（i.e. 環境分野の薬剤耐性対策アクションプランの成果目標）際に、利用することが期待される。