

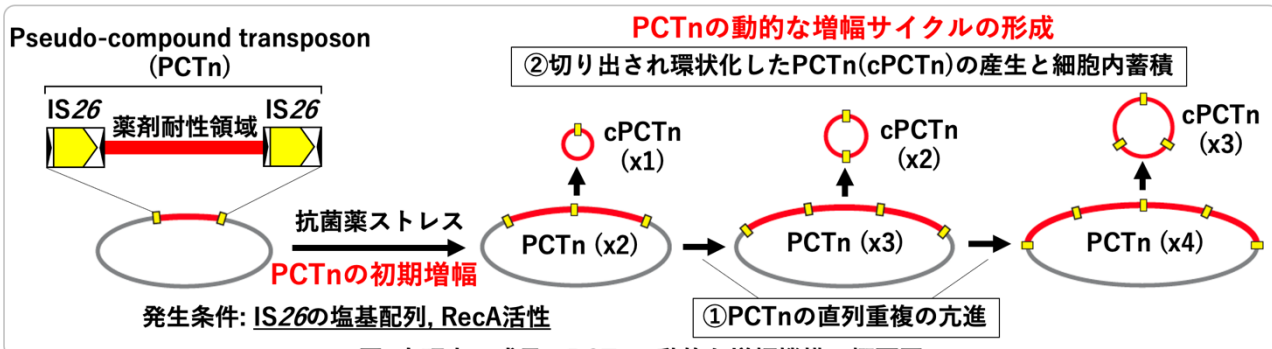
研究助成 2023 – 感染症領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

現 所 属	九州大学
氏 名	相原 正宗
研 究 テーマ	エピソーム・ダイナミクスが導く細菌の薬剤耐性強化機構解明に向けた研究

- 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。
- 構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果等 1 ページにまとめること。
 (図表、写真等の貼付を含む)

世界的に蔓延する多剤耐性グラム陰性桿菌(MDR-GNR)は、抗菌薬ストレスに応じた遺伝情報の変化により多剤耐性の性質を拡張し続けている。最小単位の可動遺伝因子である挿入配列(IS)はこの多様性拡張に深く関与しており、その中で最も検出頻度が高い IS26 は、高率で薬剤耐性遺伝子に隣接して存在することが知られている。また、2 つの IS26 で挟まれた領域は pseudo-compound transposon (PCTn) と呼ばれ(下図左)、転移ユニットとしての機能が示唆されているが、臨床分離株における機能的役割は未解明のままであった。申請者は MDR-GNR を対象とした独自の研究により、PCTn が薬剤耐性遺伝子の増幅ユニットとして機能している可能性を見出した。そこで、本研究では PCTn の増幅機構解明を目的として、臨床分離 MDR-GNR および大腸菌モデルを用いた分子生物学的解析を行なった。その結果、**抗菌薬ストレス下の MDR-GNR において、PCTn はストレスに対し早期に応答する増幅ユニットとして機能しており、その増幅サイクルは極めて動的に増強・維持されていることが明らかになった(下図)**。この結論に至った結果の要点を以下に列挙する。

- PCTn の増幅は、同一 DNA 分子内に PCTn が直列に重複することから始まっていた。選択圧下で効率的に初期増幅が発生するためには IS26 の塩基配列と RecA の活性が必要であった。
- ひとたび PCTn の直列重複が起きると、RecA 存在下でその反復回数が亢進するとともに、直列した PCTn 同士が相同組み換えを起こして切り出され、環状化した PCTn (cPCTn) が独立した DNA 分子として細胞内に蓄積するという「PCTn の増幅サイクル」が形成されていた。
- 単量体・多量体 cPCTn は自己複製能を持たないが転写の鋳型 DNA として機能しており、PCTn に搭載される薬剤耐性遺伝子産物の発現量増加を促すことで薬剤耐性強化に寄与していた。
- 増幅されたプラスミド上の PCTn および cPCTn は染色体等の他のゲノム領域に転移しておらず、もっぱら増幅ユニットとして機能していた。
- この PCTn の増幅は in vitro 選択圧下にある大腸菌や肺炎桿菌など複数種の GNR で誘導された。



以上より、PCTn 増幅は抗菌薬曝露下の MDR-GNR において種を問わず早期に確立される耐性強化機構であり、後続する新規耐性獲得を促す生存戦略であることが強く示唆される。したがって、その制御は MDR-GNR の多様性拡張を抑制する有効な手段になり得ると考え、それを実現するための新たな研究アプローチを開発し、引き続き薬剤耐性対策に資する成果を創出していきたいと考えている。

研究助成 2023 – 感染症領域 –
研究成果報告書（最終） <発表実績/予定一覧>

現 所 属	九州大学
氏 名	相原 正宗
<ul style="list-style-type: none"> ● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。 ● 欄が足りない場合は増やして記入すること。 	
1. 論文発表実績	
<ul style="list-style-type: none"> ● 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。 ● 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入すること。なお、著者名は省略せず全てを記入し、自分の名前に<u>下線</u>を引くこと。 ● 国内外雑誌を問わない。 ● 印刷中は in press と記入し、投稿中の論文および学会のアブストラクトは含めないこと。 	
1	相原 正宗. 薬剤感受性検査データ(MIC)の読み方と耐性菌検査 グラム陽性菌編 7. <i>Escherichia coli</i> (大腸菌), <i>Proteus mirabilis</i> . Medical Technology (査読なし) 53(7): 742-746, 2025.
2	大野 真依, 清祐 麻紀子, 相原 正宗, 山下 有加, 堀田 多恵子, 國崎 祐哉. <i>Nocardia</i> 属菌臨床分離株を用いた質量分析装置 VITEK MS の同定精度評価および薬剤感受性結果. 日本臨床微生物学会雑誌 (査読あり) 35(3): 223-229, 2025.
3	Aihara M (筆頭著者・責任著者), Gotoh Y, Shirahama S, Matsushima Y, Uchiumi T, Kang D, Hayashi T. Generation and maintenance of the circularized multimeric IS26-associated translocatable unit encoding multidrug resistance. Communications Biology (査読あり) 7(1):597, 2024.
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	

様式 4-3②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。 ● 発表学会名、発表者名、演題を記入すること。 ● 国内外を問わない。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2025年11月	相原 正宗, 生体内での薬剤耐性強化に寄与する長鎖 DNA の量的変動の解析, 第95回日本感染症学会西日本地方会学術集会 (福岡)
2	2025年11月	相原 正宗, 次世代シーケンサーを活用した <i>Klebsiella pneumoniae</i> の薬剤耐性強化機構の解析, 第20回九州遺伝子診断研究会 (宮崎)
3	2025年10月	相原 正宗, 薬剤耐性菌の自動化と迅速化 -初級編 MRSA-, 日本医療検査科学会 第57回大会 (横浜)
4	2025年8月	相原 正宗, 研究と外部資金獲得 -教育・臨床・研究・外部資金-, 第19回日本臨床検査教育学会学術大会 (岡山),
5	2025年1月	相原 正宗, 挿入配列 IS26 が関与する薬剤耐性遺伝子増幅機構の解析, 第37回日本臨床微生物学会総会・学術集会 (名古屋)
6	2024年11月	相原 正宗, 抗菌薬薬剤感受性評価の有効活用, 日本感染症学会 感染症ベーシック・スクール 2024 抗菌薬適正使用編 九州・沖縄地区
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2026年1月	Stepwise within-host evolution of a <i>bla</i> _{CTX-M-27} -positive <i>Klebsiella pneumoniae</i> clone under changing antimicrobial pressures leading to enhancement of β -lactam resistance. Aihara M, Gotoh Y, Nakamura K, Kimura-Hyoda T, Kunisaki Y, Hayashi T.
2	2026年2月	相原 正宗, プラスミド性 <i>bla</i> _{CTX-M} 遺伝子の染色体転位と薬剤耐性強化の解析, 第37回 日本臨床微生物学会総会・学術集会 (幕張)
3	2026年2月	相原 正宗, 血液培養検査ガイドの改訂ポイント, 第37回 日本臨床微生物学会総会・学術集会 (幕張)
4	2026年3月	相原 正宗, 後藤 恭宏, 林 哲也, 挿入配列 IS26 が関与する動的な遺伝子増幅機構, 第99回 日本細菌学会総会
5		
6		