

学術交流・研究推進プロジェクト 成果報告書

研究代表者 所属 薬学部 感染制御学研究室
職・氏名 教授 駒野 淳

研究テーマ：抗生物質関連下痢症の原因菌であるクロストリディオイデス・ディフィシルの新規感染経路とその臨床的影響に関する研究

研究期間：

2024 年 4 月 1 日 ～ 2026 年 3 月 31 日

研究担当者：

<本学>

研究代表者 駒野 淳 (大阪医科薬科大学・薬学部・感染制御学研究室)
研究分担者 小川 拓 (大阪医科薬科大学・医学部附属病院 感染対策室・室長)
研究分担者 津田 泰宏 (大阪医科薬科大学・看護学部・教授)

<共同研究機関>

研究分担者 田中 大祐 (富山大学 理学部・教授)
研究代表者 奥田 智明 (慶應義塾大学 理工学部・教授)
研究分担者 丸山 史人 (広島大学 IDEC 国際連携機構・教授)

研究目的：

Clostridioides difficile は偏性嫌気性グラム陽性芽胞形成性桿菌で、環境に広く生息し、野生動物やヒトの腸管に常在する細菌である。Tcd A, Tcd B, Binary toxin などの毒素を産生する株はビルレンスが高く、しばしば抗菌薬関連下痢症あるいは *C. difficile* 感染症 (CDI) の原因となる。抗菌薬の使用に大きく依存する近代医療において、抗菌薬投与に伴って発症する CDI は大きな問題となっている。2023 年に厚労省は AMR 研究開発優先課題リストで *C. difficile* 感染症を総合評価「Priority 1」に位置付けた。米国 CDC も *C. difficile* を最も対策が必要な病原体の一つとして位置付けており、国際的に対策が求められている。我が国では CDI は感染症法でサーベイランスの対象として位置付けられていないため、欧米に比べて実態がよくわかっていない。我々は精度の高い遺伝子型解析法を用いて医療機関と自然環境における *C. difficile* の分子疫学解析を行い、我が国における *C. difficile* 流行動態の解明を試みた。

研究内容および研究成果：

遺伝子型を最も簡便かつ高精度に解析できる polymerase chain reaction-based open reading frame typing (POT)法を基に我が国における *C. difficile* の分子疫学を詳細に行った。解析対象は 1597 株で、我が国における分子疫学解析では最も多い菌株数であった。臨床分離株は北海道から沖縄まで 21 医療施設から分離された 1327 株で、POT 型は 373 種類であった。環境分離株は本州から九州まで 11 河川から分離された 270 株で、POT 型は 122 種類であった。

全国共通株を「日本を 8 地域 (北海道、東北、関東、中部、関西、中国・四国、九州、沖縄) に

区分した際に 3 地域以上で検出された POT 型を有する分離株」と定義すると、全国共通株の割合は、臨床分離株で 64.4%、環境分離株で 52.6%であった。地域独自株を「特定の医療機関または河川のみで検出された POT 型を有する分離株」と定義すると、臨床分離株で 23.2%、環境分離株で 24.8%であった。各医療機関および河川を個別にみると、統計学的な有意性を持って地域的な相違はなかったが、全国共通株の割合は沖縄の医療機関が 37.3%で最も低く、地域独自株の割合は島根と沖縄の医療機関がそれぞれ 50.0%と 49.2%で最も高かった。POT 型の多様性は POT の種類を菌株数で割った値と定義すると、臨床分離株で 28.1%、環境分離株で 45.2%と環境分離株の方が高い遺伝的多様性を示した。これは自然環境の方が多様な生育環境があるため、より多様な遺伝子型の菌が生育できると見ることができる。個別にみると、地域独自株の割合が高かった島根の医療機関では POT 型の多様性が 88%と最も高かった。施設間で共通する POT 型の割合は「POT 型の共通性」を算出したもので、比較的広い地域の流行を反映する。沖縄の医療機関は全ての医療機関に対して有意に低い値を示した ($P < 0.05$, t test)。各河川に対しても同様であった。

以上より、北海道から沖縄まで各地域に全国共通株と地域独自株が確認され、沖縄の臨床分離 *C. difficile* 菌株の POT 型は本土と異なる可能性が示唆されました。沖縄が本土と大きく異なる POT 型プロファイルを有するのは、環境に存在する *C. difficile* の遺伝子型が本土と異なるためで、その理由は土壌や気候にあると推察された。一方、各地域に全国共通株が存在したことは、ヒトを含む野生動物が伝搬したとは考えにくく、土壌に含まれる芽胞が気象イベントによりエアロゾル化して散布される可能性が疑われた。

そこで我々はアジア各地で採集された大気エアロゾルのメタゲノム解析データを用い、*C. difficile* ゲノムの存在とその割合を解析した。その結果、アジア地域の 10 地点のうち 8 地点で大気エアロゾル中に *C. difficile* のゲノムが検出された。また、2020~2023 年に日本国内で大気中から捕集された PM_{2.5} 粉体試料から選択培地を用いて *C. difficile* の分離培養を試みた。その結果、横浜と福岡で採集されたそれぞれ 60 検体の PM_{2.5} 粉体試料から 7 株の *C. difficile* が分離された。7 株は POT 型で 5 つに分類された。3 株の POT 型は大気エアロゾル採集地点から離れた地域の医療機関の臨床検体および環境の両方から分離された株と一致した。しかし、その同定頻度は極めて低かった。一方、残り 2 つの POT 型は我が国の医療機関や環境中からは同定されなかった。そこで、4 つの菌株について MLST 解析を行い、全世界から収集された 108 菌株と合わせて系統樹解析を行なった。その結果、4 つの菌株は日本から報告されている菌株とは異なる遺伝的クラスターに位置し、それぞれガーナ、アジアクラスター、英国・ドイツクラスター、米国・欧州クラスターが最も遺伝的に近縁と推定された。

以上をまとめると、遺伝的解像度が高い POT を利用して大規模な遺伝子型調査を行うことにより、我が国における *C. difficile* の遺伝的多様性を地域レベルで解析することができた。我々は大気エアロゾル PM_{2.5} から世界で初めて *C. difficile* の分離に成功した。地球規模の *C. difficile* の分子疫学、大気エアロゾルの動態を勘案すると、*C. difficile* の芽胞が大規模な気象イベントにより大気エアロゾル化し、大気によって運搬されたものが全国に舞い落ちて全国共通株になると同時に、グローバルに生息範囲を広げる可能性が示唆された。地域独自株は土着した *C. difficile* が長い期間をかけて各地の多様な環境で選択されたものと考えられる。エアロゾルに存在する *C. difficile* が人の健康にどのように関与するか、今後より踏み込んだ検討が必要である。

成果発表：

<原著論文>

1. Sagisaka Y, Ishibashi M, Hosokawa D, Nakagawa H, Yonogi S, Minami K, Suzuki Y, Ogawa T, Ukimura A, Nakano T, Komano J. Regional and temporal genotype profiling of *Clostridioides difficile* in a multi-institutional study in Japan. *Sci Rep* 2024 Sep 16;14:21559 (ISI IF ca 3.9).
2. Ishibashi M, Yonogi S, Tani M, Hiura C, Hosokawa D, Matsuta N, Sagisaka Y, Yagi M, Hasei T, Hayashi M, Shiwa Y, Maruyama F, Tanaka D, Okuda T, Maki T, Komano J. Isolation of *Clostridioides difficile* from the atmospheric fine particulate matter. *BMC Microbiology* (ISI IF ca 4.2), in press.
3. Maki T, Sadakane K, Ichinose T, Noda J, Yamano S, Komano J, Huang Z, Okuda T. Heterogeneous effects of bioaerosols on atmospheric transport and human health. *Environ Pollution* (ISI IF ca 7.3), in submission.

<学会発表>

- ・細川 大輔, 石橋 都, 駒野 淳. 臨床と環境分離株の分子疫学的解析による *Clostridioides difficile* の地域独自性の検証. 第 39 回日本環境感染学会総会・学術集会. 2024 年 7 月 (京都)
- ・石橋 都, 細川 大輔, 駒野 淳. エアロゾルから分離された *Clostridioides difficile* の遺伝子型と臨床分離株との比較検討. 第 39 回日本環境感染学会総会・学術集会. 2024 年 7 月 (京都)
- ・谷 桃佳, 松田 捺見, 駒野 淳. 大気エアロゾルから分離された *Clostridioides difficile* の分子疫学的解析. 第 40 回日本環境感染学会総会・学術集会. 2025 年 7 月 (横浜)
- ・松田 捺見, 谷 桃佳, 駒野 淳. 大気エアロゾル由来の *Clostridioides difficile* と臨床・環境分離株の芽胞形成能の比較検討. 第 40 回日本環境感染学会総会・学術集会. 2025 年 7 月 (横浜)
- ・金子 和樹, 山本 優生, 八木 真裕子, 駒野 淳. *Clostridioides difficile* の芽胞形成に関する因子の解析. 第 55 回日本嫌気性菌感染症学会 総会・学術集会. 2026 年 3 月 (横浜)
- ・日浦 千尋, 松田 捺見, 亀本 陽菜, 八木 真裕子, 駒野 淳. 日本の臨床および環境に由来する *Clostridioides difficile* の包括的遺伝子型解析. 第 55 回日本嫌気性菌感染症学会 総会・学術集会. 2026 年 3 月 (横浜)

<その他>

- ・松田 捺見, 駒野 淳. 大気バイオエアロゾルから分離された *Clostridioides difficile* の芽胞形成能. 第 16 回大気バイオエアロゾルシンポジウム. 2025 年 2 月 (大阪)
- ・谷 桃佳, 駒野 淳. 大気微小粒子状物質(PM2.5)から分離された *Clostridioides difficile* の分子疫学的解析. 第 16 回大気バイオエアロゾルシンポジウム. 2025 年 2 月 (大阪)
- ・駒野 淳. 気候変動と感染症. 第 21 回関西大学・大阪医科薬科大学 医工薬連携科学教育研究機構シンポジウム. 2026 年 1 月 10 日 (高槻)