



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Investigation of the Emergence of Livestock-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Clonal Complex 398 in Thailand's Swine Industry using Whole-Genome Sequencing
Author(s)	NARONGPUN, Pawarut
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	甲第16662号
Issue Date	2025-09-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16662
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/98272
Type	doctoral thesis
File Information	Pawarut_Narongpun_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（感染症学）

氏名：Pawarut Narongpun

審査委員	主査	教授	東	秀明
	副査	特任教授	鈴木	定彦
	副査	准教授	磯田	典和
	副査	教授	山岸	潤也
	副査	教授	中島	千絵

学位論文題名

Investigation of the Emergence of Livestock-Associated
Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clonal Complex 398
in Thailand's Swine Industry using Whole-Genome Sequencing

（全ゲノム解析によるタイの養豚業における家畜関連メチシリン耐性
黄色ブドウ球菌クローナルコンプレックス 398 の出現に係る研究）

黄色ブドウ球菌は表皮や鼻粘膜等の常在菌と考えられており、健康なヒトにおいて問題となることは殆ど無いが、免疫が低下した状態のヒトにおいて時に全身性の感染症を起こすことがあり、薬剤耐性であると治療に困難を来す。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA）は医療分野では院内感染対策等で大きな問題となっているが、近年、獣医領域でも家畜由来のMRSA（Livestock-Associated MRSA, LA-MRSA）が出現し、問題となっている。黄色ブドウ球菌はヒトと動物の両者に感染し得るため、家畜に抗菌剤が多用されることにより高度に薬剤耐性となったLA-MRSAのヒトへの感染が危惧され、欧米では家畜で発生したと思しきLA-MRSAのヒトへの感染が報告されているが、タイにおける調査は不十分であった。そこで、Narongpun氏は本学位論文研究にて、タイの養豚場においてブタ及び従業員から分離されたMRSA菌株につき、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム比較解析を行うことによってMRSAの薬剤耐性に係る遺伝子の保有状況を調べると共に、ブタとヒトの間の伝播の可能性を調査した。更にはこれらの菌株の全ゲノムシーケンスデータを世界の分離株と比較することにより、世界的な蔓延株であるCC398のタイへの侵入経路及びその時期に係る考察を行った。

第1章では、2015年から2017年に掛けて農場の健康豚及び従業員の鼻腔スワブから分離されたMRSA株16株を用い、全ゲノム解析を行った。菌株より抽出、

精製された DNA を次世代シーケンサーMiSeq によって解読し、これらの配列を用いて in-silico による Multi Locus Sequence Typing (MLST) 及び spa typing を行った。また AMRFinderPlus、Virulence Factor Database (VFDB) 等のオンラインツールを用いて薬剤耐性関与遺伝子や病原性に係る遺伝子等の検出を行い、更にはリファレンス株との比較によりコアゲノムの Single Nucleotide Polymorphism (SNP) を検出し、SNP 間の距離に基づいて系統樹を描いて遺伝系統解析を行った。型別の結果、アジアの LA-MRSA で優勢と言われる CC9 は 16 株中 3 株のみで、残りは全て欧米で優勢な CC398 であることが判明した。また、全ての株が薬剤耐性に係る遺伝子を複数保持した多剤耐性菌であったが、ヒトの市中感染 MRSA 株等で問題となっている Pantone-Valentine leukocidin (PVL) 等の病原因子は検出されなかった。なお、2 農場において従業員由来の CC398 株が同じ農場由来のブタ株と SNP 数差 3~11 と遺伝的に非常に近く、保有している薬剤耐性遺伝子も同じであったことから、ブタからヒトへの多剤耐性 LA-MRSA の伝播が起きていることが示された。

第 2 章では、申請者は 2019 年頃から報告され始めたタイのブタにおける CC398 株浸潤に関し、タイ国内への侵入時期及びその由来を推定するために、タイのブタ由来 CC398 株のゲノム配列を世界各国で分離された CC398 株のゲノム配列と比較した。Pathogenwatch データベースからダウンロードした 1,197 株のゲノム配列と比較し系統樹を描いたところ、タイ由来の株は 3 グループに分かれ、1 グループの由来は不明であったが 2 グループ (CC398-Scc mec Vc-t034) はデンマークのヒト及び動物由来株と近縁であることが判った。更には Bayesian 系統解析によりタイへの導入時期は 2008 年頃と推測された。これはタイにおけるデンマーク等からの母豚の輸入実績のデータと整合しており、タイのブタにおいて広まりつつある LA-MRSA CC398 株は、欧州からのブタ生体の輸入に伴って導入されたものであることが示唆された。

以上より、申請者は本研究によって、タイの農場においてブタから従業員へ多剤耐性 LA-MRSA の伝播が起きていることを明らかとし、家畜の生体の輸入が国境を越えた LA-MRSA 導入の原因であることを示した。また、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析により、これらの詳細な情報提供が成されることが実践された。これらの解析結果は、国境を越えた人獣共通感染症の疫学調査の実施において大いに貢献すると思われる。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 Pawarut Narongpun 氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。