「多剤薬剤耐性菌制御のための薬剤耐性菌研究者育成と細菌学的専門教育」資料集

平成26年度　群馬大学　文部科学省特別プロジェクト事業

「多剤薬剤耐性菌制御のための薬剤耐性菌研究者育成と細菌学的専門教育」

第3回
薬剤耐性菌制御のための教育セミナー

資　料　集

日時：平成26年8月8日㈮　13時～16時

場所：国立感染症研究所　戸山庁舎　共用第一会議室

（東京都新宿区戸山1-23-1）

事務局：群馬大学大学院医学系研究科細菌学・同附属薬剤耐性菌実験施設

プログラム

司会進行　群馬大学大学院医学系研究科　細菌学　富 田 治 芳

挨　　拶

群馬大学大学院医学系研究科　細菌学　富 田 治 芳

1 日本の薬剤耐性菌の現状

国立感染症研究所　細菌第二部　柴 山 恵 吾

2 CRE検出方法の実際

船橋市立医療センター　微生物検査室　長 野 則 之

3 多剤耐性緑膿菌（MDRP）と多剤耐性アシネトバクター（MDRA）の現状と分子疫学

独立行政法人 国立国際医療研究センター研究所 感染症制御研究部　切 替 照 雄

4 多剤耐性結核の分子疫学解析と国際現状

結核予防会大阪病院 診断検査部　松 本 智 成

The Society for Bacterial Drug Resistance
薬剤耐性菌研究会

ホーム
研究会概要
研究会案内
国内耐性菌情報
海外耐性菌情報
耐性菌Q&A
会則
入会案内
アクセス
お問い合わせ

群馬大学文部科学省特別プロジェクト事業
多剤薬剤耐性菌制御のための薬剤耐性菌研究者育成と細菌学的専門教育

第43回 薬剤耐性菌研究会 開催のご案内

第43回 薬剤耐性菌研究会を以下の日程で開催させていただきます。

第43回 薬剤耐性菌研究会は「平成26 年度 群馬大学 文部科学省特別プロジェクト事業「多剤薬剤耐性菌制御のための薬剤耐性菌研究者育成と細菌学的専門教育」」より一部支援を受け、同プロジェクトの一事業として共催されます。　（本研究会はICD協議会の教育講演会（ICD認定更新点数２点）として認定されるよう申請中です。）

参加登録と演題の募集を開始いたします。

参加登録票をダウンロードし必要事項をご記入の上、事務局 (tanimoto@gunma-u.ac.jp)までメール添付あるいはFAX (027-220-7996) にてお送りください。参加のみの方も参加申し込みをお願いいたします。
多数の方々のご参加をご期待申し上げます。

なお日本化学療法学会東日本支部総会/日本感染症学会東日本地方会学術集会の開催日程と10月31日が重なりますが、演題登録の際にお申し出頂ければ発表時間を調整いたしますので奮ってご参加ください。
締め切り、研究会日程、宿泊/参加費は以下のとおりです。

参加登録〆切：　2014年9月22日
抄録〆切：　2014年10月6日

開催日時：　2014年10月31日（金）12：25から11月1日（土）12：35
受付は10月31日（金）11：30よりホテルロビーにて行います。

場所：　石川県加賀市　加賀温泉郷　片山津温泉　加賀観光ホテル

特別企画：　カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）の現状と対策

宿泊/参加費等：　17,000円（内訳：年会費 1,000円、研究会参加費 6,000円、宿泊費(1泊2食) 10,000円）
個室利用の場合には10,800円の追加が必要です。

片山津温泉へのアクセス　JR北陸線・加賀温泉駅より車で約10分

開催当番：　飯沼 由嗣（金沢医科大学 臨床感染症学）
問い合わせ先：　下記事務局と同じ
薬剤耐性菌研究会 事務局：富田治芳
（群馬大学大学院 細菌学・薬剤耐性菌実験施設：TEL 027-220-7992）
e-mail: <tanimoto@gunma-u.ac.jp>

事務局：〒371-8511 群馬県前橋市昭和町3-39-22

Copyright © The Society for Bacterial Drug Resistance. All rights reserved.

http://yakutai.dept.med.gunma-u.ac.jp/society/43rd_Kenkyuukai.html

日本の薬剤耐性菌の現状

国立感染症研究所　細菌第二部

部長　**柴　山　恵　吾**

■内容

はじめに …… 1
近年増加が著しい耐性菌 ……34
外国の状況との比較 ……34
JANIS 還元情報 ……35
おわりに ……38

はじめに

抗菌薬の開発、使用に伴い、様々な薬剤耐性菌が次々と出現し、拡散している。菌種や薬剤によっては、医療現場全体で分離される株の耐性菌の割合が数年で大きく増加しているものも有る。

厚生労働省院内感染対策サーベイランス（Japan Nosocomial Infection Surveillance）事業（以下 JANIS）では、主に200床以上の医療機関およそ1,300機関に協力頂き、国内の医療機関における院内感染症の発生状況、薬剤耐性菌の分離状況及び薬剤耐性菌による感染症の発生状況等を調査し、National data として解析結果をホームページ（http://www.nih-janis.jp/）で公開している。JANIS はまた同時に、参加医療機関それぞれ個別の集計結果を作成して還元情報として提供し、医療機関内における感染対策を支援することを目的としている。公開情報では、日本国内において主な菌種で各種抗菌薬に対する耐性の割合がどれくらいなのか、また主な薬剤耐性菌がどの程度分離されているか、などを集計し、結果を分かりやすい図表にして公開している。参加医療機関へ個別に提供する還元情報では、その医療機関のデータ及び、全国データとの比較の図表を示して、自施設の耐性菌の状況が他と比べて高いのか低いのかを分かるようにして、感染対策の策定や評価に活用して頂いている。各医療機関においては、ICT が自施設の薬剤耐性菌等の分離状況を集計し、それに基づいて感染対策が施されているところだが、JANIS の還元情報は、さらに全国データと自施設を比較する情報を提供し、感染対策のレベルアップに資することを目的としている。JANIS は厚生労働省医政局地域医療計画課が実施するサーベイランスで、統計法に基づく調査である。感染症法に基づく届出とは別の調査であり、任意参加型の事業である。医療機関の感染対策の推進に寄与するため、H25年度の診療報酬の改定により感染防止対策加算 1 について、JANIS の検査部門への参加が必須要件の一つに位置づけられた。データ解析は国立感染症研究所細菌第二部が実務を全て担当している。ここでは、JANIS の2012年の検査部門の公開情報のデータを用いて、主要な各種耐性菌の国内での状況を説明する。同時に、参加

医療機関に個別にどのような情報を提供しているのかについても例を示して解説する。また、近年特に増加がみられて注意が必要な耐性菌や、外国の状況についても合わせて紹介する。

公開情報 2012 年 1 月～12 月 年報
院内感染対策サーベイランス 検査部門

JANIS

【検査部門におけるサーベイランスの概要と目的】

本サーベイランスの目的は、細菌検査により検出される主要な細菌の分離頻度とその抗菌薬感受性を継続的に収集・解析し、医療機関における主要な細菌ならびに薬剤耐性菌の分離状況を明らかにすることである。

サーベイランスの対象となる主要菌ならびに薬剤耐性菌の分離率は、医療機関から提出された陰性検体を含むすべての細菌検査データを基に集計し、算出している。また検査材料別の分離菌割合や菌種別の分離患者数、集計医療機関の分離率分布を集計し、医療機関における主要菌ならびに薬剤耐性菌のベンチマークとなる情報を提供している。

【図表】

1. データ提出医療機関*数
2. データ提出医療機関数、検体数、分離菌数
3. 検査材料別分離菌数割合
4. 主要菌分離患者数と全医療機関*の分離率分布
5. 特定の耐性菌分離患者数と全医療機関*の分離率分布
6. 特定の耐性菌が分離された医療機関の割合
7. 主要菌の抗菌薬感受性

   Staphylococcus aureus (Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* : MSSA)

   Staphylococcus aureus (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : MRSA†)

   Staphylococcus epidermidis

   Coagulase-negative staphylococci (CNS‡)

   Enterococcus faecalis

   Enterococcus faecium

   Streptococcus pneumoniae

   Streptococcus pyogenes

   Streptococcus agalactiae

   Escherichia coli

   Klebsiella pneumoniae

   Serratia marcescens

   Pseudomonas aeruginosa

   Acinetobacter spp.

   Haemophilus influenzae

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません　データ集計日：2013 年 04 月 22 日

公開情報掲載日：2013 年 06 月 04 日

Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* (PRSP[†]) 外来患者対象

＊ここではデータ提出医療機関ならびに全医療機関は、集計対象医療機関を表す

†巻末資料 1.【耐性菌の定義】参照

‡ *S. epidermidis* を除く Coagulase-negative staphylococci

【解説】

1. データ提出医療機関数

2012 年年報（2012 年 1 月～12 月）の集計対象医療機関数は、660 であり、前年より 66 増加した。これは国内 7,529 医療機関の 8.8%を占めていた。200 床以上の医療機関に限ると集計対象医療機関は 651 であり、国内 2,052 のうちの 31.7%を占めていた。特に 500 床以上では国内 415 医療機関中 237（57.1%）と半数を超える医療機関が集計対象であった。

2. データ提出医療機関数、検体数、分離菌数

入院患者由来の検体として報告された 4,230,786 検体のうち、菌が分離されたものは 1,852,875 検体（陽性検体の割合：43.8%）、分離菌数は 3,452,556 株であった。

検査材料の内訳は、呼吸器系検体が 1,293,727 検体（30.6%）と最も多く、次いで血液検体 1,166,599 検体（27.6%）、尿検体 504,552 検体（11.9%）、便検体 357,340 検体（8.4%）、髄液検体 54,308 検体（1.3%）であった。また、これらの検査材料以外であるその他の検体は 854,260 検体（20.2%）であった。

検査材料別の陽性検体の割合は、呼吸器検体が 65.0%で最も高く、次いで尿検体 52.7%、便検体 51.8%、血液検体 13.1%、髄液検体 5.8%の順であった。また、その他の検体では 47.3%であった。

3. 検査材料別分離菌数割合

血液検体からは 173,355 株が分離された。分離菌のうち上位 3 菌種は、*S. aureus* 25,497 株（14.7%）、*E. coli* 22,811 株（13.2%）、*S. epidermidis* 19,620 株（11.3%）であった。

髄液検体からは 3,638 株が分離された。分離菌のうち上位 3 菌種は、*S. epidermidis* 674 株（18.5%）、*S. epidermidis* を除く CNS 461 株（12.7%）、*S. aureus* 398 株（10.9%）で、いずれもブドウ球菌属であった。

4. 主要菌分離患者数と全医療機関の分離率分布

検体提出患者数は 1,453,969 人であった。分離患者数が最も多かった *S. aureus* は検体提出患者のうち 15.22%にあたる 221,239 人より分離されており、次いで *E. coli* が 171,361 人（11.79%）、*P. aeruginosa* 101,821 人（7.00%）の順であった。

5. 特定の耐性菌分離患者数と全医療機関の分離率分布

薬剤耐性菌のうち、分離患者数が最も多かった MRSA は、検体提出患者の 8.06%にあたる 117,209 人より分離された。 また、院内感染対策上問題となることの多い多剤耐性緑膿菌（MDRP）は 2,059 人（0.14%）より分離されたが、海外でその蔓延が問題となっているバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）は 236 人（0.02%）、多剤耐性アシネトバクター属（MDRA）は 163 人（0.01%）と MDRP に比較して分離患者数は少なかった。しかし、MDRA 分離率をより詳細にみると 2010 年 0.005%、2011 年 0.009%、2012 年は 0.011%と、増加していた。

なお、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌（VRSA）の分離報告はなかった。

6. 特定の耐性菌が分離された医療機関の割合

MRSA は集計対象となった 660 医療機関すべてから分離が報告され、MDRP は半数以上の 53.2%の医療機関より報告された。一方で VRE は集計対象医療機関の 10.8%、MDRA は 4.4%のみが分離を報告しており、MRSA や MDRP に比べ分離を報告した医療機関は少なかった。

7. 主要菌の抗菌薬感受性

注：VCM 耐性の *S. aureus* など「特殊な耐性を示す菌：カテゴリーA」(p.5 データの精度管理参照)については、報告した全ての医療機関に対して報告内容の真偽について確認しているため、データ入力時のミスなどはすべて除外されている。一方、「特殊な耐性を示す菌：カテゴリーA」以外の抗菌薬感受性結果については、医療機関からの報告どおりの集計結果となっており、誤報告が含まれている可能性がある。

S. aureus では、MSSA はペニシリン G（PCG）に対しては 60.1%が耐性、エリスロマイシン（EM）に対しては 23.4%が耐性であった。セファゾリン（CEZ）には 99.9%が感性であり、レボフロキサシン（LVFX）には 88.6%が感性であった。

MRSA は、バンコマイシン（VCM）に対して 99.9%が感性であった。VCM 耐性株の報告はなかったが、0.1%（104 株）が中等度耐性であった。テイコプラニン（TEIC）に対しては 113,943 株のうち 40 株を除きすべて感性であり、31 株が中等度耐性、9 株が耐性であった。リネゾリド（LZD）

に対してもほぼすべてが感性であり 84,591 株中 35 株のみが非感性であった。

S. epidermidis は、メチシリン（MPIPC）に対して 19.0%が感性であったが、VCM に対しては 59,850 株中 29 株を除くほぼすべてが感性、TEIC に対しては 95.9%が感性であった。 *S. epidermidis* を除く CNS では、MPIPC に対して 25.8%が感性であったが、VCM に対しては 99.9%が感性、TEIC に対しては 96.8%が感性であった。

腸球菌では、*E. faecalis* は PCG、アンピシリン（ABPC）にそれぞれ 97.9%、99.6%が感性であったが、*E. faecium* では 12.6%、13.8%が感性であった。また VCM には *E. faecalis* は 69,746 株中 32 株を除きほぼすべてが完成、*E. faecium* は 99.3%が感性であった。

S. pneumoniae の PCG 非感性は 52.3%（中等度耐性 37.0%、耐性 15.3%）であった。またメロペネム（MEPM）に対しては 79.6%が感性、セフォタキシム（CTX）、LVFX に対しては、それぞれ 94.7%、96.3%が感性であり、VCM に対してはすべてが感性であった。外来で分離された PRSP（PCG の抗菌薬感受性が I または R）に限った場合、MEPM に対しては 64.6%が感性、CTX、LVFX、VCM に対しては入院患者から分離された全 *S. pneumoniae* とほぼ同等であった。

S. pyogenes では、PCG、ABPC に対してはすべて感性であった。しかし EM は 52.9%が耐性であった。*S. agalactiae* では、PCG、ABPC、CTX にそれぞれ 4.8%、1.5%、3.1%が非感性であった。

腸内細菌科である *E. coli*、*K. pneumoniae*、*S. marcescens* の第三世代セファロスポリン系抗菌薬である CTX およびセフタジジム（CAZ）に対しては、*E. coli* では 81.8%と 90.9%、*K.pneumoniae* で 93.7%と 96.3%、*S. marcescens* で 79.2%と 90.0%が感性であった。また上記 3 菌種のイミペネム（IPM）に対する感性の割合は *E. coli* 99.9%、*K. pneumonia* 99.8%、*S. marcescens* 99.3%であり、LVFX に対する感性の割合は、*E. coli* 64.3%、*K. pneumonia* 96.2%、*S. marcescens* 91.7%であった。

P. aeruginosa では、カルバペネム系の IPM、MEPM に対してはそれぞれ 76.3%、82.4%が感性であった。アミノグリコシド系のゲンタマイシン（GM）とアミカシン（AMK）に対しては 83.7%、94.2%が、フルオロキノロン系の LVFX に対しては 76.4%が感性であった。

Acinetobacter spp.では、IPM、MEPM に対して、それぞれ 96.9%、96.1%が感性であった。また GM と AMK に対しては 87.1%、94.6%、LVFX に対しては 84.9%が感性であった。

H. influenzae では、45.9%が ABPC に対して感性であり、スルバクタム/アンピシリン（SBT/ABPC）とクラブラン酸アモキシシリン（CVA/AMPC）に対しては、それぞれ 72.2%、81.9%が感性であった。

データの精度管理

- 年間を通じて提出検体が無い。
- 年間を通じて大腸菌の報告が無い。
- 血液検体が年間 10 検体以上報告され、かつ陽性検体の割合が 90%以上。
- 髄液検体が年間 10 検体以上報告され、かつ陽性検体の割合が 90%以上。
- 国内で過去に報告が無い薬剤耐性菌（特殊な耐性を示す菌：カテゴリーA）に該当する薬剤耐性菌の報告がある。

  [特殊な耐性を示す菌：カテゴリーA]

  ・PCG、ABPC、VCM、LZD 非感性の *S. pyogenes*

  ・VCM、LZD 非感性の *S. agalactiae*

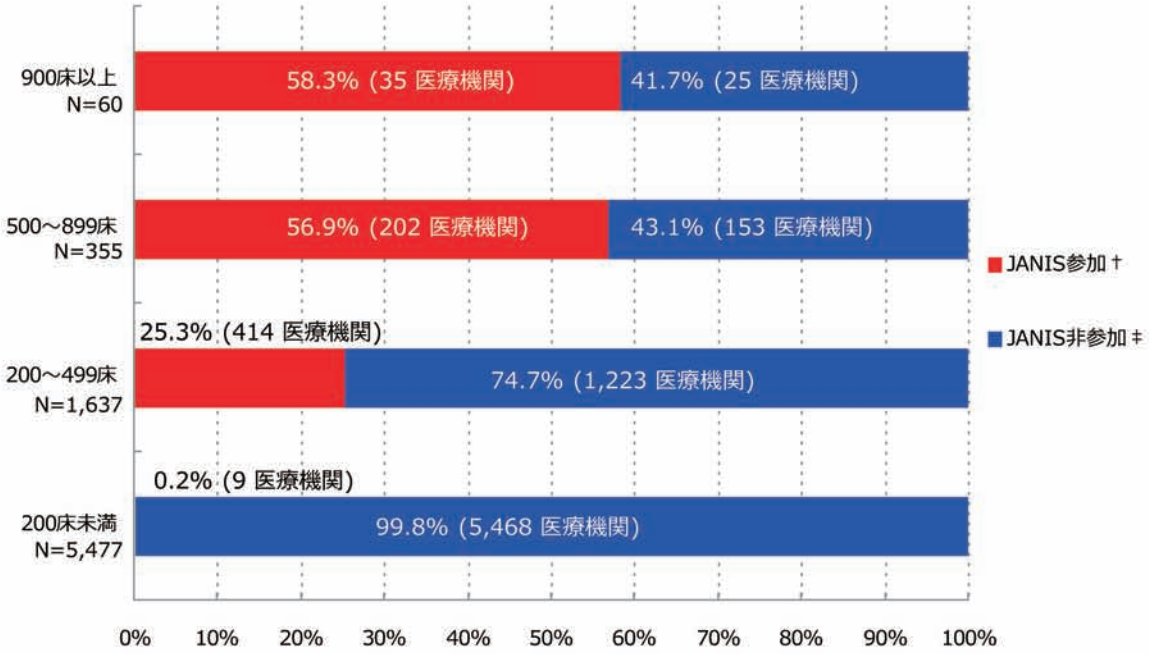
  ・VCM、LZD 非感性の *S. pneumoniae*（外来含む）

  ・VCM 耐性の *S. aureus*（外来含む）
- 微量液体希釈法での報告が無い。

主に上記の基準に該当する医療機関に問い合わせを行った結果、提出されたデータに疑義が生じた医療機関については集計から除外した。このため、年報の結果は月報や四半期報の結果とは異なる場合がある。

公開情報 2012年1月～12月 年報
院内感染対策サーベイランス 検査部門

1. データ提出医療機関*数(660医療機関)



*ここではデータ提出医療機関は集計対象医療機関を表す

†JANIS参加 = 2012年1～12月 集計対象医療機関数

‡JANIS非参加 = （2011年 全国医療機関数¶） －（2012年1～12月 集計対象医療機関数）

病床数	2011年 全国医療機関数¶	2012年1月～12月 集計対象医療機関数 (全国医療機関数に占める割合)
900床以上	60	35 (58.3%)
500～899床	355	202 (56.9%)
200～499床	1,637	414 (25.3%)
200床未満	5,477	9 (0.2%)
病床数不明	-	0 (-)
合計	7,529	660 (8.8%)

¶平成23年医療施設（動態）調査を参照した
精神科病院はのぞく

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません　データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

JANIS

2. データ提出医療機関数、検体数、分離菌数

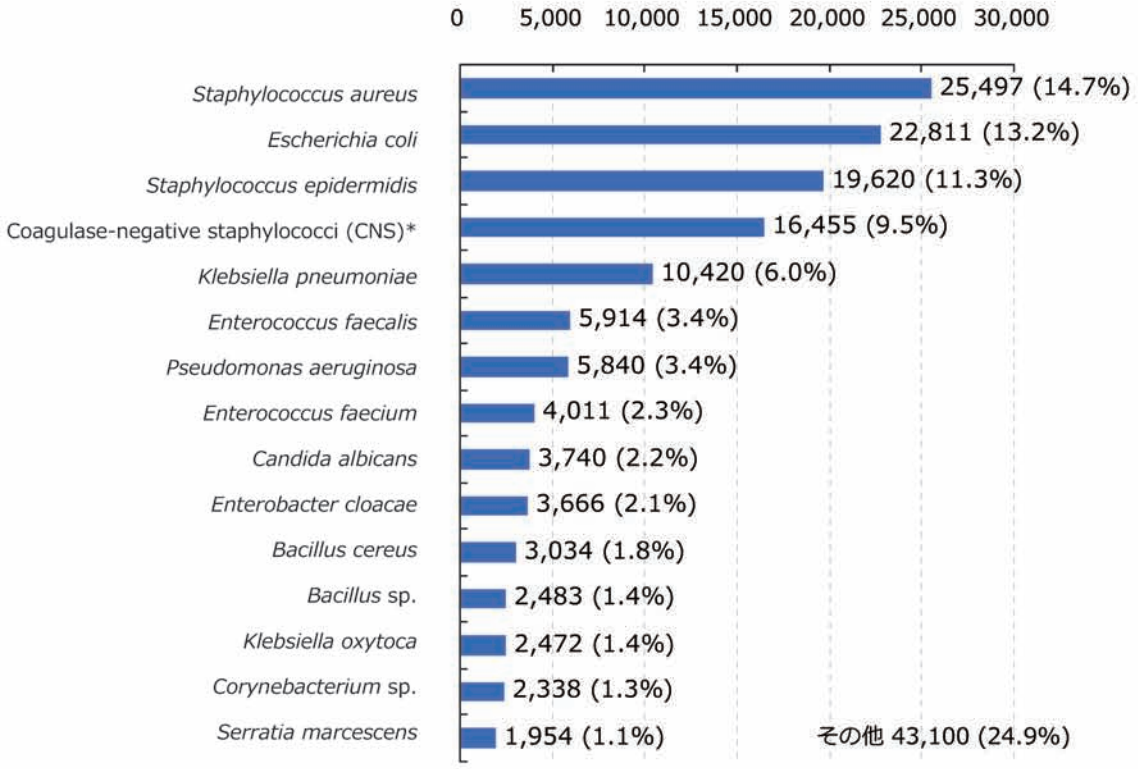
検査材料分類	集計対象医療機関数	検体数	陽性検体数 (分離菌数)
呼吸器系検体	660	1,293,727	841,064 (1,784,976)
尿検体	657	504,552	265,950 (409,324)
便検体	658	357,340	185,070 (372,037)
血液検体	659	1,166,599	153,348 (173,355)
髄液検体	609	54,308	3,155 (3,638)
その他	660	854,260	404,288 (709,226)
合計	660	4,230,786	1,852,875 (3,452,556)

入院として報告された検体を集計
集計対象菌：コメントのみ(菌名コード9999)の報告以外の全ての菌
検査材料分類は検査材料コード参照
：http://www.nih-janis.jp/section/master/specimenentitytype_ver1.0_20070701.xls

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません　データ集計日:　2013年04月22日
公開情報掲載日:　2013年06月04日

3. 検査材料別分離菌数割合

血液検体分離菌 (N=173,355)



*菌名コード：1311, 1313～1325と報告された菌（1312：*Staphylococcus epidermidis*は対象外）

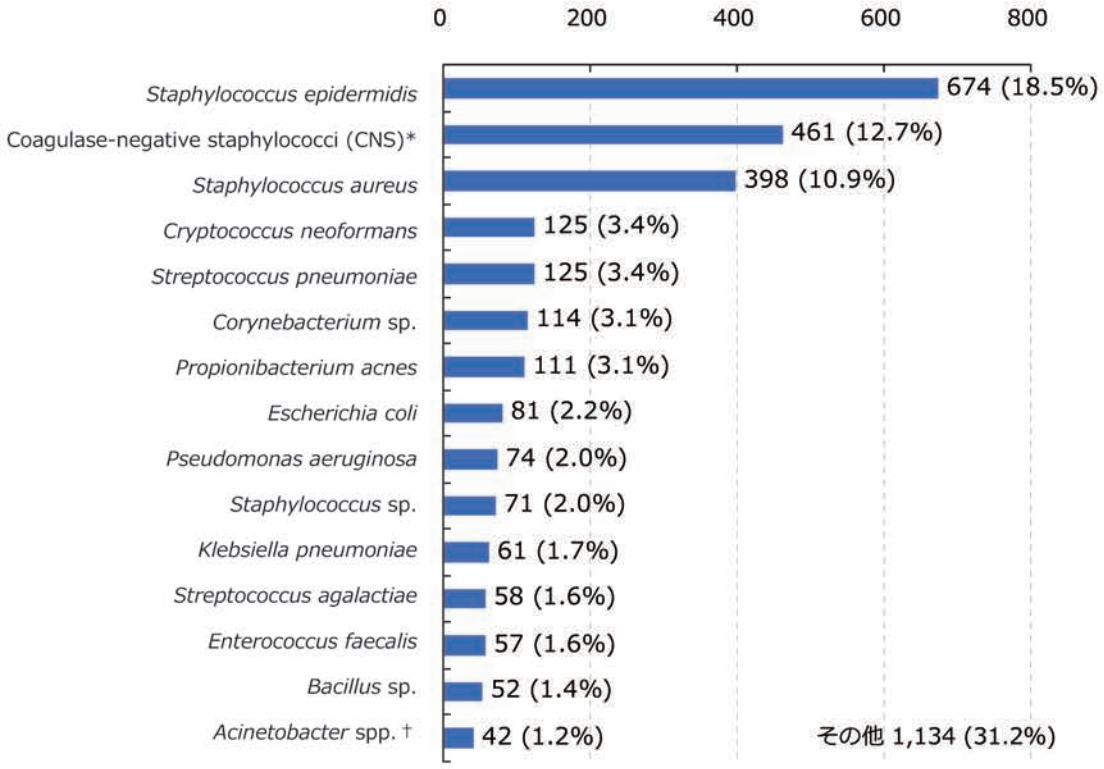
入院として報告された検体を集計
分離菌数割合が16位以下は「その他」に集計
集計対象菌：コメントのみ(菌名コード9999)の報告以外の全ての菌
集計対象検査材料：静脈血(検査材料コード401)と動脈血(同402)
血液検体分離菌数割合 = （対象菌の血液検体分離菌数）÷（血液検体分離菌数合計）×100
菌名コードについて
：http://www.nih-janis.jp/section/master/infectiousagentcode_ver4.1_20121029.xls
検査材料コードについて
：http://www.nih-janis.jp/section/master/specimenentitytype_ver1.0_20070701.xls

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

3. 検査材料別分離菌数割合

髄液検体分離菌 (N=3,638)



*菌名コード：1311, 1313～1325と報告された菌（1312：*Staphylococcus epidermidis*は対象外）

†菌名コード：4400～4403と報告された菌

入院として報告された検体を集計
分離菌数割合が16位以下は「その他」に集計
集計対象菌：コメントのみ(菌名コード9999)の報告以外の全ての菌
集計対象検査材料：髄液(検査材料コード403)
髄液検体分離菌数割合 = （対象菌の髄液検体分離菌数）÷（髄液検体分離菌数合計）×100
菌名コードについて
： http://www.nih-janis.jp/section/master/infectiousagentcode_ver4.1_20121029.xls
検査材料コードについて
： http://www.nih-janis.jp/section/master/specimenentitytype_ver1.0_20070701.xls

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

JANIS

4. 主要菌分離患者数*と全医療機関†の分離率分布

	2008年 患者数 (分離率‡)	**2009年 患者数 (分離率‡)**	2010年 患者数 (分離率‡)	2011年 患者数 (分離率‡)	2012年 患者数 (分離率‡)	集計対象医療機関の分離率¶(%)の分布
検体提出患者数	930,861人	1,056,555人	1,069,216人	1,309,993人	1,453,969人	
S. aureus	162,332人 (17.44%)	**180,184人** (17.05%)	175,145人 (16.38%)	210,382人 (16.06%)	221,239人 (15.22%)	1.85 15.14 41.67
S. epidermidis	45,752人 (4.92%)	51,223人 (4.85%)	47,523人 (4.44%)	64,588人 (4.93%)	65,531人 (4.51%)	0.00 2.90 41.80
S. pneumoniae	27,449人 (2.95%)	30,222人 (2.86%)	31,426人 (2.94%)	32,501人 (2.48%)	30,484人 (2.10%)	0.00 1.51 19.13
E. faecalis	55,698人 (5.98%)	61,113人 (5.78%)	59,458人 (5.56%)	75,862人 (5.79%)	82,510人 (5.67%)	0.00 5.04 23.41
E. faecium	15,888人 (1.71%)	18,248人 (1.73%)	18,674人 (1.75%)	23,523人 (1.80%)	26,941人 (1.85%)	0.00 1.55 26.83
E. coli	101,418人 (10.90%)	116,227人 (11.00%)	118,958人 (11.13%)	151,601人 (11.57%)	171,361人 (11.79%)	2.62 11.33 36.69
K. pneumoniae	50,353人 (5.41%)	56,924人 (5.39%)	60,040人 (5.62%)	77,702人 (5.93%)	85,532人 (5.88%)	0.00 5.85 20.24
Enterobacter spp.	35,128人 (3.77%)	39,349人 (3.72%)	40,363人 (3.78%)	53,484人 (4.08%)	57,843人 (3.98%)	0.00 3.39 11.44
S. marcescens	13,749人 (1.48%)	15,248人 (1.44%)	15,116人 (1.41%)	18,762人 (1.43%)	19,452人 (1.34%)	0.00 1.17 13.95
P. aeruginosa	75,664人 (8.13%)	81,437人 (7.71%)	80,160人 (7.50%)	99,299人 (7.58%)	101,821人 (7.00%)	0.46 6.66 47.47
Acinetobacter spp.	14,755人 (1.59%)	**16,320人** (1.54%)	16,107人 (1.51%)	20,551人 (1.57%)	20,997人 (1.44%)	0.00 1.15 18.03

入院として報告された検体を集計

*分離患者数と検体提出患者数は30日ごとに重複処理(巻末参照)している

†ここでは全医療機関は集計対象医療機関を表す

‡ここでの分離率は全体の分離率を表す

全体の分離率

＝（集計対象医療機関の対象菌の分離患者数合計）÷（集計対象医療機関の検体提出患者数合計）×100

¶分離率 ＝（対象菌の分離患者数）÷（検体提出患者数）×100

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません　データ集計日:　2013年04月22日

公開情報掲載日:　2013年06月04日

JANIS

5. 特定の耐性菌分離患者数*と全医療機関†の分離率分布

	2008年 患者数 (分離率‡)	2009年 患者数 (分離率‡)	2010年 患者数 (分離率‡)	2011年 患者数 (分離率‡)	2012年 患者数 (分離率‡)	集計対象医療機関の分離率¶(%)の分布
検体提出患者数	930,861人	1,056,555人	1,069,216人	1,309,993人	1,453,969人	
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)	97,384人 (10.46%)	105,722人 (10.01%)	100,845人 (9.43%)	114,933人 (8.77%)	117,209人 (8.06%)	1.15 7.96 38.29
バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(VRSA)	0人 (0.00%)	0人 (0.00%)	0人 (0.00%)	0人 (0.00%)	0人 (0.00%)	0.00
バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)	306人 (0.03%)	540人 (0.05%)	520人 (0.05%)	407人 (0.03%)	236人 (0.02%)	0.00 0.00 2.05
ペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP)	12,234人 (1.31%)	13,662人 (1.29%)	14,769人 (1.38%)	15,062人 (1.15%)	12,874人 (0.89%)	0.00 0.60 18.03
多剤耐性緑膿菌(MDRP)	2,109人 (0.23%)	1,928人 (0.18%)	1,872人 (0.18%)	2,388人 (0.18%)	2,059人 (0.14%)	0.00 0.04 7.45
多剤耐性アシネトバクター属(MDRA)	35人 (0.00%)	32人 (0.00%)	55人 (0.01%)	115人 (0.01%)	163人 (0.01%)	0.00 0.00 1.37
カルバペネム耐性緑膿菌	13,524人 (1.45%)	13,727人 (1.30%)	13,425人 (1.26%)	16,479人 (1.26%)	15,815人 (1.09%)	0.00 0.93 15.15
カルバペネム耐性セラチア	162人 (0.02%)	172人 (0.02%)	131人 (0.01%)	118人 (0.01%)	76人 (0.01%)	0.00 0.00 0.29
第三世代セファロスポリン耐性肺炎桿菌	1,593人 (0.17%)	1,875人 (0.18%)	2,050人 (0.19%)	3,155人 (0.24%)	3,419人 (0.24%)	0.00 0.11 8.71
第三世代セファロスポリン耐性大腸菌	5,733人 (0.62%)	7,446人 (0.70%)	9,196人 (0.86%)	14,927人 (1.14%)	18,843人 (1.30%)	0.00 1.12 17.41
フルオロキノロン耐性大腸菌	16,630人 (1.79%)	19,832人 (1.88%)	22,996人 (2.15%)	33,000人 (2.52%)	41,684人 (2.87%)	0.00 2.76 22.15

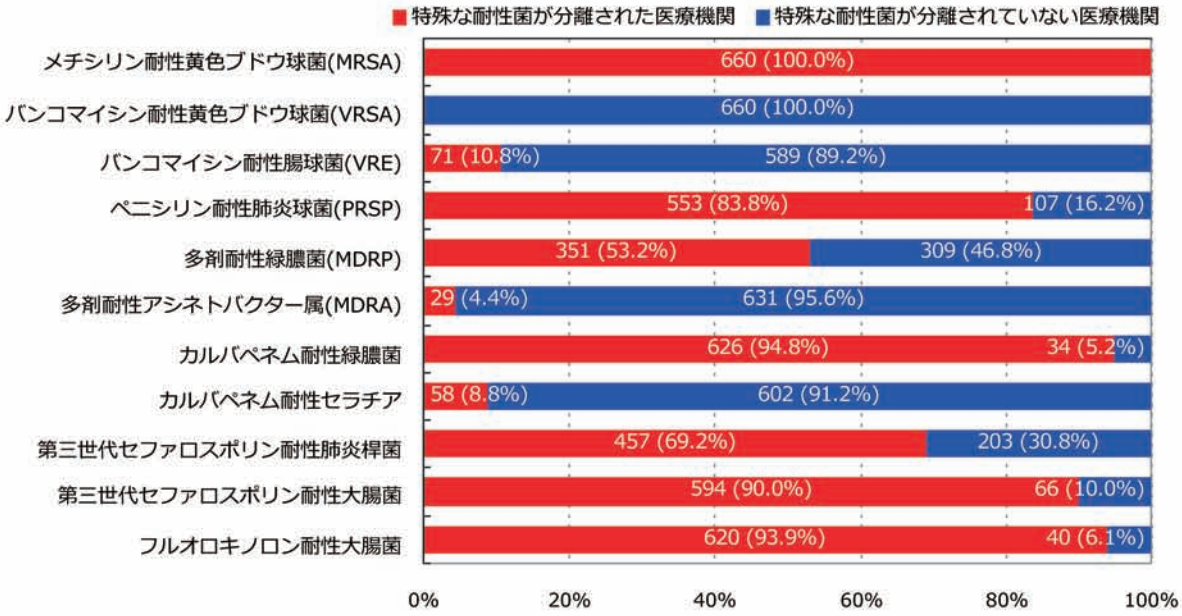
入院検体でかつ、検査法が原則微量液体希釈法又はEtestと設定されたMIC値が報告されている検体を集計
MRSAとVREは検査法によらず菌名コードで指定された場合はそれらを含む
*分離患者数と検体提出患者数は30日ごとに重複処理(巻末参照)している
†ここでは全医療機関は集計対象医療機関を表す
‡ここでの分離率は全体の分離率を表す
全体の分離率
＝（集計対象医療機関の対象菌の分離患者数合計）÷（集計対象医療機関の検体提出患者数合計）×100
¶分離率 ＝（対象菌の分離患者数）÷（検体提出患者数）×100

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません　データ集計日:　2013年04月22日
公開情報掲載日:　2013年06月04日

JANIS

6. 特定の耐性菌が分離された医療機関の割合

2012年 特定の耐性菌が分離された医療機関の割合 (N=660)



特定の耐性菌が分離された医療機関の割合 (過去5年間)

	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年
集計対象医療機関数	436	499	495	594	660
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(VRSA)	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)	14.2%	12.8%	11.9%	11.1%	10.8%
ペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP)	72.9%	77.2%	78.0%	85.0%	83.8%
多剤耐性緑膿菌(MDRP)	57.6%	55.9%	58.8%	59.6%	53.2%
多剤耐性アシネトバクター属(MDRA)	5.7%	5.2%	4.8%	5.2%	4.4%
カルバペネム耐性緑膿菌	85.1%	86.8%	87.9%	94.8%	94.8%
カルバペネム耐性セラチア	17.2%	17.2%	14.7%	13.6%	8.8%
第三世代セファロスポリン耐性肺炎桿菌	55.5%	59.1%	63.2%	69.9%	69.2%
第三世代セファロスポリン耐性大腸菌	79.1%	81.2%	83.2%	91.8%	90.0%
フルオロキノロン耐性大腸菌	84.6%	84.6%	86.9%	94.6%	93.9%

耐性菌判定薬剤(巻末資料参照)が未検査の場合、分離されていない医療機関として集計
入院検体でかつ、検査法が原則微量液体希釈法又はEtestと設定されたMIC値が報告されている検体を集計
MRSAとVREは検査法によらず菌名コードで指定された場合はそれらを含む
特定の耐性菌が検出された集計対象医療機関の割合
= （特定の耐性菌が1株でも報告された医療機関数）÷（集計対象医療機関数）

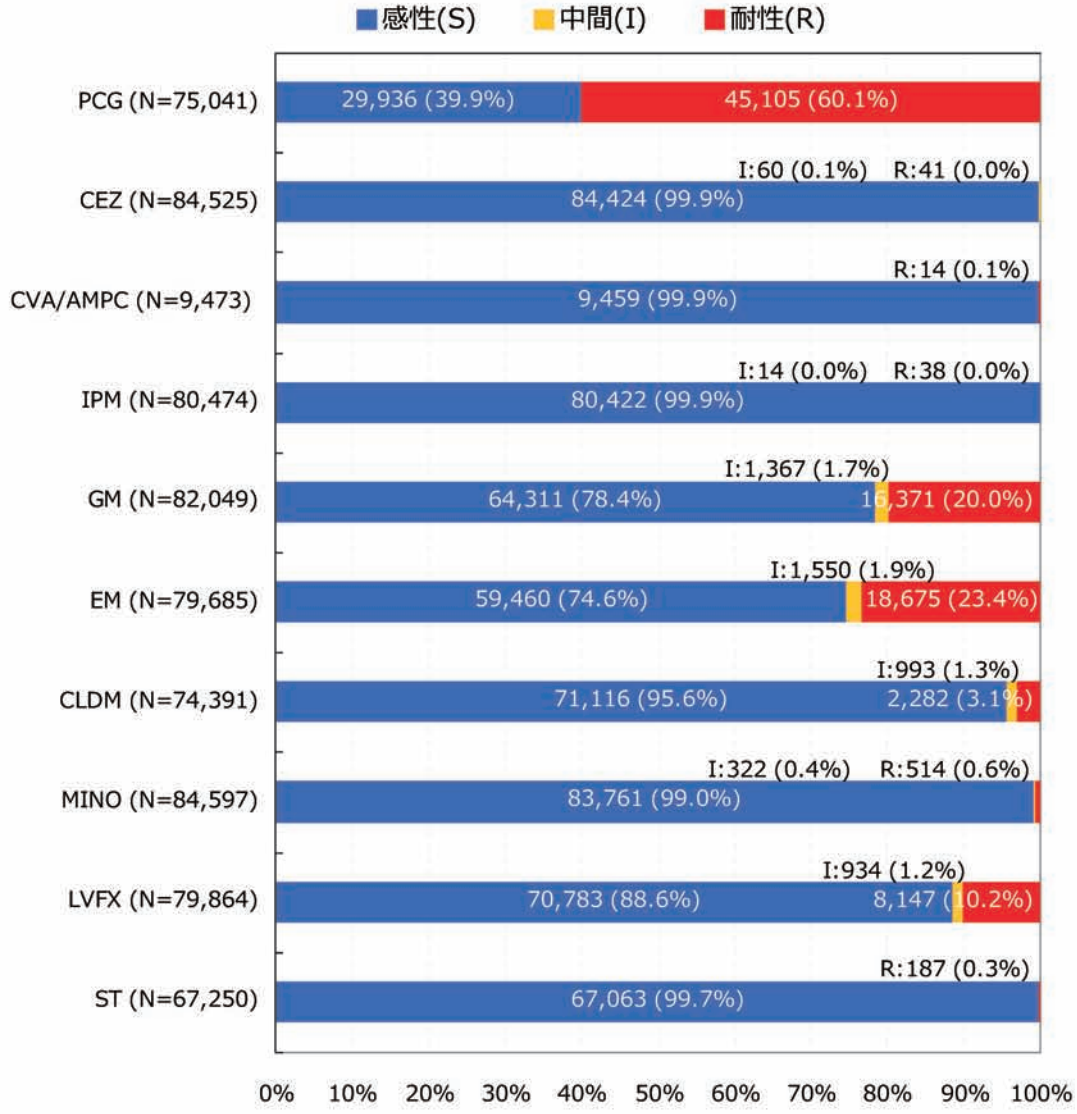
12

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません　データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Staphylococcus aureus (MSSA) †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計

抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除

†菌名コード：1304, 1305, 1306と報告された菌および菌名コード：1301と報告され抗菌薬コード：1208（オキサシリン）の感受性結果「S」の菌

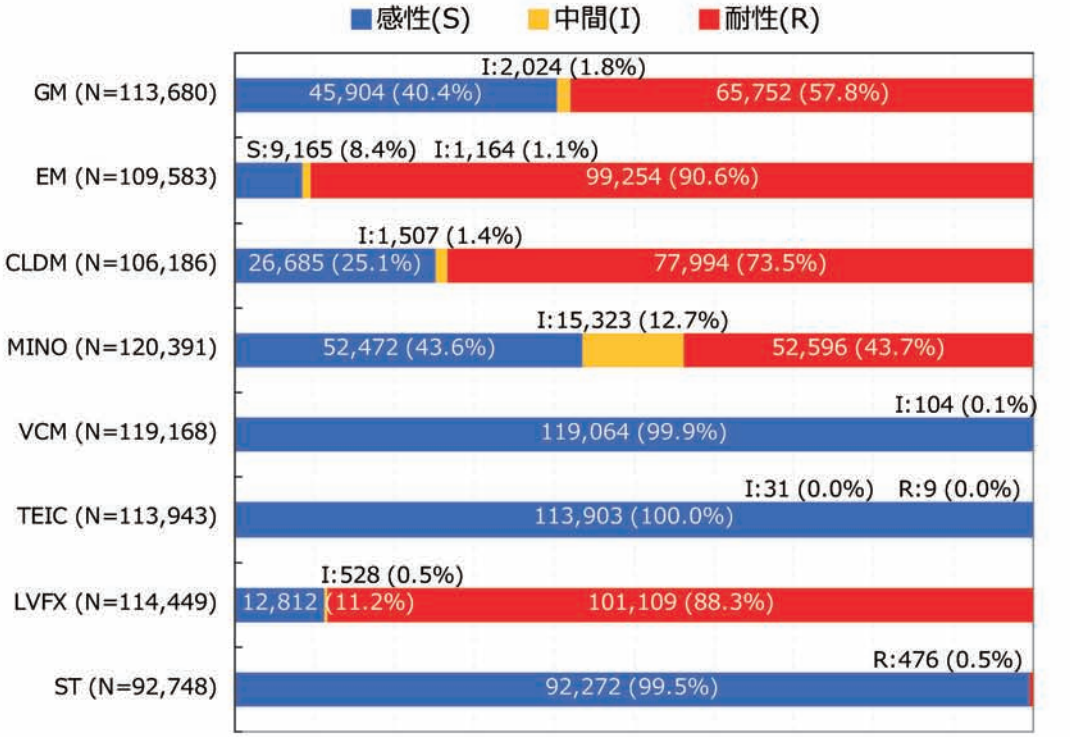
本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません　データ集計日:　2013年04月22日

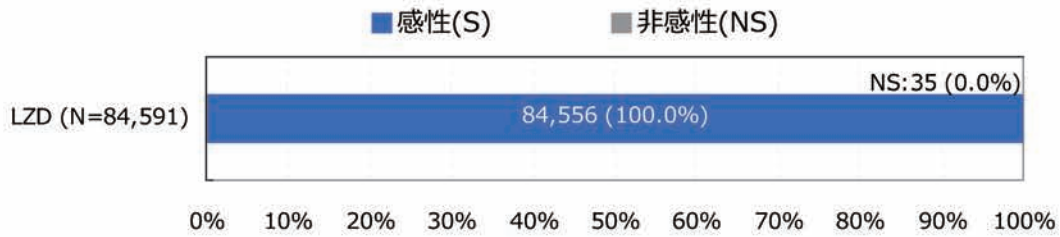
公開情報掲載日:　2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Staphylococcus aureus (MRSA) †





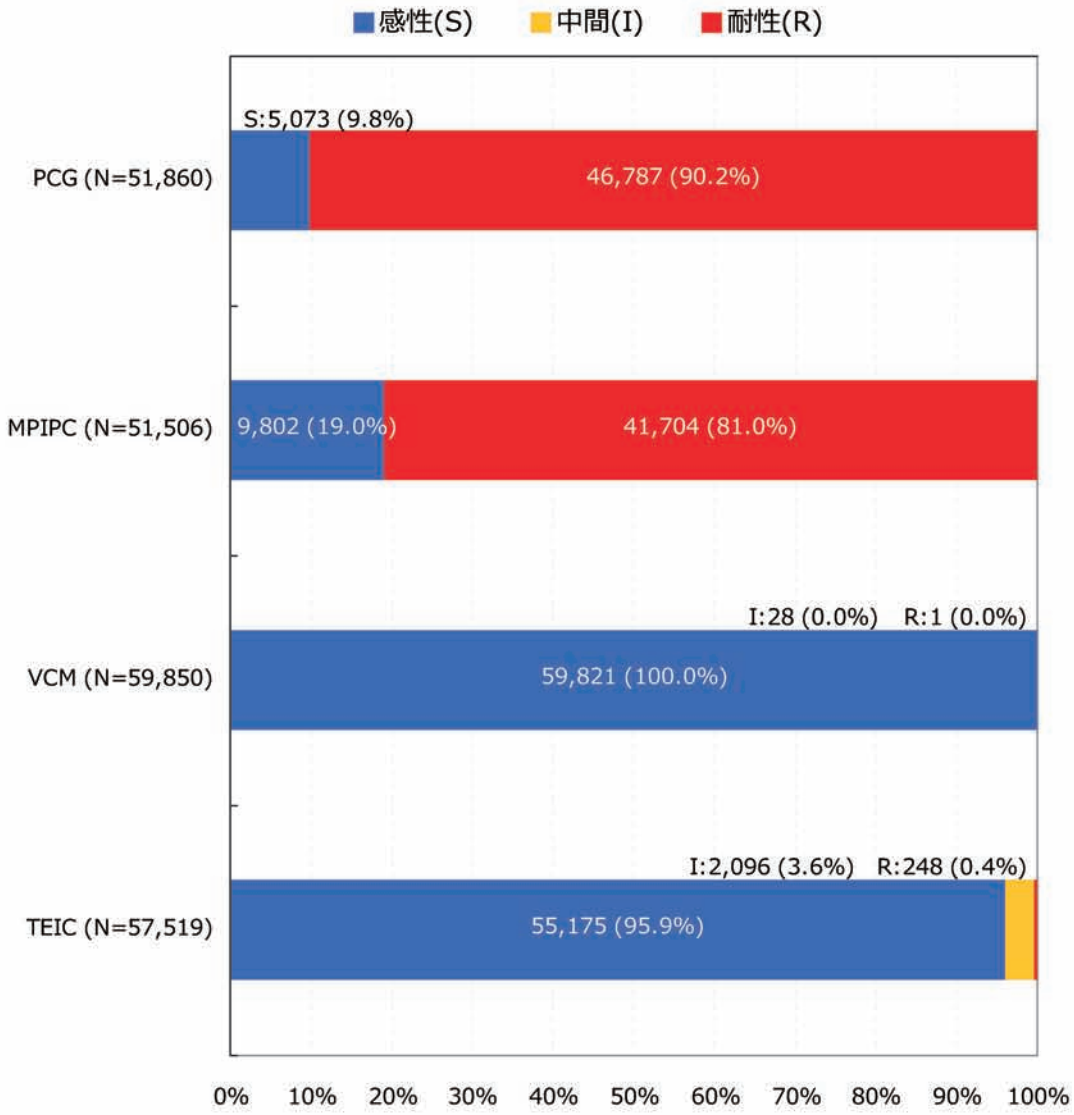
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, RまたはS, NSの判定ができない報告は集計から削除
†菌名コード：1303と報告された菌および菌名コード：1301と報告され抗菌薬コード：1208（オキサシリン）の感受性結果「R」の菌

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません　データ集計日:　2013年04月22日
公開情報掲載日:　2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Staphylococcus epidermidis †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除
†菌名コード：1312と報告された菌

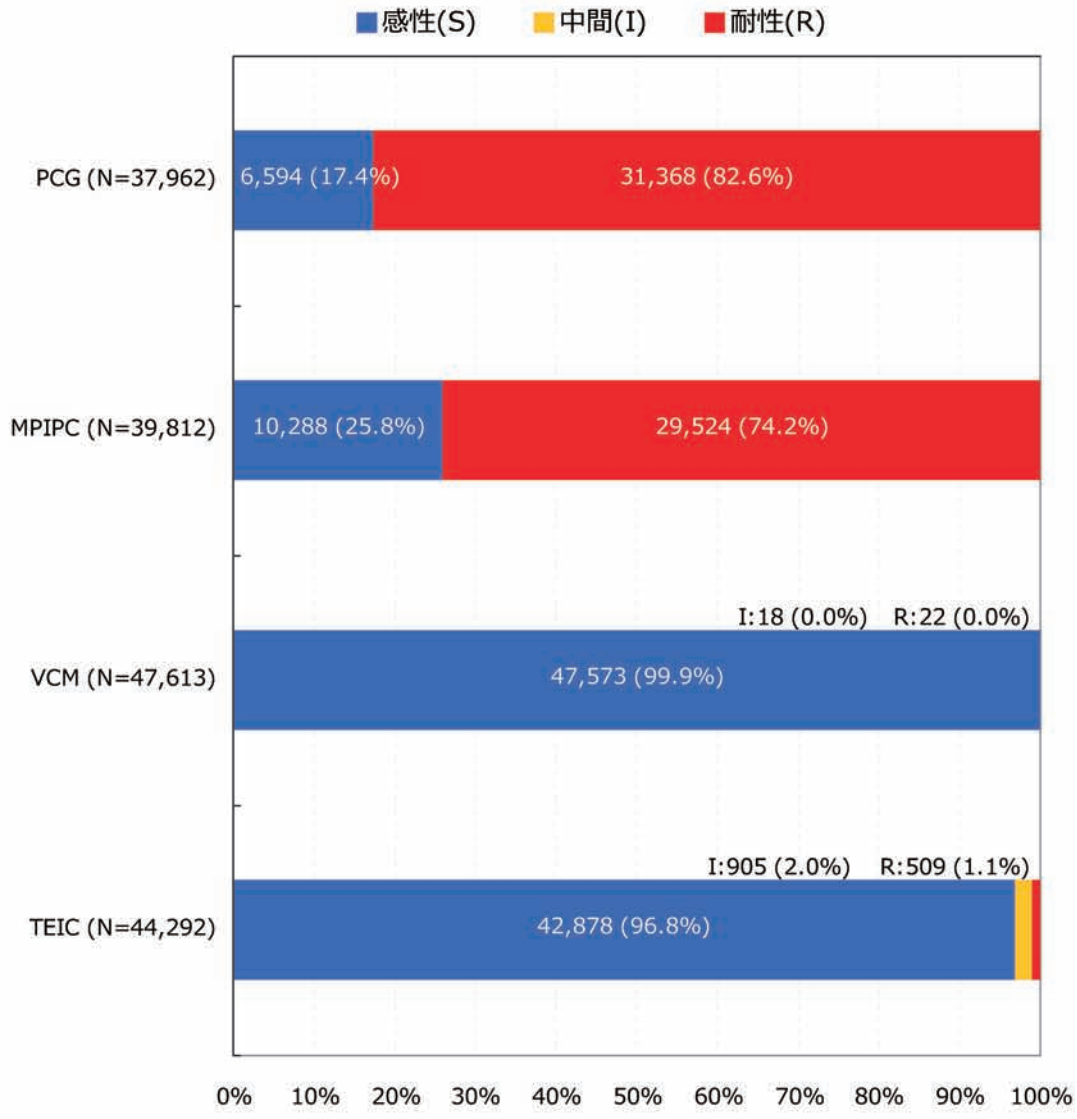
本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Coagulase-negative staphylococci (CNS) †



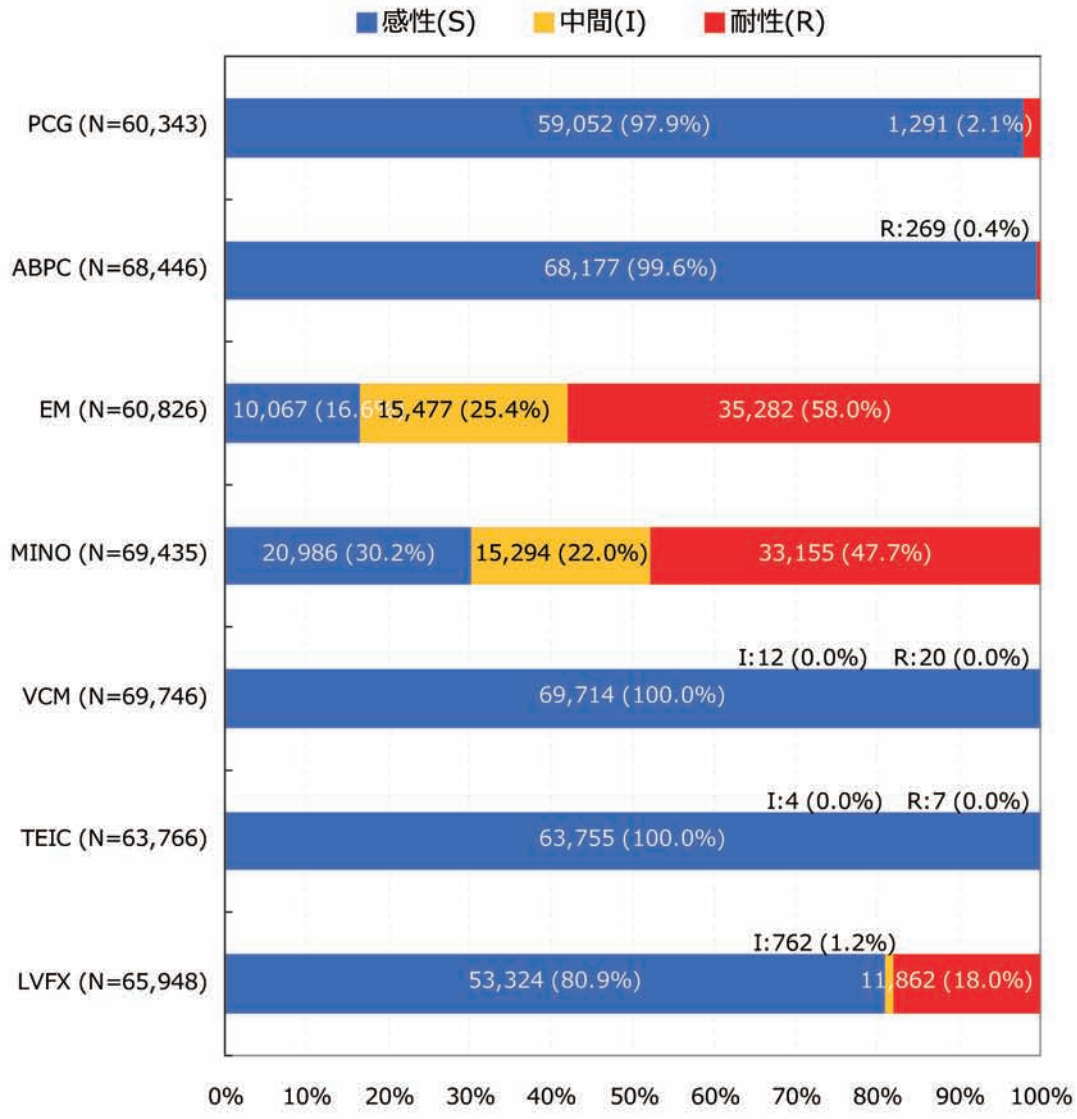
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除
†菌名コード：1311, 1313～1325と報告された菌（1312：*Staphylococcus epidermidis*は対象外）

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません　データ集計日:　2013年04月22日
公開情報掲載日:　2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Enterococcus faecalis †



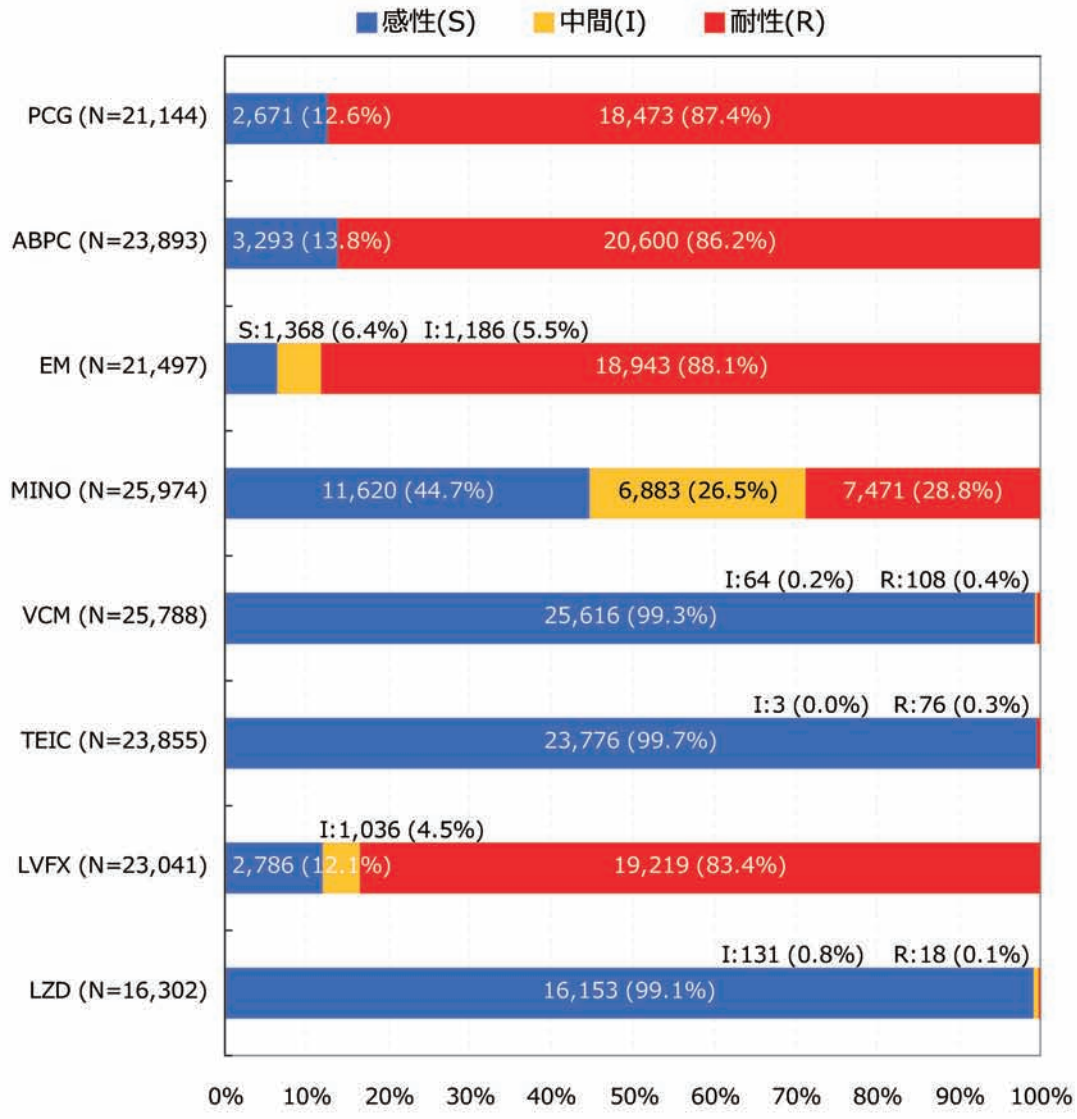
入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除
†菌名コード：1201, 1202と報告された菌

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません　データ集計日:　2013年04月22日
公開情報掲載日:　2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Enterococcus faecium †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計

抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除

†菌名コード：1205, 1206と報告された菌

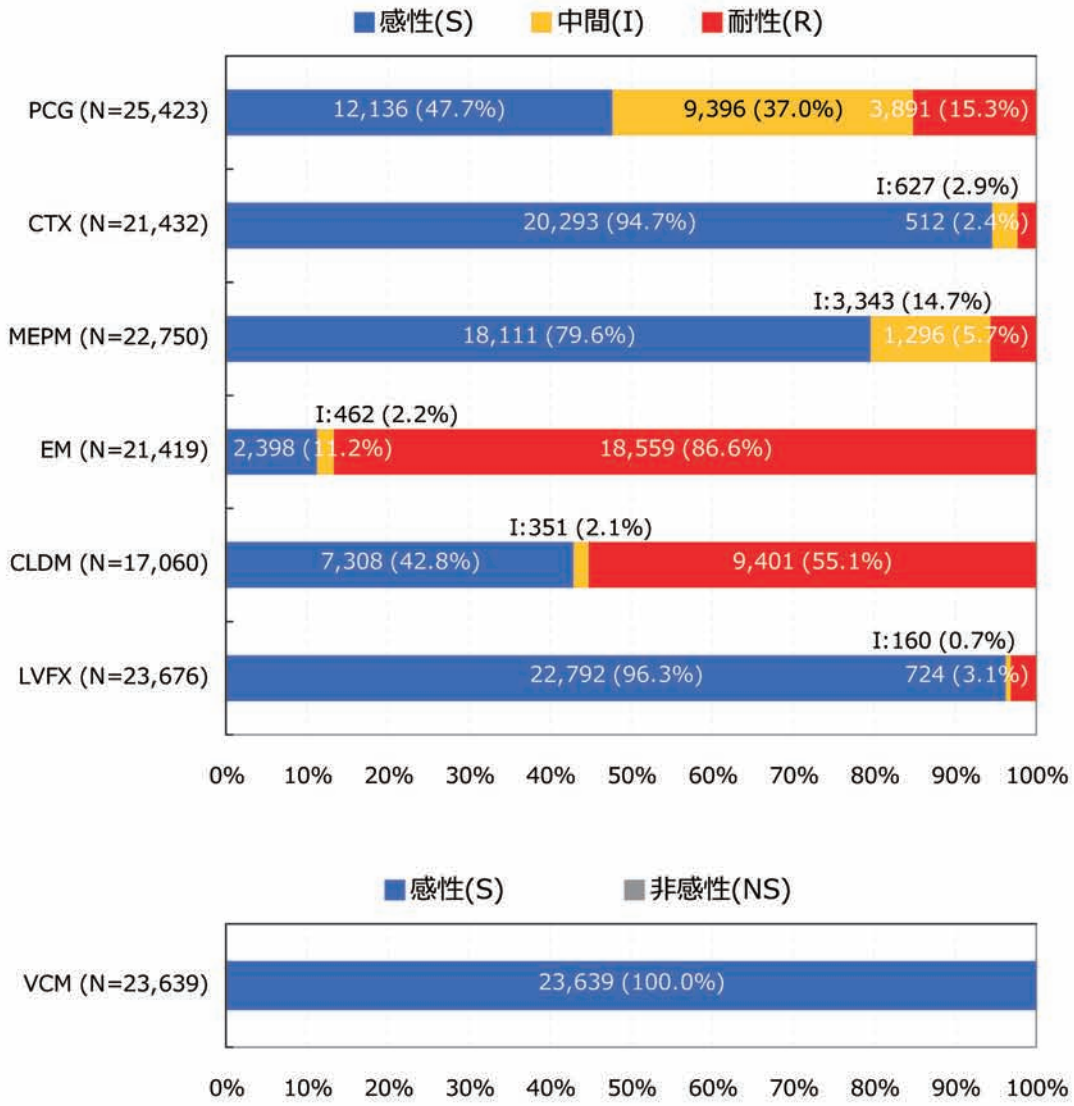
本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Streptococcus pneumoniae †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, RまたはS, NSの判定ができない報告は集計から削除
†菌名コード：1131と報告された菌

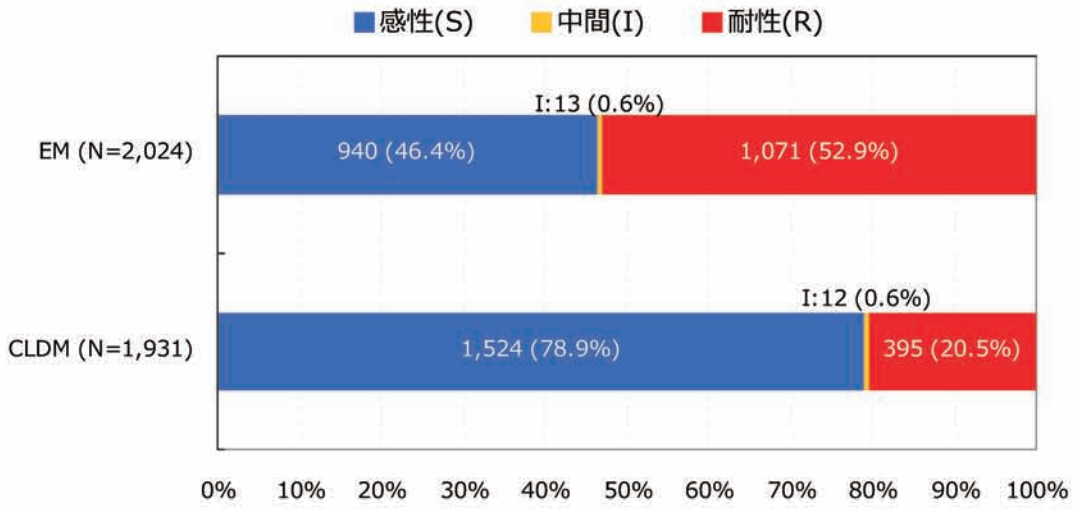
本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

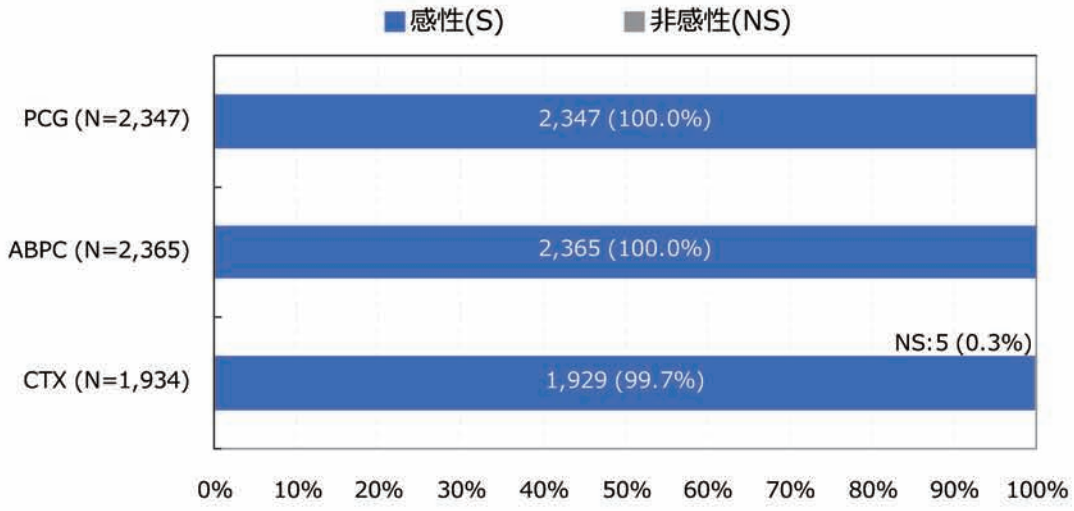
データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Streptococcus pyogenes †





入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, RまたはS, NSの判定ができない報告は集計から削除
†菌名コード：1111と報告された菌

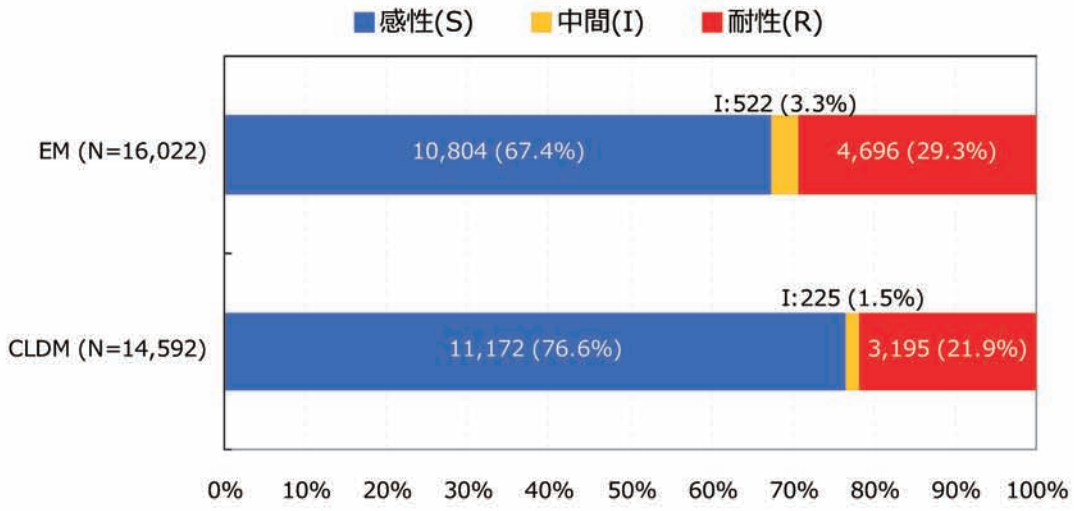
本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

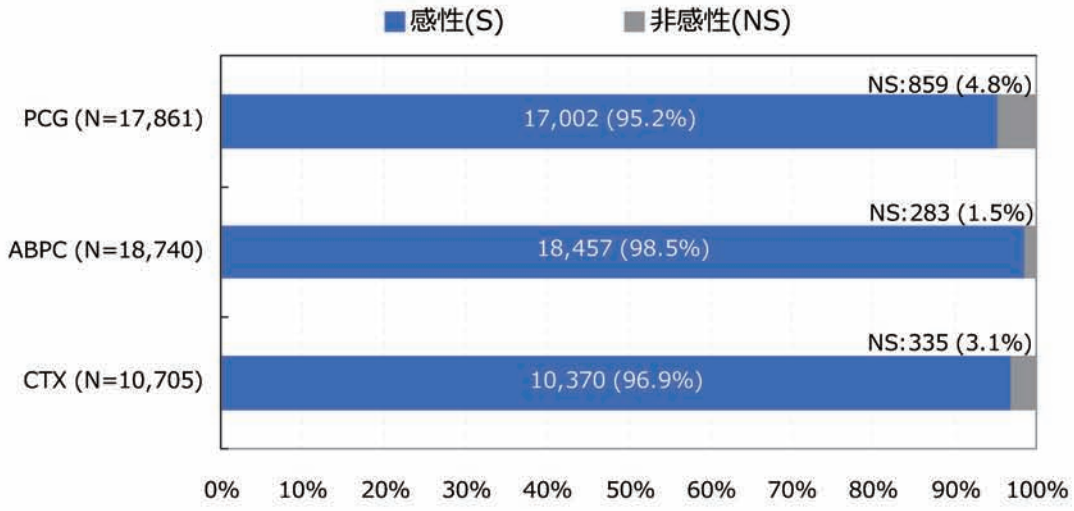
データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Streptococcus agalactiae †





入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, RまたはS, NSの判定ができない報告は集計から削除
†菌名コード：1114と報告された菌

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

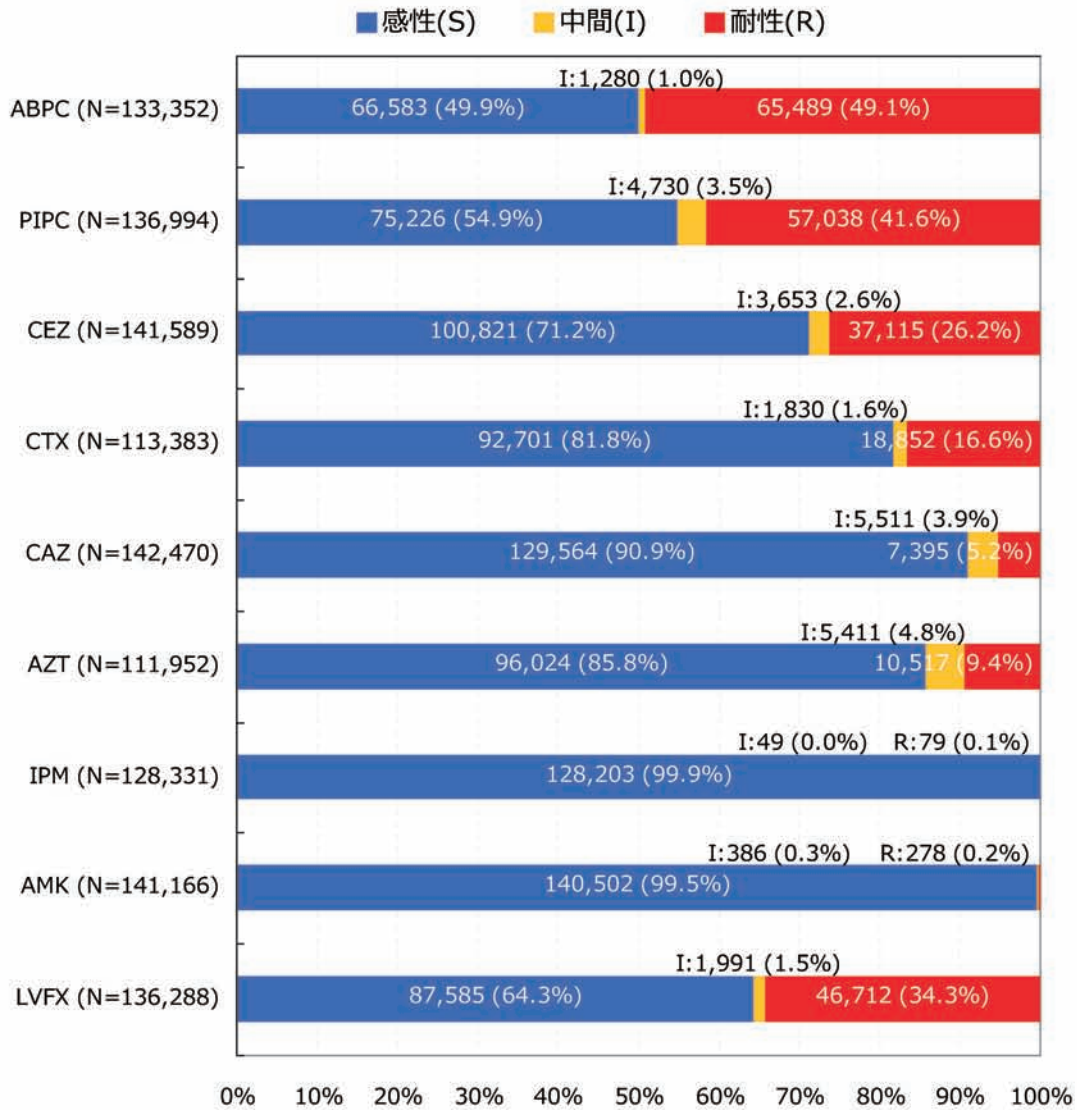
データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

公開情報 2012年1月～12月 年報
院内感染対策サーベイランス 検査部門

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Escherichia coli †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計

抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除

†菌名コード：2001～2007と報告された菌

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

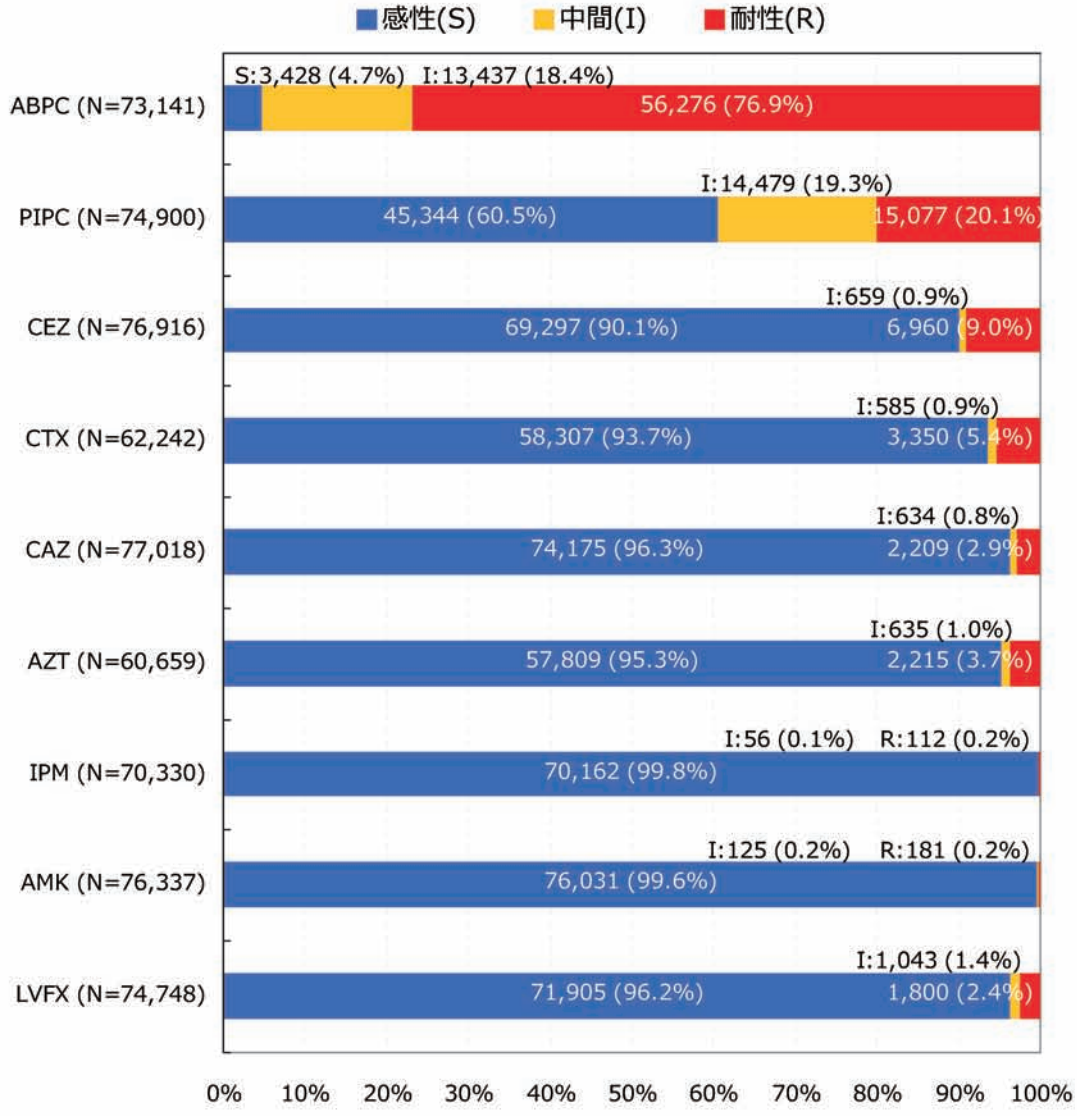
データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

公開情報 2012年1月～12月 年報
院内感染対策サーベイランス 検査部門

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Klebsiella pneumoniae †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計

抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除

†菌名コード：2351と報告された菌

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

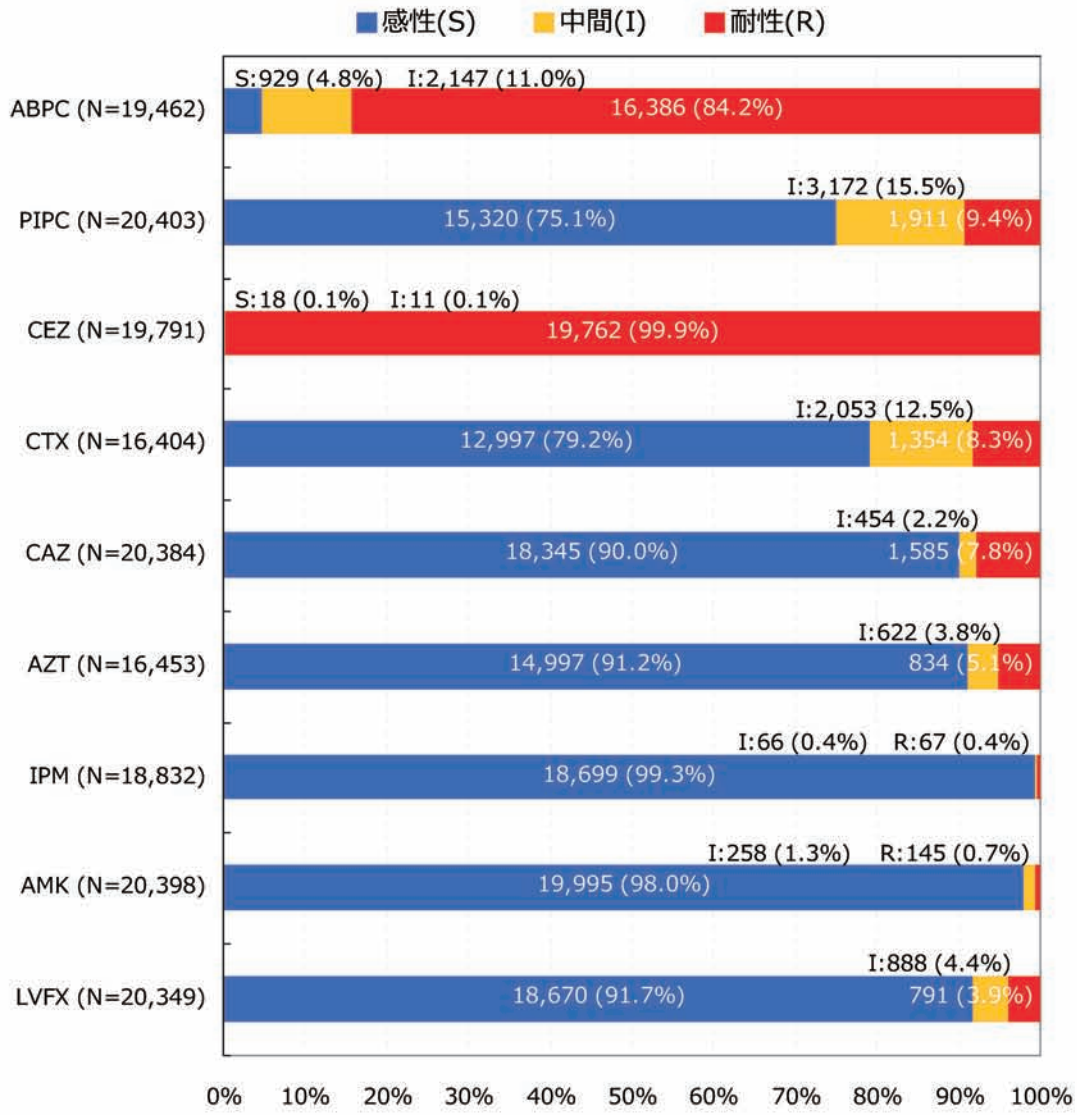
データ集計日: 2013年04月22日

公開情報掲載日: 2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Serratia marcescens †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計

抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除

†菌名コード：2101と報告された菌

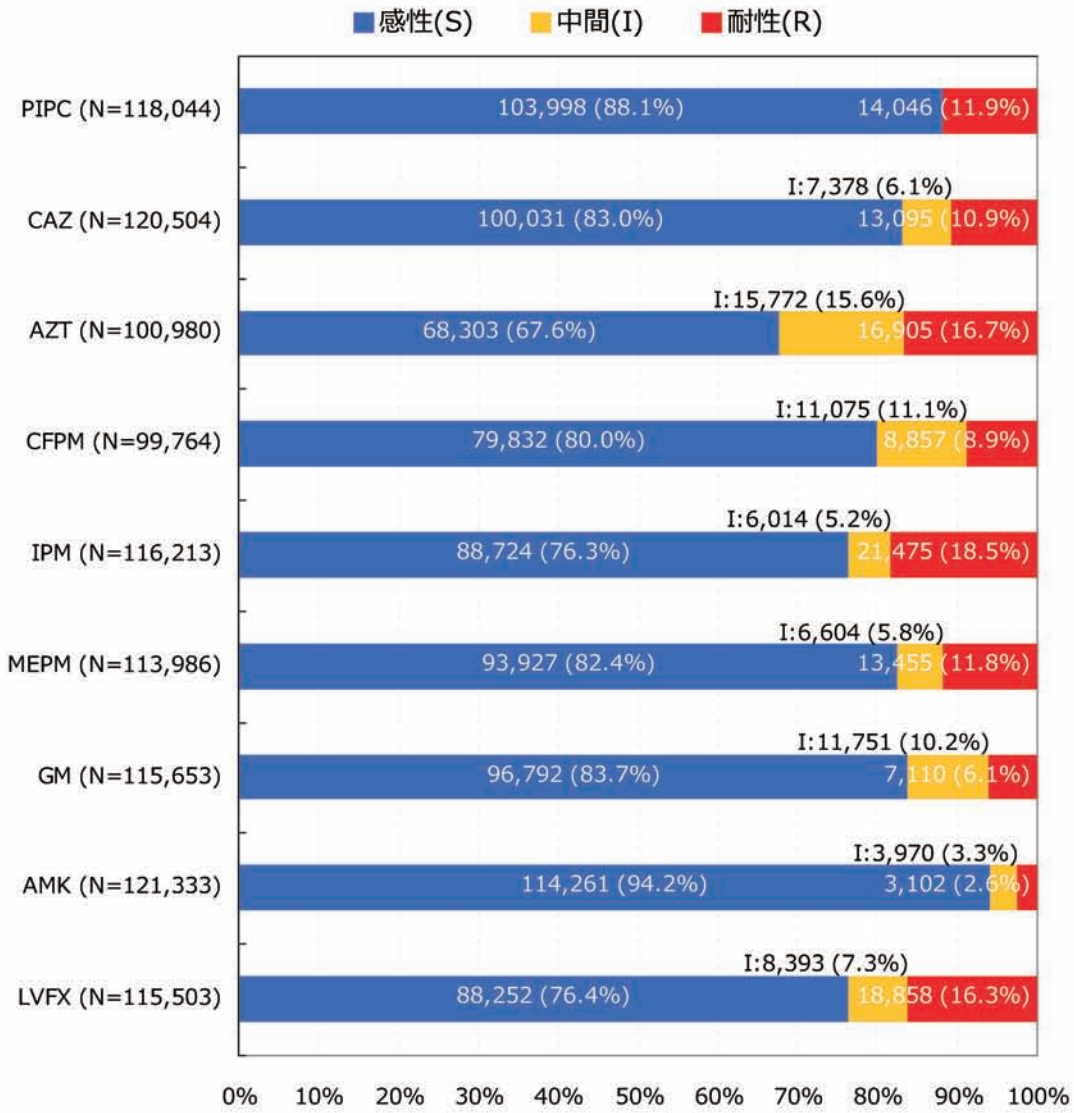
本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Pseudomonas aeruginosa †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計

抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている

*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除

†菌名コード：4001と報告された菌

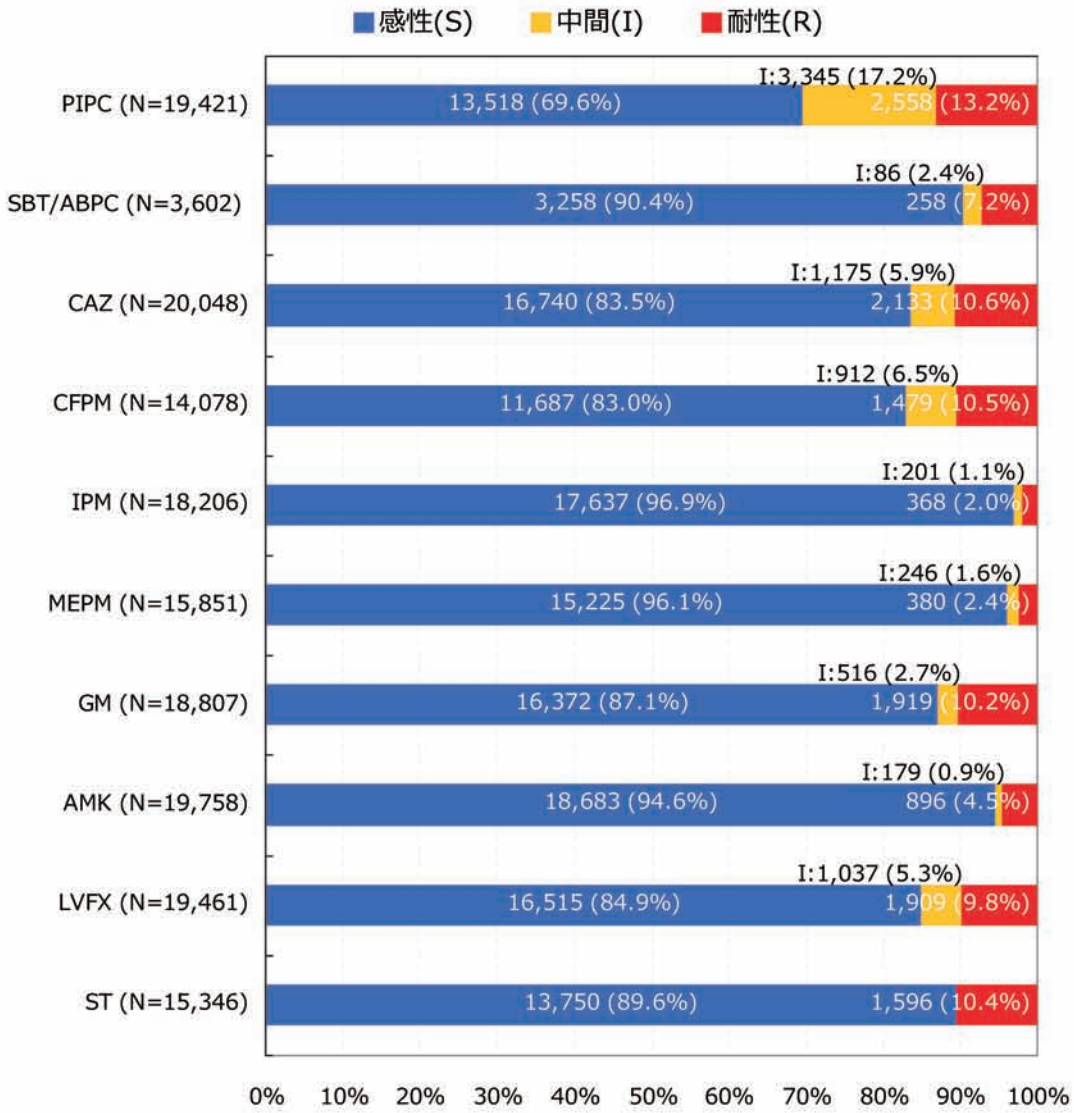
本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Acinetobacter spp. †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除
†菌名コード：4400～4403と報告された菌

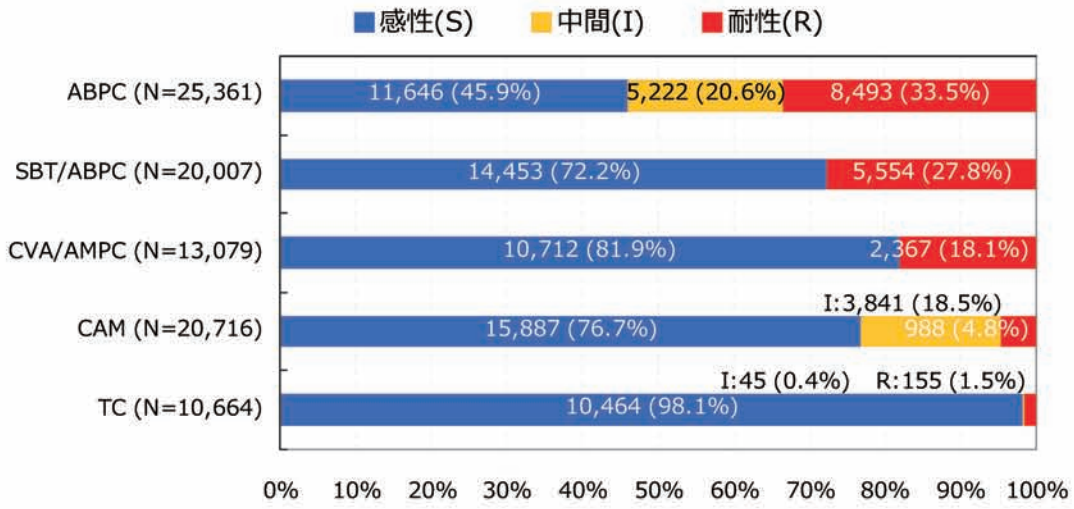
本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

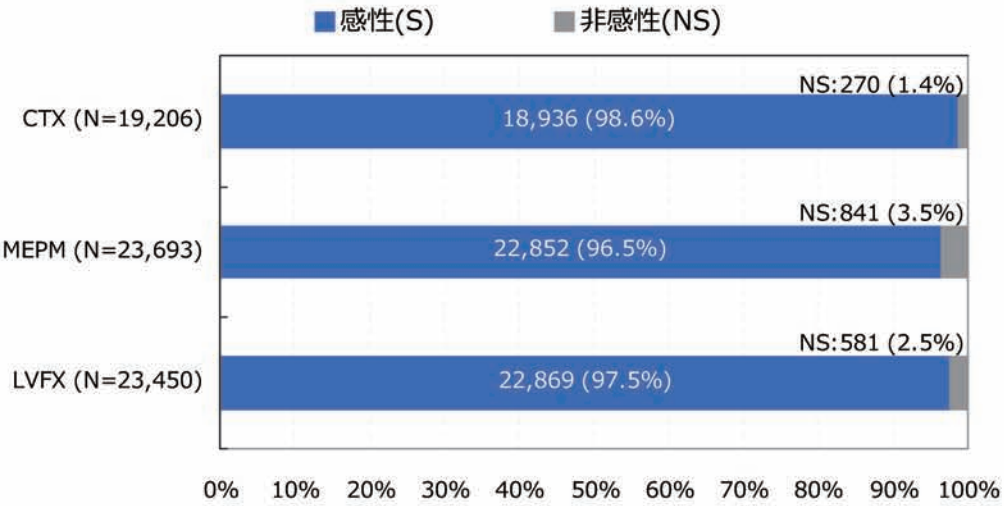
データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Haemophilus influenzae †





入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, RまたはS, NSの判定ができない報告は集計から削除
†菌名コード：3201, 3202, 3203, 3205, 3208, 3211, 3214, 3217, 3220, 3223と報告された菌

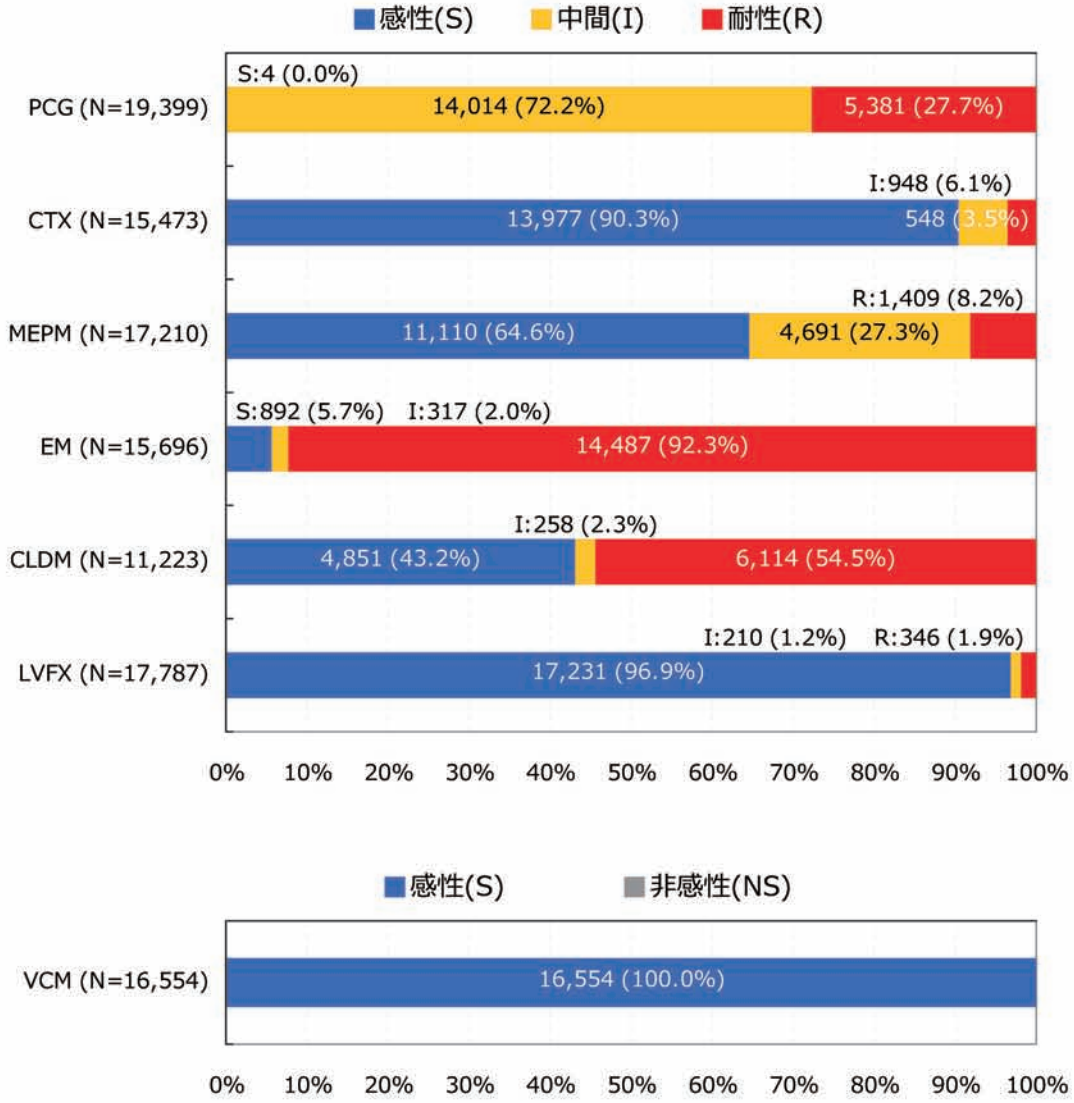
本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません

データ集計日: 2013年04月22日
公開情報掲載日: 2013年06月04日

JANIS

7. 主要菌の抗菌薬感受性*

Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* (PRSP)外来患者対象 †



外来検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, RまたはS, NSの判定ができない報告は集計から削除
†菌名コード：1131と報告され抗菌薬コード：1201（ベンジルペニシリン）の感受性結果「I」「I or R」「R」の菌

本公表データは国内の全医療機関の数値を集計したデータではありません　データ集計日:　2013年04月22日
公開情報掲載日:　2013年06月04日

【巻末資料１　微量液体希釈法に基づく耐性菌の判定基準】

菌名‡	概要*	微量液体希釈法 MIC 値	菌名コード Ver.4.0
MRSA	MPIPC が　“R” の *Staphylococcus aureus* 又は選択培地で MRSA と確認された菌	MPIPC ≧4μg/ml	1301 1303
VRSA	VCM が微量液体希釈法で“R”の *S. aureus*	VCM ≧16μg/ml	1301,1303-1306
VRE	下記のいずれかの条件を満たす *Enterococcus* spp. ・VCM が微量液体希釈法で耐性† ・選択培地で VRE と確認された菌 注）種の同定が行われていない *Enterococcus* sp.は除く	VCM ≧16μg/ml†	1201,1202,1205, 1206,1209,1210 、 1213-1217
PRSP	PCG が微量液体希釈法で耐性†の *Streptococcus pneumonia*	PCG ≧0.125μg/ml†	1131
MDRP	下記全てに該当する *Pseudomonas aeruginosa* 1．カルバペネム系（IPM、MEPM の何れか）が“R” 2．アミノグリコシド系の AMK が微量液体希釈法で耐性† ３．フルオロキノロン系（NFLX、OFLX、LVFX、CPFX、LFLX、GFLX の何れか）が“R”	1. IPM ≧16μg/ml、 MEPM ≧16μg/ml 2. AMK ≧32μg/ml† 3. NFLX ≧16μg/ml、 OFLX ≧8μg/ml、 LVFX ≧8μg/ml、 LFLX ≧8μg/ml、 GFLX ≧8μg/ml、 CPFX ≧4μg/ml	4001
MDRA¶	下記全てに該当する *Acinetobacter* spp. 1．カルバペネム系（IPM、MEPM の何れか）が“R” 2．アミノグリコシド系の AMK が微量液体希釈法で耐性† ３．フルオロキノロン系（LVFX、CPFX、GFLX の何れか）が“R”	1. IPM ≧16μg/ml、 MEPM ≧16μg/ml 2. AMK ≧32μg/ml† 3. LVFX ≧8μg/ml、 CPFX ≧4μg/ml、 GFLX ≧8μg/ml	4400-4403
カルバペネム 耐性緑膿菌	IPM または MEPM が“R”の *P. aeruginosa*	IPM ≧16μg/ml、 MEPM ≧16μg/ml	4001
カルバペネム 耐性セラチア	IPM または MEPM が“R”の *Serratia marcescens*	IPM ≧16μg/ml、 MEPM ≧16μg/ml	2101
第三世代セファロスポリン耐性 肺炎桿菌	CTX が“I”か“R”、又は CAZ が“R”の *Klebsiella pneumoniae*	CTX ≧16μg/ml CAZ ≧32μg/ml	2351
第三世代セファロスポリン耐性 大腸菌	CTX が“I”か“R”、又は CAZ が“R”の *Escherichia coli*	CTX ≧16μg/ml CAZ ≧32μg/ml	2001-2007
フルオロキノロン耐性大腸菌	フルオロキノロン（NFLX、OFLX、LVFX、LFLX、GFLX、CPFX）の何れかが“R”の *E. coli*	NFLX ≧16μg/ml、 OFLX ≧8μg/ml、 LVFX ≧8μg/ml、 LFLX ≧8μg/ml、 GFLX ≧8μg/ml、 CPFX ≧4μg/ml	2001-2007

*原則 S,I,R の判定は CLSI2007（M100-S17）に準拠

†感染症発生動向調査の基準に準拠

‡菌名は以下の通り
MRSA：Methicillin-resistant *S. aureus*　メチシリン耐性黄色ブドウ球菌
VRSA：Vancomycin-resistant *S. aureus*　バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌
VRE：Vancomycin-resistant *Enterococcus* spp.　バンコマイシン耐性腸球菌
PRSP：Penicillin-resistant *S. pneumoniae*　ペニシリン耐性肺炎球菌
MDRP：Multidrug-resistant *P. aeruginosa*　多剤耐性緑膿菌
MDRA：Multidrug-resistant *Acinetobacter* spp.　多剤耐性アシネトバクター属

¶MDRA の集計は以下のように変更された。

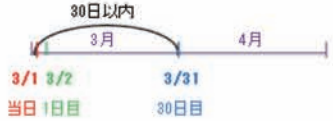
薬剤判定基準 (①～③の全てに条件を満たす)	適応時期
① IPM ≧16μg/ml 又は MEPM ≧16μg/ml ② AMK ≧64μg/ml ③ LVFX ≧8μg/ml 又は CPFX ≧4μg/ml	四半期報 2007 年 7-9 月～2010 年 10-12 月 年報 2007 年～2009 年
① IPM ≧16μg/ml 又は MEPM ≧16μg/ml ②AMK ≧32μg/ml ② LVFX ≧8μg/ml 又は CPFX ≧4μg/ml 又は GFLX ≧8μg/ml	四半期報 2011 年 1-3 月～現在 年報 2010 年～現在

【巻末資料２　公開情報の集計方法について】

1.　日数の数え方

検体提出日の翌日を１日目とする。検体提出日が３月１日とすると、１日目が３月２日、30日目が３月31日となる。

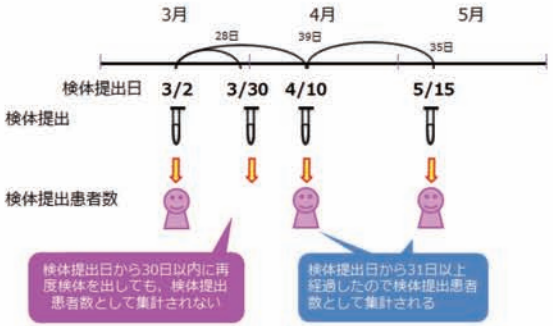
例)



2.　検体提出患者数

検体提出患者数は、検体の種類や菌分離の有無に関わらず検体(入院検体)が提出された患者の数である。検体提出患者数は重複処理を行っており、30日以内の同一患者からの複数の検体提出は１件とする。

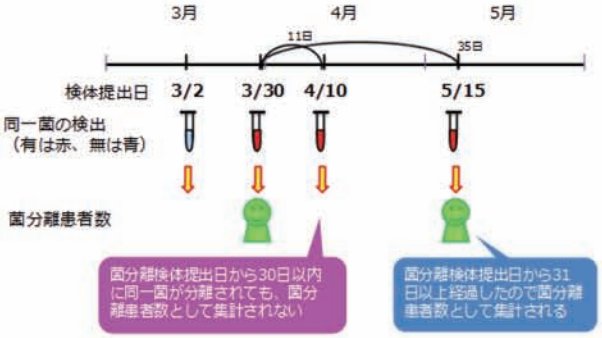
例)



3.　菌分離患者数

菌分離患者数も検体提出患者と同様の重複処理を行い、30日以内に同一患者から同一菌が複数回検出された場合、菌分離患者数は１件とする。耐性菌分離患者数は、耐性菌の基準に合致する菌をまず抽出し、その中で上記重複処理を行っている。

例)



4.　抗菌薬感受性検査結果をもとにした同一菌と異なる菌との区別

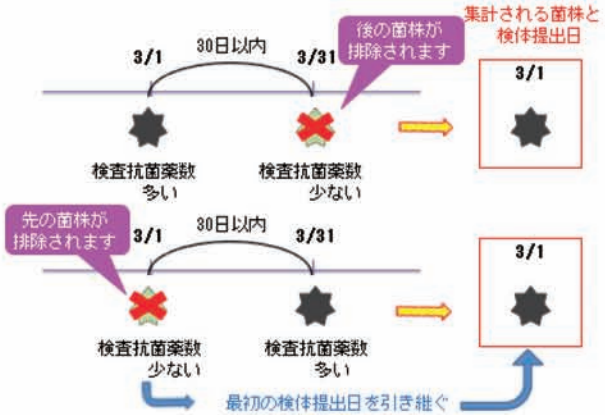
30日以内に同一患者から同一菌が検出された場合であっても、検査抗菌薬感受性結果に１つ以上不一致（下記①～④のいずれかに該当）がある場合は異なる菌株として集計される。

① MIC値に４倍以上の違いがある
　ただし、MIC > 2 は MIC ≧ 4 と考え、判定時は MIC = 4 として扱う
　また、MIC < 16 は MIC ≦ 16 と考え、判定時は MIC = 16 として扱う
② SIR判定では「S と R」の組み合わせ
③ +/- 判定では「-と++」または「+と+++」または「-と+++」の組み合わせ
④ 共通する検査抗菌薬数が５未満

5.　抗菌薬感受性結果の重複処理

検体提出日が先の菌株の検査抗菌薬数が（30日以内の）後の菌株の検査抗菌薬数より多い場合、後の菌株の抗菌薬感受性検査結果は排除する。また、検体提出日が後の菌株の検査抗菌薬が（30日以内の）先の菌株の検査抗菌薬より多い場合、先の菌株の抗菌薬感受性検査結果を排除するが、先の検査の検体提出日を引き継ぐ。

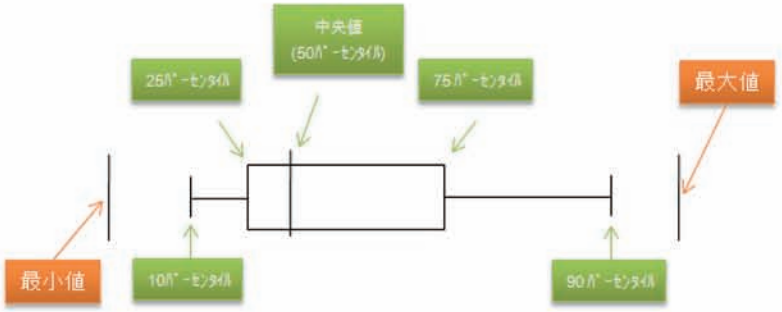
例)

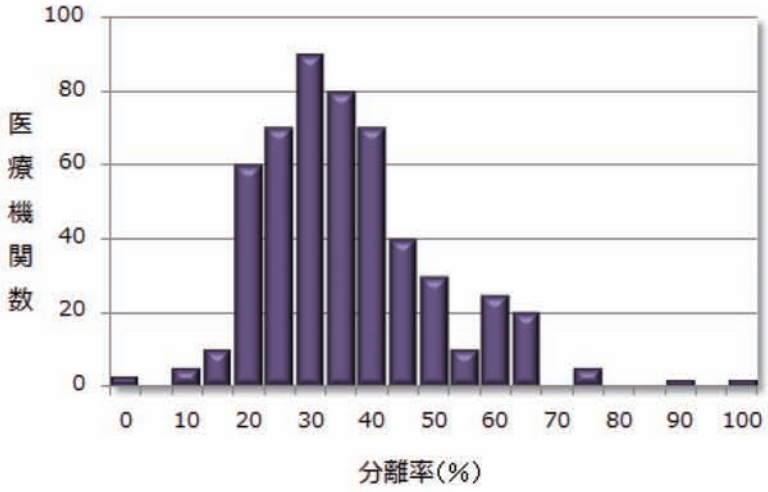


【巻末資料３　箱ひげ図について】

1.　箱ひげ図について

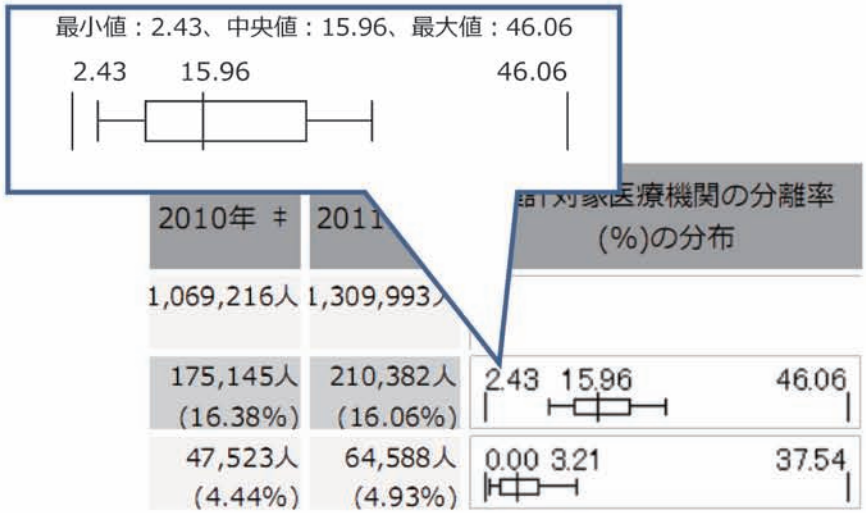
集計対象医療機関のデータのばらつきを示し、集計対象医療機関における自施設の位置を確認することができる。





※　パーセンタイル：値を小さいものから大きいものへと順番に並べ、全体を 100 として何番目であるかを表したもの。
例えば、10 パーセンタイルは、全体を 100 として小さいほうから数えて 10 番目の計測値を示している。

2.　公開情報の箱ひげ図



近年増加が著しい耐性菌

大腸菌では、レボフロキサシン、および第三世代セファロスポリン耐性の割合が増加し続けている（下図）。原因として、ESBL 産生 ST131の拡散が挙げられている。

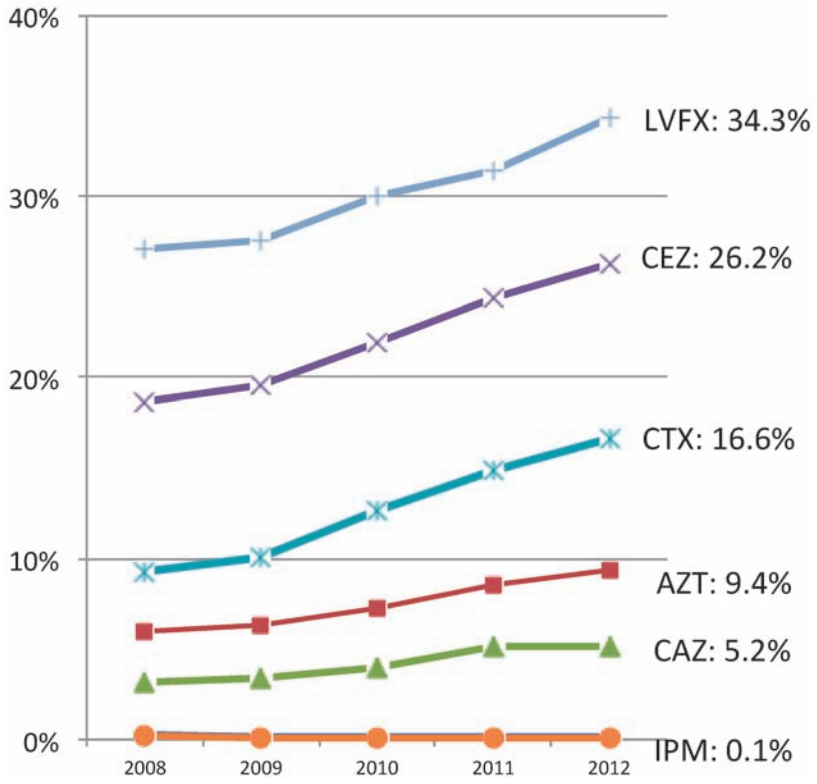


図　大腸菌の各薬剤の耐性の割合の推移

外国の状況との比較

米疾病対策予防センター（CDC）は2013年３月５日、米国でカルバペネム耐性腸内細菌科細菌による感染症が近年増加傾向にあり、早急な対応が必要であると発表した（http://www.cdc.gov/media/releases/2013/p0305_deadly_bacteria.html）。発表によると、過去10年間でカルバペネム耐性の腸内細菌科の細菌が1.2％から4.2％に、特に *Klebsiella pneumoniae* に限ると1.6％から10.4％へ増加した。また2012年上半期で全米の病院の４％、長期急性期病院の18％でカルバペネム耐性腸内細菌科の細菌による感染症が発生した。米国では、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌は KPC 型カルバペネマーゼ産生菌が中心である。

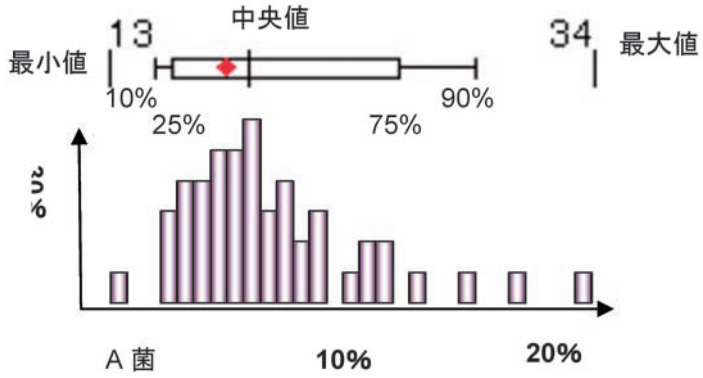
ヨーロッパでは、カルバペネム耐性は OXA-48型が多いと報告されている。また近年、アジアの途上国では NDM 型、OXA-48型が多く報告されている。

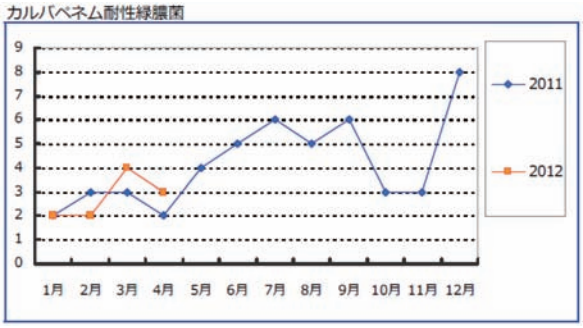
日本においては、JANIS のデータから分かるようにカルバペネム耐性腸内細菌科細菌は１％未満と、諸外国に比べて少ない。日本においてはIMP 型カルバペネマーゼを産生する菌が多く、KPC 型、OXA-48型、NDM 型は現在のところ稀であり、ほとんどが輸入例である。しかし今後、輸入例を端緒に国内で感染拡大が起こる可能性もあるので、院内感染対策に注意することが重要である。

腸内細菌科細菌以外では、*Acinetobacter* 属菌のカルバペネム耐性の割合が日本と海外とで大きく異なる。米国ではカルバペネム耐性は半数以上、途上国などでも数十％と報告されているが、日本においては２％である。*Acinetobacter* 属菌では、*A. baumannii* において特に多剤耐性で拡散しやすい遺伝子型 ST2が知られている。日本においても近年 ST2の割合が増加しているので、今後多剤耐性株の動向に注意を払う必要がある。

JANIS 還元情報

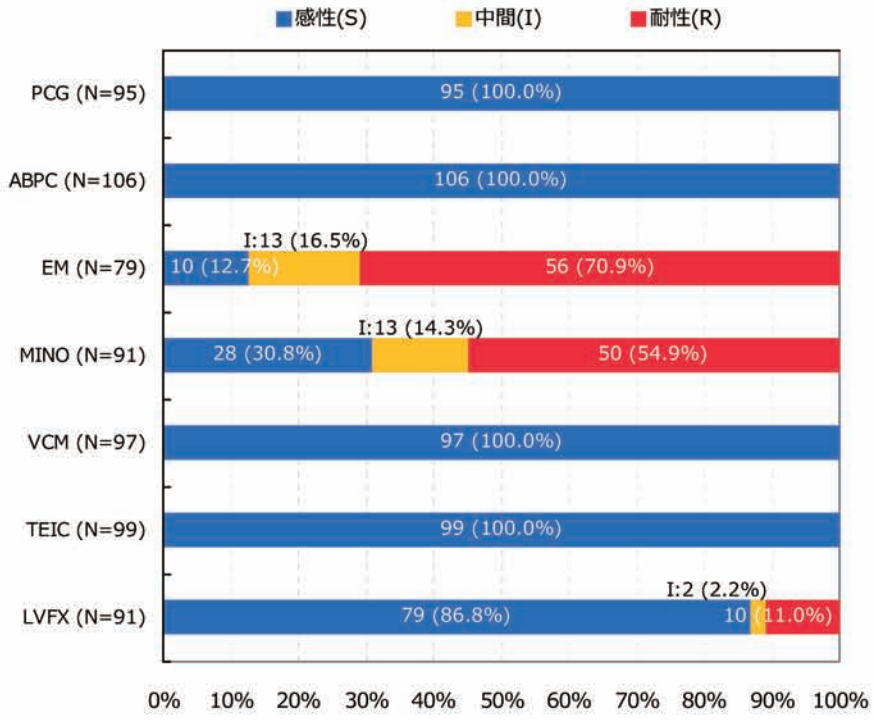
参加医療機関には個別に、その施設の集計結果及び全国の状況と比較したデータを還元情報として提供している。還元情報は、月報、四半期報、年報を作成して提供している。月報は通常データ送信後48時間以内に作成され、ダウンロード可能にしている。還元情報では、主要な耐性菌について自施設のデータと全国データとの比較を箱髭図で示している（左図)。箱髭図では、自施設のデータを赤色の点で示し、全国データと比べてどの程度高いか低いかが分かるようにしている。また、耐性菌の分離数の推移をグラフにして、増減が分かるようにしている（左図)。耐性菌分離のデータは csv ファイルでも提供し、それぞれの医療機関で独自に図の作成に使えるようにしている。また、主要な菌種について参加医療機関ごとのアンチバイオグラムを作成している。次項に例として、ある医療機関の還元情報年報の中のアンチバイオグラムのデータを紹介する。*Acinetobacter* 属菌では、前出の国内全体のデータと比較すると、IPM、MEPM の耐性の割合がそれぞれ6.0％、7.0％と、比較的高いことが分かる。検査部門では、検査室で分離された入院患者由来の全ての菌の情報を集計しているため、結果データには感染症を発症した患者からの分離数だけでなく保菌者からの分離数も含まれる。そのため、この集計結果の情報は院内感染の原因となる菌に関して全体の状況を示す。これらの検査部門データに加えて実際の感染症発症者についての情報を合わせることで、実態が把握しやすくなる。このように、JANIS の公開情報、還元情報で、感染症の状況を把握し、感染対策の必要性や効果を評価する事が出来る。





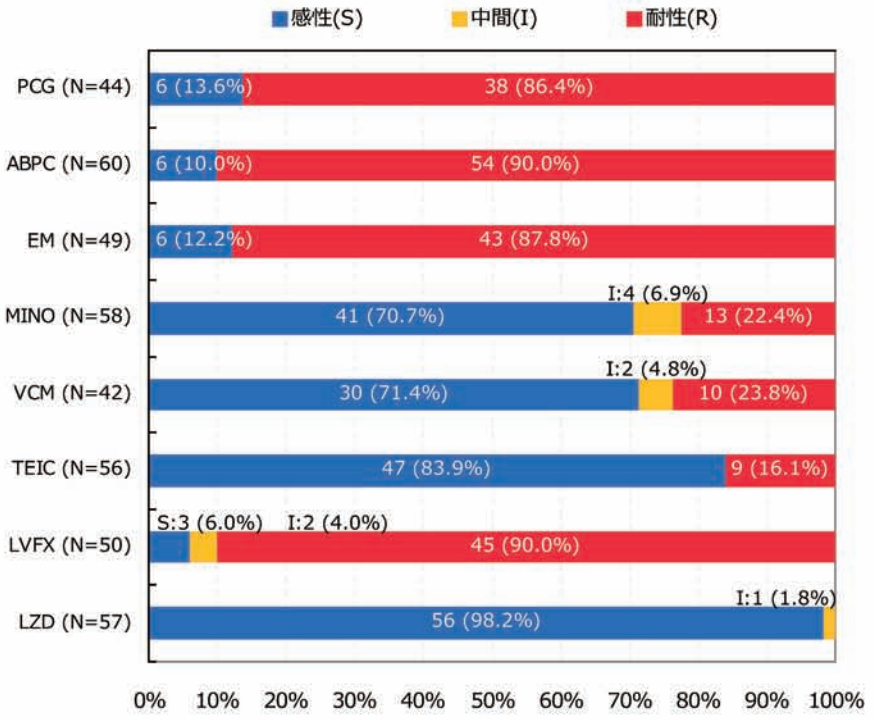
3. 主要菌の抗菌薬感受性*

Enterococcus faecalis †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除
†菌名コード：1201, 1202と報告された菌

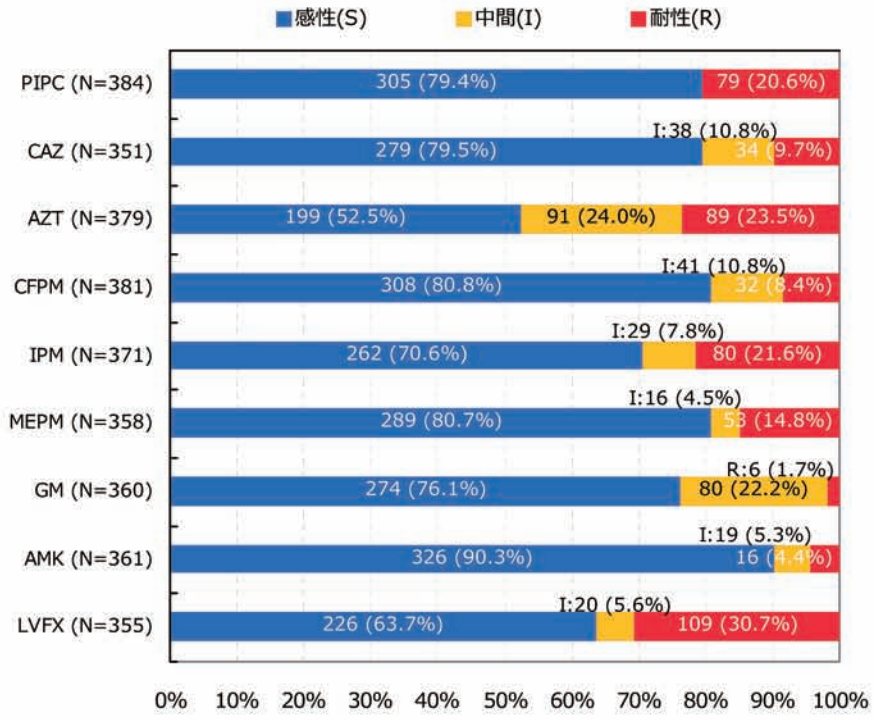
Enterococcus faecium ‡



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除
‡菌名コード：1205, 1206と報告された菌

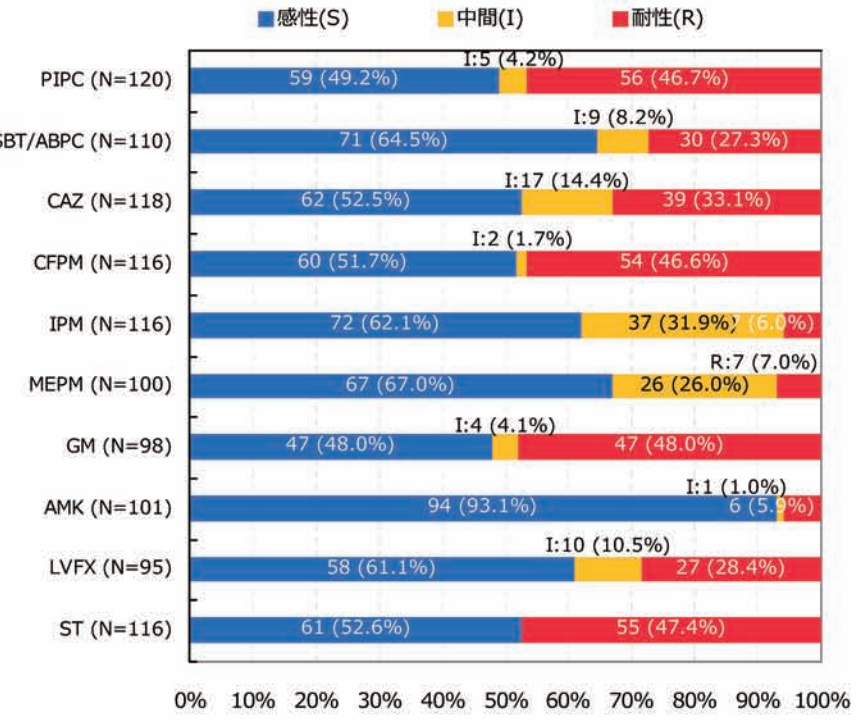
3. 主要菌の抗菌薬感受性*

Pseudomonas aeruginosa †



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除
†菌名コード：4001と報告された菌

Acinetobacter spp. ‡



入院検体で、かつ検査法が微量液体希釈法又はEtestと設定されMIC値が報告されている検体を集計
抗菌薬感受性結果の重複処理(巻末参照)が行われている
*米国CLSI 2007 (M100-S17)に準拠し、集計時にS, I, Rの判定ができない報告は集計から削除
‡菌名コード：4400～4403と報告された菌

おわりに

JANIS は、社会及び医療現場が感染症対策のために必要とする情報を出来るだけ分かりやすい形で提供することを目指している。これまで、参加医療機関向けに発行しているニュースレターや学術集会などを通じて広報活動を行ってきたが、今後さらに医療現場や、その他感染症対策に関わる方々の意見を積極的に取り入れ、公開情報、還元情報の改良を続けていきたいと考えている。皆様から JANS について要望をお寄せ頂ければ幸甚である。

多剤耐性緑膿菌（MDRP）と多剤耐性アシネトバクター（MDRA）の現状と分子疫学

独立行政法人　国立国際医療研究センター研究所　感染症制御研究部

部長　**切　替　照　雄**

■内容

1．はじめに　……62
2．MDRP の現状と分子疫学　……63
　a．緑膿菌とは　……63
　b．MDRP の定義　……63
　c．分離状況　……64
　d．多発事例　……64
　e．分子疫学　……65
　f．高度多剤耐性緑膿菌臨床分離株のゲノム特性　……66
3．MDRA の現状と分子疫学　……67
　a．アシネトバクターとは　……67
　b．MDRA の定義　……67
　c．分離状況及び多発事例　……68
　d．分子疫学　……68
参考文献　……71

1．はじめに

多剤耐性緑膿菌（MDRP: multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*）の分離報告及び院内感染事例が、特に2000年以降、我が国の各地の医療施設において多数報告されるようになってきた。一方、多剤耐性アシネトバクター（MDRA: multidrug-resistant *Acinetobacter* spp）の場合、我が国における分離報告は MDRP と比較すると稀であるが、特に海外から持ち込まれたと推定される菌株による多発事例が報告されるようになってきた。MDRP および MDRA はカルバペネム、ニューキノロン、アミノグリコシドに耐性を示し、治療が極めて困難であると共に、個々の施設内での伝播を引き起こす。施設を超えて広域に伝播拡大していくことも懸念されている。

緑膿菌はグラム陰性桿菌で、水、下水、汚水や土壌、ヒトを含む動物の消化管に広く存在する。栄養要求性が低く、栄養分をほとんど含まない水のなかでも発育する。1882年、緑膿菌は緑に着色した包帯からはじめて分離さて以来、ブドウ球菌とともに最も重要な院内感染起因菌と考えられている。一方、アシネトバクター属菌は、環境中に普遍的に見られる菌種であり、土壌などから分離される。乾燥、温度変化に強く、長期にわたって生存でき、特に2000年以降、多剤

耐性アシネトバクター・バウマニーは欧米やアジア諸国の医療施設において院内感染起因菌として問題となっている。

MDRP や MDRA は、感染制御のうえでは通常の緑膿菌やアシネトバクターとは全く異なる病原体である。これはメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）と黄色ブドウ球菌（MSSA)、あるいはバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）と腸球菌がそれぞれ同一の種に属する細菌でありながら、治療や院内感染対策では異なる病原体として扱われているのと同じである。MDRP、特にカルバペネム、ニューキノロン及びアミカシンに対し最小阻止濃度が64mg/ Ｌを超えるような高度多剤耐性緑膿菌株が我が国の医療施設内で新興しはじめている。一方、十数施設ではあるが、同様な高度 MDRA が分離、報告されるようになってきた。

２．MDRP の現状と分子疫学

ａ．緑膿菌とは

1882年、フランスの軍病院の薬剤師 Carle Gessard が２人の患者の皮膚創部で包帯を青緑色に染める膿から分離することに成功した。その後、この菌は緑膿菌と名付けられた。以来、緑膿菌は院内感染起因菌として最も重要な菌種として、常にブドウ球菌と比較されてきた。

緑膿菌はグラム陰性の桿菌で、端在性の鞭毛を持つ。アシネトバクター属などと共に、臨床検査上、糖を酸化的に分解し、嫌気性的には分解しないので、ブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌と総称されている。

ブドウ球菌との違いを２つあげる。ひとつは、ブドウ球菌がグラム陽性細菌であるのに対し、緑膿菌はグラム陰性細菌である。グラム陰性細菌の特徴は細胞壁成分のひとつとしてリポポリサッカライド（LPS：エンドトキシン）をもっていることである。グラム陰性細菌が一旦血中に入ると、菌体から LPS が遊離し、敗血症ショック（エンドトキシンショック）を引き起こす。この場合の致死率は極めて高い。

もう一つのブドウ球菌との違いは、生息場所とその感染伝播様式である。ブドウ球菌は主にヒトの皮膚や鼻咽頭粘膜に常在するのに対し、緑膿菌はヒトの消化管などに常在しているとともに、湿潤な自然環境中に広く分布している。院内での感染伝播様式は、ブドウ球菌では基本的にヒトからヒトへの感染伝播である。医療器具、感染者が接触した環境表面が介在する場合もある。なお、ブドウ球菌は食中毒の原因ともなる。この場合は、ヒトから伝播したブドウ球菌が食品内で毒素を産生することによる。緑膿菌に関しては、おもに２つの感染経路がある。ひとつは、内因性感染で白血病や悪性腫瘍などで抗癌剤治療中の患者におきる敗血症などにみられる。もう一つは、外因性感染で留置カテーテル、熱傷治療、呼吸管理などでみられる。この場合、環境中の緑膿菌が感染源となる。いずれの場合も通常の緑膿菌は、様々な株（クローン）からなっている。

ｂ．MDRP の定義

日本では感染症法でカルバペネム、アミノグリコシド、フルオロキノロンの３系統の抗菌薬に耐性を獲得した多剤耐性緑膿菌による感染症を「薬剤耐性緑膿菌感染症」と定義し、５類感染症定点把握疾患に定められている。検査室での判定基準は厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）のホームページ（http://www.nih-janis.jp/index.asp）に明確にされている。国際的学

術論文にもこの定義を記載すれば、MDRP に関する報告ができる。当面の MDRP の監視には、この基準を使用すれば問題はないが、将来 MDRP の進化や使用薬剤の変化に応じて、見直しが必要になるだろう。特に使用薬剤の選定、MIC 値などは、薬剤耐性の機序なども考慮して、標的とすべき MDRP を絞り込めるような定義の設定が望まれる。

JANIS の定義はあくまでも感染症法に基づく届け出のための定義である。日常的な感染制御や治療のための定義としては、例えば、２系統耐性緑膿菌や高度カルバペネム耐性を付与するメタロ - β - ラクタマーゼ産生緑膿菌、さらにはアミノグリコシド高度耐性を付与する16S rRNA メチラーゼ産生緑膿菌などを含める必要がある。

c．分離状況

2012年の JANIS の報告によると、MDRP が分離された医療機関は53.2％、検体を提出した患者数の0.14％が多剤耐性緑膿菌であった。2000年以降、我が国の医療施設から MDRP の分離報告及び院内感染報告がなされるようになり、2006年のデータでは分離される緑膿菌のうち約2.5％が MDRP であった。さらにこれらの薬剤に対し最小阻止濃度が64mg/L を超えるような高度多剤耐性緑膿菌株が個々の施設内での伝播、さらに施設を超えて地域の医療施設間で伝播拡大していることが分かってきた[1)]。

d．多発事例

MDRP は医療施設内で多発事例として分離されることが多い。特に我が国で分離される MDRP 株の特徴は、カルバペネム、ニューキノロン、アミカシンに対し最小阻止濃度が64mg/ L を超えるような高度 MDRP 株が高頻度に分離されることである（表１）。このような高度 MDRP 感染症は治療が極めて困難であると共に、個々の施設内での多発事例を、さらに施設間での伝播

表１

MDRPの薬剤感受性試験

	MDRP（214株）			非MDRP（70株）		
	% Resistant	MIC_{50} (μg/ml)	MIC_{90} (μg/ml)	% Resistant	MIC_{50} (μg/ml)	MIC_{90} (μg/ml)
RIP	100	>512	>512	41.4	64	512
TZP	100	512	>512	21.4	32	128
CAZ	100	>512	>512	25.7	8	64
IPM	100	256	512	47.1	8	32
DRPM	99.1	>512	>512	34.3	8	32
MEM	100	512	>512	44.3	4	32
AZT	99.5	128	128	52.9	32	64
ABK	91.6	4	8	24.3	1	8
AMK	100	128	256	2.9	2	16
GEN	57.5	16	16	12.9	1	16
STR	100	>512	>512	98.6	32	128
CIP	100	64	>128	51.4	4	64
OFX	100	>128	>128	62.9	16	>128
PL-B	28.0	2	4	22.9	2	4

を引き起こす。

このような高度 MDRP 株による初めての報告は、2002年、宮城県にある総合病院の外科病棟での MDRP による多発事例であった。５ヶ月間に７名の入院患者が次々に尿留置カテーテル感染を罹った。原因となったのは、表１に感受性パターンを示すように、ほとんどの抗緑膿菌薬に高度耐性を示す MDRP 株であった。パルスフィールドゲル電気泳動法によって、それぞれの起因菌を調べると、すべて全く同一の泳動パターンであった。原因となったこの菌の薬剤耐性遺伝子の詳細を調べた結果、カルバペネム等の耐性に関与するメタロ - β - ラクタマーゼ遺伝子 bla_{IMP-1} に加えて新規アミノグリコシド耐性遺伝子（アミノグリコシドアセチルトランスフェラーゼ *aac(6')-Iae* をもっていることなどがわかった。

そこでこれと同じような菌株がこの病院の周辺地域の病院でも分離されているのかどうかをその後１年かけて調査した。その結果、調査に参加した20医療施設のうち11施設で MDRP が分離された。これらすべての株のパルスフィールドゲル電気泳動の結果を図１に示す。一見して明らかなように、ほとんどすべての MDRP が同一の泳動パターンを示した。この結果は感染対策のうえで大変重要な意味を持っている。即ち、ある特定の MDRP 株が病院内で院内感染起因菌としてヒトからヒトへ伝播している。しかもひとつの病院を超えて、他施設へも拡大していることが明らかとなった。おそらく患者等の移動に伴って、施設間の伝播がおきていたのだろう。この地域的な MDRP 多発事例は、幸いこの地域にすでに存在していた感染制御ネットワークフォーラムの様々な感染対策プログラムによって収束に向かいつつある。

このように施設を超えて地域の医療施設間で伝播拡大していることが、宮城県以外でも、広島県や関東地方などの地域でも報告されており、特定の高度 MDRP 株が全国の医療施設に伝播拡大されていることが危惧されている。

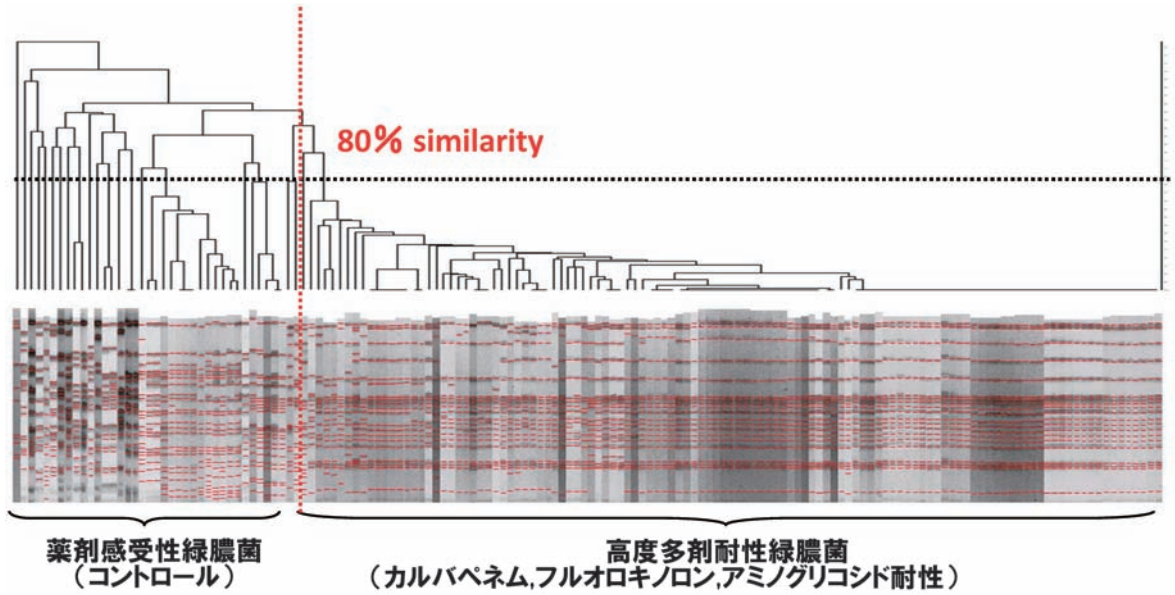


図１

ｅ．分子疫学

分子疫学解析で主流となっている手法に multilocus sequence typing（MLST）がある。緑膿菌の MLST は Curran らが開発した方法が良く用いられる（http://pubmlst.org/paeruginosa/）。緑膿菌の MLST は代謝機能等をつかさどり、菌の生存に必須の７つのハウスキーキング遺伝子

(*acs, aro, gua, mut, nuo, pps, trp*) の塩基配列を比較するものである。これまでの分子疫学の手法は、パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE 法）が主流であった。PFGE 法は現在でも多発事例解析には有効な方法である。MLST 法の最大の特長は，世界中の異なった地域の検査室の配列データが比較可能なことである。これによって、緑膿菌 ST235（sequence type 235）等の世界流行株が存在することが明らかとなった[2)]。緑膿菌 ST235臨床分離株は世界中各国で分離されているが、特に日本、韓国、中国およびヨーロッパ諸国で数多く報告されている[3-4)]。

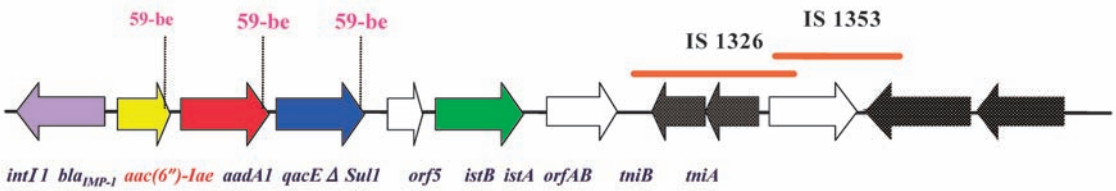
一般的に、緑膿菌は、薬剤耐性因子をプラスミドによって獲得することが知られている。しかし、現在日本の医療機関で問題となっている高度多剤耐性緑膿菌株では、主要な薬剤耐性遺伝子がプラスミドではなくゲノム上に存在し、同じような遺伝子バックグラウンドを有する菌株が医療機関で伝播拡大していると考えられる。

ｆ．高度多剤耐性緑膿菌臨床分離株のゲノム特性

日本で広く分離される MDRP の多くはカルバペネム等の耐性に関与するメタロ - β - ラクタマーゼ遺伝子 bla_{IMP-1} およびアミノグリコシド耐性遺伝子 *aac(6')-Iae* をもつ。これらの遺伝子は、ゲノムに存在するインテグロンと呼ばれる遺伝子構造上に存在することが明らかとなった（図２）[4)]。

日本の流行株である NCGM2.S1株の全ゲノムの大きさは6,764,611bp、GC コンテンツは66.1％、6,271個のタンパクをコードする遺伝子を含み、染色体中に６つのプロファージエレメントを有していた。NCGM2.S1はプラスミドを保有しておらず、薬剤耐性因子は全て染色体上に存在していた。染色体上には NCGM2.S1株に高度多剤耐性を付与する bla_{IMP-1} および *aac(6′)-Iae* を含むクラス１インテグロン In113が存在していた。さらに、In113はカルバペネム系薬に対する排出ポンプ OprD をコードする遺伝子中に挿入され、OprD の機能を完全に破壊することでより高いカルバペネム耐性を獲得していることが分かった（図３）[5)]。

多発事例起因菌IMCJ2. S1株の染色体ゲノムにあるインテグロン構造



IntI 1, class1 integrase (挿入酵素)
bla_{IMP-1}, IMP-1 metallo-beta-lactamase (殆ど全てのベータラクタム剤耐性)
aac(6')-Iae, aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase(アミノグリコシド高度耐性)
aadA1, aminoglycoside 3"- adenylyltransferase
(ストレプトマイシン、スペクチノマイシン耐性)
qacEdelta1, efflux protein
sulI, dihydropteroate synthetase type I (サルファ剤耐性)

図２

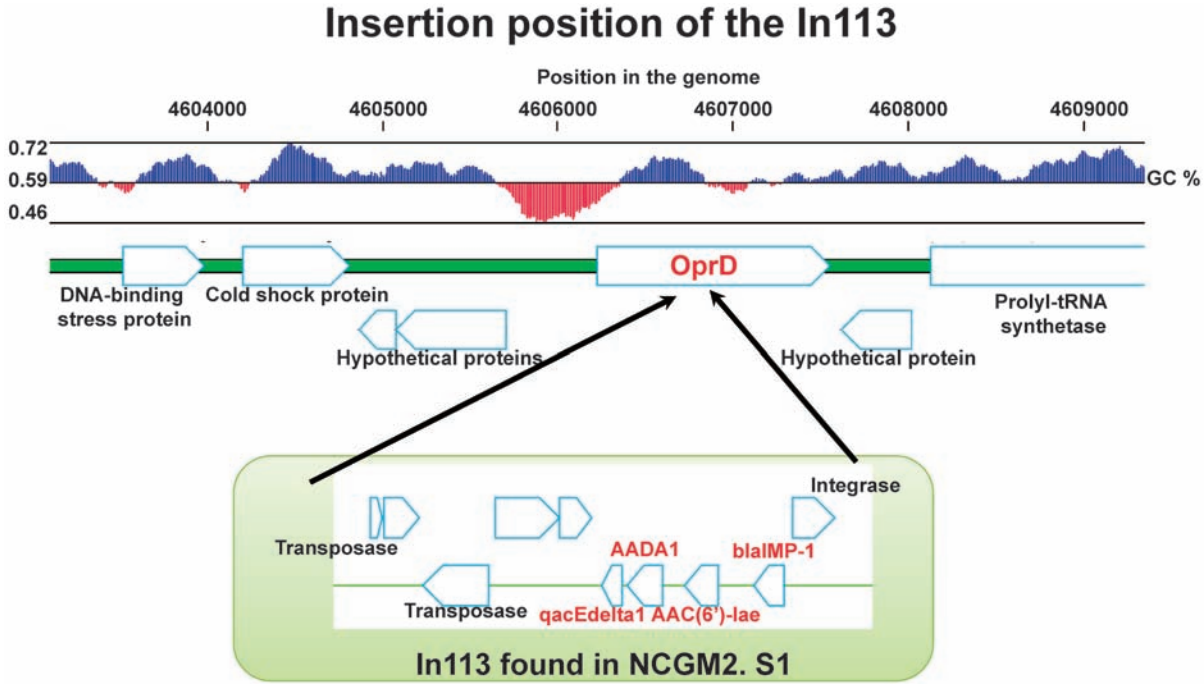


図３

３．MDRA の現状と分子疫学

ａ．アシネトバクターとは

アシネトバクター属菌は、緑膿菌などと同様にブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌である。形態的には緑膿菌と異なり、短い棒状の形をし、鞭毛を持たず、運動性はない。アシネトバクター属菌は、土壌、河川等の自然環境中からしばしば分離される。動物の糞便などからも分離される。アシネトバクター属菌は乾燥に比較的強い性質を持ち、また、菌体外に存在する DNA 断片を取り込んで、自己の染色体 DNA などに組み込む機構を持つため、グラム陰性桿菌の中では、自然形質転換を起こしやすい。アシネトバクターの語源は、ラテン語化されたギリシア語で、動くことができない（ア（ａ）は否定のギリシャ語＋シネトは動く（move）＋バクターは桿菌]）という意味のギリシャ語の語源に由来する。アシネトバクター属菌は1950年代から60年代までは、*Moraxella lwoffi* や *Micrococcus calcoaceticus* と呼ばれていた。*Acinetobacter* 属という名称は1954年に *Moraxella lwoffi* の属名変更により新設されたものである。現在のタイプ種である *Acinetobacter calcoaceticus* も1968年に *Acinetobacter* に移され、その後、多数のアシネトバクター属の種が発見された。この内、アシネトバクター・バウマニー（*A. baumannii*）は Linda and Paul Baumann 夫妻によって1968年にカイガラムシ（Sap-sucking insect）より分離された。その後、アシネトバクター・バウマニーは院内感染症の原因菌として高頻度に報告されるようになってきた。

ｂ．MDRA の定義

多剤耐性アシネトバクター・バウマニー（MDRA）はカルバペネム、アミノグリコシド、フルオロキノロンの３系統の抗菌薬に耐性を獲得した多剤耐性アシネトバクターによる感染症を

「薬剤耐性アシネトバクター感染症」と定義し、５類感染症定点把握疾患に定められている。検査室での判定基準は厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）のホームページ（http://www.nih-janis.jp/index.asp）に明確にされている。MDRA は MDRP と同様に、2000年頃からは臨床現場で用いられるほぼすべての薬剤に耐性を示す。

c．分離状況及び多発事例

ⅰ．MDRA の世界規模での伝播拡大

2003年のイラク戦争直後より、MDRA によるヨーロッパやアメリカ本土の米軍医療施設内アウトブレイクが多数発生した。その後の解析から、これらのアウトブレイクを起こした起因菌はイラク、アフガニスタンなどの中央、中東アジアで負傷した兵士によって欧米に伝播されたと考えられている（図４）。現在、米国内で分離されるアシネトバクターの約30％が MDRA であると報告されている。MDRA は中国、韓国、ベトナム、タイ、ネパールなどのアジア諸国の医療施設で高頻度に分離されることが多数報告されている。

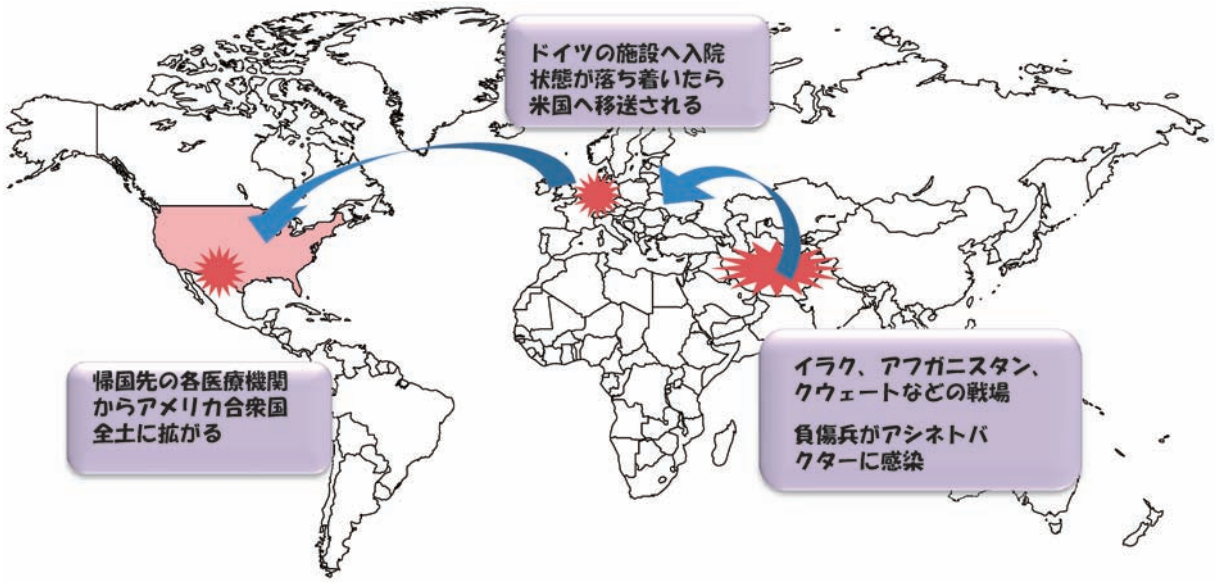


図４

ⅱ．我が国における分離状況

JANIS の報告によると、2007年７月から2009年12月までに我が国の医療施設で分離されたアシネトバクター属の内、多剤耐性アシネトバクター・バウマニー（MDRA）と判定された菌株は71,657株中98株（0.14％）であった。その後、2008年に福岡県、2009年に千葉県、2010年に愛知県で感染多発事例などが報告された。

d．分子疫学

カルバペネマーゼおよび16S rRNA methylase を産生する MDRA は我が国の医療施設から分離されるようになってきた。これらはアジアから輸入されたと考えられる菌が特定の医療施設や地域でアウトブレイクを起こしていると考えられる。

分子疫学解析を目的として2012年７月～12月にかけてある検査センターで分離されたアシネトバクター属の調査を実施した。その結果、具体的にはアシネトバクター属16,343株（47県3,015

施設）の内、MDRA は49株（７県12施設）（0.26％）だった。これらの施設の多くでは多発事例として MDRA が伝播している可能性が考えられた。

日本の医療施設（図５）から分離された MDRA49株において種々の薬剤に対する MIC を調べたところ、アミノグリコシド系薬に対する MIC が全ての株で高度耐性を示した（表２）[6]。全ゲノム解析を行った結果、全ての株からアミノグリコシドの標的である30S リボソームの16S rRNA をメチル化する酵素16S rRNA methylase ArmA をコードする遺伝子 *armA*，アミノグリコシドアセチルトランスフェラーゼ（アミノグリコシド修飾酵素）をコードする遺伝子 *aac (6')-Ib* が検出された。さらに、４株はカルバペネム系薬に対し MIC >64㎎/L 以上の高度耐性を示し、カルバペネムを分解する酵素である OXA 型カルバペネマーゼ遺伝子 bla_{OXA-72}を保有していた。

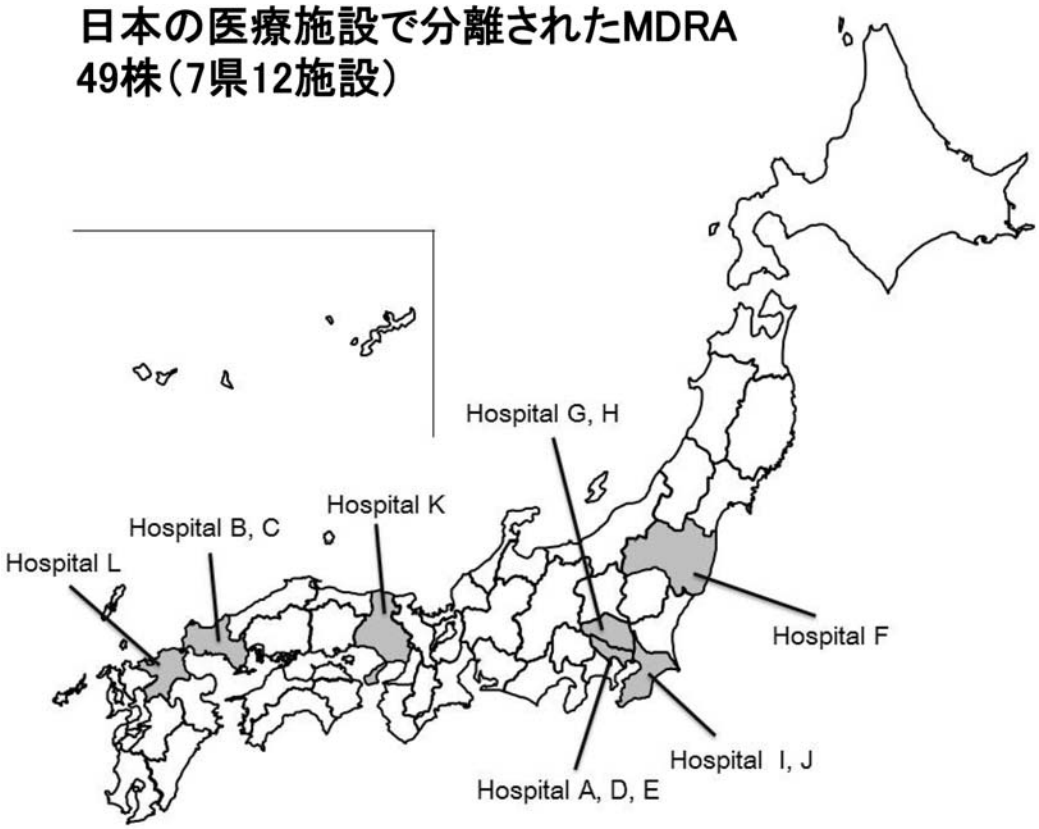


図５

表２

日本で分離されたMDRAの薬剤感受性試験

抗生剤	アシネトバクターバウマニー(n=49) % Resistance	Range (mg/L)	MIC_{50} (mg/L)	MIC_{90} (mg/L)
アミカシン	100	>1024	>1024	>1024
シプロフロキサシン	100	32–1024	256	512
イミペネム	100	16–64	16	64
メロペネム	100	16–128	16	128

アシネトバクター・バウマニーのMLST解析はBartualらが開発した方法（http://pubmlst.org/abaumannii/）およびパスツール研究所が開発した方法（http://www.pasteur.fr/recherche/genopole/PF8/mlst/Abaumannii.html）が良く用いられる。BartualによるMLST解析ではST212、ST455およびST512の３つに分かれた。これらはパスツール研究所の方法では全てST２であった。ST2はヨーロピアンクローンII（インターナショナルクローンIIまたはワールドワイドクローナルリネイジII）と呼ばれる世界流行株に分類される。

PFGEに代わる新たな手法として、全ゲノム配列のSNPs解析（SNPsコンカタネーション）に基づく分子系統解析が用いられるようになってきた。この方法はゲノム上の全てのSNPsを連結し基準株と比較する方法で、従来PFGE解析と比較するとはるかに精度が高い。SNPs解析による分子系統解析の結果、３つのcladeに分かれ、シークエンスタイピング（ST）208を示すclade、ST455を示すcladeおよびST512を示すcladeに分かれた（図６）。

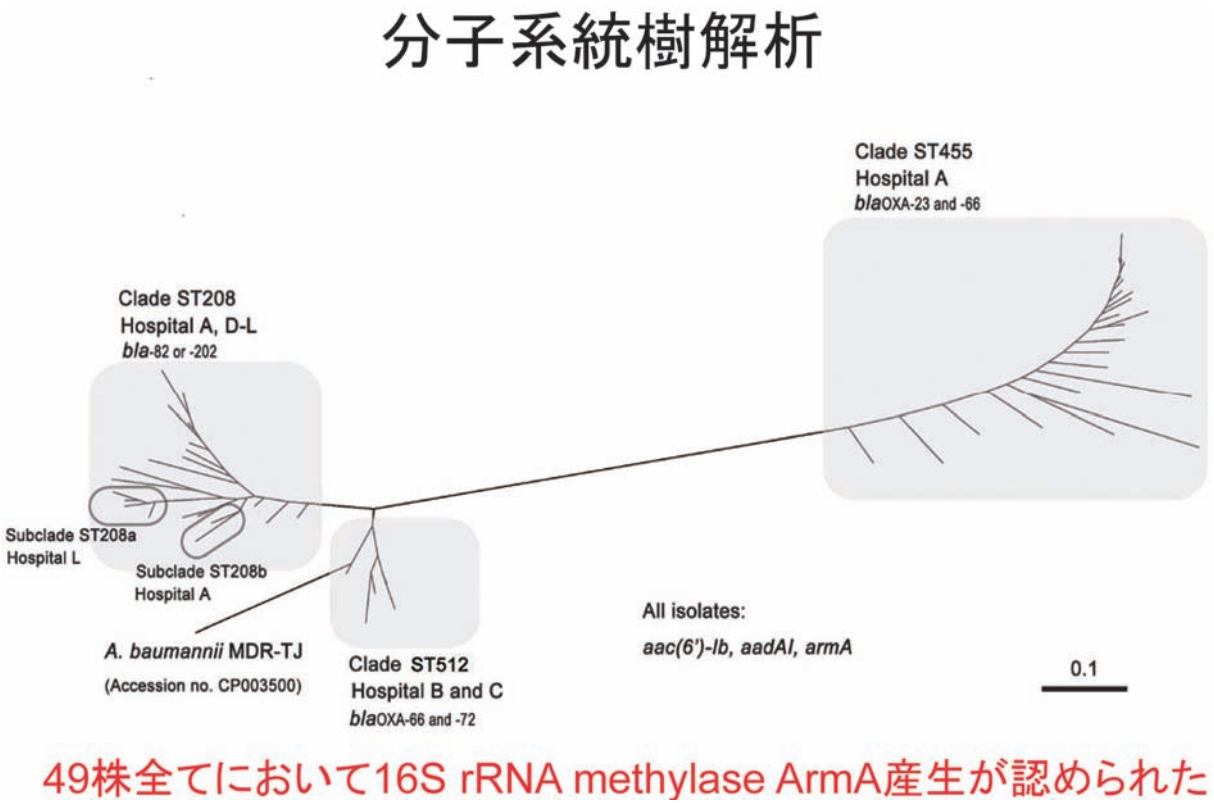


図６

ゲノム解析から*armA*遺伝子はクロモゾームに存在していることが明らかとなった。2012年に分離されたMDRA臨床分離株49株は全て高度アミノグリコシド耐性を示し、16S rRNA methylase ArmAをコードする遺伝子*armA*が検出された。過去、日本で*armA*遺伝子を保有するアシネトバクター・バウマニーの報告は少なく、高頻度での分離報告はない。

高度アミノグリコシド耐性に寄与する16S rRNA methylase産生菌の報告は、中国、韓国、東南アジア諸国で多く報告されている[7)]。よって、これらの国々から日本に持ち込まれた可能性が高いと考えられる。

今後も持続的なモニタリングを続けると共に、16S rRNA methylase産生高度アミノグリコシド耐性菌を迅速に検出できるシステムを開発する必要があると思われる。

参考文献

1）Kirikae T. et al. Investigation of isolation rates of *Pseudomonas aeruginosa* with and without multidrug resistance in medical facilities and clinical laboratories in Japan. *J Antimicrob Chemother*. 61: 612-615, 2008.

2）Kitao T. et al. Emergence of a novel multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain producing IMP-type metallo- β -lactamase and AAC(6')-Iae in Japan. *Int J Antimicrob Agents*. 39: 518-521, 2012.

3）Kim MJ. et al. Dissemination of metallo- β -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* of sequence type 235 in Asian countries. *J Antimicrob Chemother*. 68: 2820-2824, 2013.

3）Maatallah M. et al. Poputation of *Pseudomonas aeruginosa* from five Mediterranean countries: evidence for frequentrecombination and epidemic occurrence of CC235. *PLoS One*. 6: e25617, 2011.

4）Sekiguchi J. et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain that cased a outbreak in aneurosurgery ward and its *aac(6')-Iae* gene cassette encoding a novel aminoglycoside acetyltransferase. *Antimicrob Agents Chemother*. 49: 3734-3742, 2005.

5）Miyoshi-Akiyama T. et al. Complete genome sequence of highly multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* NCGM2.S1, a representative strain of a cluster endemic to Japan. *J Bacteriol*. 193: 7010, 2011.

6）Tada T. et al. Dissemination of 16S rRNA methylase ArmA-producing *Acinetobacter baumannii* and emergence of OXA-72 carbapenemase coproducers in Japan. *Antimicrob Agents Chemother*. 58: 3538-3540, 2014.

7）Wachino J. et al. Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: and update. *Drug Resist Updat*. 15: 133-148, 2012.

多剤耐性結核の分子疫学解析と国際現状

結核予防会大阪病院　診断検査部

部長　**松　本　智　成**

■内容

多剤耐性結核の現状 ……83
多剤耐性結核の検査 ……84
結核菌の分子疫学解析 ……86
おわりに ……88
文献 ……88

多剤耐性結核の現状

今年2014年は多剤耐性結核治療に大きな変化がもたらされた。一つは日本から開発されたデラマニドの欧州並びに日本での承認。さらには岡田等によって開発されてきたワクチンの人での臨床応用研究がいよいよスタートを切った。

多剤耐性結核とは、結核治療に有用なイソニアジド、リファンピシンの少なくとも２剤に耐性の結核である。さらに超多剤耐性結核とはイソニアジド、リファンピシン以外にニューキノロン系抗菌剤、アミノグリコシド系抗菌剤に耐性の結核と定義される [1), 2)]。

超多剤耐性はアフリカのみならずヨーロッパにおいても深刻な状況を引き起こしている。実際、世界保健機関（WHO）は2011年11月14日、従来の抗結核薬が効かない多剤耐性結核や超多剤耐性結核の感染が欧州・中央アジア地域で急速に拡大しており、保健当局が阻止できなければ多くの死者が出ると警告した [3)]。

この為にこれらの結核に対して有効な対策が必要になる。超多剤耐性結核に対する対策は、新たに多剤耐性結核を作らないこと、新薬の開発そしてワクチン開発があげられる。

多剤耐性結核を新たにつくらないために治療の失敗を防ぐため直視下服薬確認 Directly Observed Treatment, Short-course; DOTS が用いられる。これは結核の治療は４剤を少なくとも６ヶ月間という長期服薬をするために脱落や不規則な服薬が生じやすく、それによる耐性化を防ぐため、服薬確認を行う。また多剤耐性結核や超多剤耐性結核の拡大は治療の失敗による新たな菌の出現のみならず既存の菌の感染による拡大も原因となる。この事は最近数は大幅に減少したが今まで抗結核治療を受けたことのない新規結核患者が超多剤耐性結核であった事からも新規感染が起こっていることがわかる。現在では多剤耐性結核感染が起こることは広く受け入れられた事実であるが今から10年以上前は専門家の間にですら受け入れられない事実であった。それはイスコチン耐性結核が katG 遺伝子変異によるカタラーゼ活性低下により引き起こされ、そのカタラーゼ活性低下により感受性結核よりも増殖能が低く感染力が低いという事よりイスコチン耐

性を含む多剤耐性結核も感染力が低いと思われていたからである。事実、我々のデータを見るとイスコチン単独耐性結核は全剤感受性結核よりもクラスター形成率が低くその感染力は低いと推察される。しかしながら多剤耐性結核のクラスター形成率を見ると感受性結核よりも高く、超多剤耐性結核になるとさらにクラスター形成率が上昇し約70％にせまる [4]。（表１；2001年から2004年に大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターにて培養陽性となった結核菌1629株の薬剤耐性並びに IS6110-RFLP 解析によるクラスター形成率）

表１

2001年から2004年に大阪府立呼吸器･アレルギー医療センターにて培養陽性となった結核菌1629株の薬剤耐性並びにIS6110-RFLP解析によるクラスター形成率

薬剤耐性	菌株数	クラスター数 (クラスター形成率%)	p value*
All susceptible	1403	498 (35.5)	0.519
INH total	145	41 (30.0)	0.137
INH only	48	4 (8.3)	< 0.001
INH + α**	31	9 (29.9)	0.535
INH+RFP+α**	66	29(43.9)	0.178
XDR***	29	20(69.0)	< 0.001
Others****	3	0	nd
Total	1629	560 (34.4)	

*Comparisons were performed each drug-resistance isolates with total proportions using χ^2 test.

α **: anti-Tb drugs other than RFP

XDR*** is showing resistance RFP and INH, in addition to any fluoroquinolone, and to at least 1 of the 2 following aminoglycosides: kanamycin and enviomycin.

Others****: PZA only, SM+PZA, SM+KM

Ano H, Matsumoto T, and et al. Relationship between the isoniazid-resistant mutation katGS315T and the prevalence of MDR-/XDR-TB in Osaka , Japan Int J Tuberc Lung Dis 2008 12(11):1300-5改変

このデータにより超多剤耐性結核になると治療の失敗というよりも感染拡大により結核が広まっていることが明らかである。多剤耐性結核、特に超多剤耐性結核は、イスコチン耐性遺伝子の katG の315番目のセリンがスレオニンにアミノ酸置換する変異をもつ菌のクラスター形成高値が目立つ。通常、イスコチン耐性結核は katG の変異によりカタラーゼ活性が低下し増殖能が低下する。イスコチンはもともとプロドラッグでありカタラーゼ活性により抗菌活性をもつ薬剤に変化する。しかしながら katG の315番目のセリンがスレオニンにアミノ酸置換する変異は、カタラーゼ活性は保たれたままイスコチンがカタラーゼの触媒部位に近づけなくなるような変異であり通常の結核菌と同等の増殖能、および活性をもつ。従って、この変異をもつ超多剤耐性結核は通常の結核菌と同様の感染力を有すると考えられている。

多剤耐性結核の検査

現時点での結核診断におけるゴールドスタンダードは、検体からの結核菌の培養による検出で

ある。結核診断治療においては問診、画像検査も重要であるがこれらは診断に導く為のスクリーニング検査の一つでしかない。特に臨床現場においては、問診、身体所見、画像検査により結核を含めた抗酸菌感染症をうたがい、喀痰塗抹検鏡検査、培養同定、培養および薬剤感受性試験の一連の診断の流れが必須である。従って臨床現場においては、培養による菌の検出を介して薬剤感受性試験につとめなければならない。特に多剤耐性結核診療においてINH、RFP両薬剤耐性の確認をもって診断が確定する訳であるから上記診断の流れは必須である。

しかしながら、結核菌は、増殖が遅く陽性所見が得られるまで小川固形培地にて早くて約４週間、通常は６-８週間かかる。増殖が早いといわれている液体培地でも通常７-14日ぐらい要する。従って、菌遺伝子検出ならびに薬剤耐性責任遺伝子変異検出による迅速検査が望まれる。次世代シークセンサーの発達により遺伝子情報と薬剤感受性情報の相関が明らかになってくると、将来的には遺伝子検査で全ての治療に必要な情報が得られるはずである。しかしながら、現時点では、時間面、コスト面において時期早々である。

XDR-TBの集団感染が報告されている現在において迅速に感受性を判定し早期に診断する事は重要である。また、日常臨床現場において喀痰抗酸菌塗抹陽性患者の場合に非結核性抗酸菌症であるか結核症であるかの迅速な判断が必要とされる。

現時点での状況として、結核菌薬剤耐性責任遺伝子変異の研究は、RFPが最も進んでいる。この為に結核菌薬剤耐性責任遺伝子の迅速変異検出が重要になってくる。結核菌遺伝子rpo β領域上の既知の変異にて約95％のRFP耐性を予想出来る。INHが感受性でRFPのみが耐性であるRFP単独耐性結核菌の頻度は低く、大体のRFP耐性結核菌は超多剤耐性結核を含む多剤耐性結核菌なので、RFP耐性責任遺伝子変異を検出する事によって多剤耐性結核のスクリーニングにも使用する事が出来る。現在種々のRFP耐性遺伝子変異検出試薬が市販されている。

では他の薬剤に対する遺伝子迅速検査法はどうであろうか？　RFP以外の薬剤、INH、PZA、fluoroquinoloneに対しては、INH耐性に関与する遺伝子には複数の報告があり、なかでも*katG*遺伝子や*inhA*遺伝子のプロモーター領域の変異が高頻度でみられる。ピラジナミド（pyrazinamide; PZA）耐性結核菌では*pncA*遺伝子に、フルオロキノロン（Fluoroquinolone；FQ）耐性結核菌では*gyrA*遺伝子に変異があることが知られている。RFP耐性菌の約95％が*rpoB*遺伝子に、PZA耐性菌の72-95％が*pncA*遺伝子に、FQ耐性菌の75-94％が*gyrA*遺伝子に変異を持っていることが知られており、結核菌耐性遺伝子検出試薬であるラインプローブアッセイ；LiPAを用いることで同様の感度で臨床検体から迅速に薬剤感受性を判定できると考えられる。このため我々は、ニプロ社が開発した以下の４種のストリップを用いてLiPAを行った[5)]（図１；薬剤耐性遺伝子同定キットの喀痰検査成績LIPA）。

つまりNTM/MDR-TBストリップでは*M. tuberculosis*、*M. avium*、*M. intracellulare*及び*M. kansasii*の菌種同定、結核菌群*rpoB*遺伝子の検出および結核菌群*inhA*、*katG*遺伝子の検出を行い、INHストリップでは結核菌群*inhA*、*fabG1*、*furA*および*katG*遺伝子の検出を行い、PZAストリップでは結核菌群*pncA*遺伝子の検出を行い、FQストリップでは結核菌群*gyrA*遺伝子の検出を行った。なお、FQの代表としてレボフロキサシン（Levofloxacin；LVFX）に対する感受性を検討した。

本邦で検出される非結核性抗酸菌では*M. avium*、*M. intracellulare*および*M. kansasii*の３菌種が主要なものであり、非結核性抗酸菌の約90％を占める。結核菌を含めたこれらの４菌種についてPCRおよび培養何れかの方法で陽性となった検体は82.0％（114/139）（data not shown）

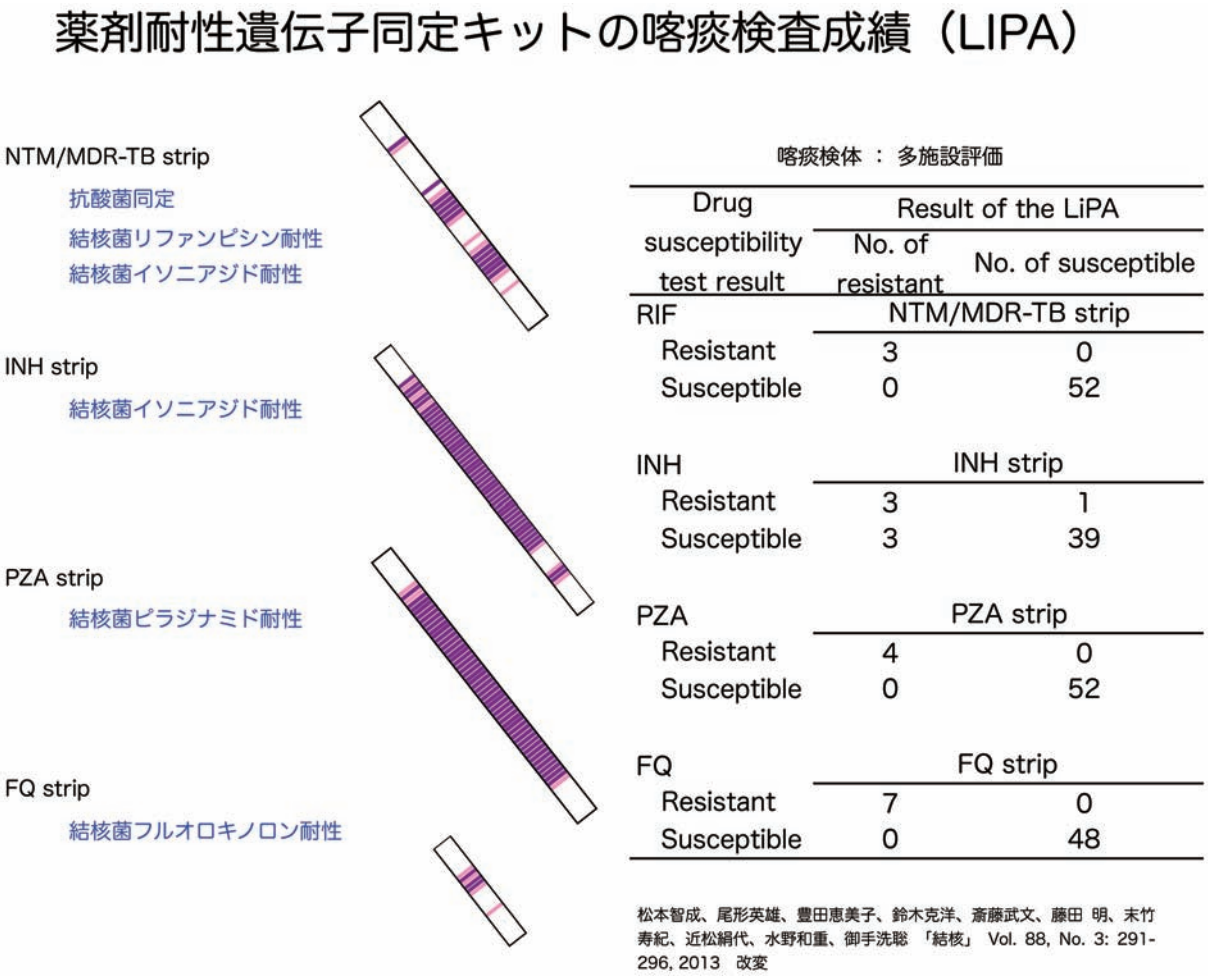


図 1

に対し、LiPA での陽性は78.4%（109/139）であり、臨床検体から直接検出する上で十分な検出感度であった（Table 1；薬剤耐性遺伝子同定キットの喀痰検査成績（LIPA））。

今後、我が国に導入予定の検査機器として XpertTB がある。これも喀痰から結核菌検出のみならず、リファンピシン耐性遺伝子検出を行い多剤耐性結核をスクリーニングすることが出来る。

結核菌の分子疫学解析

結核菌分子疫学解析は、比較する結核菌同士のある特定の配列部位に着目し、それに基づき結核菌が同じ菌株か否かを判断する方法である。シークエンサーにて全遺伝子配列全体の塩基配列を比較し同じか否かを判断するのが将来的な理想の姿であるが、現段階では不可能である。ここで重要な事は、分子疫学解析にて違う菌株と判断されれば解析手法の間違いがなければ違う菌株であるといいきれるが、同じ場合、確率論的に同じと判断しているのであって、別の手法で判断したら異なる場合もありえる。

1990年代後半から実用可能になった結核菌の分子疫学解析は、21世紀を迎えて大きな変革の時期を迎えた。それまでの結核菌分子疫学解析は Insertion Sequence 6110（IS6100）をプローブとした結核菌ゲノムの blotting である IS6110 Restriction Fragment Length Polymorphism

(IS6110 RFLP) 解析が中心であったが、IS6110 RFLP は、大量の結核菌ゲノム遺伝子を必要とする為に解析時間が結核菌の増殖の遅さに依存し、解析に熟練を要する。さらに施設内、施設間における再現性の低さという問題を抱えていた。そのような状況下の結核菌の分子疫学分野において Polymerase Chain Reaction（PCR）を利用した Variable Numbers of Tandems Repeats（VNTR）が導入されると [6, 7, 8]、VNTR は、その迅速性ならびに再現性の高さにより世界中において IS6110 RFLP に取って代わられるようになった。さらに、VNTR はおのおのの国において全国結核菌タイピングデータベース構築が進行している。また、結核菌の系統解析には同じ PCR を利用した spoligotyping も用いられる。（図２：結核菌の分子疫学解析）Spoligotyping と同様に、VNTR は結核菌の系統解析にも用いられる場合がある。トルコで多くみられる LAM7-TUR 株と日本人にしか認められていない結核菌株 T3-Osaka 株は spoligotyping では全く異なる系統の菌株であるが、多型反復領域の12領域を利用した12MIRU-VNTR では全く同じである事から SNPs 解析にてこれらの菌株を比較検討した。すると SNPs 解析ではこれらの菌株が同系統にあることが明らかとなり12MIRU-VNTR にて結核菌の系統進化を辿ることができる可能性を明らかにした [9]。

さらに VNTR を中心とした PCR を利用した結核菌分子疫学解析を利用することにより今まで疫学解析が中心であった結核菌分子疫学解析も臨床応用することが可能になってきた。結核治療を行った患者が、再排菌したときに、内因性の再燃（内因性再燃）か、他の菌に再び感染し（外来性感染）発病したのかの判断が可能になった。内因性再燃ならば結核治療の治療期間、投与量を含めてなにか問題があった可能性があり、外来性 再感染であれば治療後に新たに結核に暴露

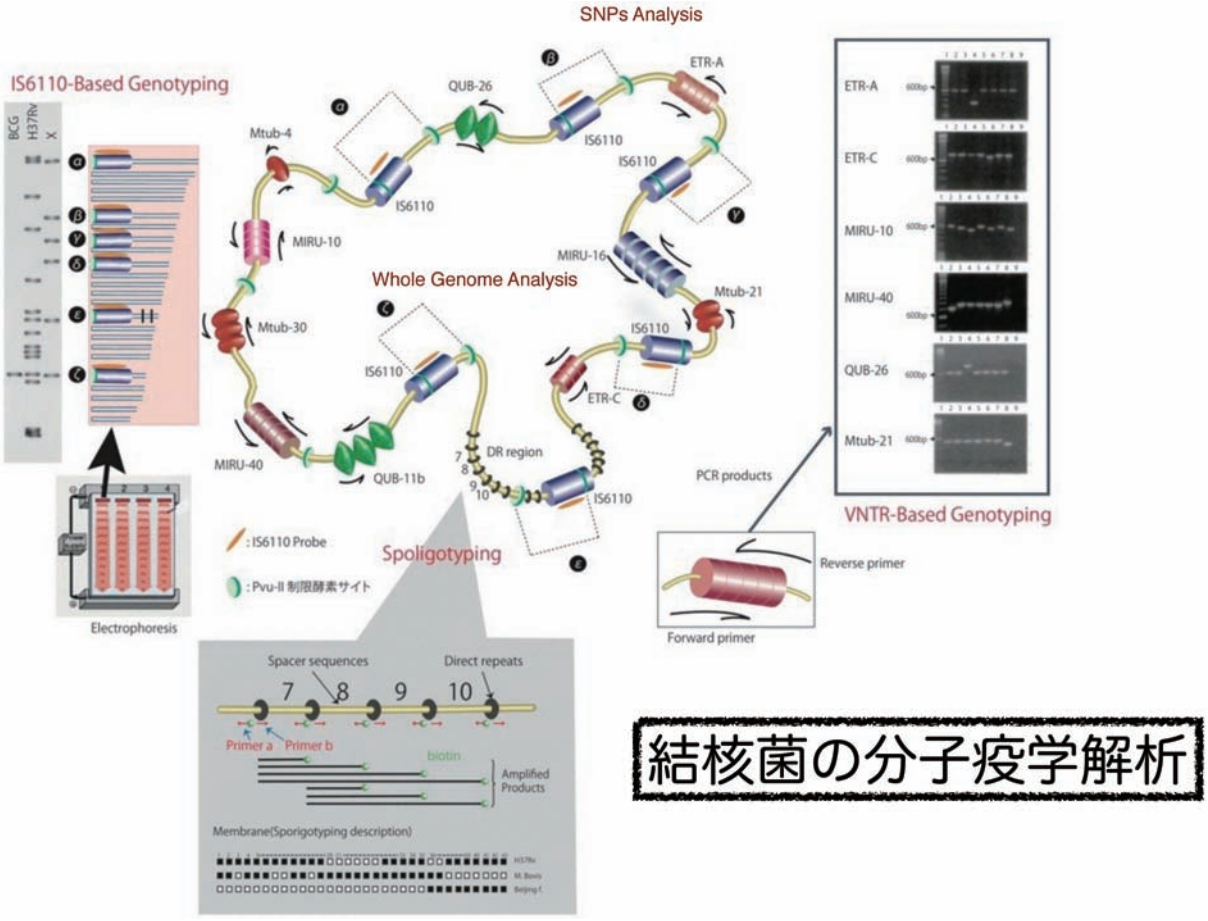


図２

される環境にいたということが考えられ公衆衛生学的な対応が必要となってくる[10]。

また、結核菌排菌患者と接触歴のある患者が、発病し排菌した時に喀痰から直接 VNTR 解析を行うことにより接触歴と関連性があるか否かが数日で判断でき、特に Multi-Drug Resistant Tuberculosis（MDR-TB）排菌患者や eXtensively Drug Resistant Tuberculosis（XDR-TB）排菌患者と接触歴のある場合に、もともと感染していた結核菌が発病したのか、問題となる接触歴のある MDR-/XDR-TB が感染発病したかいなかの判断に有用である。MDR-/XDR-TB 感染による発病が判明し迅速に対応することにより、さらなる感染拡大を防ぐことができる。また、順調に治療が行われ一旦、結核菌排菌陰性化した患者が再排菌した場合、治療が失敗したのか、MDR-/XDR-TB の外来性再感染発病が起こったのか、はたまた検査室のコンタミネーションにより擬陽性であったのか、これらを迅速に判断できることで、不必要な入院延長を回避し、医療費削減にも役立てることが出来る[11]。

おわりに

有効な治療法が少なく、かつ莫大な治療経費を必要とする MDR-/XDR-TB 対策には、DOTS のみならず、結核菌分子疫学解析を駆使し感染拡大を防止する事が重要な手段の一つになる。

文献

1．Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Emergence of Mycobacterium tuberculosis with extensive resistance to second-line drugs-worldwide, 2000- 2004. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 55(11): 301-305, 2006.
2．World Health Organization (WHO): Extensively drug- resistant tuberculosi (s XDR-TB): recommendations for prevention and control. Wkly Epidemiol Rec 8 (145): 430-432, 2006.
3．WHO, Dangerous TB spreading at alarming rate in Europe: WHO | Reuters http://www.reuters.com/article/2011/09/13/us-tuberculosis-europe-idUSTRE78C7VD20110913
4．Ano H, Matsumoto T, and et al. Relationship between the isoniazid-resistant mutation katGS315T and the prevalence of MDR-/XDR-TB in Osaka , Japan Int J Tuberc Lung Dis 2008 12(11): 1300-5
5．松本智成、尾形英雄、豊田恵美子、鈴木克洋、斎藤武文、藤田 明、末竹寿紀、近松絹代、水野和重、御手洗聡　ラインプローブ法による抗酸菌同定および結核菌薬剤感受性判定の臨床評価雑誌「結核」Vol.88, No.３：291-296, 2013
6．Frothingham R, Meeker-O'Connell WA: Genetic diversity in the Mycobacterium tuberculosis complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. Microbiology 144 (Pt 5): 1189-1196, 1998.
7．Supply P, et al: Variable human minisatellite-like regions in the Mycobacterium tuberculosis genome. Mol Microbiol 36: 762-771, 2000.
8．Supply P, et al: Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable- number tandem repeat typing of Mycobacterium tuterculosis. J Clin Microbiol 44: 4498-451026, 2006.
9．Edgar Abadia, et al, Resolving lineage assignation on Mycobacterium tuberculosis clinical isolates classified by spoligotyping with a new high-throughput 3R SNPs based method, Infection, Genetics and Evolution, 2010; 10(7): 1066-1074
10. 松本智成　第82回総会教育講演　II 結核菌の分子疫学 雑誌「結核」Vol.82, No. 12：933-940, 2007
11　．松本智成、トピックス　院内感染：診断と治療の進歩病原体別にみた院内感染と対策　５．結核菌、日本内科学会雑誌　第97巻　第11号　63-71.

CRE 検出方法の実際

船橋市立医療センター　微生物検査室

長　野　則　之

■内容

1．はじめに …… 100
2．日本で最初に発見された IMP 型メタロ - β - ラクタマーゼ …… 101
3．世界規模で急速に拡散する新型カルバペネマーゼ …… 101
　1）NDM-1型メタロ - β - ラクタマーゼ …… 101
　2）KPC 型カルバペネマーゼ …… 103
　3）OXA-48型カルバペネマーゼ …… 104
　4）今後注意すべきカルバペネマーゼ …… 105
4．カルバペネマーゼ産生 CRE 検出の実際 …… 105
参考文献 …… 109

1．はじめに

カルバペネム系抗菌薬のイミペネム（IPM）やメロペネム（MEPM）は、腸内細菌科菌種、特に基質特異性拡張型β - ラクタマーゼ（ESBL）産生株やプラスミド性 AmpC セファロスポリナーゼ産生株などに起因する重篤感染症治療の “last resort” として貴重な役割を果たしている。しかしながら過去十数年の間にこのカルバペネム系抗菌薬を分解するカルバペネマーゼ産生 *Klebsiella pneumoniae* や *Escherichia coli* などのカルバペネム系薬耐性腸内細菌科菌種（Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*; CRE）の出現と急速な世界規模での広がりが感染症治療や公衆衛生に関わる深刻な問題となってきている。このような状況にあって、米国疾病予防管理センター（CDC）は Threat Report 2013の中で CRE を薬剤耐性菌の危険度として “urgent” に分類している。また、世界保健機関（WHO）が2014年４月30日のニュースリリースで発表した “Antimicrobial resistance：global report on surveillance 2014” ではカルバペネム系薬耐性 *K. pneumoniae* が世界的に公衆衛生上深刻な脅威となる薬剤耐性菌の一つとして挙げられており、政府、社会一丸となった取り組みが急務であると警鐘を鳴らしている。

腸内細菌科の菌種が産生する主なカルバペネマーゼとしては従来より知られている IMP 型や VIM 型（Verona integron-encoded metallo- β -lactamase）などのメタロ - β - ラクタマーゼに加え、近年新たに問題となってきている NDM 型メタロ - β - ラクタマーゼ（New Delhi metallo- β -lactamase）、KPC 型カルバペネマーゼ（*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase）、OXA-48型カルバペネマーゼがあげられる。これらのカルバペネマーゼを産生する CRE は複数

の耐性因子を保有する場合も多く、日常検査で実施される薬剤感受性試験や表現型特性から耐性因子を推定することが困難になってきている。本セミナーでは自験例も含め、CRE の検出法について紹介する。

2．日本で最初に発見された IMP 型メタロ - β - ラクタマーゼ

IPM は1987年 9 月に国内で販売が開始されたが、1991年には尿路感染症由来の IPM 耐性 *Serratia marcescens* がカルバペネム分解酵素である IMP-1メタロ - β - ラクタマーゼ産生株であることが世界で初めて見いだされた[1)]。この “IMP” は “imipenem を分解する ” ことから “ 臨床的な impact が大きく ”、“ 臨床的に important である ” こと、“ β - ラクタム系薬による治療が impossible である ” こと、また伝説の小さい悪魔 “imp” の意味合いを込めて Arakawa らにより名付けられている。その後この発見に先んじて1988年に分離された伝達性のイミペネム耐性を示す *Pseudomonas aeruginosa*[2)] が同様に IMP-1を産生していることが明らかにされた。IMP 型メタロ - β - ラクタマーゼ産生株はアジア太平洋地域の国々、さらにヨーロッパ、カナダなどから報告されている。現在までに IMP 型には50近くの亜型が見いだされているが、なかでも IMP-1型が我が国をはじめアジア諸国で広がっている。特に国内では IMP-1型は腸内細菌科の菌種が産生するカルバペネマーゼの中で最も高頻度に認められており、2010年に厚生労働省で実施された調査でも多剤耐性腸内細菌科菌種 153株のうち72株（47.1％）から検出されている。ごく最近では IMP-1型に含まれ、IMP-1とは 1 アミノ酸違い（Ser196Gly）の IMP-6を産生する *E. coli* や *K. pneumoniae* の地域的な高頻度分離も報告されてきている。IMP-6産生株の場合、IPM の MIC より MEPM の MIC の方が 3 管程度高くなる傾向が見られることが特徴であり、時に IPM 感性、MEPM 耐性の表現形質を示すことから検出には注意が必要である。

3．世界規模で急速に拡散する新型カルバペネマーゼ

1）NDM-1型メタロ - β - ラクタマーゼ

NDM-1産生株は2008年にインド、ニューデリーでの入院歴を有するスウエーデン在住のインド人男性の尿路感染症由来 *K. pneumoniae* で初めて見いだされた。その後 NDM-1産生株はイギリス、インド、パキスタンを中心に広がり短期間で世界的に注目される CRE となっていった。インドやパキスタン地域で医療行為を受けイギリスなど自国へ帰国後感染症を呈した旅行者から NDM-1産生株が多数分離され問題となっていることからインド亜大陸との疫学的関連性がこの事象の背景として報告されている。事実2010年 9 月～10月にニューデリーで実施された調査では水道水の４％（2/50試料）、たまり水の30％(51/171試料）から NDM-1遺伝子が検出されたこと、さらに NDM-1産生株の中には赤痢菌やコレラ菌のような病原菌も含めそれまでに報告のない11菌種が認められたことが明らかとなった。このように広範な菌種間での急速な NDM-1遺伝子の伝達が世界規模での蔓延に繋がっていったと考えられる。また、インド亜大陸とは別にバルカン諸国や中東諸国が NDM-1産生株の保有地域となっている可能性も示唆されている。NDM-1遺伝子のほとんどが Inc A/C をはじめ種々の Inc タイプの伝達性プラスミド上に存在しているが、特定のプラスミドや単一の遺伝的構造、あるいは特定のクローンの世界的拡散への関わりは認められていない[3), 4)]。

表１　国内における NDM 型，KPC 型及び OXA-48型カルバペネマーゼ産生株報告事例

	報告事例	菌種	渡航先
NDM 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生株			
1	2010 年厚労省実態調査報告例	*Klebsiella pneumoniae*	無し
2	2010 年厚労省実態調査報告例	*Klebsiella pneumoniae*	無し
3	2011 年感染研解析依頼例	*Klebsiella pneumoniae*	インド
4	2013 年感染研解析依頼例	*Escherichia coli*	バングラデシュ
5	2011 年報告例	*Escherichia coli*	インド
6	2012 年報告例	*Acinetobacter baumannii*	インド
7*	2013 年報告例	*Klebsiella pneumoniae*	南アジア
8	2014 年報告例	*Escherichia coli*	不明
9	2014 年報告例	*Escherichia coli*	インド
10	2014 年報告例	*Escherichia coli*	インド
KPC 型カルバペネマーゼ産生株			
1	2010 年厚労省実態調査報告例	*Klebsiella pneumoniae*	渡航先不明
2	2011 年感染研解析依頼例	*Klebsiella pneumoniae*	北米
3	2012 年感染研解析依頼例	*Klebsiella pneumoniae*	中国
4	2012 年感染研解析依頼例	*Klebsiella pneumoniae*	インド
5	2012 年感染研解析依頼例	*Klebsiella pneumoniae*	インド
6	2009 年報告例	*Klebsiella pneumoniae*	米国
7	2012 年報告例	*Klebsiella pneumoniae*	ブラジル
OXA-48 型カルバペネマーゼ産生株			
1	2010 年厚労省実態調査報告例	*Klebsiella pneumoniae*	インド
2	2012 年報告例	*Klebsiella pneumonia* *Escherichia coli*	東南アジア
3*	2013 年報告例	*Klebsiella pneumoniae*	南アジア
4	2014 年報告例	*Klebsiella pneumoniae*	エジプト，トルコ

*同一事例より分離された同一菌株

(IASR Vol. 34 p. 238-239: 2013 年 8 月号を改変)

表１に示すように国内では2010年にインドからの帰国事例で初めて NDM-1産生株が報告された[5)]。患者は2009年に現地医療機関へ入院し、その後栃木の大学病院に転院したが、NDM-1産生株は血液から検出された *E. coli* で見いだされている。以降現在までに10事例から NDM-1産生株が確認されているが、その内の２事例は前述の2010年実施の厚生労働省の調査でインドを含め海外渡航歴のない患者由来の *K. pneumoniae* から見いだされている。従って NDM-1産生株は既に一部地域の医療施設や療養施設、さらに市中で拡散している可能性も考えられ医療機関においては十分警戒していく必要があると思われる。また、2012年には多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* で初めて NDM-1遺伝子が確認されている。我々は2013年にメディカルツーリズムで

来日した南アジア系男性患者からNDM-1産生*E. coli*ならびにNDM-1・OXA-181同時産生*K. pneumoniae*を検出し報告している[6)]。

現在NDM型には12の亜型が存在しているがNDM-1が最も多く認められている。NDM-1はアズトレオナムを除く全てのβ-ラクタム系薬に対する分解活性を有する。また、NDM-1遺伝子をコードするプラスミドは他のβ-ラクタマーゼ遺伝子、キノロン耐性遺伝子、16S rRNA methyltransferase遺伝子などの耐性因子を同時に保有していることからNDM-1産生株の多剤耐性化が認められる。

2）KPC型カルバペネマーゼ

KPC型産生株としては1996年に米国でICARE（Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology）のプロジェクトの参加施設であるノースカロライナ州の病院よりKPC-2産生*K. pneumoniae*が最初に検出されている。2000-2001年にはニューヨーク大学メディカルセンターでのKPC-3産生*K. pneumoniae*のアウトブレイクが報告されKPC型産生株はニューヨーク近傍、東海岸を中心に国内へ広がっていった。2004年頃まではKPC型産生株は米国からのみ検出されていたが、その後2005年のフランスからの報告を皮切りに、イスラエル、ギリシャ、イギリスなどのヨーロッパ諸国、南米及び中国、韓国、台湾など我が国近隣のアジアの国々からも報告されてきている。これらの中には米国で医療サービスを受けたこととの関連性が示唆される事例も含まれていた。また、中国やブラジルでは病院などの排水や汚水からもKPC型産生株が検出されている。CDCによれば特に米国で問題となっているKPC型産生*K. pneumoniae*をはじめとするカルバペネマーゼ産生CRE感染事例が44の州で確認されており、さらにはこのようなCREに血流感染した場合の致死率が50％までに達していることへの危機感を背景に、Threat Report 2013で最上レベルの危険度を付与し警告している。現在KPC型にはKPC-2～KPC-19の亜型が見いだされているが、米国を含め報告されているKPC型の殆どがKPC-2とこれと1アミノ酸違いのKPC-3（His272Tyr）である。なお、KPC-1については登録塩基配列の修正によりKPC-2と同一であることが確認されている。KPC型産生*K. pneumoniae*では特定のクローンであるST-258が米国やフィンランド、ポーランド、ノルウェーなどヨーロッパの国々で多い。KPC型を産生する菌種として米国では*K. pneumoniae*が優位を占めているが*E. coli*、*Salmonella enterica* serovar Cubana、*Enterobacter cloacae*、*Klebsiella oxytoca*、*Proteus mirabilis*、*Citrobacter freundii*なども報告されている。このような腸内細菌科の種々の菌種の間でのKPC型産生株の急速な拡散には、KPC型遺伝子がトランスポゾン構造に担われ、伝達可能な広域宿主プラスミド上に存在すること、さらには上述のKPC型産生*K. pneumoniae*の特定クローンST258の関わりが考えられる。

国内における初めてのKPC型産生株の報告は、2008年に急性骨髄性白血病患者の尿より分離されたKPC-3産生*K. pneumoniae*でST258と同定された。本患者は在住先のニューヨークの病院から九州の大学病院に転院してきており、入院先の病院からの持ち込みが強く示唆された。２例目は2010年に海外の医療機関での入院・手術歴のある外傷患者の腹部及び尿より分離されたKPC-2産生*K. pneumoniae*で、先の厚生労働省の調査で検出されている。以降現在までに５事例からKPC型産生*K. pneumoniae*が確認されているが、その内２事例はインド、残りの３事例はそれぞれ北米、中国、ブラジルへの渡航歴を有していた（表１）。

KPC-2やKPC-3はカルバペネム系薬の分解活性が中程度でありMICが低値を示す場合があ

る。また広域スペクトラムセファロスポリン系薬に対する分解活性はセフォタキシム（CTX）では中程度で、セフタジジム（CAZ）では極めて低い。さらにセフォキシチンの分解活性も極めて低い。KPC 型産生株は NDM 型産生株と同様にβ - ラクタム系薬、フルオロキノロン系薬、アミノグリコシド系薬を含めた多系統の抗菌薬に耐性を示す場合が多い。

3）OXA-48型カルバペネマーゼ

OXA-48カルバペネマーゼは2001年にトルコ、イスタンブールの臨床由来 *K. pneumoniae* で初めて確認された。その後も2006年５月～2007年１月にかけてのイスタンブールでの OXA-48産生 *K. pneumoniae* の大規模アウトブレイクをはじめ OXA-48産生株の報告の殆どがトルコと関連した事例であり、*E. coli* や *C. freundii* での産生株も見いだされていた。2009年以降は欧州各国、地中海沿岸地域、中東地域にわたって *K. pneumoniae* や *E. coli* をはじめ種々の腸内細菌科の菌種で OXA-48産生株感染症の散発事例やアウトブレイク事例が報告され始めた。また、ごく最近ではカナダや北米からも報告されてきている。

OXA-48型には OXA-48の他に OXA-162、OXA-163、OXA-181、OXA-204、OXA-232、OXA-247などの亜型がこれまでに報告されている。OXA-48は、*Shewanella oneidensis* が染色体依存性に産生する OXA-54とアミノ酸配列が92％程度一致し、OXA-48の起原を考える上で興味深い示唆を与える。OXA-48と類似した OXA-181は2007年にインドで分離された *K. pneumoniae* や *E. coli* で最初確認され、その後インドからの輸入事例がオランダ、フランスなどいくつかの国で報告されている。OXA-181は４アミノ酸違いである OXA-48と類似した酵素特性を有し、カルバペネム系薬や CAZ などの広域スペクトラムセファロスポリン、モノバクタム系薬に対する分解活性は低い。なお、OXA-181は *Shewanella xiamenensis* などの *Shewanella* 属が染色体性に保有する OXA 型β - ラクタマーゼと類似している。OXA-163はアルゼンチンで初めて報告され、その後エジプトで海外渡航歴のない患者から分離されている。OXA-163ではカルバペネム系薬の分解性がOXA-48より低く､広域スペクトラムセファロスポリン系薬の分解活性が高い特性を示す。

我々は2012年11月に国内で初めて OXA-48産生株を確認した[7)]。患者は東南アジアの医療機関での治療歴を有し千葉県内の医療機関に転院したが、入院直後採取の気管吸引痰から *E. coli*（Ec 株）及び *K. pneumoniae*（Kp1株）、さらに鼠径部擦過物より *K. pneumoniae*（Kp2株）の３株が検出された。これら３株における IPM と MEPM の MIC は軽度上昇しており、また、タゾバクタム / ピペラシリン（TAZ/PIPC）も耐性であった。*K. pneumoniae* Kp1株は広域スペクトラムセファロスポリン系薬、モノバクタム系薬感性で、OXA-48遺伝子のみ保有していた。一方 *K. pneumoniae* Kp2株と *E. coli* Ec 株はセフェム系薬、モノバクタム系薬耐性で、OXA-48遺伝子に加えそれぞれ CTX-M-15と CTX-M-55 ESBL 遺伝子を保有していた。さらに *E. coli* Ec 株ではアミノグリコシド系薬、フルオロキノロン系薬なども耐性で、多剤耐性を獲得していた。OXA-48遺伝子の周辺構造の解析の結果、2007年トルコのアウトブレイク株に認められた Tn*1999.2*と一致していた。以降現在までに４事例から OXA-48型産生株が確認されているが、これには前述の2013年の南アジア系男性患者由来の NDM-1・OXA-181同時産生 *K. pneumoniae* および OXA-181産生 *K. pneumoniae* の事例が含まれる[6)]（表１）。

OXA-48カルバペネマーゼはペニシリン系薬の分解活性が高いがカルバペネム系薬の分解活性は低いか中程度という酵素特性を有し MIC が低値を示す場合がある。また広域スペクトラムセファロスポリン系薬に対する分解活性は CTX などでは極めて低く、CAZ ではほとんど見られ

ない。しかしながらOXA-48産生株の多くがCTX-M-15などのESBLを共産生しており、また、CMY型やDHA型などのプラスミド媒介性AmpCを共産生する株も出現しており、その結果広域スペクトラムセファロスポリン系薬にも耐性を示す株もしばしば分離されている。

4）今後注意すべきカルバペネマーゼ

GES-5はクラスAのGES（Guiana extended-spectrum）型ESBLの亜型で、カルバペネム分解性を示す。GES-5は2004年にギリシャ、アテネで*E. coli*から初めて確認されたが、韓国、ブラジル、カナダ、中国、スペイン、南アフリカ、ドイツなどで*Enterobacteriaceae*や緑膿菌からも検出されている。このGES-5遺伝子はインテグロンに担われていることからその広がりが警戒されており、また、隣国の韓国ではGES-5産生*K. pneumoniae*によるアウトブレイクが報告されている[8)]。

4．カルバペネマーゼ産生CRE検出の実際

厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）によればカルバペネム系薬のイミペネムに耐性を示す*K. pneumoniae*と*E. coli*の分離率は2013年でそれぞれ0.2％と0.1％と現状では低率である。しかしながらOXA-48型、KPC型、NDM型、VIM型産生CREが世界規模で拡散している一因として、これらCREの流行地域への海外旅行や現地医療機関への入院、メディカルツーリズムが関わっている危険性を認識することが重要である。厚生労働省では2013年3月22日付の事務連絡で海外の医療機関において入院治療を受けていた患者を受け入れる際には各種耐性菌のスクリーニングを実施するよう呼びかけている。しかしながらKPC型やOXA-48型産生

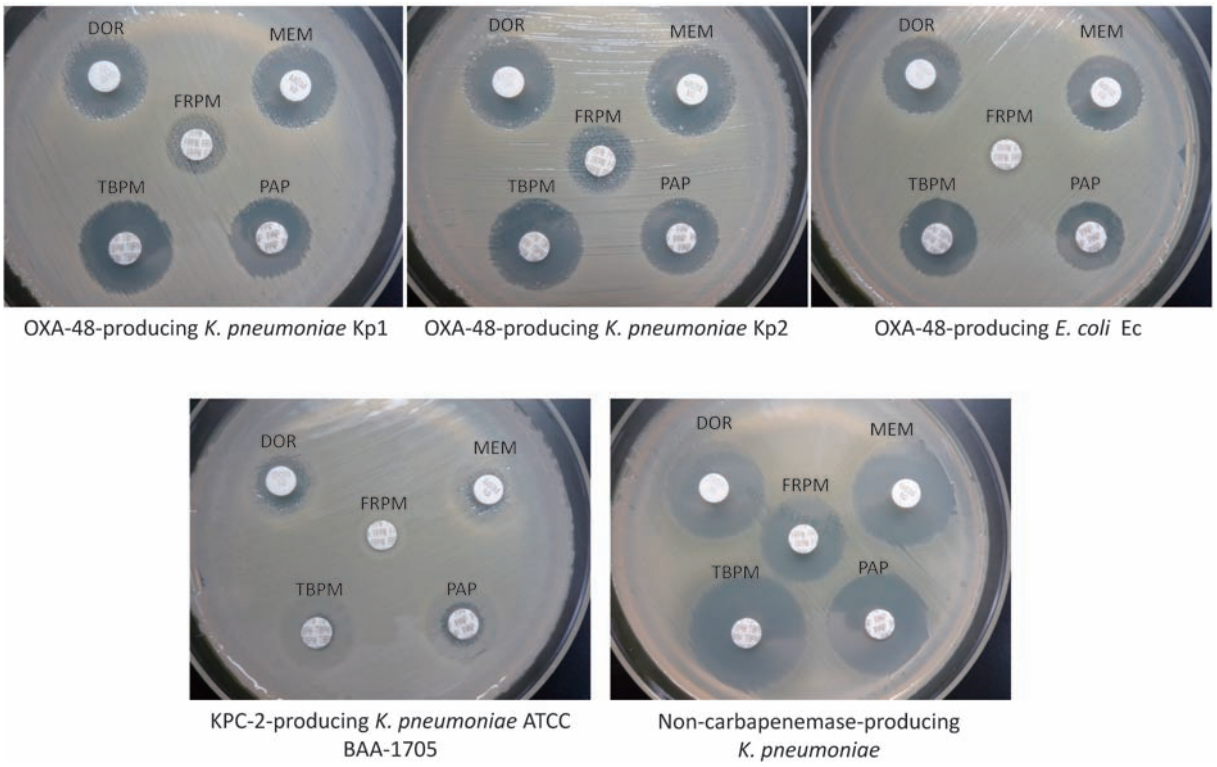


図1　OXA-48産生Enterobacteriaceaeにおけるメロペネム、ドリペネム、ファロペネム、テビペネム、パニペネムディスクを用いた薬剤感受性試験

表２　表現型特性に基づく耐性因子の推定

耐性因子		ESBL	AmpC セファロスポリナーゼ		カルバペネム系薬耐性メカニズム				
					カルバペネマーゼ			AmpC＋外膜蛋白ポーリン減少/欠損	ESBL＋外膜蛋白ポーリン減少/欠損
		CTX-M	染色体性	プラスミド性	NDM-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ	KPC 型カルバペネマーゼ	OXA-48 型カルバペネマーゼ		
クラス（Ambler 分類）		A	C		B	A	D		
酵素活性阻害試験	クラブラン酸	＋	−		−	±	−	−	＋
	ボロン酸	−	＋		−	＋	−	＋	−
	SMA	−	−		＋	−	−	−	−
	クロキサシリン	−	＋		−	−	−	＋	−
アズトレオナムに対する感受性		R	variable		S	R	S	R	R

ﾎﾞﾛﾝ酸, 3-ｱﾐﾉﾌｪﾆﾙﾎﾞﾛﾝ酸; SMA, ﾒﾙｶﾌﾟﾄ酢酸ﾅﾄﾘｳﾑ

株の中にはカルバペネム系薬の MIC が低値を示し薬剤感受性試験の成績からは検出が困難となる場合があり注意が必要である。ファロペネムディスクで二重阻止円を形成するか又は阻止円を形成しないことで、これらのカルバペネマーゼ産生 CRE を効率よく検出し得る（感度98％/特異度87％）ことが報告されている[9]（図１）。

各種 CRE の表現型特性を表２に示す。KPC 型産生株の場合、TAZ/PIPC に高度耐性を示すこと、カルバペネマーゼ産生性を検出するためのエルタペネムや MEPM ディスクを用いた変法ホッジ試験陽性、KPC 型の酵素阻害剤であるアミノフェニルボロン酸（APB）を用いた酵素阻害試験で陽性を示すことから推定され得る（図２Ａ、Ｂ）。しかしながら我々の経験したプラスミド性 AmpC セファロスポリナーゼの DHA-1産生性で且つ外膜蛋白ポーリンの減少/欠損を有する *K. pneumoniae* 株の場合、IPM や MEPM の MIC が高値を示し、変法ホッジ試験陽性、カルバペネム系薬を基質とした APB による酵素阻害試験陽性であった。従って表現型特性から KPC 産生株が疑われる場合、カルバペネム系薬のディスクに AmpC セファロスポリナーゼの阻害剤であるクロキサシリンを添加した酵素阻害試験を行い、陽性であれば AmpC 産生性、陰性であれば KPC 産生性が推定可能である。

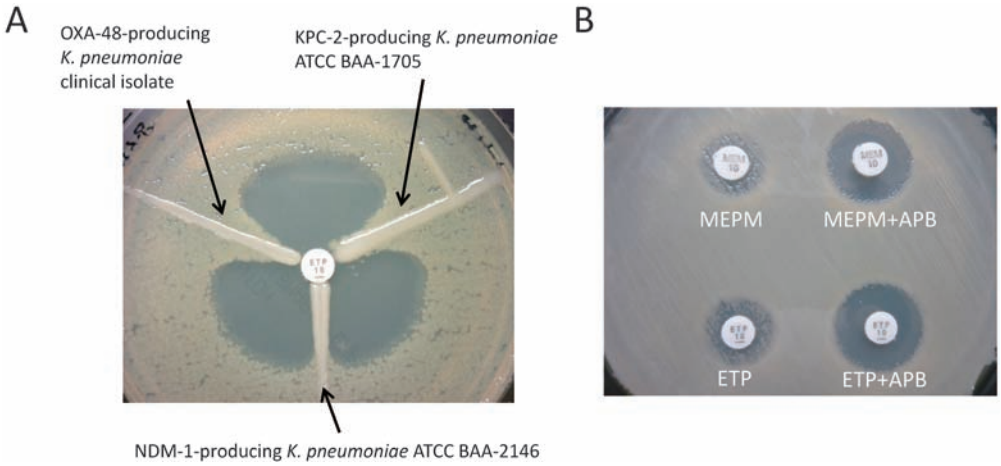


図２　各種カルバペネマーゼ産生株の表現型特性

(A)　エルタペネムディスクを用いた変法ホッジ試験。

(B)　KPC-２産生 K. pneumoniae ATCC BAA-1705でのアミノフェニルボロン酸(APB)を用いた酵素阻害試験。

また、OXA-48型産生株は KPC 型産生株と同じく TAZ/PIPC に高度耐性を示し、変法ホッジ試験陽性となるが、APB などを用いた各種β - ラクタマーゼ酵素阻害試験では鑑別できず OXA-48型遺伝子の検出が必須となる。

NDM 型産生株については、荒川らが考案したメタロ - β - ラクタマーゼ阻害剤のメルカプト酢酸ナトリウム（SMA）と IPM ディスクあるいは MEPM ディスクを用いた SMA ディスク法による酵素阻害試験陽性でスクリーニング後 NDM 型遺伝子の検出を行う。なお、NDM 型産生株の場合変法ホッジ試験では必ずしも陽性とならないことに注意が必要である（図２Ａ）。しかしながら、同じメタロ - β - ラクタマーゼである IMP-1型産生株は変法ホッジ試験で明瞭な陽性を示す。

これらの新型カルバペネマーゼ産生株は複数の耐性因子を保有する場合が多く、表現型のみに基づく検出や鑑別が困難となってきている。最近我々はメディカルツーリズムで来日した南アジア系患者から NDM-1、OXA-181カルバペネマーゼ、CTX-M-15、CMY-4など複数の耐性因子を

表３　IMP-1メタロ - μ - ラクタマーゼ産生 *Citrobacter freundii* における測定機種の違いによる MIC の乖離

Antimicrobial agent	MIC (μg/ml)		
	MicroScan	Phoenix	VITEK 2
ABPC	>16	>16	≥32
PIPC	≤8	≤4	16
TAZ/PIPC	≤8	≤4	
CEZ	>16	>16	≥64
CTM	16	>16	32
CTX	8	>32	≥64
CAZ	64	>16	≥64
CPDX	64	>4	
SUL/CPZ	≤16		
CPR	≤8	16	
CFPM	2	>16	2
CMZ	>32	>32	≥64
AZT	≤0.5	≤2	≤1
IPM	≤1	≤1	≥16
MEPM	≤0.5	≤1	≥16
GM	2	≤2	≤1
AMK	≤4	≤8	≤2
LVFX	≤0.5	≤1	0.5
CPFX	≤0.25	≤0.5	≤0.25
MINO	≤2	2	4
FMOX	≤8	32	32

保有する広範囲抗菌薬耐性 *K. pneumoniae* を検出しているが、変法ホッジ試験で陽性を示したことから何らかのカルバペネマーゼの産生性が推定されたものの、各種酵素阻害試験では耐性因子を推定することができなかった。

加えて日常検査で使用する自動細菌検査システムの機種による測定値の違いが、MIC の正確性を担保出来ない要因となっている。筆者らは IMP-1メタロ - β - ラクタマーゼ産生株のカルバペネム系薬の MIC について国内で汎用されている MicroScan、Phoenix、Vitek 2による測定値の大幅な乖離現象も見出しており、Vitek 2ではイミペネムとメロペネムの MIC が ≥16μg /ml と高度耐性を示したのに対して、MicroScan ではイミペネムが ≤ 1 μg /ml、メロペネムが ≤0.5μg / ml と感性であった（表３）。その結果、“hidden carbapenemase” として見逃され、院内に拡散していくことが懸念される。

CRE をはじめ多種多様な薬剤耐性菌が医療機関をふくめ国内に入ってくることは避けられない。そこで海外からの新型耐性菌の流入を引き続き監視し、上述のような日常検査の問題点を認識した上で早期検出と適切な感染制御の実施によりそれらの国内での蔓延を防止する必要がある。

参考文献

1）Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, Yoshimura F, Kato N. Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. Antimicrob Agents Chemother. 1994; 38: 71-8.

2）Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, and Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 1991; 35: 147-51.

3）Poirel L, Dortet L, Bernabeu S, Nordmann P. Genetic features of bla_{NDM-1}-positive Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55: 5403-7.

4）Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Worldwide dissemination of the NDM-Type carbapenemases in Gram-negative bacteria. Biomed Res Int. 2014; 2014: 249856. (http://dx.doi.org/10.1155/2014/249856)

5）Chihara S, Okuzumi K, Yamamoto Y, Oikawa S, Hishinuma A. First case of New Delhi metallo- β -lactamase 1-producing *Escherichia coli* infection in Japan. Clin Infect Dis. 2011; 52: 153-4.

6）外山雅美，長野由紀子，柴山恵吾，長野則之，荒川宜親．海外より来日した患者から検出されたNDM-1メタロ-β-ラクタマーゼとOXA-181カルバペネマーゼ等を同時に産生する広範囲抗菌薬耐性肺炎桿菌．IASR 2013；34：237-8.

7）Nagano N, Endoh Y, Nagano Y, Toyama M, Matsui M, Shibayama K, Arakawa Y. First report of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan from a patient returned from Southeast Asia. Jpn J Infect Dis. 2013; 66: 79-81.

8）Jeong SH, Bae IK, Kim D, Hong SG, Song JS, Lee JH, Lee SH. First outbreak of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates producing GES-5 and SHV-12 extended-spectrum β -lactamases in Korea. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49: 4809-10.

9）Day KM, Pike R, Winstanley TG, Lanyon C, Cummings SP, Raza MW, Woodford N, Perry JD. Use of faropenem as an indicator of carbapenemase activity in the *Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol. 2013; 51: 1881-6.

特別寄稿１- １

寄生虫感染症と薬剤耐性１

１．蠕虫感染症と抗蠕虫薬

群馬大学大学院医学系研究科
国際寄生虫病学
教授　久　枝　　一

はじめに

寄生虫 parasite は動物性真核細胞からなる病原体の総称で、ヒトを構成する真核細胞からなるということが原核生物である細菌と大きく異なる点である。いわゆる抗生物質（抗菌剤）は細菌に特異的な構造、生物学的特性を標的とすることで、ヒトには作用することなく細菌だけに効果を発揮する。例えば、ペニシリン、セファロスポリン、バンコマイシンは細胞壁の合成を阻害するし、テトラサイクリン、アミノグリコシドは70Ｓリボソームに作用して細菌の蛋白合成を特異的に抑制する。したがって、これらの抗生物質は真核生物である寄生虫にはまったく効果を発揮しない。とはいえ、寄生虫に対する薬剤、抗寄生虫薬はれっきとして存在する。また、結核とともに再興感染症の双璧をなすマラリアは薬剤耐性が問題となっている寄生虫感染症である。

本稿では数回に渡り、寄生虫症の特徴と寄生虫に対する薬剤、さらには薬剤耐性が問題となっている寄生虫症について概説する。

寄生虫感染症概説

寄生虫は多細胞からなる蠕虫 helminth と単細胞の原虫 protozoan とに大きく二つに分類できる。蠕虫はさらに３つ、線虫と吸虫と条虫に分類される（図１）。線虫には回虫や蟯虫、フィラリアが、吸虫には日本でも風土病的に流行していた日本住血吸虫が、条虫にはサナダムシなどが含まれる。原虫は４つ、根足虫類（アメーバ）、胞子虫類、鞭毛虫

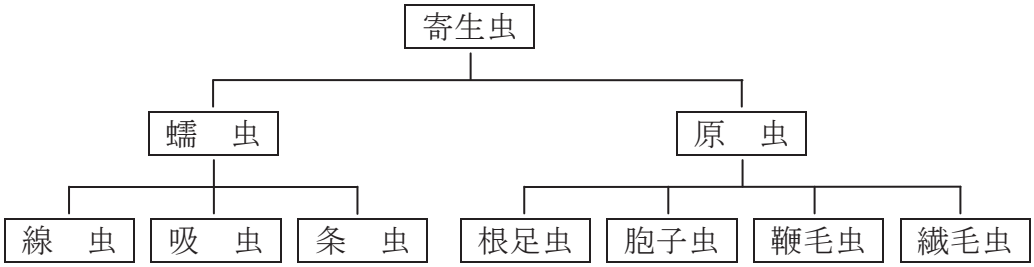


図１　寄生虫の分類

類、そして繊毛虫類に分類される。根足虫には赤痢アメーバ、胞子虫にはマラリアの原因となるマラリア原虫、鞭毛虫にはアフリカ睡眠病を起こすアフリカトリパノソーマなどが含まれる。我が国では衛生状態の改善により寄生虫感染症は激減したが、世界に目を向けると途上国を中心に全人口の40％以上が寄生虫感染流行域に住んでおり、今なお何億人もの人が寄生虫感染症に苦しめられている。多くの蠕虫は消化管に寄生し、病気を引き起こすことは少ないが、マラリア、フィラリア症、住血吸虫症の三大寄生虫症をはじめ、原虫感染症には罹患率・死亡率とも高く重篤な病態を呈するものも存在する。また、家畜やペットに感染して病気を起こす寄生虫も多数あり、畜産業界では寄生虫感染症は一大関心事である。

寄生虫疾患に対しては、薬剤による治療が施されるが、抗菌剤のように作用機序のはっきり分かっているものは少ない（表１）。個々の寄生虫感染症の概略と薬剤療法について述べる。

表１．蠕虫感染症に対する薬剤

蠕虫感染症	抗寄生虫薬	作用機序	耐性の報告
多くの線虫感染 回虫、蟯虫、鉤虫	ピランテルパモエイト	神経筋ブロック	無
フィラリア症	ジエチルカルバマジン	酸素消費抑制・アラキドン酸阻害？	無
オンコセルカ症	イベルメクチン	神経、筋細胞過分極	有
住血吸虫症 条虫感染	プラジカンテル	細胞内 Ca 濃度増加？	有
幼虫移行症	アルベンダゾール	微小管形成・フマル酸還元酵素阻害	有
	メベンダゾール	微小管形成・グルコース取込み阻害	無

蠕虫感染症

回虫 roundworm（*Ascaris lumbricoides*）、蟯虫 pinworm（*Enterobius vermicularis*、鉤虫 hookworm（*Necator amiricanus*、*Ancyclotoma deodunale*）は、いわゆる土壌媒介線虫とよばれる。環境中の虫卵、あるいは幼虫が感染源となる。いずれも、小腸に成虫が寄生し、ほとんどの場合無症状で経過する。回虫は多数感染による胆管や虫垂への迷入で急性胆嚢炎、虫垂炎として急性腹症を呈することが稀にある。蟯虫は肛門周囲の皮膚で産卵をするため、学童期では掻痒感で集中力を欠き学習能力の低下が懸念される。鉤虫は、腸管壁に咬着して吸血するので多数感染で失血による貧血に至る場合がある。これらの感染にはピランテルパモエイト（コンバントリン）が使用される。この薬剤は神経筋接合部に作用し、コリンエステラーゼ阻害活性を示し、虫体の痙性運動麻痺を起こす。

フィラリア filaria は糸状虫ともよばれ、バンクロフト糸状虫（*Wuchereria bancrofti*）とマレー糸状虫（*Brugia malayi*）がヒトに感染する主な種である。カによって媒介され、感染型幼虫が注入される。成虫はリンパ管に寄生し、そこでミクロフィラリアとよば

れる仔虫を産出する。ミクロフィラリアは通常、肺毛細血管にいるが、蚊の吸血行動に合わせ夜間に末梢血に現れるようになる。蚊に吸血されたミクロフィラリアは蚊の体内で感染型の幼虫に発育する。主な症状は、リンパ管閉塞、それによる度重なる炎症が原因の象皮症、陰嚢水腫である。ジエチルカルバマジン（スパトニン）が特効薬である。作用機序としては成虫の酸素消費を抑制する、ミクロフィラリアにおいてアラキドン酸の生合成を阻害する、などが想定されている。余談だが、イヌ糸状虫（*Dirofilaria immitis*）はイヌの肺動脈に感染し、嗄声、呼吸困難を伴い致死的になる。予防として、蚊に刺されないことに加え、ジエチルカルバマジンの予防投与も行われる。

オンコセルカ（*Onchocerca volvulus*）は回旋糸状虫ともよばれ、リンパ寄生性のフィラリアと似通った生活環を持つ。媒介者はブユである。成虫は皮下に腫瘤をつくって寄生し、周囲の皮下組織にミクロフィラリアを産出する。重篤な症状として、ミクロフィラリアが目を通じて視神経に至ることで生じる全盲である。オンコセルカ症が河川盲目症とも言われる由縁である。治療にはイベルメクチンが使用される。作用機序は、神経細胞や筋細胞にある膜貫通性のグルタミン酸作動性の塩素イオンチャネルに作用して塩素イオンの膜透過性を増加させ、膜の過分極を起こし、非痙攣性の麻痺を誘発する。

吸虫感染症で問題となるのは住血吸虫症である。住血吸虫は血管内に寄生することがその名前の由縁であるが、門脈系に寄生する日本住血吸虫（*Schistosoma japonicum*）とマンソン住血吸虫（*Schistosoma mansoni*）、膀胱静脈叢に寄生するビルハルツ住血吸虫（*Schistosoma haematobium*）の３種が重要である。日本にもかつては存在した日本住血吸虫は、成虫が腸管膜静脈に寄生し虫卵を産出する。門脈を介して虫卵は肝臓へと運ばれそこで沈着する。それに対する免疫応答により、肉芽腫が形成され、広く線維化が生じると末期には肝硬変へと進行する。こうなると薬剤は効果が期待できないが、急性期にはプラジカンテル（ビルトリシド）を投与することで駆虫効果が得られる。

条虫はいわゆる「サナダムシ」である。日本海列頭条虫（*Diphyllobothrium nihonkaiense*）、無鉤条虫（*Taeniarhynchus saginata*）、有鉤条虫（*Taenia solium*）が主なものである。いずれも小腸内で数メートルにも成長するが、ほとんどの場合大した症状を出すことなく経過する。肛門から虫体が出てくることで感染を知る場合が多い。条虫感染症にもプラジカンテルが有効である。この薬剤の作用も詳細は不明であるが、細胞膜のカルシウムチャネルに作用してイオンの透過性を亢進させ虫体の筋収縮をもたらす、とされている。

多くの蠕虫は幼虫が感染し、ヒトの体内で成虫になる。この場合、症状は軽い。一方でヒトの中で成虫になれない蠕虫もいて、それらは幼虫のままヒト体内に寄生する。成虫の寄生に比べて、一般的に症状は重い。このような成虫になれない蠕虫による感染を幼虫移行症という。頻度の高い起因蠕虫に、線虫ではアニサキス（*Anisakis spp.*）、顎口虫（*Gnathostoma spp*）、イヌ糸状虫が、吸虫では宮崎肺吸虫（*Paragonimus miyazakii*）が、条虫ではエキノコッカス（*Echinococcus spp.*）が挙げられる。幼虫移行症にはアルベンダゾール（エスカゾール）やメベンダゾールが使用される。共通の作用機序は、遊離

チューブリンに結合して微小管形成を阻害することが想定されている。アルベンダゾールはフマル酸還元酵素の阻害、メベンダゾールはグルコースの取り込みを抑制することも知られている。

抗蠕虫薬に対する薬剤耐性

蠕虫に対する薬剤の耐性も報告されているが、ヒトの蠕虫感染おいては問題にならないようである。例えば、プラジカンテル耐性の住血吸虫は報告されているが今後の治療には問題のないレベルだとされている（参考文献１、２）。イベルメクチンはヒトの蠕虫だけでなく牛やヒツジの蠕虫あるいは、ダニなど外寄生虫にも効果がある。家畜への大量投与の結果、腸内寄生性線虫やダニでの耐性が問題となっている（参考文献３、４）。アルベンダゾールはフィラリアの補助療法としても流行域で用いられるが、これに対しては耐性のフィラリア、また耐性のメカニズムも報告されている（文献５）。作用機序である、チューブリンの結合、を阻害すべく、フィラリアのベータチューブリンに変異が認められる。

以上のように、蠕虫感染症に対する薬剤とその耐性について概説した。次回は原虫感染について紹介する。

参考文献

1．Fenwick A, and Webster JP. Schistosomiasis: challenges for control, treatment and drug resistance. Curr. Opin. Infect Dis. 19: 577-582, 2006.
2．Seto EYW, Wong BK, Lu D, and Zhong B. Human Schistosomiasis resistance to praziquantel in China: Should we be worried? Am. J. Trop. Med. Hyg. 85: 74-82, 2011.
3．Currie BJ, Harumal P, McKinnon M, and Walton SF. First documentation of in vivo and in vitro ivermectin resistance in *Sarcoptes scabiei.* Clin. Infect. Dis. 39: 8-12, 2004.
4．Coles GC, Jackson F, Pomroy WE, Prichard RK, von Samson-Himmelstjerna G, et al. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Vet. Parasitol. 136: 167-185, 2006.
5．Schwab AE, Boakye DA, Kyelem D, and Prichard RK. Detection of benzimidazole resistance-associated mutations in the filarial nematode *Wuchereria bancrofti* and evidence for selection by albendazole and ivermectin combination treatment. Am. J. Trop. Med. Hyg. 73: 234-238, 2005.

特別寄稿１-２

寄生虫感染症と薬剤耐性２

―ミトコンドリアをもたない原虫に対する薬剤療法と耐性―

群馬大学大学院医学系研究科
国際寄生虫病学
教授　久　枝　　一

はじめに

寄生虫 parasite は動物性真核細胞からなる。原核細胞である細菌の生物学的特徴を標的とするペニシリン、テトラサイクリン等おもだった抗生物質は、寄生虫にはまったく効果を発揮しない。原虫 protozoan は単細胞の寄生虫であり、根足虫類、胞子虫類、鞭毛虫類、そして繊毛虫類に分類される。根足虫とはアメーバを意味し、赤痢アメーバや、角膜炎を起こすアカントアメーバが含まれる。鞭毛虫にはランブル鞭毛虫や膣トリコモナスが、胞子虫にはマラリアの原因となるマラリア原虫やトキソプラズマが含まれる。繊毛虫類は家畜の病原体として重要な大腸バランチジウムが存在するが、ヒトにはほとんど感染することはない。本稿では、根足虫類全般および鞭毛虫類の一部、低酸素に適応してきた原虫に対する薬物療法と薬剤耐性について概説する。

１．赤痢アメーバ

赤痢アメーバ（*Entamoeba histolytica*）は熱帯や亜熱帯の衛生状態の悪いところに蔓延しており、流行域への渡航により感染する。飲水、食物中のシストとよばれる形態の原虫を経口摂取すると、小腸内で脱嚢し栄養型となり大腸に寄生して二分裂で増殖する。栄養型は大腸組織に浸潤、破壊し（histolytica の語源は、histo ＝組織、lytic ＝破壊、である）、腸粘膜は脱落、粘血便を主徴とするアメーバ性赤痢を発症する。栄養型が血行性に転移すると、アメーバ性肝膿瘍等の腸外アメーバ症を生じる。脳、肺などでも膿瘍を形成する。腸管内の栄養型は、免疫による排除が進むとシストに変換する。治療の有無によらずシストを排出し続ける無症候性キャリアになることもある。一般的に、赤痢菌による赤痢と異なり全身状態は良好であることが多い。

２．ランブル鞭毛虫

ジアルジア下痢症はランブル鞭毛虫（*Giardia lamblia*）の感染による。熱帯・亜熱帯域に分布する。コレラとともに旅行者下痢症の主な起因病原体である。赤痢アメーバと同

様、飲水中や食物中のシストを経口摂取することで感染する。主たる症状は、小腸上部に寄生する栄養型による胃腸炎で、腹痛や下痢がみられる。赤痢アメーバと異なり組織侵入性はなく血便はみられない。易感染宿主では、多数の栄養型が小腸粘膜を覆い尽くし、吸収不全症候群を呈し、重篤となることもあり、日和見感染症としての一面もみられる。

3．膣トリコモナス

膣トリコモナス（*Trichomonas vaginalis*）による膣炎は全世界中で見られる、重要な性行為感染症である。他の原虫と異なり、栄養型しか存在しない。したがって、感染は性行為による接触で栄養型が伝播することによってのみ起こる。主症状は膣炎であるが、妊婦では早産、低体重出生児、胎児死亡率の増加が認められる。トリコモナスによる膣炎自体は軽症であるが、それに細菌感染が二次的に加わると重症化する。膣内は、常在のデーデルライン桿菌叢が嫌気的にグリコーゲンを分解し乳酸を作ることによって酸性化に傾き、抗菌性が保たれている。トリコモナスは栄養源としてグリコーゲンを消費するので、デーデルライン桿菌叢の乳酸産生ができず抗菌性が保てず、細菌が繁殖を許し二次感染が起こる。

4．メトロニダゾールの作用機序

上記三種の原虫に対しては、ニトロイミダゾール薬であるメトロニダゾール（フラジール®）、チニダゾール（ハイシジン®）が第一選択となる（図1）。これらの薬剤は抗菌薬として*Clostridium difficile*による偽膜性腸炎の治療やピロリ菌駆除も使用される。細菌に対する作用機序としては、メトロニダゾールの持つニトロ基が関与するとされる。細菌の持つニトロ還元酵素系によりニトロ基がニトロソ基となり、高反応性のラジカルを生じる。これにより、細菌のDNA二本鎖を切断し細胞死を誘導する（文献1）。細菌と異なり核膜を有する原虫のDNAにアクセスできるかは不明であるが、原虫における作用機序も明らかとなっている。

これら三種の原虫の特徴は、腸管や膣粘膜といった低酸素環境下に寄生していることであり、進化の過程で好気的エネルギー産生を行うミトコンドリアを破棄して、独特の細胞内小器官を獲得してきた。赤痢アメーバやランブル鞭毛虫ではミトコンドリアの痕跡とされるマイトソームと呼ばれる細胞小器官を、膣トリコモナスはヒドロゲノソームを持つ（文献2―4）。いずれも、低酸素下でのエネルギー産生を司る小器官である。これらの器官ではエネルギー産生に伴い、電子の受け渡しも行われていて、酸化還元のシステムが豊富に存在することも知られている。これらの酸化還元システムによってメトロニダゾールが活性化される。とくに、膣トリコモナスのヒドロゲノソームでは、ヒドロゲナーゼに電子を受け渡すことで水素を産生できる、還元型のフェレドキシンの酸化に共役して、メトロニダゾールのニトロ基がニトロソ基に変換される。これらの小器官にはDNAは存在せ

ず、小器官内の標的蛋白質を不活性化する。高反応性のニトロソ基は細胞質にも移動し、細胞質内の分子にも影響する（図２）。マイトソーム、ヒドロゲノソームにはエネルギー産生だけでなく、生存に関わる酵素反応も司っており、これらが障害されることで抗原虫作用が発揮される。

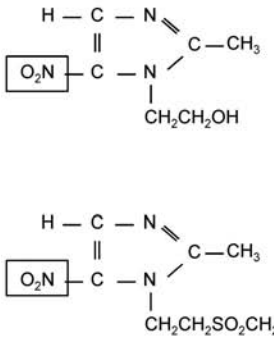


図1　メトロニダゾール（上）とチニダゾール（下）の構造式
抗原虫活性をもたらすニトロ基を枠線で囲む

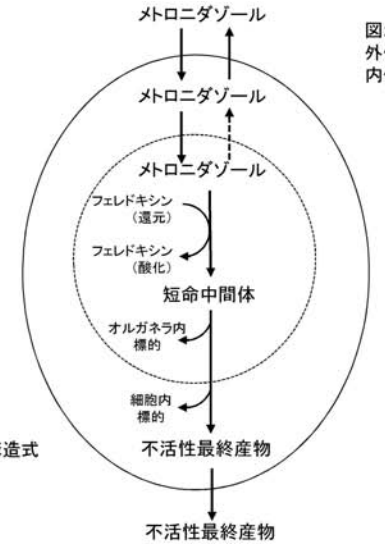


図2　膣トリコモナスのメトロニダゾールの活性化・作用機序
外側実線：トリコモナス細胞膜
内側点線：ヒドロゲノソーム膜

具体的な活性化ステップ
1) R-NO2 → $R\text{–}NO^{\cdot}_{2}{}^{-}$
2) $R\text{–}NO^{\cdot}_{2}{}^{-}$ → $R\text{-}NO_2 + R\text{-}NO$
3) R-NO → $R\text{-}NO^{\cdot-}$
4) $R\text{-}NO^{\cdot-}$ → R-NHOH
最終産物はアセトアミドと2-ヒドロキシエチルオキサメート
（M. Muller, 1986より引用、文献17）

５．メトロニダゾール耐性

赤痢アメーバに関しては、臨床上問題となるメトロニダゾール耐性は認めない。しかしながら、試験管内でメトロニダゾール濃度を徐々に上げて赤痢アメーバを培養すると実験的な薬剤耐性赤痢アメーバが得られる。耐性アメーバでは、活性酸素やラジカルを消去する分子群、スーパーオキサイドディスムターゼやペルオキシレドキシンの発現の著しい増加と、フラビン還元酵素とフェレドキシン１の発現の低下が認められた（文献５）。これらの事実からも、メトロニダゾールの活性化には酸化還元システムが、作用機序には高反応性の活性酸素が必要であることが示唆される。

ランブル鞭毛虫に関しては臨床的に、メトロニダゾール不応答性の患者がいることが報告されている。患者からの分離株を用いた研究では、メトロニダゾールの取り込みの低さと耐性に相関が認められた（文献６）。ランブル鞭毛虫におけるメトロニダゾールの活性化にはピルビン酸フェレドキシン酸化還元酵素の関与が知られているが、この活性が低い原虫では耐性となっていた。この酵素と耐性の相関性は、試験管内で誘導したメトロニダゾール耐性株でも確認された（文献７、８）。臨床的には、耐性原虫に対して作用機序の異なるキナクリン、アルベンダゾールが投与される。

膣トリコモナスのメトロニダゾール耐性も報告されており、他のニトロイミダゾール薬に対する交差耐性も頻繁に見られる（文献９）。臨床分離株の耐性メカニズムはよく分かっていないが、試験管内で誘導した耐性トリコモナスではヒドロゲノソームの機能不全

が認められる（文献10）。現行ではニトロイミダゾール薬しか効果が見られないので、薬剤耐性は重要な問題となりうる。

６．多剤耐性赤痢アメーバ

赤痢アメーバに対して、メトロニダゾール以外にも使用される薬剤がある。エメチンは催吐剤としてトコンという植物から得られるアルカロイドで強力な殺アメーバ効果を持つ。作用機序は、mRNA にそったリボゾームの移動を阻害することで蛋白質の合成を抑制する。コルヒチンも植物由来のアルカロイドで、微小管の再構築を阻害することでアメーバ運動を抑制し、抗アメーバ作用を示す。フロ酸ジロキサニドは消化管から吸収されることなく、経口投与することで腸内に高濃度で存在する。組織に侵入したアメーバはメトロニダゾールが効果を示すが、腸管に存在するアメーバに対してはこの薬剤が有効である。とくにシストに対する毒性は高く、シストを排出する無症候性キャリアに投与される。パロモマイシン、ヨードキノールもシスト排出を抑制するために使用される。これら複数の薬剤に対して耐性を持つ多剤耐性（MDR：Multi Drug Resistance）赤痢アメーバが実験的に作成され、その詳細なメカニズムが明らかにされてきた。

この MDR アメーバはエメチン、コルヒチン、ジロキサニド、ヨードキノールに対して耐性であり、これら薬剤の取り込み実験で、細胞内濃度が感受性アメーバに比べ低かった。この耐性は、カルシウム拮抗剤のベラパミルによってキャンセルされ、腫瘍細胞（文献11）や他の原虫（文献12）で見られる多剤耐性と類似した性質を持つことも明らかになった。これらの MDR はＰ -glycoprotein（Pgp）の高発現と相関していた。Pgp は細胞膜に存在する ATP 依存性の排出ポンプで、薬剤を排出することで薬剤の細胞内濃度を低くすることで耐性を賦与していた（文献11）。構造的には、６回膜貫通型のαヘリックスと ATP 結合カセットを持つサブユニット２つからなるホモ２量体で存在する（文献13）。

Pgp 発現による典型的な MDR の特性を備えていたことから、赤痢アメーバにおける MDR も Pgp の発現によることが想定された。これは、赤痢アメーバで複数の Pgp 遺伝子（*EhPgp1, EhPgp2, EhPgp5, EhPgp6*）がクローニングされたことで証明された。EhPgP 蛋白は哺乳類の Pgp とは約40％、リーシュマニア Pgp とは15％程度の相同性しかなかった（文献14）。しかしながら、コンピュータ上での立体構造解析では６回膜貫通ドメインと ATP 結合ドメインからなる特徴的な構造を取り、ヒト Pgp との構造的相同性が示された（文献15）。実際に MDR アメーバでは EhPgp１、EhPgp５が過剰発現しており、MDR に重要な役割を果たしていることが示された（文献16）。したがって、赤痢アメーバにおいても細胞内に取り込まれた多種の薬剤を排出することで薬剤耐性を示す。しかしながら、臨床的に問題となるメトロニダゾール耐性への Pgp による MDR の関与は少ないとされている。

7．角膜炎起因アメーバ

アカントアメーバ属（*Acanthamoeba* spp）は通常、自由生活を営んでおり自然界に存在するがヒトには寄生することはない。角膜の微小な傷口から*A. castellanii* や、*A. polyphaga* が感染することで角膜炎を生じる。角膜は移植が容易に出来ることからも分かるように、免疫応答がほとんど起こらない場所である。そこでは、本来は自由生活性のアメーバも増殖することが出来、病原性を発揮する。毛様充血や眼痛を生じ、放置すると角膜潰瘍や穿孔に至る。世界中で発生がみられ、日本でも増加傾向である。とくに、コンタクトレンズ装用者で発生率が高い。コンタクトレンズ保存液に環境中のアメーバのシストが混入し、汚染されたレンズ装用により感染が成立する。

薬物治療にはフルコナゾールの外用やミコナゾールの内服等、抗真菌薬が用いられる。真菌に対しては、細胞膜成分であるエルゴステロールの生合成を阻害することで効果を発揮するが、アメーバに対する薬効はよく分かっていない。これらには殺アメーバ効果は少なく、静アメーバ効果を持つのみである。重症例には界面活性剤であるpolyhexamethylene biguanide（PHMB）や消毒薬の chlorhexidine digluconate（CHX）の点眼がなされる。

おわりに

以上のように、アメーバならびにランブル鞭毛虫、膣トリコモナスに対する薬剤療法と薬剤耐性に関して概説した。メトロニダゾールはミトコンドリアを持たない原虫の進化した部分を標的としているため、耐性は出にくく臨床的にはさほど問題にはなっていない。しかし、今後、問題となる可能性もあり、新たな薬剤の開発も望まれている。

参考文献

1．Diniz CG, Santo SG, Pestana A, Farias LM, and Carvalho MRA. Chromosomal breakage in the B. fragilis group induced by metronidazole treatment. Anaerobe 6: 149-153, 2000.
2．Tovar J, Fischer A, and Clark CG. The mitosome, a novel organelle related to mitochondria in the amitochondrial parasite *Entamoeba histolytica*. Mol. Microbiol. 32: 1013-1021, 1999.
3．Tovar J, et al. Mitochodrial remnant organelles of *Giardia* function in iron-sulphur cluster assembly proteins. Nature 426: 172, 2003.
4．Lindmark DG, and Muller M. Hydrogensome, a cytoplasmic organelle of the anaerobic flagellate *Trichomonas foetus*, and its role in pyruvate metabolism. J. Biol. Chem. 248: 7724-7728, 1973.
5．Wassmann C, Hellberg A, Tannich E, and Bruchhaus I. Metronidazole resistance in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica* is associated with increased expression of iron-containing superoxide dismutase and peroxiredoxin and decreased expression of

ferredoxin 1 and flavin reductase. J. Bio. Chem. 274: 26051-26056, 1999.
6. Boreham PF, Phillips RE, and Shepherd RW. Altered uptake of metronidazole in vitro by stocks of *Giardia intestinalis* with different drug sensitivities. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 82: 104-106, 1988.
7. Upcroft P, and Upcroft JA. Drug resistance and Giardia. Parasitol. Today 9: 187-190, 1993.
8. Upcroft P, and Upcroft JA. Drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. Clin. Microbiol. Rev. 14: 150-164, 2001.
9. Dunne RL, Aunn LA, Upcroft P, O'Donoghue PJ, and Upcroft JA. Drug resistance in the sexually transmitted protozoan Trichomonas vaginalis. Cell Res. 13: 239-249, 2003.
10. Land KM, Clemens DL, and Johnson PJ. Loss of multiple hydrogenosomal proteins associated with organelle metabolism and high-level drug resistance in trichomonads. Exp. Parasitol. 97: 102-110, 2001.
11. Loo TW, and Clarke DM. Molecular dissection of the human multidrug resistance P-glycoprotein. Bioehem. Cell Biol. 77: 11-23, 1999.
12. Ouellette M, Fase-Fowler R, and Borst P. The amplified H circle of methotrexate-resistant *Leishmania tarentolae* contains a novel P-glycoprotein gene. EMBO J. 9: 1027-1033, 1990.
13. Endicott JA, and Ling V. The biochemistry of P-glycoprotein-mediated drug resistance. Ann. Rev. Biochem. 66: 12-137, 1989.
14. Descoteaux S, Ayala P, Orozco E, and Samuelson J. Increase in mRNA of multiple EhPgp genes encoding P-glycoprotein homologues in emetine-resistant *Entamoeba histolytica* parasites. Gene 164: 179-184, 1995.
15. Descoteaux S, Ayala P, Orozco E, and Samuelson J. Primary sequences of two P-glycoprotein genes of Entamoeba histolytica. Mol. Biocem. Parasitol. 54; 201-212, 1992.
16. Orozco E, et al. Multidrug resistance in the protozoan parasite Entamoeba histolytica. Parasitol. Int. 51: 353-359, 2002.
17. Muller M. Reductive activation of nitroimidazoles in anaerobic microorganisms. Biochem. Pharmacol. 35: 37-41, 1986.

特別寄稿１-３

寄生虫感染症と薬剤耐性３

―キネトプラストを持つ鞭毛虫に対する薬剤療法と耐性―

群馬大学大学院医学系研究科
国際寄生虫病学

教授　久　枝　　一

はじめに

寄生虫 parasite は動物性真核細胞からなる。植物性原核細胞である細菌の生物学的特徴を標的とするペニシリン、テトラサイクリン等おもだった抗生物質は、寄生虫にはまったく効果を発揮しない。原虫 protozoan は単細胞の寄生虫であり、根足虫類、胞子虫類、鞭毛虫類、そして繊毛虫類に分類される。鞭毛虫類の中には、鞭毛の起始部にキネトプラストという核酸を含む小器官を持つものがいる。トリパノソーマ、リーシュマニアと呼ばれる原虫である（図１）。本稿ではこれらの原虫に対する薬剤療法と耐性について概説する。

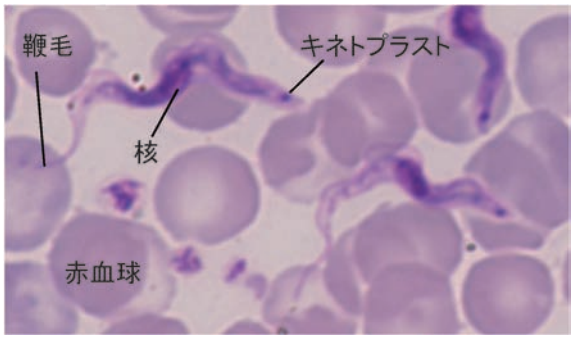


図１　アフリカトリパノソーマ　*T. brucei gambiense*
末梢血薄層塗抹標本ギムザ染色像
核の他に鞭毛の起始部にキネトプラストを持つ

１．アフリカトリパノソーマ

１）病原体と疾患

ヒトに感染するアフリカトリパノソーマには２種あり、ガンビアトリパノソーマ、ローデシアトリパノソーマ（*Trypanosoma brucei gambiense, T. brucei rhodesiense*）はアフリカ睡眠病の原因となる。ツェツェバエという吸血性のハエによって媒介され、ツェツェバエが生息するサハラ砂漠以南のアフリカでのみ認められる。90％以上の睡眠病はガンビアトリパノソーマによって引き起こされる。頻度は少ないがローデシアトリパノソーマの感染は急速に進行し重症度が高い。いずれも、適切な薬物療法を行わないと致死性となる。ツェツェバエの刺咬によって注入されたトリパノソーマは血液中において二分裂で増殖する。ある時期を過ぎると、頸部リンパ節に集合した後、脳血液関門を突破し中枢神経系に侵入する。これ以前を第一期、以降を第二期という。第二期に入ると傾眠、意識障害から昏睡など中枢神経症状を呈し、最終的には衰弱、貧血も伴い致死的となる。

２）薬物療法とその作用機序

病期に応じて種々の薬剤が使用されるが（図２）、重篤な副作用などもあり最適の治療は難しい。

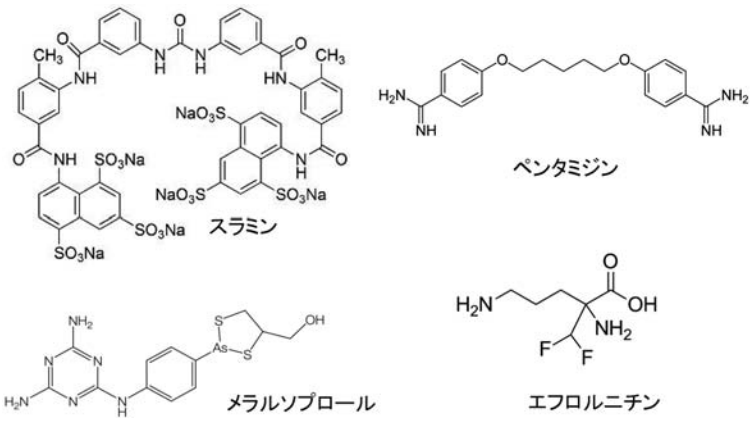


図２　抗アフリカトリパノソーマ薬

①スラミン　第一期のローデシアトリパノソーマによるアフリカ睡眠病に使用される。静脈内に投与され血中濃度は高く保たれるが、脳脊髄液への移行が良くないので、第二期には使えない（文献１）。殺トリパノソーマ活性は高く一般的に治療効果は高いが、高率で再発を認める（文献２）。また、発熱や嘔吐、致死性となりうる腎不全などの副作用がみられることもある。

他の薬剤にもあてはまるが、スラミンの抗トリパノソーマ活性は確定されていない。一因として、スラミンが多彩な生理活性を持つことが挙げられる。最も有名なものは、Ｐ２アデノシンレセプターの阻害活性である。他にも、骨格筋のリアノジンレセプターのカルモジュリン結合部位に結合しカルシウムの放出を促すことも知られており、いくつもの因子が折り重なって効果を発揮しているとされている。

②ペンタミジン　第一期のガンビアトリパノソーマ睡眠病に効果がある。脳脊髄液の移行は１％未満で第二期には使用できない。ローデシアトリパノソーマにも効果はあるが、より早期に中枢神経に侵入するこの原虫への効果は安定していない。

作用機序は、スラミン同様分かっておらず単一メカニズム、例えば一つの酵素の特異的阻害、ではなく複数の非特異的な応答の総和として、殺トリパノソーマ活性がもたらされるようである。薬物学的には、DNA 結合能や神経伝達系の NMDA レセプター阻害が知られている。

③メラルソプロール　ヒ素剤。12000ものヒ素を含む化合物からスクリーニングされ、1947年から使用されている。それ以来、ガンビア・ローデシアトリパノソーマ両者の第二期の睡眠病に使用される唯一の薬剤である。有効性は高いが、ヒ素は人体にとっても毒性があり、重篤な副作用がみられる。５～10％で脳炎など中枢神経症状を呈する。しかしながら、第二期睡眠病に有効な薬剤が他にないこともあり依然として使われている。

作用機序はよく分かっていない。三価のヒ素は多くの酵素に存在するスルフヒドリル基に結合することが知られ、いくつかの酵素に影響を与えているとされている。

④エフロルニチン　メラルソプロール以降に使用されるようになった唯一の第二期睡眠病に対する薬剤。ガンビアトリパノソーマには有効であるがローデシアトリパノソーマには無効である。大量に長期間使用する必要もあり、非常に高価であることに加え、適応が難しく必ずしも良い薬剤とは言えない。しかし、メラルソプロール治療後に再発したガンビアトリパノソーマによる第二期睡眠病に使える唯一の薬剤である。

この薬剤はオルニチン脱炭酸酵素の特異的阻害剤である。この酵素の阻害はポリアミンの代謝に変調を来たし、その結果として殺トリパノソーマ効果を発揮する。ローデシアトリパノソーマではこの酵素活性が高いことが、この薬剤が奏効しない理由である。

3）薬剤耐性

スラミン、ペンタミジン、エフロルニチンには臨床的に薬剤耐性は認められていない。メラルソプロールは20～30％と高率に治療ができない症例が存在する。メラルソプロールの作用機序が分かっておらず標的分子も複数あることが想定されており、薬剤耐性の分子機構としては薬効そのものに関するものではなく、薬剤の取り込み／排出に関しての知見が積み重なってきた。

①メラルソプロールトランスポーター　メラルソプロールはトリパノソーマの細胞膜上に存在するアデニン、アデノシンと結合するプリンレセプターＰ２によって取り込まれる（文献３）。このレセプターは TbAT1遺伝子にコードされ、原虫が栄養素を取り込むためのものである。実験室レベルでは TbAT1遺伝子を破壊したトリパノソーマがメラルソプロールに対して高度に耐性になることが示された（文献４）。また、本来のリガンドであるアデニンやアデノシンがメラルソプロールの取り込みと競合し、この薬剤の毒性を弱めることも報告された（文献３）。さらに、メラルソプロール投与後に再発した患者から分離したトリパノソーマでは初感染の患者から分離したトリパノソーマと比較して、抵抗型の TbAT1遺伝子を、有意に高頻度に持っていることも明らかになった（文献５）。このように、TbAT1トランスポーターの変異が薬剤耐性と密接に関わる。

また、前稿で紹介した赤痢アメーバの多剤耐性に関わる、薬剤を排出する ABC トランスポーターの関与も想定されている。実験室レベルではあるが、トリパノソーマの ABC トランスポーターである TbMRPA を過剰発現したトリパノソーマではメラルソプロールに抵抗性となった（文献６）。

②ペンタミジントランスポーター　臨床的には耐性を認めないペンタミジンであるが、実験室的には容易に抵抗性を賦与できる。TbAT1欠損トリパノソーマはメラルソプロールだけでなく、ペンタミジンにも交叉抵抗性を獲得する（文献７）。このことは TbAT1がペンタミジンの取り込みにも働いていることを示すものであるが、耐性の程度がメラルソプロールに比較して軽度であることから、別な取り込み経路が存在すると想定された。HAPT1（high-affinity pentamidine transporter 1）という、ペンタミジンへの結合定数が nM 単位と高い親和性をもつトランスポーターが発見され、有力視されている（文献８）。このトランスポーターの本態は水の輸送に関連するアクアポリン２であることが示唆されている（文献９）。

２．クルーズトリパノソーマ

1）疾患

クルーズトリパノソーマ（*T. cruzi*）はシャーガス病の原因病原体である。サシガメという吸血性の甲虫によって媒介され、南北アメリカ大陸、主にメキシコ以南に分布する。通常の感染は、サシガメが吸血の際に排泄する糞に含まれるトリパノソーマが、刺し口の掻痒感のため掻くことで傷口に擦り込まれることによる。しかし、昨年我が国でも話題になったように、輸血血液

から感染することもある。感染したトリパノソーマは心筋や神経の細胞に侵入し、細胞内で増殖し細胞を破壊し再び血中に出てくる。急性期には高熱、肝種大など炎症所見が強く、心筋炎や髄膜脳炎で致死性となる場合もある。慢性期では、心筋炎や心肥大、伝導障害といった循環器症状と、特徴的な巨大結腸や巨大食道が認められる。

2）薬物療法とその作用機序

ニフルティモックスとベンズニダゾールが使用される（図3）。急性期には効果的であるが、慢性期に対する効果はあまりないとされる。いずれもニトロ複素環化合物でそれ自体はプロドラッグであり、毒性を持つためにはニトロ基還元酵素（NTR. nitro-reductase）による活性化が必要である。細菌のニトロフルラン系抗生剤に対する耐性は、ニトロ基還元酵素ファミリーの一つでNADPH依存的にニトロ基を還元する酵素の遺伝子変異で生じる（文献10）。近年、クルーズトリパノソーマで同様の酵素、TcNTR、が同定され、これらの薬剤をNADPH依存的に還元することが証明された。それにより生じた還元代謝産物が抗トリパノソーマ活性を持つことも示された（文献11）。そのメカニズムは、還元代謝産物が染色体DNAに結合すること、酸素ラジカルを発生し他の分子にダメージを与える、などが想定されるが詳細は分かっていない。

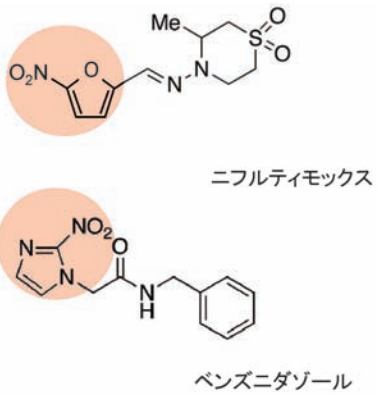


図3　抗クルーズトリパノソーマ薬
ハイライト部分は活性部位であるニトロ基を含む環状構造

3）薬剤耐性

南米では治療抵抗性のクルーズトリパノソーマが広く分離されており、薬剤耐性原虫の出現が示唆される。臨床分離株での検討は今後必要であるが、実験室レベルでの耐性のメカニズムが明らかになってきた。

ニフルティモックスとベンズニダゾールの薬効には原虫のNTR活性が必要であるのは前述の通りである。TcNTRを欠損させたクルーズトリパノソーマは、宿主細胞に感染する能力が減じていること、細胞内での増殖スピードも遅いことが示された（文献11）。一方、これらの薬剤の殺トリパノソーマ活性の一部とされている活性酸素種の関与については、抗酸化応答を強くしたトリパノソーマでも親株と同等の感受性だったことから、少なくとも実験室レベルでは否定的であった（文献12）。以上のように、現在知られている耐性獲得のメカニズムはプロドラッグを活性化するためのTcNTRを介するものである。

3．リーシュマニア

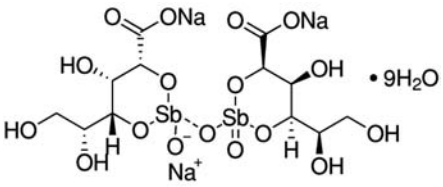
1）病原体と疾患

リーシュマニア属原虫のうち少なくとも17種がヒトに感染性をもち、リーシュマニア症の原因となる。リーシュマニアは主に中南米、東部・北部アフリカ、中東、インドに分布する。サシチョウバエによって媒介され、体内に接種されたリーシュマニアはマクロファージなどの貪食細胞に取り込まれ、細胞内で分裂・増殖する。リーシュマニア症は全身に広がる内蔵型リーシュマ

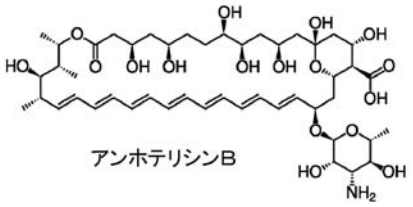
ニア症、皮膚に限局する皮膚型リーシュマニア症を主病態とするが、他にも粘膜皮膚型などがあり多彩な病態を示す。内蔵型リーシュマニア症は、カラ・アザールともよばれ、ドノバンリーシュマニア（*Leishmania donovani*）が原因となる。肝臓、脾臓の腫大を特徴とし、発熱、貧血、全身衰弱に至り死の転帰を取る場合もある。皮膚型は熱帯リーシュマニア（*L. tropica*）、ブラジルリーシュマニア（*L. braziliensis*）など多くの種の感染で生じる。皮膚、あるいは粘膜に限局した病巣を示し、比較的軽症で経過し自然治癒する場合もある。

2）薬物療法とその作用機序

5価アンチモン（SbV）を含む薬剤であるグルコン酸アンチモンナトリウムが第一選択薬として使用される（図4）。抗リーシュマニア活性を担う分子は3価アンチモン（SbIII）であり、プロドラッグであるSbVが還元されてSbIIIに転換された後に作用する。詳細な作用機序は不明であるが、複数の要素が関連している。例えば、グルコース代謝、脂肪酸のベータ酸化あるいはATP合成を抑制すること（文献13)、トポイソメラーゼに結合することが報告されている（文献14)。また、SbIIIは2価亜鉛と競合しジンクフィンガー蛋白の亜鉛結合部位に入り機能不全をもたらすので、一連のジンクフィンガー蛋白も薬剤標的と想定されている（文献15)。中でも、これらの薬剤が活性酸素種を増加させることに加え、グルタチオンなど抗酸化機能を抑えることで、高度の酸化ストレスを誘導することが主たる抗リーシュマニア活性とされている（文献16、17)。



グルコン酸アンチモンナトリウム



アンホテリシンB

図4　抗リーシュマニア薬

ポリエン系の抗生物質であるアンホテリシンBも補助的に使用される（図4）。この薬剤は、真菌だけでなくリーシュマニアやトリパノソーマにも有効である。これらの病原体では細胞膜を形成するステロールはエルゴステロール主体であり（ヒトではコレステロール)、アンホテリシンBはエルゴステロールに高い親和性で結合し細胞膜の透過性を上げる。

3）薬剤耐性

5価アンチモン剤は70年近く使われているが、ほとんど耐性の報告はなかった。しかし、20年程前から内蔵型リーシュマニア症が蔓延するインド北部で治療抵抗性のドノバンリーシュマニアが分離されるようになった。臨床分離株での原因遺伝子の変異に関しては不明なところが多いが、実験室レベルでは薬効発揮のための各ステップでの原因分子が明らかにされてきた。

①プロドラッグSbVから活性型SbIIIへの還元の低下　SbVからSbIIIの還元を担う酵素は2種類あると推定されており、チオール依存性還元酵素とLmACR2というヒ素酸還元酵素である（文献18、19)。実験室レベルではアンチモン剤への感受性に関わっていることが示されているものの、臨床分離耐性株でこれらの遺伝子の変異は見つかっていない。

②抗酸化物質の減少　リーシュマニアの抗酸化物質としてグルタチオン同様のチオール基をベースとするトリパノチオンが存在する。トリパノチオンはトリパノチオン還元酵素によって還元型となり抗酸化機構を発揮する。SbIIIはこの還元酵素の阻害によりトリパノチオンを還元型にさせないことで抗酸化機能を抑制する。これも実験室レベルでの解析にとどまっている（文献

20)。

③ SbIII 取り込みの低下　活性型の SbIII はアクアポリン１によって取り込まれる。この分子の変異による取り込み低下も耐性獲得メカニズムとなる（文献21)。アクアポリン１はプロドラッグの SbV の取り込みには関わっていないようで、原虫の体外でも活性型への変換が行われていることが示唆される。

アンホテリシンＢに対する耐性も実験室レベルで知られるのみである。段階的にアンホテリシンＢを増加させることによって得られた耐性原虫では、細胞膜のステロール構成に変化があり、エルゴステロールはその前駆体に置き換えられていた。これは、エルゴステロール合成酵素の機能不全によりエルゴステロール合成の最終段階が阻害されたことが原因である（文献22)。

おわりに

以上、キネトプラストを持つ鞭毛虫に対する薬物療法と薬剤耐性について概説した。途上国を中心に流行する、これら“顧みられない感染症”は新薬の開発も進んでおらず昔からの薬が長く使われている。問題にはなってなかった薬剤耐性原虫も出現してきたこともあり、薬剤耐性の研究のみならず、新たな治療法の開発が社会的にも経済的にも求められている。

参考文献

1. Collins JM, Klecker RW, Yarchoan R, Lane HC, Fauci AS, Redfield RR, Broder S, Myers CE. Clinical pharmacokinetics of suramin in patients with HTLV-III/LAV infection. J Clin CPharmacol. 26: 22-26, 1986.
2. Welde BT, Chumo DA, Reardon MJ. Treatment of Rhodesian sleeping sickness in Kenya. Ann Trop Med Parasitol. 66: 7-14, 1989.
3. Carter NS, Fairlamb AH. Arsenical-resistant trypanosomes lack an unusual adenosine transporter. Nature 361: 173-175, 1993.
4. Maeser P. Suetterlin C, Kralli A, Kaminsky R. A nucleoside transporter from *Trypanosoma brucei* involved in drug resistance. Science 285: 242-244, 1999.
5. Matovu E, Geiser F, Schneider V, Maeser P. Enyaru JC, Kaminsky R, Gallati S, Seebeck T. Genetic variants of the TbTA1 adenosine transporter from African trypanosomes in relapse infections following melarsoprol therapy. Mol Biochem Parsitol. 117: 73-81, 2001.
6. Shahi, SK, Kraugh-Siegel RL Clayton CE. Overexpression of the putative thiol conjugate transporter TbMPRA causes melarsoprol resistance in *Trypanosoma brucei*. Mol Microbiol. 43: 1129-1138, 2002.
7. Carter NS, Berger GJ, Fairlamb AH. Uptake of diamidin drugs by the P2 nucleoside transporter in malarsen-sensitive and -resisatant *Trypanosoma brucei brucei*. J Biol Chem. 270: 28153-28157, 1995.
8. Bridges DJ, Gould, MK, Nerima B, Saser, P Burchmore RJ, De Koning HP. Loss of the high-affinity pentamidine transpoter is responsible for high levels of cross-resistance between arsenical and diamidine drugs in African trypanosomes. Mol Pharmacol. 71: 1098-1108. 2007.
9. Baker N, Glover L, Munday JC, Aguinaga andres D, Barrett MP De Koning HP, Horn D, Aquaglyceroposin 2 controls susceptibility to malarsoprol and pentamidine in African trypanosomes. Proc Natl Acad Sci USA. 109: 10996-11001, 2012.
10. Whiteway J, Koziarz P, Veall J, Sandhu N, Kumar P, Hoecher B, Lambert IB. Oxygen-insensitive nitroreductases: analysis of the roles of nfsA and nfsB in development of resistance to 5-nitrofuran derivatives in *Escherichia coli*. J Bacteriol. 180: 5529-5539, 1998.

11. Wilkinson SR, Taylor MC, Horn D, Kelly JM, Cheesman I. A mechanism for cross-resistance to nifutimox and benznidazole in trypanosomes. Proc Natl Acad Sci USA. 105: 5022-5027, 2008.
12. Taylor MC, Huan H, Kelly JM. Genetic techniques in *Trypanosoma cruzi*. Adv Parasitol. 75: 231-250. 2011.
13. Berman JD, Gallalee JV, Best JM. Sodium stibogluconate (Pentostam) inhibition of glucose catabolism via the glycolytic pathway, and fatty acid beta-oxidation in *Leishmania mexicana* amastigotes. Biochem Pharmacol. 3: 197-201, 1987.
14. Walker J, Saravia NG. Inhibition of *Leishmania donovani* promastigote DNA topoisomerase I and human monocyte DNA topoisomerases I and II by antimonial drugs and classical antitopoisomerase agents. J Parasitol. 90: 1155-1162, 2004.
15. Frézard F, Silva H, Pimenta AM, Farrell N, Demicheli C. Greater binding affinity of trivalent antimony to a CCCH zinc finger domain compared to a CCHC domain of kinetoplastid proteins. Metallomics. 4: 433-440, 2012.
16. Mandal G, Wyllie S, Singh N, Sundar S, Fairlamb AH, Chatterjee M. Increased levels of thiols protect antimony unresponsive *Leishmania donovani* field isolates against reactive oxygen species generated by trivalent antimony. Parasitology 134: 1679-1687, 2007.
17. Wyllie S, Cunningham ML, Fairlamb AH. Dual action of antimonial drugs on thiol redox metabolism in the human pathogen *Leishmania donovani*. J Biol Chem. 279: 39925-39932, 2004.
18. Denton H, McGregor JC, Coombs GH. Reduction of anti-leishmanial pentavalent antimonial drugs by a parasite-specific thiol-dependent reductase, TDR1. Biochem J. 381: 405-412, 2004.
19. Zhou Y, Messier N, Ouellette M, Rosen BP, Mukhopadhyay R. *Leishmania major* LmACR2 is a pentavalent antimony reductase that confers sensitivity to the drug pentostam. J Biol Chem. 279: 37445-37451, 2004.
20. Dumas C, Ouellette M, Tovar J, Cunningham ML, Fairlamb AH, Tamar S, Olivier M, Papadopoulou B. Disruption of the trypanothione reductase gene of *Leishmania* decreases its ability to survive oxidative stress in macrophages. EMBO J. 16: 2590-2598, 1997.
21. Gourbal B, Sonuc N, Bhattacharjee H, Legare D, Sundar S, Ouellette M, Rosen BP, Mukhopadhyay R. Drug uptake and modulation of drug resistance in *Leishmania* by an aquaglyceroporin. J Biol Chem. 279: 31010-31017, 2004.
22. Mbongo N, Loiseau PM, Billion MA, Robert-Gero M. Mechanism of amphotericin B resistance in *Leishmania donovani* promastigotes. Antimicrob Agents Chemother. 42: 352-357, 1998.

特別寄稿２- １

ヒトサイトメガロウイルス感染症における耐性株の出現とその対策１

―― ヘルペスウイルスの薬剤耐性 ――

群馬大学大学院医学系研究科
分子予防医学
教授　**磯　村　寛　樹**

１．ヘルペスウイルスの感染様式

ヘルペスウイルスは生物学的性状に基づいてα、β、γの３つの亜科に分類され、ヒトに感染する８種類のヘルペスウイルスの内、αヘルペスウイルス亜科にはヒトに口唇ヘルペスをおこす単純ヘルペスウイルス１型（HSV-1）および２型（HSV-2）とみずぼうそうをおこす水痘、帯状疱疹ウイルス（VZV）が、βヘルペスウイルス亜科にはヒトサイトメガロウイルス（HCMV）に加えて、乳幼児に突発性発疹をおこすヒトヘルペスウイルス６型とヒトヘルペスウイルス７型が、γヘルペスウイルス亜科にはＢリンパ腫を引き起こす Epstein- Barr（EB）ウイルスと HIV 感染者のカポジ肉腫の原因ウイルスである Kaposi's sarcoma- associated herpesvirus（KSHV）が存在する。

ヘルペスウイルスは初感染後、ヒトの体内に潜伏感染し、生涯ヒトと共存する。しかしαとβヘルペスウイルスは、さまざまな要因でヒトの免疫力が低下すると、体内に潜伏していたウイルスが再活性化して、それぞれの病態を引きおこす。一方、γヘルペスウイルスは潜伏しているウイルスがヒト細胞をがん化させる。

これまでの抗ウイルス薬では潜伏感染しているヘルペスウイルスに対し、薬効を示すことはできなく、潜伏感染から再活性化して増殖するウイルスにのみ薬効を示す。

２．抗ヘルペスウイルス化学療法

現在使用されている抗ヘルペス剤は、ヘルペスウイルスが自身の DNA 複製のためにコードする DNA ポリメラーゼを標的としたものであり、アシクロビル（acyclovir：ACV)、ガンシクロビル（ganciclovir：GCV)、ペンシクロビル（penciclovir：PCV)、フォスカルネット（foscarnet：PFA）やシドフォビル（cidofovir：CDV）等が実際に使用されている。これらの核酸類似体はウイルス DNA ポリメラーゼの基質となるが、その為には感染細胞内で三リン酸化され、活性型になる必要がある。ACV、GCV、および PCV リン酸化はウイルスの酵素によって起こる。すなわち、HSV-1、HSV-2および VZV のチミジンキナーゼ（TK）によって ACV と PCV は一リン酸化され、GCV は HCMV の

UL97キナーゼによって一リン酸化される。そして、細胞の酵素で二、三リン酸化され活性型となる。これら活性型の類似体は、ウイルスDNAポリメラーゼの基質として、三リン酸化核酸と競合してDNAの合成を阻害し、また合成中のDNAに取り込まれると、ウイルスDNAの伸長が停止する。PFAは直接DNAポリメラーゼを抑制する。CDVはすでにリン酸基を一つ持っており、感染細胞内で細胞の酵素により２個のリン酸を付加され活性型となり、DNAポリメラーゼを抑制する。

３．耐性株の出現

ヘルペスウイルスはDNAウイルスであり、ウイルスゲノムにコードされているDNAポリメラーゼのプルーフリーディング活性は高いため、ウイルスゲノムは比較的忠実に複製され、容易には耐性株は出現しない。ACVの耐株は、臨床的には持続して三週間以上治療している患者から見つかる。耐性株で変異のある部位は95％以上がTK変異である。その理由としては、DNAポリメラーゼはウイルス増殖に必須な遺伝子であるため、DNAポリメラーゼに変異が挿入されると、変異ウイルスが増殖できなくなる場合が多く、ポリメラーゼ活性が維持されて、ACV耐性になるという変異が挿入されることは少ない。TK遺伝子はウイルス増殖に必須ではないものの、変異株ではウイルス増殖力が低下する。

近年、臓器、骨髄移植後のヒト免疫不全状態のHCMVの再活性化の適切な制御が移植成績の向上に必須であると考えられている。現在、HCMVの治療にはガンシクロビルやその経口プロドラッグが第一選択薬として長期間使用されている。そこで、UL97とDNAポリメラーゼに変異を持つ耐性株の出現があり、それら薬剤耐性ウイルスに対しては、PFAとCDVが治療に使用されている。しかし、これらの薬に対するDNAポリメラーゼ変異株による耐性株の出現があり、近年、異なるウイルス蛋白を標的とする新しい抗ヘルペスウイルス薬も数多く開発されつつあり、多いに期待されている。しかし、これらの化合物はまだ臨床応用される段階にはいたっていない。ヘルペスウイルス感染症に対する耐性株の出現を克服できる多剤薬剤の最適な組み合わせの開発が待たれるところである。薬剤投与による副作用の問題から薬剤投与を中止すると、再度HCMVの再活性化がおこってしまうという、いわゆる”late onset HCMV disease”の問題もあり、高度先進医療のさらなる発展のためには、さらなるヘルペスウイルスの再活性化の制御が必須であることを今一度強調したい。

特別寄稿２- ２

ヒトサイトメガロウイルス感染症における耐性株の出現とその対策２

―― ヒトサイトメガロウイルスに対する新規薬剤 ――

群馬大学大学院医学系研究科
分子予防医学
教授　**磯　村　寛　樹**

ヒトサイトメガロウイルス（HCMV）感染症は臓器、あるいは造血幹細胞移植といった免疫不全で極めて重要な合併症の一つである。現在有用な薬剤として、ガンシクロビルやそのプロドラッグであるバルガンシクロビル、フォスカネットやシドフォビア等すべてウイルス DNA ポリメラーゼをそのターゲットにしている。それらの薬剤は有用であるにも関わらず、その重篤な副作用の問題から、その使用は限定的に成らざるを得ない。また、薬剤耐性ウイルスの出現の問題も依然として解決されておらず、ウイルス DNA ポリメラーゼをターゲットとしない新規の安全な抗 HCMV 薬が必要であり、そのことが耐性株の出現を克服できる多剤薬剤の最適な組み合わせの開発にも必要不可欠である。そこで、現在臨床試験中のウイルス DNA 複製をターゲットとしない２つの新規抗サイトメガロウイルス薬について簡単に概説する。

AIC246（Letermovir）

低分子化合物AIC246はUL104と相互作用するUL56とUL89で構成されるウイルスターミナーゼを阻害する。ウイルスターミナーゼはウイルスゲノムの特異的配列に作用して、ウイルスゲノムをユニットサイズに切断する。このことはウイルス粒子にユニットサイズのウイルスゲノムをパッケージングするために必要である。この薬剤はウイルス DNA 複製やウイルス遺伝子の発現には全く影響を与えないにも関わらず、ウイルスの増殖を著明に減少させる薬剤としてスクリーニングされた。この薬剤に対する耐性ウイルスを解析したところ、UL56 に変異があることが判明し、また UL56 に変異を導入した組換え HCMV でも同様のフェノタイプを示すことから（文献１）、UL56 がその分子ターゲットであることが確定された。これまでに UL104, UL56 と UL89 のターミナーゼ複合体をターゲットとする薬剤として BDCRB と BAY 38-4766 が同定されていたが、これらの薬剤は UL56 自体をターゲットにしない。そこで、AIC246 はこれらの薬剤耐性ウイルスに対しても有効である。もちろん、既存のガンシクロビル（GCV）等のウイルス DNA ポリメラーゼ阻害剤に耐性なウイルスに対しても有効である。17 の臨床分離株の抗 HCMV 活性をガンシクロビルと比較しても、プラーク形成能で比較した EC_{50} が 1000 倍以上低く（文献２）、

臨床現場でのこの薬剤の有用性が非常に期待される。現在、バイエルからスピンアウトしたAiCuris社で造血幹細胞移植患者に対するphase IIBの臨床試験が行なわれている。

この薬剤を既存のDNAポリメラーゼ阻害剤と比較した場合の有利な点として、この薬剤を投与してもすべてのウイルス遺伝子は発現するため、HCMVに対する細胞障害性T細胞（CTL）を誘導できるのではないと推察される。ヒトの免疫不全で再活性化されるHCMVの最も有用な治療法は、HCMVに対する自身のCTLを移入することであることはよく知られた事実であるので、抗ウイルス活性を持つと同時に、宿主のCTLも誘導可能な抗HCMV剤は、最もHCMV感染症の治療にふさわしいのではないかと推察する。

Maribavir

この薬剤はEBVとHCMVに優れた抗ウイルス活性を持ち、HCMVのUL97キナーゼに対し、非常に特異的な阻害剤である。GCVはHCMVのUL97キナーゼによって一リン酸化され、細胞の酵素で二、三リン酸化され活性型となる。これら活性型の類似体は、ウイルスDNAポリメラーゼの基質として、三リン酸化核酸と競合してウイルスDNAの合成を阻害する（前稿参照）。そのため、GCV投与時にはUL97に変異を持つ耐性株の出現があり、それらの薬剤耐性ウイルスに対してこの薬剤は有用である。ところが面白いことに、この薬剤に対する耐性ウイルスにはUL97よりもUL27に変異がある場合がより高頻度に認められる。その理由は不明であったが、最近その可能性のある理由が報告された（文献3）。以下にその報告を概説する。UL27はTip60のプロテアソーム依存的分解を促進する。従って、UL27に変異が導入されると、Tip60が分解されなくなり、結果として$p21^{Waf/CIP1}$の発現量が減少する。そこで、UL97でその機能を代用することのできる宿主サイクリン依存性キナーゼの発現量を低下させることが不十分となり、増加した宿主サイクリン依存性キナーゼは、低下したUL97キナーゼ活性を補うことができるようになる。例えば、宿主cdc2はRb蛋白をリン酸化したり、核ラミナを分解したりするUL97キナーゼの作用を代用することができるようになる、というものである。残念ながら、現在この薬剤はphase IIIの臨床試験をクリアできていないが、そのような否定的な臨床試験の結果が得られている現在でも、依然UL97は抗HCMV治療薬の良いターゲットであると考えられている。

参考文献

1．Thomas Goldner, et al. The Novel Anticytomegalovirus Compound AIC246 (Letermovir) Inhibits Human Cytomegalovirus Replication through a Specific Antiviral Mechanism That Involves the Viral Terminase. Journal of Virology 85(20):10884-10893. 2011

2．Manfred Marschall. et al. *In Vitro* Evaluation of the Activities of the Novel Anticytomegalovirus Compound AIC246 (Letermovir) against Herpesviruses and Other Human Pathogenic Viruses. Antimicrobial agents and Chemotherapy 56(2): 1135-1137. 2012

3．Reitsma JM. et al. Antiviral inhibition targeting the HCMV kinase pUL97 requires pUL27-dependent degradation of Tip60 acetyltransferase and cell-cycle arrest. Cell Host Microbe. 9:103-114. 2011

特別寄稿２-３

ヒトサイトメガロウイルス感染症における耐性株の出現とその対策３

―ヒトサイトメガロウイルス感染症とワクチンによる予防―

群馬大学大学院医学系研究科
分子予防医学
教授　**磯　村　寛　樹**

ヒトサイトメガロウイルス感染症

先天性サイトメガロウイルス感染症と難聴：現在、日本でもヒトサイトメガロウイルス（HCMV）に対する抗体保有率が低下し、米国同様 HCMV に対する抗体が陰性の妊婦が第二子を出産する時、第一子から HCMV の初感染を受けるケースが増加することが予想される。近年、先天性サイトメガロウイルス感染症には TORCH 症候群に代表される小頭症や頭蓋内石灰化、精神発達遅延を伴う症候性の先天性 HCMV 感染症の患児の他に、難聴のみを伴う場合が多数存在する事が明らかになってきている。そして、先天性難聴の４歳の児童を調べた米国からの報告では、実に全体の25％の患児で先天性 HCMV 感染症がその原因であることが判明した[1]。同様に、日本からの報告でも先天性 HCMV 感染症による難聴が先天性難聴の児の17-18％を占めることが明らかになってきた[2]。

免疫不全のヒトでの HCMV の再活性化：従来から造血幹細胞移植や臓器移植後、がんの化学療法やエイズ患者などでヒトの免疫が低下すると、体内に潜伏感染している HCMV が再活性化し、骨髄抑制や肺炎、脳炎、網膜炎、消化管炎症等のさまざまな疾患に関与することが知られている。そこで、ウイルス DNA ポリメラーゼ阻害剤であるガンシクロビル等の予防投与等が行なわれているが、ガンシクロビル自身による骨髄抑制や腎毒性があるため、投与の中止を余儀なくされることがあり、そのことが late onset の HCMV 感染症を引き起こすといったことが問題となっている。さらに、前稿でも述べた様にガンシクゾビルの予防投与は耐性ウイルスの出現を引き起こす。

免疫正常なヒトでの HCMV の再活性化による角膜内皮炎：近年、眼科領域での角膜内皮炎の患者の診断に前房水での multiplex PCR が導入されたことにより、これまで原因が不明であった角膜内皮炎の中に HCMV の再活性化が原因である症例が存在することが明らかになってきた[3]。このような症例に対してはガンシクロビルの点眼による治療が効果的であるが、点眼を中止すると再発する症例も多いことから、ガンシクロビルの点眼による治療を行なう時、具体的に何を指標にどのように行なっていけば良いのか、今後のさらなる治療法の確立が求められている。

ワクチン開発

免疫不全でのガンシクロビル投与による耐性株の出現の克服や、先天性サイトメガロウイルスによる難聴を予防するために、ワクチンを投与してHCMVに特異的な細胞障害制T細胞（CTL）や中和抗体を誘導する試みが必要であるという認識が広がってきている。そこで、これまでHCMVのウイルス粒子の膜の糖蛋白gBやテグメント蛋白pp65を投与して、中和抗体やCTLを誘導することを目的とするワクチンが開発されてきたが、今だ実用化には至っていない。近年、造血幹細胞移植（HSCT）時のHCMV感染症の発症を予防するためのDNAワクチン「TransVax™」を米国のベンチャー企業であるVical社が開発し、アステラス製薬がその開発・商品化に関する独占契約を2500万ドルで締結した。本ワクチンはgBとpp65二つのプラスミドDNAを主成分とするDNAワクチンである。現在、第三相の臨床治験が進行中であるが、第二相までの結果がLancet infect Disに報告されたので、その結果を以下に記載したい[4]。

HSCTを受けた80人のdonor-recipient pairと、80人のunpaired recipientsをランダムに「TransVax™」ワクチン接種群とプラセボ群に割り付け、移植前、処置前、移植後1、3、6か月にワクチンを投与した。108人（94人：HSCTレシピエント、14人：paired donors）が2006年6月29日から2009年12月11日の間に登録され、paired armは2008年2月に論理的理由（logistical reasons）から登録が中止された。安全性は全参加者で評価し、効果は74人のunpairedレシピエントでのみ評価された。その結果、1．40人中19人（48％）のワクチン接種レシピエントは特異的抗ウイルス療法を必要としたのに対し、コントロール群は34人中21人（62％）であった（P＝0.145）。2．フォローアップ期間中、ワクチン投与はサイトメガロウイルス血症とその再発を減少させるのに重要で、プラセボ群と比較してもウイルス血症のtime-to-eventを改善させた。3．一人の患者がワクチンによるアレルギーで投与を中止したが、HSCT後GVHDや二次感染などの有害事象の発生で群間差はみられなかった。というものであった。論文のグラフによると、ワクチン接種群と非接種群でCTLの誘導効率の差がはっきりしないと思われるものの、ウイルス血症を優位に減少させたとのことであり、第三相の結果が待たれるところである。

本ワクチンは免疫不全のヒトにHCMVに特異的なCTLを誘導するDNAワクチンということで、なかなか難しいのではないかとも考えられるが、第二相の臨床試験では効果が期待できるとのことである。今後、さらに先天性サイトメガロウイルス感染症を予防するためのワクチンが開発され、はしかや風疹と同じ様にサイトメガロウイルス感染症がワクチンで予防できる日が将来、必ずやってくると信じる。

まとめ

眼科領域で話題になっている新しいHCMVによる角膜内皮炎と、HCST後にHCMV感染症

を予防するためのワクチン開発の現状を記載した。ウイルス感染症を予防するためには、抗ウイルス剤とワクチンの開発が両輪となって行なわれるべきであり、HCMV 感染症の予防にも、さらなるワクチンの開発が待たれる。

参考文献

1．Morton CC, Nance WE. Newborn hearing screening--a silent revolution. *N Engl J Med* 2006; 354: 2151-2164.

2．Ogawa H, Suzutani T, Baba Y, et al. Etiology of severe sensorineural hearing loss in children: independent impact of congenital cytomegalovirus infection and GJB2 mutations. *J Infect Dis* 2007; 195: 782-788.

3．Koizumi N, Yamasaki K, Kawasaki S, et al. Cytomegalovirus in aqueous humor from an eye with corneal endotheliitis. *Am J Ophthalmol* 2006;141:564-565.

4．Kharfan-Dabaja MA, Boeckh M, Wilck MB, et al. A novel therapeutic cytomegalovirus DNA vaccine in allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Infect Dis* 2012; 12: 290-299.