

薬 剤 耐 性 因 子

—その発見の歴史と遺伝学的意義—

三 橋 進

微生物学教室

耐性菌実験施設

(群大医学部)

エビゾーム研究所

(微化研赤城支所)

P. EHRLICH にはじまる実験化学療法の研究は、人類誕生以来の原虫、細菌感染症に対する恐怖から人類を解放することに成功した。殊に FLEMING によるペニシリン (PC) の発見は土壤微生物生産物にその対象をおくことができるという画期的な手段を吾々に教え、ひきつづき発表されたストレプトマイシン (SM) の発見によってその可能性が決定づけられ、人智による薬の創作と、自然のつくり出した抗生剤をひろいあげるといふ2つの手段で化学療法の黄金時代が生れた。ピポクラテス以来の医学史の中で最も輝やかしい時代が訪れたと申しても過言でない。

かくして人類は近代科学の力を用いて、土壤微生物による生産物をスクリーニングし、大量生産に移し、数百トンの単位で化学療法剤を生産し、大量に時には無差別に使用することが可能となった。

しかし PC 発見から数えて、半世紀を経た現在、吾々はあまりにも多くの耐性菌の出現に驚き、新薬発見のスピードの低下と、新薬に対してもまた容易に耐性化する細菌の不死身さに感歎しているのが現状である。

赤痢菌の蔓延が、吾が国の宿命的な伝染病であったために、結核研究者と共に、伝染病研究者は基礎、臨床をとわず、吾が国に極めてすぐれた疫学研究を産み出すに致った。特にその陰に、陸海軍の衛生兵として鍛えられた衛生検査技師の実力と豊富な人材のあったことも忘れることはできない。

R 因子はこのような地盤から必然的に日本で発見されたもので、過去 50 年の細菌学史の中で最も大きい発見の1つといわれる所以である。

1978年10月東京で行われた日本化学療法学会東日本支部総会での要望講演として耐性因子の希望が多く、筆者がこれを担当した。その後このレビューの印刷希望者にこたえる意味で化療の編輯委員より本稿の執筆が要請された。本稿は橋本一、井上松久、伊予部志津子、川辺晴英氏らとの共同執筆である。

I. R 因子の発見とその性状

プロントシールの発見から臨床への利用はわが国では 1940 年頃からはじまった。プロントシールの作用基がスルホンアミド剤 (SA) によることが発見され、一挙に SA 時代が誕生した。しかし、SA がさかんに利用され、その有効性が知られると共に、気づかないうちに SA 耐性菌が臨床細菌の中に現われてきた。しかも赤痢が法定伝染病であったため、赤痢菌の耐性が最も詳細に研究されていた。終戦後さかんに使われた SA 剤に対する、耐性菌の出現状況が異常に急速で、1950 年頃には 90% 近くの赤痢菌が SA 耐性化し、ほとんど治療に使えない状態になってしまった。

1945 年頃からわが国ではストレプトマイシン (SM)、テトラサイクリン (TC)、クロラムフェニコール (CP) の生産が開始され、これらの薬剤が臨床に極めて有効であった。ところが SA と同様に、SM、TC などに対する耐性菌が、僅かに 1 例、2 例と出現し、1 例報告として学会に報告されはじめた。この頃最も注目を惹いた発表は、多剤耐性赤痢菌の出現であった。A 薬剤に耐性化する頻度を 10^{-a} 、B 薬剤のそれを 10^{-b} とする。a、b は普通 5~8 位の値をとる。A、B 両剤に同時に耐性化する頻度は $10^{-(a+b)}$ となる。したがって 3 剤、4 剤に同時に耐性化することはほとんどおこり得ない筈である。ところが全国各地から次々と多剤耐性赤痢菌が出現してきた。その模様を第 1 表に示した。

この多剤耐性は 1 つの赤痢菌が次々と人に伝染したのではないことは、それぞれの菌の血清型が異なることで理解される。われわれが群馬地区で経験した例は大きい注目を惹いた。4 剤耐性赤痢菌患者から同じ耐性型の大腸菌が、また 3 剤耐性赤痢菌、大腸菌が同一人から分離された。つまり多剤耐性菌は赤痢菌だけの問題でなく、腸内細菌全般の問題であることが判明した。多剤耐性赤痢菌の蔓延はきわめて急速で、臨床にも大きい問題となってきた。その状況を第 1 図に示した。

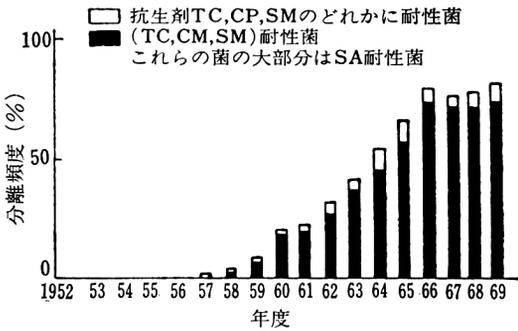
1959 年落合、秋葉がそれぞれ独立に耐性が菌から菌

第1表 多剤耐性グラム陰性桿菌の分類

分離時期	分離場所	菌 株	症 例	耐 性 基	発 表 者
1952年8月	京 都	<i>S. flexneri</i> 1b	1	TC, SM, SA	鈴木ほか
1955年7月	東 京	<i>S. flexneri</i> 4a	1	TC, CP, RM, SA	北本ほか
1956年8月	東 京	<i>S. flexneri</i> 2b	51 (集団)	TC, CP, SM, (SA)	小 張
1957年7月	東 京	<i>S. flexneri</i> 1b	3	TC, CP, SM, (SA)	小張ほか
1957年	東 京	<i>S. flexneri</i> 2b	2	TC, CP, SM, (SA)	
		<i>S. flexneri</i> 1b	1	TC, CP, SM, (SA)	
		<i>S. flexneri</i> 2a	3	TC, CP, SM, (SA)	
		<i>S. flexneri</i> 2b	2	TC, CP, SM, (SA)	
		<i>S. flexneri</i> 3a	2	TC, CP, SM, (SA)	
1957年9月	名 古 屋	<i>S. flexneri</i> v.N	1	TC, CP, SM, (SA)	
1957年9月	名 古 屋	<i>S. flexneri</i> 3a	66 (集団)	TC, CP, SM, SA	落合ほか
1957年10月	東 京	<i>S. flexneri</i> 2a	22 (集団)	TC, CP, SM, (SA)	上田ほか
1957年12月	群 馬	<i>S. flexneri</i> 3a	87 (集団)	TC, CP, SM, SA	三橋ほか
1959年11月	群 馬	<i>S. flexneri</i> 3a }*		2	
		<i>E. coli</i> }	1	CM, SM, SA	
1959年11月	群 馬	<i>S. flexneri</i> 2a }*		1	TC, CP, SM, SA
	<i>E. coli</i> }				
1959年11月	群 馬	<i>E. freundii</i> }	1	TC, CP, SM, SA	
	<i>E. coli</i> }				

* は同一人より2種類の菌が分離されたことを示す。
 (SA) : 測定されていないが SA 耐性であることが推定された。

第1図 抗生剤耐性赤痢菌の出現の年度別変化

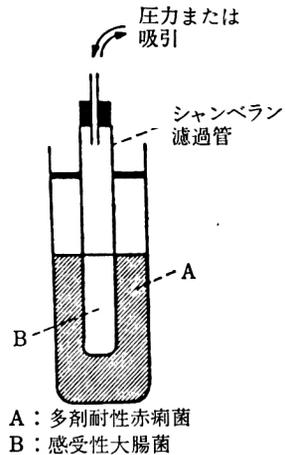


に移る事実を発表した。東京での研究会ではこの内容が、福見、井関などのすぐれた専門家を含めてさかんに討議されたが、そのメカニズムは判明しなかった。しかし、以後の研究の大きいきっかけを与えた。

遺伝性状が細胞から細胞に伝わるには、当時次の3つの機構のあることが知られていた。接合、形質転換、ファージによる導入の3つである。

われわれは耐性の伝達が、形質転換か、ファージによる導入か、接合かを決定するために次の実験を行なった。第2図に示すように、試験管内にシャンペラン

第2図 薬剤耐性伝達の機構



管を入れ、Aに多剤耐性赤痢菌を、Bに感受性大腸菌を培養し、1晩のうちに外液と内液をシャンペラン濾過管を通して10数回交換した。しかし、これでは耐性の伝達はみられなかった。ところが両者を混合培養すると容易に耐性は伝達した。この濾過管はファージやDNAを通過させるが、菌そのものは通過させない。したがって

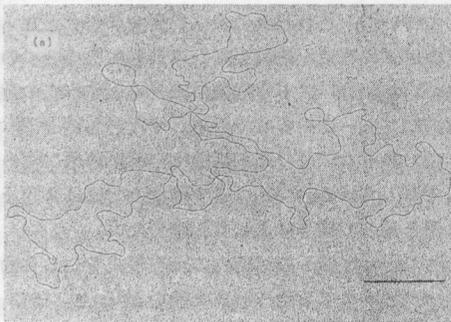
耐性の伝達には両者の菌の接触、つまり接合を必要とすることを示す結果になった。

この頃、偶然われわれの研究室で次の重要な事実が発見された。沢山の多剤耐性赤痢菌を患者から集め、研究室に保存していた。ある目的で保存菌株をとり出し研究に使う前に、その耐性を確認させたところ、耐性菌の中の20~40%が完全に耐性を失なっているという報告を受けた。最初研究者のミスと思って、再び耐性菌を純粹に分離し、もう1度保存にまわすと、同じように耐性が脱落する事実を確認した。菌の接合を支配する遺伝因子(プラスミド)にF因子のあることがLEDERBERGによって発見されていた。広田(遺伝研)によってF因子を持つ菌をアクリフラビン色素で処理すると、F因子が脱落して接合能を失なうという大きい発見がなされていた。われわれは多剤耐性が保存中に脱落する事実をさらに確認するためアクリフラビン色素による処理を試み

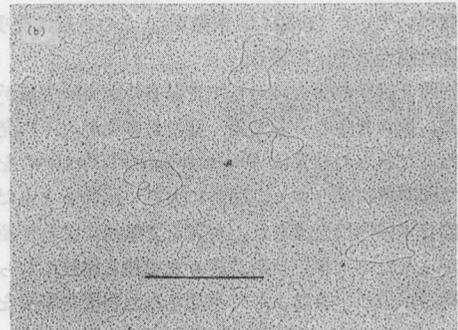
た。まったく同じく、多剤耐性が高率に赤痢菌から脱落することを認めた。

次に吾々は、当時既にLEDERBERGによって発見されていたF因子との異同を明らかにせねばならなかった。F因子そのものも菌から菌に接合で移るが薬剤耐性遺伝子をもってはいない。しかしFをもつ菌(F⁺菌)、またはF因子が細菌の染色体にくみこまれた菌は高い頻度でその菌がF⁻の菌と接合し、その染色体が移ることが知れていた。この菌はhigh frequency of recombinationをおこすことからHfr菌と名づけられていた。すなわちF因子を介しておこる耐性の伝達はF⁺からF⁻菌へ、またはHfrからF⁻菌へと1つの方向性がある筈である。そこで多剤耐性をF⁻菌にうつし、耐性の伝達の方角性(polarity)を調べたところ、耐性はF⁻からF⁺菌へも、F⁻からHfr菌にも伝達することが明らかになった。つまり耐性を支配する遺伝体はF因子と異なるもの

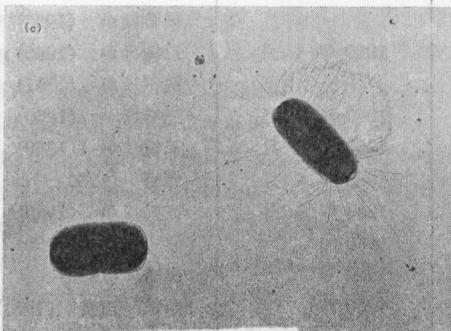
第3図



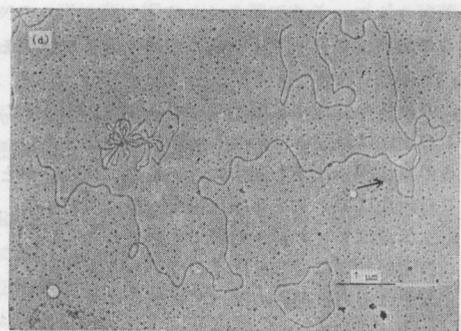
(a) Rプラスミドの電子顕微鏡像：Rプラスミド RP4(TC. KM. CBPC)。バーは1 μ mを示す。



(b) rプラスミドの電子顕微鏡像：rプラスミド r(SA)。バーは1 μ mを示す。



(c) 細菌の接合の電子顕微鏡像。両菌の間にまたがって性線毛がみられる。



(d) 緑膿菌におけるCBPCトランスポゾン：緑膿菌ファージP29とCBPC耐性遺伝子ととりこんだファージP92(CBPC)との間に形成されたヘテロ二重鎖DNA。矢印はCBPCトランスポゾン部分を示す。バーは1 μ m。

であることが明らかになった。

そこで筆者は、多剤耐性を支配する遺伝因子はF因子のように、菌に寄生的に存在し、その伝達は接合によるものであると結論し、耐性因子にR(resistance)の略号を与えR因子と呼ぶことを提唱した。現在このような因子を国際的にR factor, もしくは R plasmid と呼ぶことが決まっている。F因子, R因子, Col 因子のように細胞に寄生的に存在する遺伝因子をプラスミドと呼ぶことが国際的な討議の上で決まっている。R因子DNAを菌体からとり出し電顕で撮影したものを第3図に示した。二重鎖のDNAからなる環状構造をしている。

R因子をもつ菌は雄の性状を獲得しRをもたない菌と性線毛(第3図)を介して接合しR因子は複製しながら雌菌に移行する。R因子をうけとった菌は、耐性を獲得すると共に新たに接合によってR因子を伝達する能力を獲得する。

混合培養による耐性の伝達という発見はR因子発見の大きいきっかけをつくった。しかし吾々は多剤耐性菌の40~50%にどうしても耐性が移らないものあることに気づいていた(1959年, 未発表)。この詳細は次項(非伝達性耐性因子)に譲る。

当時R因子の研究に対して文部省の総会研究班が組織され、数カ月毎の会議で驚く程の新事実が次々に発表された。これらの結果はBacteriological Review をとおして国際的に紹介され、海外に大きい反響をよんだ。この際日本国内で発表された事実を文献的に正しく紹介しなかったため大きい誤解が後々まで残る結果になった。当時吾が国の学者によって発見された重要な事実を第2

表に総括した。

II. 非伝達性耐性因子の発見

グラム陰性菌の薬剤耐性が問題になり出した頃、石原恵三(群大医)を班長としたブドウ球菌研究班(文部省)が組織され、ブ菌のファージ型を用いた疫学、感染免疫を中心とした研究が進められた。ついでブドウ球菌の多剤耐性が臨床家の間で問題となり、その研究会(班長: 市川篤二博士)が組織され、吾々の教室で沢山のブドウ球菌をとり扱う機会が与えられた。最も多く出現する耐性はSA, SM, TC, PCの4剤であった。

SA耐性菌は分離菌の96~99%に達する高率で、驚異的に効いたPCも70~78%の菌が耐性を示した。上記4薬剤耐性と、その他のマクロライド系抗生剤(Mac), カナマイシン(KM), 合成ペニシリン(DMP), ノホピオシン(NB)耐性の関係を調べた。上記4薬剤の3~4剤耐性菌ほどこれらの新薬剤に耐性を示す頻度の高いことがうかがわれる。

ブドウ球菌はなぜこのようにすみやかに多剤耐性化するのであろうか。グラム陰性菌におけるR因子の発見にひきつづいて、われわれの大きい研究テーマとなった。多くのブドウ球菌を観察しているうちに次の3つの事実に気づいた。(1)ブドウ球菌のほとんどすべての菌は、菌体内にファージをもっている。すなわち溶原菌である。(2)ブドウ球菌の薬剤耐性は容易に溶原ファージによって導入される。(3)ブドウ球菌の耐性はR因子のように菌と菌との接合によって伝達しない。

そこで耐性遺伝子のブ菌内の存在様式を知る目的で7クリフラビンによる耐性脱落実験を試みた。1963年

第2表 R 因子 発見 の 歴史

事 項	発 表	文 献
耐性が混合培養で伝達される	1959年11月	落合ほか (1959) 秋葉ほか (1960)
この伝達はファージその他の濾過性因子では伝わらない	1960年1月	三橋ほか (1960) 原田ほか (1961)
この耐性の伝達はF因子のpolarityと無関係に移る	1960年1月	三橋ほか (1960)
この耐性は保存中に消失し一挙に感性化する	1960年3月	三橋ほか (1960)
この耐性因子はF'因子に近いものではないかと予想された	1960年4月	飯野 (1960)
この耐性はアクリジン系色素で一挙に脱落する	1960年6月	三橋ほか (1960)
耐性伝達はブレンダー処理で中断される	1960年	渡辺ほか (1960)
この遺伝物質に対しR因子の略称を与えた	1960年	三橋 (1960)
R因子は腸内細菌科のすべてに伝達する	1960年	原田, 三橋 (1960) 中谷ほか (1960)
<i>Vibrio comma</i>	1961年	BARONほか (1961)
<i>Pasteurella pestis</i>	1963年	GINOZAほか (1963)
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1974年	寺門, 三橋 (1974)
<i>V. parahemolyticus</i>	1979年	林, 三橋 (1979)

第3表 R 因子の検出頻度

耐性型 ^a	各耐性型の菌から R 因子の検出頻度 (%)							
	<i>E. coli</i>	<i>Shigella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Proteus</i>		<i>Klebsiella</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>S. marcescens</i>
				indole (+)	indole (-)			
Quadruple	59.7	79.7	84.3	61.8	50.0	63.2	60.0	84.7
Triple	55.6	82.4	75.6	45.2	36.4	43.0	62.5	41.3
Double	19.7	41.3	36.5	14.7	19.0	27.7	19.4	23.0
Single	9.2	10.8	6.1	1.2	0	7.1	0	0

14,530 株からの調査結果

^a TC, CP, SM, SA の 4 薬剤耐性型

いにもブ菌の Mac 耐性が非可逆的に脱落し、プラスミド上にあることが結論され、ついで PC, TC, SA 耐性もプラスミド上にあることが判明した。しかし、ブ菌の耐性プラスミドは R 因子と異なって菌と菌との間を接合で伝達しない極めて小さなプラスミドであることが後になって明らかになった(第3図)。仮に筆者は R 因子に対し、ミニプラスミド (r 因子) とよぶことにしている。その後の研究で耐性ブドウ球菌の 85% もが r 因子による耐性であることが明らかになった。r 因子は R プラスミドと異なり、単剤耐性のものが多く、したがってブドウ球菌は各種の r 因子を 1 細胞内に多様に保持して多剤耐性化している。

その後の研究でグラム陰性菌にも r 因子は高頻度に発見され、病原由来菌の多剤耐性は R 因子、または r プラスミドの存在によって与えられていると見て過言でない。また最近、インフルエンザ菌からも溶血連鎖球菌、淋菌からも r 因子が発見され、r 因子による耐性菌の増加が心配されている。

先に述べたように多剤耐性菌の全部が R 因子によるものではない。TC, CP, SM, SA 耐性型からみた R 因子の検出率を第3表に示した。4 剤ないし 3 剤耐性菌から R 因子の検出率が高く、2 剤、1 剤耐性菌では R 因子の検出率が著しく低い。ところが 1 剤または 2 剤の非伝達性耐性菌から高率に r 因子が検出されることが分った。KM, GM, ABPC 耐性は多く多剤耐性菌として上記 4 薬剤に附加した形で出現する。これらの菌からの R 因子の検出率 (70~80%) は高い。しかし通算して多剤耐性菌の 30~40% は非伝達性耐性因子によっている。R 因子の検出率の低い 2 剤、1 剤耐性菌を選んで r 因子の分布を検討した結果を第4表に示した。グラム陽性菌からは伝達性の R 因子は検出されず、殆んどは非伝達性のミニプラスミド (r) による耐性である。グラム陰性菌でも、非伝達性耐性の 60~90% は非伝達性の耐性因子 (多くはミニプラスミド) によっていることが多い。

従って臨床分離菌の耐性の多くは第4図に示すタイプ

第4表 非伝達性耐性菌から r 因子の検出頻度

Bacteria	r 因子の検出率
<i>S. aureus</i>	85.0
<i>S. pyogenes</i>	95.0
<i>H. influenzae</i>	60.0
<i>E. coli</i>	96.0
<i>Shigella</i>	98.0
<i>Salmonella</i>	95.0
<i>P. mirabilis</i>	67.0
<i>S. marcescens</i>	63.0

非伝達性の 1 剤ないし 2 剤耐性菌から r 因子を検出した。

第4図 プラスミドによる耐性型

1. R
2. R_1+R_2
3. $R+r$
4. r
5. $r_1+r_2+r_3$

R, 伝達性耐性因子, r, 非伝達性耐性因子。

の耐性型を示し、例外を除いてその殆んどはプラスミドによる耐性と申すことができる。

グラム陽性菌は図の 4 か 5 型である。ブドウ球菌の多くは 5 型である。グラム陰性菌は 1 種の R 因子をもつもの、2 種の R 因子 (R_1+R_2) をもつもの、($R+r$) によるものと多彩である。NA 耐性はプラスミドによらない染色体遺伝子による耐性の代表である。

III. R 因子 (伝達性耐性因子) の構造

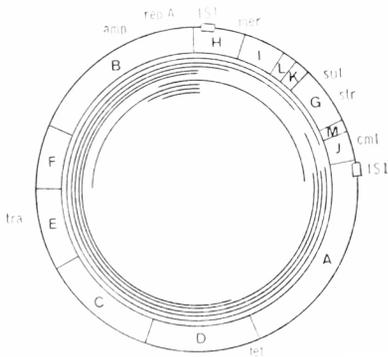
R 因子のもつ種々の遺伝学的性状、耐性の生化学的機構について第5表にまとめた。

伝達性 R プラスミドは、第3図に示すとおり、2 本鎖 DNA の環状構造よりなり、その上に 3 種の遺伝子群をもつ。1 つはプラスミドとして宿主染色体とは別個に存在することを可能にしている複製遺伝子 *rep* であり、第2には種々の耐性遺伝子、例えば *cml*, *tet*, *str*, *sul*, *amp*, *kan* および水銀剤耐性遺伝子 *mer* などである。

第5表 R 因子の遺伝学的性状

事	項	発表	発表者
耐性は混合培養で伝達する		1959	落合ら, 秋葉ら
混合培養で移らない耐性因子の存在		1963	三橋, 原田ら
R 因子相互間の干渉		1960	原田, 三橋
他の R 因子を干渉しない R(SM), R(SM, SA) 因子の発見		1963	原田, 三橋
R 因子は F 因子の機能を抑制する		1960	中谷
R 因子干渉のない R(SM, SA) 因子は F 因子の機能を抑制しない		1964	渡辺
R 因子はバクテリオ・ファージの増殖を抑制する		1962	吉川
CP の不活化による CP 耐性		1961	宮村
SA 耐性は SA の膜の非透過による		1961	横田
ATP, acetyl CoA を利用した薬剤の不活化		1967	鈴木, 岡本

第5図



Rms201 の欠損変異株マップ。A, B...は Rms201 を制限酵素 EcoR1 で切断したときの断片の長さとその配列を示す。その外側に各遺伝子の位置を示した。但し *tra* は B より D までに位置する 15 程の遺伝子群よりなるが図では省略してある。内側の弧線は各欠損変異株の位置を示したもので、各マーカーの存否は第6図の如き制限酵素切断図より作成した。

第3には伝達性を支配する *tra* 遺伝子群である。これらは殆んど常にそれぞれ群をなして配列している。Rms201 の例で言えば第5図のとおり、*mer*, *sul*, *str*, *cml* 遺伝子群は1つの領域に集まり、*rep* を挟んで他の側に *tra* が全体のはぼ 1/3 を占める領域 (B-D) に集まっている。この場合では *amp* と *tet* だけが他の耐性遺伝子群とはなれている。

(1) 大きさと数, 共存性

伝達性 R プラスミドの大きさは、26 Md (メガダルトン) から 120 Md 以上のものまで知られている。しかし最も多く 60~70 Md 附近の分子量をもつ。非伝達性の小さいプラスミドに比べて細胞内数は少く、染色体当り数個であるが、宿主によっても異なる。変形菌でのよう

に宿主染色体と R との DNA 密度が異なる場合は、密度勾配平衡遠心法で全 R プラスミド DNA 量が測れる。しかし大腸菌でのように、R プラスミドと宿主染色体との DNA 密度が近いと、物理的に分離することは難しく、両者に対して親和性の異なる Ethidium bromide のような色素を加えて密度をかえることにより、プラスミド DNA だけを分離する試みがなされている。この場合、測定しているのは閉鎖環状 DNA のみであって、DNA 分離操作により開鎖になり易い R プラスミドの場合は、全 DNA 量の推察が難しい。

多剤耐性菌の場合は、2種以上の R プラスミドの共存の例が多く、たとえ2つの耐性遺伝子が共に接合伝達したとしても、同一遺伝体上にあるとは限らない。導入や形質転換による同時伝達があれば、より信頼性がありますが最後には電子顕微鏡による同一種の確認が必要となる。その場合でも、同一種 R プラスミドが monomer, dimer となっている場合もあるので注意が必要である。2つの R プラスミドの共存の可否は、不和合性において同一群に属するかどうかによりきまる。たとえばある多剤耐性が別々の耐性にわかれて伝達しても、それらが不和合であれば、同一遺伝体の解離とみなされる。

(2) IS と Tn

各遺伝子間の配列順序をきめるのは、主に欠失変異をおこさせ、共に失われ、または共に残ることで連関性をきめてゆく(第5図)。しかし欠失の部位はいつでも均等ではなく、ある遺伝子(群)が特に高い頻度で失われやすいのが普通である。例えば Rms201 や R100 では、サルモネラを宿主としたとき、または P1 ファージによる導入で、(*mer*, *sul*, *str*, *cml*) のクラスターが失われやすい。Rms312 では *tet* が失われやすい。このことよりこれらの遺伝子(群)の両側には、特殊の座位があって欠失に関係していることが推察されるが、R100 では近年 IS1 という 800塩基対の部分(2カ所)同一方向に挿入されていることがわかった。Rms201 も同様であり、

第5図に IS1 の位置を示してある。同方向の IS の繰りかえし部分の間で分子内組換えがおこり、それに挟まれた部分が失われ易い。*tet* の両側にもやはり同一方向の IS の繰りかえし部分があり、*tet* の欠損変異もそれによると考えられている。

R プラスミド上には欠失変異の他に、他の遺伝体上に転移し易い耐性遺伝子があり、この場合、その両側には逆方向の IS の繰りかえし部分があることが知られている。R 100 の TC 耐性の場合、IS 3 という 1400 塩基対の IS が両側にあり、RP 4 の ABPC 耐性の場合、140 塩基対の IS が両側に逆方向の繰りかえしを示している。これらの繰りかえしの IS 部分に挟まれた1つの遺伝単位を transposon といい、Tn と略して番号がついている。上の TC, ABPC の例では Tn 10, Tn 1 といわれ、1つの単位として遺伝体から他の遺伝体へ転移してゆく。このような IS や Tn がプラスミドの組換えや進化に関係しておると考えられ、第5図の Rms 201 の如きは、R 100 の EcoR 1 B フラグメントに ABPC transposon が他の遺伝体より転移してきて出来たものと考えられる。

(3) R プラスミドの構造

R プラスミドの遺伝学的構造は、種々の欠失変異株をえて、各遺伝子間の連関性を調べることによりきめられる。最もよく用いられるのは、各宿主固有の導入フェージによってえられた導入株の中に欠失変異株を探す方法である。

更に近年、物理化学的に R プラスミド間の異同を調べるのに、Heteroduplex 法や、制限酵素で切断されるパターンをみる方法が進歩し、殊に後者が簡便でよく用い

られている。第6図にその例を示した。図6Aにみる如く、EcoR 1 切断片では大きい順に A-F が *rep* や *tra* 部分、G-M が IS 1 で挟まれた耐性部分と明らかに区別される。3種の伝達法プラスミド R 100, Rms 201, Rms 312 では IS 1 で囲まれた部分 (G-M) が共通である。Rms 312 では KL が異なるがその和は R 100 の K+L と同じであり、切断部位が異なるだけである。図6Aの#3は R 100 の CP 感受性変異株で J がなく、#2の Rms 201 は ABPC 遺伝子を余分にもつので B がより大きい、あとは全く同じであることがわかる。図6Bは Rms 201 の種々の変異株を切断したもので、これらの結果から Rms 201 の遺伝子地図を第5図の如く構成したわけである。

IV. 非伝達性薬剤耐性プラスミドの構造とその特徴

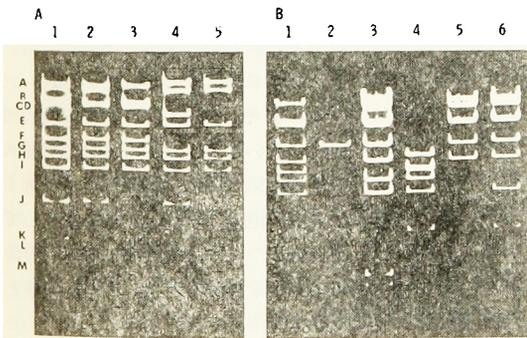
薬剤耐性菌の中には、前に述べた接合伝達する R プラスミドのほか、伝達機能の一部または全体を欠いた、いわゆる非伝達性薬剤耐性プラスミドが比較的高頻度に存在する。便宜上、この非伝達性薬剤耐性プラスミドを r プラスミドと呼ぶことにする。r プラスミドは、R プラスミド中の伝達機能を司る遺伝子群 (*tra*) の内の一部や、あるいは *tra* 遺伝子群全てを欠くため、接合により細菌から細菌へとは移らない。さらに R プラスミドが、そのプラスミド上に多剤耐性遺伝子をもつのに比べ、r プラスミドはその多くが表現型としては単剤、あるいは2剤耐性を示すものが圧倒的に多い。

先に示したように (3, 4 表), 1 剤, 2 剤耐性菌からの R 因子の検出率は低く、それに代って r 因子の検出率が高い。その結果、接合伝達しない薬剤耐性遺伝子は、そのほとんどが r プラスミド上に存在することが明らかにされた。

グラム陽性菌の薬剤耐性は、グラム陰性菌に比べ著しく異なる。というのは、グラム陽性菌では接合伝達の機能は存在しないものがほとんどである。1963 年吾々によって報告された Mac プラスミド、続いて報告された PC, TC, (Mac. PC) プラスミドの発見に端を発し、黄色ブドウ球菌から次々と r プラスミドが見出されている。第6表および第7図にプラスミドの幾つかをまとめた。

r プラスミドは第7図からもわかるように比較的小さな分子量を示し、その多くが $2 \sim 10 \times 10^6$ ダルトンである。中には 20×10^6 ダルトンを示すものもある。なお 10^6 ダルトンはメガ (M) ダルトンとも記載される。*tra* 遺伝子をもつ R プラスミドの分子量は約 60×10^6 ダルトン、この内 *tra* 遺伝子群の分子量 40×10^6 ダルトン、従って R プラスミド中の薬剤耐性遺伝子群は、 $60 \times 10^6 - 40$

第6図



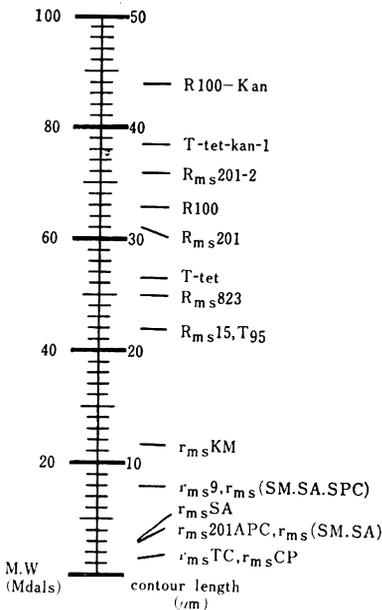
制限酵素 EcoR 1 による各種 R プラスミドの切断図。アガロースゲル内での泳動図で示した。A 図 1 は R 100, 2 は Rms 201, 3 は R 100 の CM^s 株, 4 は Rms 312, 5 はその TC^s 株である。B 図は Rms 312 の種々の欠損変異株の泳動図を示す。

第6表 多剤耐性菌から検出される非伝達性プラスミド

菌種	薬剤耐性型	プラスミド型
<i>E. coli</i>	TC, CP, SM, SA	r(TC, CP, SM, SA) r(SM, SA)
	CP, SM, SA	r(CP, SM, SA)
	SM, SA	r(SM, SA)
	SA	r(SA)
	TC	r(TC)
<i>Shigella</i>	TC, CP, SM, SA	r(TC, CP, SM, SA)
	CP, SM, SA	r(CP, SM, SA)
	SM, SA	r(SM, SA)
<i>E. cloacae</i>	TC, CP, SM, SA	r(TC, CP, SM, SA)
	CP, SM, SA	r(CP, SM, SA)
	SM, SA	r(SM, SA)
<i>P. mirabilis</i>	TC	r(TC)

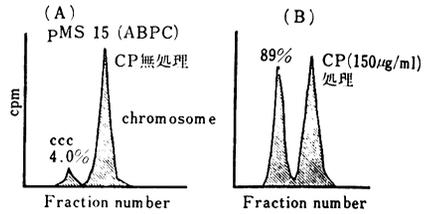
4菌種の例を挙げたが、この他の菌種においても非伝達性薬剤耐性菌から、同様の非伝達性プラスミドが検出されている。多剤耐性ブドウ球菌からは多くの場合、単剤耐性の非伝達性プラスミドが検出されている。

第7図 プラスミドの大きさ



$\times 10^6 = 20 \times 10^6$ ダルトンということになり、 r プラスミドの分子量が小さいことも納得ゆく数字である。さらに、 r プラスミドの特徴はそのコピー数がRプラスミドに比べ多い。Rプラスミドの細胞当りのコピー数、数個に比べ、 r プラスミドは細胞当たり少なくとも25~100

第8図 CP 処理による r(ABPC) プラスミドのコピー数の増幅



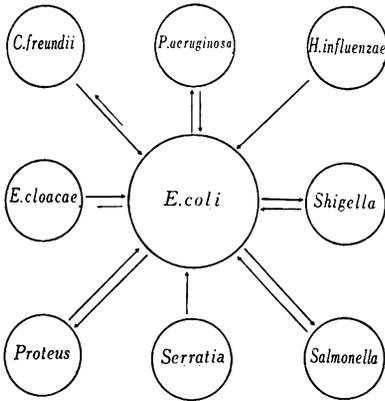
- (A) CP 無処理：プラスミド DNA 量は染色体あたり4%である。
- (B) CP (150µg/ml) 処理：プラスミド DNA 量は染色体あたり約89%にまで増幅される。

個くらい存在する。薬剤耐性の中にはこのコピー数を反映し、薬剤耐性値との間に相関関係の見られる場合がある。例えば伝達性 ABPC 耐性プラスミドを例にとれば、ABPC の MIC は 25 µg/ml であったものが、ABPC 耐性遺伝子を後述するトランスポゾンを用い、非伝達性スルホンアミド耐性プラスミド r(SA) に転移させると、その ABPC の MIC は 1,600 µg/ml と約60倍近い上昇を示した。事実、自然界から分離した r(ABPC) プラスミドの ABPC の MIC は概して 1,600 µg/ml 中には 6,400 µg/ml の MIC を示すものが分離されている。KM 耐性についても同様の結果を得ている。伝達機能を欠く r プラスミドはそれ自身の数を増やすことによって、薬剤に耐えているといえる。

更に興味ある事実、 r (ABPC) プラスミドや r (SA) プラスミドにおいて判明したことであるが、薬剤存在下とか、栄養条件の悪い環境下におかれると、これらのプラスミドの数は異常複製し、宿主染色体 DNA 合成停止後も、プラスミドは増えつづけ、最終的には細胞当たり数千個にも達するものが多い。この代表的な例として、Col 因子 ColE1 プラスミドが広く知られている。われわれが分離した r (ABPC) や r (SA) プラスミドはこれらの Col 因子とも交差しないことより、全く別のプラスミドということが出来る。第8図に r (ABPC) プラスミドが CP 投与による宿主染色体 DNA の合成停止しているにもかかわらず複製しつづけ、最終的には染色体 DNA の 3~4 個分にも相当するプラスミド DNA 量となる模様を示している。

r プラスミドは菌と菌の接触による接合伝達しないため、その検出法は R プラスミドの場合とやや異なる。最も簡便な方法としては、自然脱落や人工的にプラスミドを不可逆的に除去する方法が挙げられる。人工的にプラスミドを除去するために用いられる薬剤としては、7

第9図 形質転換による非伝達性薬剤耐性プラスミドの宿主域



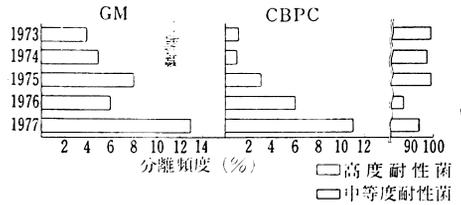
カリフラビン色素, リファンピン, エチジウムブロマイド或いはある種の鎮経剤なども用いられる。積極的にプラスミドを証明するには, プラスミド DNA の自立的増殖という性質を利用し, ある種の変異株にプラスミド DNA を形質転換させ, 得られた形質転換株から再びプラスミド DNA を証明する方法が用いられる。この方法により, 私共は第9図に示した如く, 多くの臨床分離細菌の非伝達性薬剤耐性がプラスミド上に存在することを明らかにした。このことは, 多くの細菌に於ける薬剤耐性が, プラスミド DNA 上に存在する可能性を強く示唆しているといえよう。

V. 耐性因子の疫学

先に述べたようにグラム陽性菌からは伝達性のある R 因子は検出されていない。しかしこれに代って非伝達性の r 因子が多種類, 数多く1細胞内に存在しているのがブドウ球菌の多剤耐性の特徴である。グラム陰性桿菌では R 因子が菌と菌との間を伝達するので R 因子による耐性のひろがり大きい。しかし, r 因子も大汎に分布し, (R+r) のタイプの耐性の多いことは先に述べた。非伝達性の r 因子はそれ自身菌と菌の間を移らないが R 因子が存在すると容易に移り出す (mobilization) という注目すべき現象が知られ, r 因子の伝播にバクテリオ, ファージによる導入と共存する R 因子による伝播が見のがせない事実である。

R 因子は幅広い宿主域をもつため菌種間を容易に移る。しかし仔細にみると各菌種の間それぞれプラスミド耐性の特徴がある。例えば *Salmonella* には CP 耐性が少く, *P. mirabilis* の TC 耐性は殆んど伝達性がない。各菌種について述べるだけの紙数がないので特に緑膿菌の R 因子について述べてみたい。緑膿菌の R プラスミドは緑膿菌間しか伝達しないという特徴がある。

第10図 緑膿菌における GM および CBPC 耐性菌の分離頻度



第7表 新薬に対する耐性緑膿菌の分離頻度

施設	耐性菌の分離数				
	GM	Ak	TB	T-1551	PIPC
A	3.0	7.6	3.5	23.5	23.5
B	0	0	0	0	0
C	3.0	23.0	3.5	23.5	23.5
D	0	0	0	0	0
E	12.1	30.0	3.5	23.5	17.6
F	6.0	7.6	7.0	5.8	5.8
G	3.0	7.6	3.5	0	0
H	9.1	15.3	7.0	5.8	0
I	3.0	0	3.5	0	0
J	3.0	7.6	3.5	0	5.8
K	57.0	0	64.2	17.6	23.5
Total (%)	28.7	11.3	24.3	14.8	14.8

このために緑膿菌の血清型, ファージ型, およびその R 因子を調べることによって1つの診療科の中の耐性菌分布の状況を知ることが可能だからである。

なお耐性プラスミドはヒトの病巣菌のみでなく家畜, 養殖魚から分離される細菌にも高率に分布していることが知られており, 畜産, 養殖水産の大きい課題となりつつある。

緑膿菌は多くの薬剤に抵抗性を示し, 従ってその感染症は化学療法上重要な問題となっている。TC, CP, SM, SA, KM, ABPC など細菌に有効な薬剤も緑膿菌には効力を示さず, β -ラクタム系の種々の新薬およびアミノ配糖体系の各種薬剤が目下さかんに使用されている。しかしいずれの薬剤に対しても耐性菌は増加しつつあり, 第10図に示す如く GM または CBPC 耐性菌の分離頻度は年々増えてくる傾向にある。

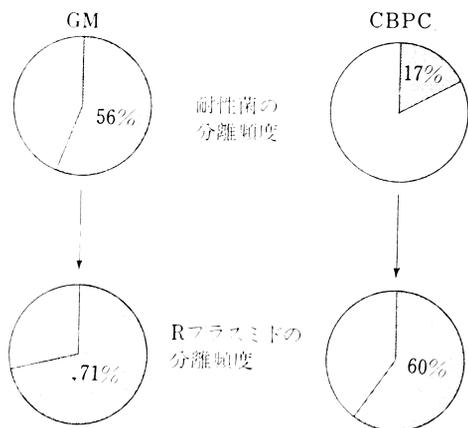
更にその他のアミノ配糖体系新薬, DKB, AK, TB および β -ラクタム系新薬, T-1551, PIPC はいずれも緑膿菌に有効な薬剤であるが, 第7表はそれらに対する耐性菌の各施設毎の分離頻度を示している。新薬に対する

耐性菌の出現の様相は施設により異なり、全く分離されない施設、非常に高頻度で分離される施設がある。施設Bは前者の例であり、施設Kは後者の例でこの施設には特に GM, TB に同時に耐性の菌が多い。

薬剤耐性菌の遺伝学的背景を調べると、過去 10 年以上の腸内細菌におけるデータはそのほとんどが伝達性または非伝達性プラスミドによるものであることを示している。伝達性の R プラスミドは接合により菌から菌へと増える能力を持つために耐性菌のひろがりに大きな役割を荷っている。腸内細菌科の R プラスミドはいずれも大腸菌に伝達が可能であり、これらの遺伝学的性状は良く研究されている大腸菌の系で詳細に調べられてきたが、緑膿菌の R プラスミドはわずかの例外を除いて、ほとんどが大腸菌には伝達が不可能である。従って緑膿菌の R プラスミドの解析はすべて緑膿菌の系で行われてきている。薬剤感受性緑膿菌を受容菌として緑膿菌の薬剤耐性の伝達性を調べると、各種薬剤について 20~30% 前後の頻度で伝達することが分かった。この頻度は他の腸内細菌科の菌に比べて低いが、R 因子の他に非伝達性 R プラスミドが高頻度に存在している。

一方伝達性薬剤耐性を示す菌の分離頻度は施設により異なり、また分離 R プラスミドの耐性パターンも施設により特徴があることが分かった。これは特定の病室に特定の緑膿菌が R 因子が定着していることを示すもので、院内汚染という観点から注目される。第 11 図は特に高頻度に GM または CBPC 耐性菌が分離された 2 つの施設

第 11 図 2 施設における GM または CBPC 耐性 R プラスミドの分離



R プラスミドの耐性パターン(%)

{GM, TB, DKB, KM, SM, SA	(89.5)
{GM, TB, DKB, KM, SA	(5.2)
{GM, TB, DKB, KM, CP, SA, CBPC	(5.2)
{TC, CP, SM, SA, CBPC	(91.6)
{TC, CP, SA, CBPC	(8.3)

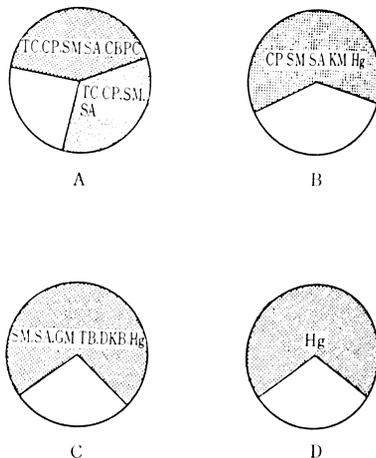
において R プラスミドを調べた結果を示すが、分離耐性菌の 60~70% から R プラスミドが分離されており、いずれも R プラスミドによる耐性であることを示している。しかし耐性パターンを調べると、いずれの施設においても同一のパターンを持つ多剤耐性 R プラスミドによる耐性菌の蔓延が明らかになった。このように特定の R プラスミドによる汚染という立場から各病室における耐性緑膿菌の R プラスミドを調べると、施設特有の R プラスミドの姿が捉えられる。

A~D 4 施設から分離された R プラスミドの耐性型を第 12 図に示した。A 施設では基本的に (TC, CP, SM, SA) 耐性をもつ R 因子と、これに CBPC 耐性の加わったものが病室内の緑膿菌 R 因子の大半を示している。C 施設緑膿菌 R 因子の大半は (SM, SA, Hg) という緑膿菌によくみられる R 因子にアミノ配糖体耐性遺伝子の加わったものである。D 施設のそれは Hg 単剤耐性という特徴を示している。

各施設の緑膿菌のフェージ型の調査から、病室内に緑膿菌それ自体によるひろがり、菌とは無関係に R 因子そのものによる伝播による菌の耐性化が証明された。従って従来 "hospital strain" という言葉に対し "hospital plasmid" の概念を提唱したい。

以上の結果はいずれもわが国における病室分離緑膿菌の姿を 1973~1978 年にわたって調査した 2,184 株の緑膿菌の姿を示したものであるが、緑膿菌の特徴、病室内の定着性、固有の R プラスミドの存在による耐性緑膿菌の蔓延の問題は諸外国でも共通である。緑膿菌の R プラスミドは不和合性という遺伝学的特性から分類されており、またその分子量も明らかにされ整理されつつある。更に R プラスミド上の耐性遺伝子についてはその耐性発

第 12 図 分離 R プラスミドの施設による相違

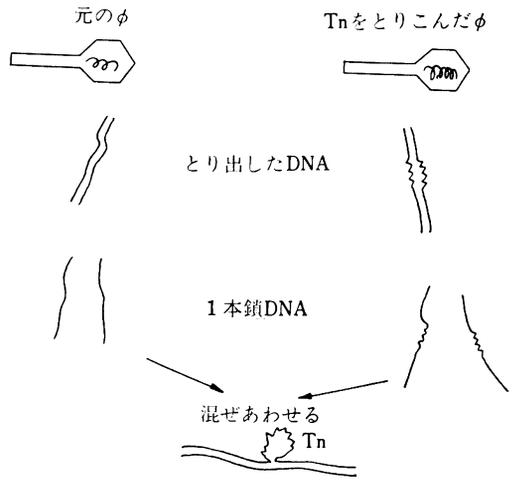


現の機構、耐性機作、プラスミド間を転移する能力、などが調べられ、将来緑膿菌という固有の環境におけるRプラスミドの特性が明らかになると考えられる。

VI. トランスポゾン (Tn)

吾々の教室で原田が *Salmonella* 菌の中の R 因子をイブシロン (e) ファージで導入したところ、R 因子の TC 耐性遺伝子部分が細菌の染色体にくみこまれたものがとれた。この菌に F 因子や、他の R 因子を伝達すると TC 耐性は容易に F-TC または R-TC として染色体からプラスミド上に転位する。また近藤が *E. coli* で R 因子を P1 ファージで導入したところ活性な P1 ファージに CP 耐性を持った P1-CP ファージが分離された。この CP 遺伝子はまた容易に F 因子や、細菌の染色体や、他の R 因子に転位する。当時この本態は不明であったが、容易に転位する耐性遺伝子を仮りに“糊づけ耐性遺伝子”と呼んでいた。最近になってこのように転位しやすい (transposable) な耐性遺伝子をトランスポゾン (Tn) と呼ぶことが Cold Spring Harbor の研究会で決った。この単位はプラスミドと異なり自己複製ができないが、他のプラスミド、バクテリオファージなどの自己複製遺伝子間を転位する能力を持ち、大きさは数ミクロンの長さである。このトランスポゾンには種々の大きさの同一ヌクレオチド配列を持つ両端 (IS) が存在し、この部分が転移の際に必須な部分である。更に転移に関係する遺伝子の他に耐性遺伝子をもつ。現在トランスポゾン上に存在する耐性遺伝子には TC, CP, SM, SA, KM, ABPC, Hg などの耐性遺伝子が見出されている。したがってトランスポゾンは R や r プラスミドの更の下位の遺伝体として耐性遺伝子の伝播に重要な役割を荷っており、R または r プラスミドの進化という観点からも見逃すことができない。トランスポゾンの検出にはバクテリオファージがしばしば用いられる。すなわち、トランスポゾンをファージ DNA に転移させ、そこから DNA を分離する (第 13 図)。この DNA を熱またはアルカリ処理により単鎖 DNA の状態にする。同様にしてもとのファージそのものから DNA をとり単鎖 DNA にする。次にこれら DNA を混ぜ合わせ、温度の低下またはホルム・アミド処理により再び二重鎖 DNA にアニーリングする。ここにおいて DNA はお互いにプラス・マイナスの糸が結合し合うので、元の DNA 同士が結合した場合は元と同様の二重鎖が再現されるが、異なる相手同士、つまりトランスポゾンが挿入されているファージ DNA と挿入されていないファージ DNA が結合すると、相同部分のみが二重鎖を形成しトランスポゾン部分が単鎖 DNA のループとして残る (ヘテロ二重鎖)。この残った単鎖部分を測定することに

第 13 図 トランスポゾン (Tn) の証明



より挿入されたトランスポゾンの大きさが分る (第 13 図)。第 3d 図は緑膿菌のファージ DNA と CBPC 耐性トランスポゾンを組み込んだ同じファージ DNA との間のヘテロ二重鎖を示している。丸くとび出た輪がトランスポゾンに担当する。

VII. 薬剤耐性の機構

薬剤耐性菌が高頻度に分離されているが、その多くは薬剤耐性プラスミドによる耐性である。このようなプラスミドによる薬剤耐性機構が研究室で実験的につくられた耐性菌のそれと著しく異っていることは周知のことである。そこで病巣から分離された薬剤耐性菌の耐性機構についてのべる。

1) ペニシリン系、セファロスポリン系抗生物質の耐性機構

ペニシリン、セファロスポリン系薬剤の β -ラクタム環を開環する水解酵素を β -ラクタマーゼという。 β -ラクタマーゼには、その基質としてセファロスポリン類よりペニシリン類をより分解するものをペーシリナーゼ (PCase) といい、ペニシリン類よりセファロスポリン類をよく分解するものをセファロスポリナーゼ (Sase) と呼んでいる。グラム陽性菌の産生する β -ラクタマーゼは RCase に属する。また、アンピシリン耐性をもつ R 因子による β -ラクタマーゼは PCase である。R 因子により産生される PCase は、その酵素学的性質から 4 群に分類されている。I 型 PCase は、オキサシリン、フェネチシリンなどはほとんど水解しないが II 型 PCase は両薬剤をよく水解するのでオキサシリン水解酵素ともいわれる。*Bordetella* 菌由来の R 因子から、基質特異性では II 型に近いが、他の酵素学的性状が異なる PCase

第8表 アミノ配糖体不活化酵素

I. リン酸化酵素 (ph) 不活化される薬剤	不活化の酵素	耐性菌種
1. KM・NM・RM・PM・LV (5''-OH)	aph(3')-I	大腸菌・緑膿菌
2. KM・NM・RM・PM・BT	aph(3')-II	大腸菌
3. KM・RM・BT・LV (5''-OH)	aph(3')-III	緑膿菌
4. RM	aph(5'')	緑膿菌
5. SM	aph(3'')	緑膿菌・大腸菌
6. SM	aph(6)	緑膿菌
7. GM・SS・DKB・KM	aph(2'')	ブドウ球菌
II. アセチル化酵素 (ac) 不活化される薬剤		
1. KM-A・KM-B	aac(6')-I	
2. 1と GM-C _{1a} ・GM-C ₂	aac(6')-II	モラックセラ
3. 2と DKB	aac(6')-III	緑膿菌
4. 3と AK	aac(6')-IV	緑膿菌
5. GM・LV・RM・BT・KM-B, -C・DKB・NM	aac(2')	プロビデンシア
6. GM-C ₁ , -C _{1a} , -C ₂ ・SS	aac(3)-I	大腸菌・緑膿菌
7. GM-C ₁ , -C _{1a} , SS・KM-B・TM	aac(3)-II	大腸菌
8. GM-C ₁ ・SS・KM-A, -B・NM・PM・TM	aac(3)-III	緑膿菌
III. アデニル化酵素 (ad) 不活化される薬剤		
1. SM	aad(3'')	大腸菌
2. SM	aad(6)	ブドウ球菌
3. GM・KM・DKB	aad(2'')	大腸菌・クレブジェラ
4. TM・KM・PM・BT・AK	aad(4')	ブドウ球菌

KM: カナマイシン, NM: ネオマイシン, PM: パロモマイシン, RM: リボスタマイシン,
LV: リピドマイシン, BT: プチロニン, SM: ストレプトマイシン, GM: ゲンタマイシン,
DKB: ディベカニン, TM: トブラマイシン, AK: アミカニン, SS: シソミン

が見出されこれをⅢ型 PCase とした。緑膿菌から R 因子が多く見出されているが、これらの R 因子による β-ラクタマーゼは PCase であるが、カルペニシリンをよく水解するカルペニシリナーゼが多い。これをⅣ型 PCase に分類した。CSase を生産する R 因子は極めて少く、その多くは菌の染色体上の遺伝子によって支配されている。従って CSase はは菌種に特有である。

2) アミノ配糖体系抗生物質の耐性機構

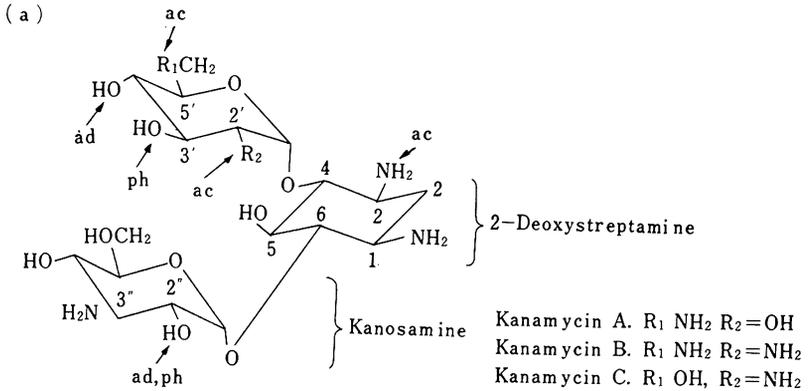
アミノ配糖体系抗生物質の耐性機構には、薬剤不活化酵素によるものと不活化によらない機構があるが、前者の耐性機構が大部分である。不活化酵素は、薬剤にリン酸をつける酵素 (phosphotransferase)、薬剤に酢酸をつける酵素 (acetyltransferase)、薬剤にヌクレオチジル基(主にアデノシン 1 リン酸)をつけて薬剤を不活性にする酵素 (adenylyltransferase) の 3 つに大別される。これらの酵素は、薬剤を不活化する部位、基質特異性などから更に細分類される。現在までに見出されているアミノ配糖体不活化酵素をまとめて第 8 表に示した。表か

らも分るようにアミノ配糖体抗生物質の不活化は多種多様である。例えば、アセチル化酵素はその不活化部位により AAC(6'), AAC(2'), AAC(3') に分類され、AAC(6'), AAC(3) については、薬剤に対する感受性、菌種から抽出された酵素の基質特異性から更に細分されている。アミノ配糖体不活化の部位と酵素の種類の多様性を KM, GM を用いて第 14 図に示した。

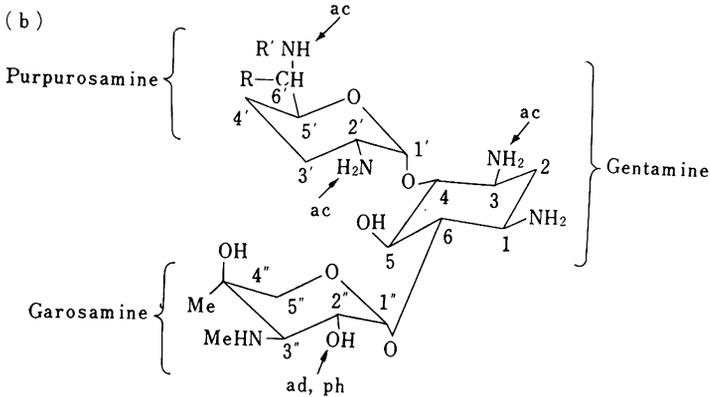
3) マクロライド系抗生物質の耐性機構

マクロライド系抗生剤 (Mac) はグラム陽性菌に有効であり、グラム陰性菌には無効である。病原由来 Mac 耐性ブドウ球菌には、構成型耐性と誘導型耐性がある。前者は、エリスロマイシン、ジョサマイシン等すべての Mac 抗生剤に高度耐性を示す。後者の誘導耐性菌は、薬剤のない状態では、菌は感受性のように見えるが、低い濃度のエリスロマイシンやオレアンドマイシンの存在で耐性が誘導され、すべての Mac 抗生剤に高度耐性化する。これら Mac 抗生剤の耐性機構は、50S リボソームを構成している 23S リボソーム RNA のアデニンのメ

第 14 図 a, KM とその不活化部位; b, GM とその不活化部位



矢印は不活化部位を示す ac : acetylation, ph : phosphorylation, ad : adenylation



テル化により薬剤が 50S リボゾームに結合しなくなり、菌は耐性化すると考えられている。

4) テトラサイクリン系抗生剤の耐性機構

テトラサイクリン (TC) 耐性は、Mac 耐性における誘導型耐性菌の場合と同じように、低濃度の TC によって、TC 耐性をもつ R 因子、TC 耐性ブドウ球菌、TC 耐性緑膿菌の TC 耐性は、誘導され耐性値は上昇する。TC 系抗生剤に対する耐性機構は、膜透過能の低下によるもので、TC 耐性を与える R 因子をもつと、その菌の表層に TC を透過させない蛋白質が新たに作られることが明らかになった。この蛋白質は、TC の菌体内への能働輸送を阻止し、TC 耐性を発現させる。

5) クロラムフェニコールの耐性機構

R 因子によるクロラムフェニコール (CP) 耐性機構は、不活化酵素 (Chloramphenicol acetyltransferase, CATase) による薬剤の不活化と、不活化酵素によらない耐性機構、つまり菌体内への CP の透過性の減少の 2

つに大別されるが大部分は前者である。CATase は CP のプロパンジオール部分の 3 位の OH をアセチル化し、次いで 1 位の OH もアセチル化する。CP はジアセチル化のみならずモノアセチル化によっても全く抗菌力を消失する。CATase は R 因子による耐性菌のほか、CP 耐性ブドウ球菌、緑膿菌の R 因子にも見つけられている。

6) サルファ剤の耐性機構

サルファ剤 (SA) は葉酸代謝系の酵素 (dihydropteroate synthetase, DHPS) を阻害するが、R 因子による SA 耐性機構の 1 つには、この酵素が SA に耐性になり SA によって阻害をうけない酵素の産生によるものが知られている。今 1 つの機構には、薬剤の菌体内不透過によるものがある。

7) 不活化によらない耐性機構

TC 耐性、SA 耐性のあるものは薬剤の菌体内侵透性の低下によると思われる耐性がある。この他 β-ラクタム剤、CP、アミノ配糖体耐性の中に薬剤の菌体内侵透性

の低下によると思われる耐性が知られている。しかし各菌種のもつ細胞壁構造の研究は、ブドウ球菌、大腸菌を除いて、充分ではなく、この領域の発展は今後に残された問題が多い。

結 び

化学療法剤の普及は医学の世界に革命的な変化を与えた。しかしその広汎な普及と大量の薬剤の消費は多剤耐性菌の出現と、その濃厚な汚染を惹きおこしてきた。一方これらの問題を背景として、薬剤耐性因子が発見された。伝達性 (R)、非伝達性 (r) とを問わず耐性因子は細胞間における遺伝情報の交換という仕組みがいかにか巧妙に行われているかを吾々に教えた。

更にトランスポゾンの発見はまた過去の遺伝学には知られなかった新しい事実を明らかにし、DNA の変化と進化を知る上で、新しい手がかりを得るに到った。耐性因子の発見と、その濃厚な侵襲は、化学療法剤の使用をより高次の立場から考えなおす機会を与え、病院、畜舎、鶏舎、養魚場の衛生管理に新しい問題を提示するに到った。基礎、臨床家が共に手を結んで新しい視野からの対策が考えられねばならない時期に立ち到

ったものと考えられる。

これほど強力な遺伝子の運び屋の存在は、一方基礎研究者にとって今後遺伝子工学の上での最もすぐれた研究対象として、また遺伝子進化の仕組みを知る重要な材料となり得るであろう。

参 考 書

文献の数が極めて多く、全部を正確に掲載することが困難なので次の参考書を参照されたい。欧文邦文の文献が正確に引用されてある。

- 1) R factor-Drug Resistance Plasmid (MITSUHASHI, S. ed.), 1977, University of Tokyo Press
- 2) MITSUHASHI, S.: Drug Resistance Plasmids. Molecular & Cellular Biochem., 1979 (in press)
- 3) 薬剤耐性エビゾームと耐性因子(三橋進編), 1972, 朝倉書店, 東京
- 4) Epidemiology of Bacterial Resistance. (MITSUHASHI, S. ed.), Kodansha and Springer Verlag, 1979 (in press)
- 5) 渡辺 力: エビゾーム, 岩波書店, 東京, 1970
- 6) 中谷林太郎: 薬剤耐性, 講談社, 東京, 1971
- 7) 松原謙一: プラスミド, 講談社, 東京, 1977

DRUG RESISTANCE PLASMIDS

SUSUMU MITSUHASHI

Department of Microbiology

Laboratory of Bacterial Resistance

School of Medicine Gunma University

One of the most important discoveries in bacteriology since the introduction of antibiotic substances for treating bacterial infections has been the occurrence and spread of the resistance (R) factors. The R factors were discovered from the epidemiological studies of multiple resistance in *Shigella* strains in Japan, where the incidence of *Shigella* infections had not decreased remarkably by the mid-1960s with the situation remaining much the same as it is in developing countries in the tropics.

The nonconjugative resistance (r) plasmids were also discovered from the epidemiological studies of multiple resistance in *Staphylococcus aureus*. The R and r plasmids have been found to be the most important factors responsible for the spread of multiple resistance in bacteria.

The histological background of R plasmid discovery, genetics and molecular biology of R plasmids are described in this review. Biochemical mechanisms of plasmid-mediated resistance are also included. The discovery of transposon resulting from the R plasmid research is the intriguing findings in genetics and will be one of the most important fields for gene evolution.