

# 特別講演

## 形態変化から見た耐性

京都薬科大学微生物 西野 武志

$\beta$ -ラクタム抗生物質は、細胞壁ペプチドグリカン合成の最終段階で行われるトランスペプチダーゼ反応およびトランスグリコシラーゼ反応を阻害、いわゆるペニシリン結合蛋白 (PBPs) に作用することにより、細胞壁の合成を阻害し細菌を死滅させます。しかし、細胞壁の合成が阻害されただけでは、細菌は死滅せず、殺菌されるためには細菌自身が保有する自己溶解酵素 (autolytic enzyme) が働き、自分自身の細胞壁が消化されることにより死滅する。従ってこの自己溶解酵素は自殺兵器にもなるが、細菌細胞が正常に分裂・増殖している場合にはむやみに働かないように調節されていると考えられている。一方、この自己溶解酵素が阻害されると、細菌は死滅しなくなり、いわゆるトレランス (耐性) となる。私共はこのような現象を電子顕微鏡を用いて証明しているのです、本講演ではこれらの結果などを含めて紹介したい。

$\beta$ -ラクタム抗生物質をブドウ球菌などのグラム陽性菌に作用させた場合、MIC 近辺の濃度では溶菌・殺菌されるが、10MICあるいは50MICと濃度が高くなるに従って、溶菌・殺菌されなくなる現象 (Eagle effect; 反転現象) が観察される。この時の内部構造を透過型電子顕微鏡で観察すると、MIC 近辺の濃度ではプロトプラスト形成や溶菌像が観察されるが、高濃度では全く溶菌像が観察されない。しかし、隔壁形成部位には膨隆像が観察され、高濃度作用時にも確実に PBPs に作用していることが判明した。このような現象は高濃度になると自己溶解酵素が阻害されたために起こると考えられている。この現象は全ての  $\beta$ -ラクタム抗生物質で観察されると考えられていたが、一部の  $\beta$ -ラクタム抗生物質では見られないので、これらの結果についても考察したい。また、 $\beta$ -ラクタム抗生物質を蛋白合成阻害剤のマクロライド抗生物質、テトラサイクリン、クロラムフェニコールあるいはアミノ

ニック物質のポリアネトールスルホン酸、ヘパリン等と併用すると、拮抗現象が観察され、 $\beta$ -ラクタム抗生物質による溶菌・殺菌が完全に阻害されるが、この現象もこれらの物質により自己溶解酵素が阻害されたために見られる現象である。

一方、ブドウ球菌などのグラム陽性菌に存在するリボタイコ酸 (LTA) は、自己溶解酵素の阻害剤として作用していることが知られている。 $\beta$ -ラクタム抗生物質を作用させた場合、この LTA が遊離し、自己溶解酵素が活性化され、細菌は殺菌される。私共は LTA をブドウ球菌から抽出・精製 (native-LTA) し、これより alanine-free LTA を得、 $\beta$ -ラクタム抗生物質作用時に alanine-free LTA を作用させたところ、 $\beta$ -ラクタムによる殺菌が完全に阻害された。この時の内部構造を観察したところ、alanine-free LTA によりブドウ球菌のプロトプラスト化が完全に阻害されており、自己溶解酵素が阻害されていることが分かった。

マクロライド抗生物質は、通常グラム陰性菌には抗菌力を示さない、すなわち耐性であるが、ブランハメラ等の一部のグラム陰性菌には抗菌力を示す。耐性である理由は、外膜に存在するリボ多糖 (LPS) に由来しており、マクロライド抗生物質が抗菌力を示すブランハメラ等は LPS が rough 型で、元々耐性の菌は smooth 型であることを明らかにした。また、マクロライドを作用させたブランハメラでは、細胞壁のペプチドグリカン層に変化が観察され、グラム陽性菌におけると同様の作用を有することが示唆された。

時間があれば、グロボマイシン、バイサイクロマイシン等がグラム陽性菌に抗菌力をしめせず、グラム陰性菌にのみ抗菌力を示す理由や  $\beta$ -ラクタム抗生物質が pH により抗菌力が左右される要因などについても紹介したい。

## 1. 遺伝子構造から見た薬剤耐性菌

岐阜大学医学部微生物 江崎 孝行

ペニシリンの発見以来、半世紀にわたって生物学の大きな実験が地球的規模で繰り返されてきた。放線菌群が生産する抗生物質が細菌感染症を制圧するとの楽観的な期待から始まった実験は、薬剤耐性をにやう伝達性のプラスミッドを世界に先駆けて発見した日本の医師達は早くからその将来に不安を予感しながら実験を見守ってきた。半世紀後、人類はその不安が的中したことを知り、細菌が如何に逞しく多様な環境に適応して進化していく生物であるかを学んだ。

この逞しい細菌の持つ耐性化機構の複雑さの一つの薬剤の耐性を眺めても単純ではない。Tetracyclinの耐性を見してみると transposon に乗り、プラスミッドやファージによって運ばれて来る外来性の遺伝子を取り込む耐性から、tet gene family 遺伝子の様に薬剤排出ポンプを変化させ耐性化する株もある。更に広範囲の薬剤の取り込みと排出をコントロールしている regulon を変化させ耐性化する株も存在し、単純に一つの構造遺伝子の解析だけでは理解できない。

あえて薬剤耐性を遺伝子の解析方法を念頭に置いて分類すると大きく次の3つに分かれる。

- 1) 染色体上の特定の遺伝子配列の突然変異による耐性獲得
- 2) プラスミッド、ファージ、及びトランスポゾンによる遺伝子の水平伝播による耐性化
- 3) 薬剤排出ポンプなど house keeping genes の発現量の変化と変異による耐性化

この3つに耐性を無理やり分類し、各グループの耐性遺伝子を解析あるいは予測する方法を紹介するのが私の発表の目的でもある。

現在、我々はすべての微生物の同定を一枚のDNAチップ上で行うプロジェクトを遂行中であり、この仕事の流れの中で薬剤感受性もチップで判定する事を将来の目標としている。

1) の一つの染色体上の遺伝子の変異の解析は精力的に研究が進み、膨大なデータの蓄積が進んでいる。例えば quinolone 耐性に関与するDNA gyrase Aの配列データの蓄積を利用すれば、hot spot は比較的特定の箇所に集中し

ていることがわかる。この際変異をおこした配列をシーケンスすれば明確に耐性が予測できるが、診断、治療に直結する遺伝子検査をやるためのシーケンスでは実用性が薄い。そこで現在実用化されようとしている方法はチップ上に予測される配列の違った塩基を合成し検体とハイブリッドを形成させ、各々の配列とのハイブリッドのシグナルの強さで配列を予測する方法がとられている。これにより配列の変異をシーケンスせずに予測できる。2) のトランスポソンの多くは3) の house keeping gene が長い歴史の中でトランスポゾンとして特化した物で、基本的には2)と3)は同一の物である。ところがトランスポゾンとしてプラスミッド上に集約された遺伝子の多くは特定の微生物の house keeping gene 遺伝子が進化した物で時間経過が大きく異なる。特化した変異遺伝子の多くは変異と組み替えを繰り返し、特徴的な配列を有している。 $\beta$ -lactamaseの解析から得られた数百種類の配列をDNAチップ上に固定しておけば耐性が予測できると考えている。これは単純に変異した遺伝子を増幅しチップ上に固定した遺伝子配列とハイブリッドを形成させて検出するだけでよい。

3) の代表的な遺伝子は解析が進んだ薬剤排出ポンプで house keeping gene の一つである。Proton 依存性の multiple drug resistance system には *Staphylococcus aureus* に代表される SMR family, *Escherichia coli* に代表される RND family, 及び MFS family がある。これらの排出ポンプ以外にも house keeping gene の多くが薬剤耐性に関与している。未知の物を含めこれらを個体レベルで一気に解析するためには細菌の個体全体の遺伝子を固定し、細胞の全 mRNA の発現を解析する genome tip の作成が不可欠である。細菌一つのゲノムの総数は数千種類であり、DNA チップを使った解析はヒトゲノムに比べれば極めて容易である。幸い既に多種類の細菌のゲノムプロジェクトが進んでおり、全ゲノム配列を入手できる環境が整備されつつある。我々も現在サルモネラでゲノムチップの作成を目指しており、約900種類のゲノムをチップに固定して細胞の主たる mRNA の発現量を解析する予定である。この解析を通じ薬剤に暴露された細菌の遺伝子の発現の変化、あるいは耐性菌と感受性菌の mRNA の比較から耐性化に関与している新しい遺伝子群を解析できると期待している。

## 2. 日本における耐性菌の現状

琉球大学医学部第一内科 斎藤 厚

ペニシリンの発見は輝かしい化学療法の歴史の幕開けであり、人類に計り知れない健康と福祉をもたらしたが、同時に新たに出現する耐性菌との戦いの始まりでもあった。抗菌薬のめざましい開発は次々と台頭する耐性菌に対して勝利し、感染症は見事に制圧されたかに見えた。ところが近年、細菌側の一斉蜂起とも云うべき多数の耐性菌が出現してきた。

本講演では、近年注目されている耐性菌とその感染症の現状について述べてみたい。

**MRSA**：いわゆる第三世代セフェムの多用によって、1980年後半からMRSAによる院内感染が社会問題になったことは記憶に新しい。その後、各病院においては院内感染対策が講じられ、重症肺炎や腸炎は見られなくなったが、MRSAの検出は依然として高頻度であり、院内における常在菌化してしまっている。VCMが治療薬剤であるが、VCM耐性菌の出現の報告はあるが、増加の兆しはない。一方、新しく開発されたTEICに対しては、耐性化傾向が著明である。

**PRSP**：ペニシリン耐性肺炎球菌（PRSP）の分離頻度は年々上昇し、われわれの施設ではPISP60%、PRSP10%となっている。同時に、マクロライド、クリンダマイシン、テトラサイクリンあるいは経口セフェム系薬へも耐性化が進んでいるので、最近ではニューキノロン系薬の使用頻度が増加している。われわれの施設ではキノロン耐性肺炎球菌の頻度は20%程度に上昇し、CPF<sub>X</sub> ≥ 32 μg/ml、SPFX ≥ 16 μg/mlの高度耐性菌感染症を経験しており、今後の動向に注意が必要である。

**VRE**：欧米のICUを中心に出現したVREはわが国においても1996年から症例の報告がなされるようになった。

VREの出現はヨーロッパでは動物の飼料添加物として使用されていたアポバルシンが原因とされている。わが国では1997年以降使用禁止措置が取られているが、輸入鶏肉などからは依然としてVREが検出されており、今後の増加は必須と思われる。治療薬としては、現在ストレプトグラミン、ケトライドの検討が開始されたばかりであり、海外ではオキサゾリジノン系、新規のグリコペプチド、フルオロキノロンなどが検討されているが、現時点の臨床では有効な薬剤をまだ持っていない。

**BLNAR**：βラクタマーゼ非産生ABPC耐性イに増加して来ている。現在の頻度は20-40%となっており、第1、第2世代セフェム系、第3世代を含む経口セフェムに耐性である。治療薬剤としては、ニューキノロン系薬が第一選択であるが、すでにこれに対する耐性菌の報告も見られている。第3、4世代セフェム、カルバペネム系薬などが用いられるが、耐性機構から見てこれらに対する耐性化の上昇が危惧される。

**グラム陰性桿菌**：欧米で問題になっているESBL（基質拡張型βラクタマーゼ）産生菌やカルバペネムを分解するメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌などが少数ながら分離され、臨床でも注目されつつある。

近年の耐性菌感染症は急速な出現とその多様性を特徴としている。わが国では国立感染症研究所感染症情報センターから薬剤耐性菌情報がインターネット上に公開されているし、海外情報としては、CDC、NIH、WHOやペンシルバニア大学などから多くの情報が発信されている。感染症治療に携わっている臨床医にとってはこれらの最新の感染症情報にも気を配っておく必要がある。

## 抗菌薬による稀な副作用，PIE 症候群，間質性肺炎

川崎医科大学呼吸器内科 松島 敏春

薬剤には有効性と毒性という相反する二面がある。有効性が100%で、毒性が0%の薬剤が理想的ではあるが、その様な薬剤は現実には存在せず、両者の強弱を勘案して使用されている。抗菌薬は疾患の原因となった病原微生物を消滅させることを目標とした、素晴らしい薬剤であるが、また同時に色々の副作用も有している。抗菌薬の重大な副作用とされるものの一つに、PIE症候群、間質性肺炎がある。ちなみに重大なとは、死に至る可能性のある病態を来すものである。添付文書の副作用にはPIE症候群と間質性肺炎は併記されている場合が多い。PIE症候群とは末梢血に好酸球が増加し、肺炎用の陰影を呈するもので、すなわち、アレルギー反応に基づき肺炎を示唆している。間質性肺炎とは、肺胞腔を支持している肺の間質に病変の主体のある肺炎のことで、病原微生物によらない肺炎を示唆している。しかし両者の病態は区別できるものではなく、肺臓炎として纏めうる。従って、薬剤による肺臓炎とする法がよいと考える。

此の副作用は、“まれに”と記載されている。稀にとは0.1%未満の頻度で起こるものとされている。1977年から1994年までに臨床試験がなされた抗菌薬約100,000例における頻度は0.003%であった。此の頻度は他の薬剤における発生頻度とはほぼ等しい。添付文書にPIE症候群の副作用が記載されている薬剤は72で、うち、抗菌剤が62薬剤を占め、間質性肺炎の記載は189薬剤で、うち、抗菌剤が68薬剤である。殆ど全ての抗菌薬で起こりうるが、中でもミノサイクリンが有名である。

症状は、発熱、咳、呼吸困難などで、軽重様々であり、重症例は呼吸不全を伴う。発疹を伴うものは意外に少なく、白血球増多、好酸球増多を伴うこともあるが、一定の

所見は得られない。胸部レントゲン写真では、移動、出没する陰影（レフレル症候群型）や、逆肺水腫型の陰影を来すことが多い。肺機能検査や、気管支肺洗浄液の検査は急性期に施行できないことが多く、血液ガス分析では低酸素血症を来していることが多い。

診断が難しく、殊に肺炎治療の場合の鑑別は難しい。最近、両者を鑑別するためにKL-6を使用出来るようになっており、我々のデータを報告する。確診の方法として最も理論的であるのはチャレンジテストであるが、倫理上許されない。DLSTテストは原因薬剤を決めるのにはよいが、陽性と出るのは半数以下である。薬剤投与中止後の症状改善などによる臨床診断でよいと考えるが、数種類の抗菌薬やその他の薬剤を併用していることが多く、原因薬剤の決定が出来ない点に問題がある。

原因薬剤の投与中止により軽快すればよいし、改善しない場合や重症例ではステロイド薬を使用する。殆どの場合予後良好であるが、もし、当該薬、あるいは類似薬を続行すれば病態が悪化し、死亡の危険性もある。したがって、抗菌薬による肺臓炎という重大な副作用のあることを知っていること、治療にあたって発熱などを来たし、経過が思わしくない場合にはその可能性を考慮することが重要と考える。

どの様な機序により肺臓炎を来すかについては充分に解っていない。此の点に関するさらなる研究が必要であるし、迅速で確実な診断法の開発が望まれる。21世紀においては安全性を重視した抗菌薬と、有効性を優先した抗菌薬の、2極に分化した薬剤の開発に進む可能性がある。

### 1. 前立腺癌に対する遺伝子治療の現況と展望 - 自殺遺伝子治療を中心に -

岡山大学医学部泌尿器科 那須 保友

前立腺癌に対する単純ヘルペルウイルス・チミジンキナーゼ (Herpes simplex virus-thymidine kinase : HSV-tk) 遺伝子とガンシクロビル (Ganciclovir : GCV) を用いた“自殺遺伝子治療”は、癌に対する遺伝子治療の基礎ならびに臨床研究において最も進んでいる領域のひとつである。

本講演では、岡山大学ならびに米国ペイラー医科大学との共同で進めてきた自殺遺伝子治療の内容を中心に紹介することで、前立腺癌に対する遺伝子治療の現況ならびに展望を述べたい。

#### 【臨床研究の現況と展望】

米国ペイラー医科大学において、放射線治療後の遠隔転移を有しない局所再発前立腺癌患者を対象とし、HSV-tk遺伝子発現アデノウイルスベクターとGCVを用いた第1相臨床試験が1996年より開始された。その結果、試験の主な目的であるアデノウイルスベクターを前立腺癌患者に局所投与することならびにGCVを投与することの安全性が確認された。さらに腫瘍マーカーであるProstate specific antigen (PSA) の低下を示す症例を認め、臨床的有効性も確認された。前立腺癌に対する遺伝子治療の臨床的有効性を示した最初の報告であるとともに、自殺遺伝子治療の臨床的有効性を示した報告として注目された (Human Gene Therapy. 10:1239, 1999.)。

岡山大学泌尿器科では米国ペイラー医科大学との共同研究として同様の試験の実施を国に申請中であり、その対象は、日本における前立腺癌患者と治療法の特性を反映して、内分泌療法抵抗性局所再発前立腺癌を予定している。手技的には超音波ガイド下にアデノウイルスベクターを癌病巣に注入した後、プロドラッグであるGCVを投与することで治療効果を得ることが可能であり、きわめて簡便である。また考えられる副作用も他の治療法と比較して軽微であることより、患者のQOLを損なう可能性は極めて低い治療法といえる。

#### 【基礎研究の現況と展望】

前立腺癌に対する従来の治療法と自殺遺伝子治療法と併用効果に関する基礎研究は既に行われ、内分泌療法との併用効果 (Cancer Gene Therapy. 6:54, 1999.)、放射線治療法との併用効果が確認された。

さらに前立腺癌に対する治療効果が確認された新しい遺伝子治療法と自殺遺伝子治療法との併用も検討されている。我々はInterleukin-12発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療の前立腺癌に対する有効性を示したが (Gene Therapy. 6:338, 1999.)、さらに自殺遺伝子治療法との併用効果も確認した (Gene Therapy. in submission)。

組織特異的プロモーターを用いた前立腺癌に対する自殺遺伝子治療の研究は、臨床応用の観点から最も興味ある領域である。我々は前立腺癌の転移ならびにホルモン不応性の獲得というprogression (悪性進展) には細胞膜陥凹の構成蛋白であるカベオリンの発現が関与していることを明らかにしており (Nature Medicine 4:1062, 1998. Clinical Cancer Research 4:1873, 1998.)、カベオリン発現プロモーターと自殺遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを作成し研究を行っている。

遺伝子治療の研究は、基礎研究における成果を臨床に効率よく橋渡しするための研究 (トランスレーショナル・リサーチ) そのものである。臓器そのものへのアクセスが容易であること、治療効果の判定もPSAを用いることで容易に行える点より、前立腺はトランスレーショナル・リサーチとしての遺伝子治療研究を実践するに適した臓器であるといえる。前立腺癌に対する遺伝子治療研究の進む方向は癌の遺伝子治療全体の進む方向を示しているといっても過言ではない。

講演においては上記の内容を中心として、前立腺癌に対する遺伝子治療の基礎研究、臨床研究の現況と展望を述べる予定である。

## 2. 消化器癌化学療法における抗癌剤耐性の克服

和歌山県立医科大学第二外科 山上 裕機・谷村 弘・堀田 司

消化器癌に対する化学療法の効果を規定する因子として抗癌剤耐性があり、アドリアマイシン (ADM) に代表されるanthracyclin系抗癌剤に対する耐性細胞の表面には、細胞内に流入した抗癌剤を細胞外に汲み出すポンプ作用を有する P-glycoprotein (Pgp) が多量に発現しており、この蛋白は多剤耐性遺伝子 (MDR1 gene) でコードされている。ADMは消化器癌において頻用されている抗癌剤であり、その低感受性や耐性を克服するために verapamil や cyclosporin A が併用されたが、いずれも副作用のために臨床応用できないのが現状である。

教室では、この感受性増強あるいは耐性克服薬として副作用が少なく、有効血中濃度の達成が臨床的に可能であるタモキシフェン (TAM) とセファランチン (CEP) について検討した。

胃癌 38 例、大腸癌 40 例を含む消化器癌 96 例から分離した腫瘍細胞と ADM を *in vitro* で混合培養して、腫瘍細胞のコハク酸脱水素酵素 (SD) 活性の抑制率で抗腫瘍効果を判定する抗癌剤感受性試験 (SDI法) の系に種々の濃度の TAM または CEP を添加した。その結果、腫瘍細胞の SD 活性抑制率と Pgp の発現は負の相関を示し、Pgp の発現が高いほど ADM の感受性が低いことが確認できた。臨床的に到達できる TAM 1  $\mu\text{g/ml}$  または CEP 1  $\mu\text{g/ml}$  の添

加により ADM に対する感受性が増強し、とくに ADM 低感受性例で強く増強し、本研究の目的に合致した ADM の感受性増強効果が得られた。さらに、TAM または CEP の添加により、腫瘍細胞内の ADM 濃度が上昇したが、その機序として、腫瘍細胞を ADM で処理後に経時的に細胞内濃度を測定した結果から TAM や CEP は ADM の細胞外排泄を抑制することを明らかにした。さらに、TAM と CEP を併用することで、ADM の感受性は相乗的に増強した。

以上より、TAM や CEP は Pgp を抑制することで ADM の抗腫瘍効果を増強するが、臨床投与における問題点は腎臓、副腎、肝、血液脳関門などの正常組織に Pgp が発現しているため、TAM や CEP の併用投与により副作用が出現する可能性があるが、投与量や投与方法を工夫することで十分臨床応用が可能と考える。

Pgp をコードする MDR1 遺伝子以外にも多剤耐性関連遺伝子 (MRP/MRP1, MRP2) や p53 遺伝子などの多くの遺伝子が抗癌剤耐性に関与している。さらに、5-FU の抗癌剤感受性は DPD や TS などの 5-FU 代謝酵素の活性により規定されるので、今後、単一の遺伝子を解析して臨床的な抗癌剤耐性を判定するのではなく、DNA マイクロアレイの応用により抗癌剤感受性に関連する多くの遺伝子を一度に解析することが重要である。

## 3. 外科領域における緑膿菌感染症

広島大学医学部第一外科 竹末 芳生・佐々木 秀  
同 総合診療部 横山 隆

【目的】近年、緑膿菌のカルバペネム耐性が注目されており、またその機序として従来の外膜透過性の変化以外にメタロβラクタマーゼによる耐性化も報告されている。消化器外科領域では、過去の予防抗菌薬乱用の反省から、近年抗菌薬の適正使用が普及しており、果たして他の領域と同様に緑膿菌の抗菌薬耐性化が進んでいるのか、またその耐性機序に変化が起きているのか、について検討を行った。

【方法】1) 過去16年間(1983年～1998年)に当科で分離された緑膿菌552株を対象としimipenem (IPM), ceftazidime (CAZ), gentamicin (GM) に対する耐性率の変化を検討した。また耐性率の増加と院内感染の関係を検討する目的で、緑膿菌型別免疫血清を用い、血清型別分類を行った。最近2年間に分離した70株については、パルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)によるゲノムパターンを解析した。耐性株の判定はNCCLSの基準を用いた。2) 当科の消化器手術における予防並びに治療的抗菌薬の使用状況について1992年と1998年で比較した。3) 過去2年間に分離されたIPM耐性緑膿菌について各種抗菌薬に対する感受性を比較し、さらにPCR法を用いてメタロβラクタマーゼの構造遺伝子*bla<sub>IMP</sub>*保有の有無を検討した。

【結果】1) 緑膿菌の抗菌薬耐性率: IPM/CSが発売された1987年にすでに6.4%耐性株が検出されており、1998年までの平均IPM耐性率は21.5%であった。とくに90年34.0%、91年47.0%、94年33.3%と高率であり、これは90、91年に流行したF群(この2年間のF群のIPM耐性率90.9%)、94年のB群(同年のB群のIPM耐性率77.8%)などのカルバペネム耐性株の院内感染によるものであった。その後カルバペネムの使用ガイドラインをだし乱用を抑えた

結果、95年以降はIPM耐性率は15.0%に留まり、特定の院内感染株は血清型別分類では証明されなかった。また最近2年間の株をPFGEにより解析したところ、一次感染菌と術後感染菌との間には遺伝学的に近似性が低いこと、IPM耐性株のゲノムパターンには近似性が低いこと、血清型の異なる株でも近似な場合があることが示された。

2) 抗菌薬の使用状況: 治療的抗菌薬では、カルバペネムは1992年19.5%→1998年9.0%、アミノ配糖体は25.5%→3.2%といずれも手術例における使用頻度は有意に減少した。予防抗菌薬に関しては、1992年では広域セフェム剤が65%の症例に使用されていたが、1998年では14%と有意に減少した。

3) カルバペネム耐性緑膿菌の耐性機序: メタロβラクタマーゼ産生株は1997、1998年と認められず、IPM耐性株は、CAZに対し83.3%、meropenemに80.0%、ciprofloxacinに60.0%が感受性であり、他の抗菌薬との交差耐性は低率であった。これらより臨床分離株のIPM耐性化は、従来と同様にIPM通過孔欠損による外膜透過性の低下が主に関与していることが推察された。

【考察、結語】1990年代前半では特定の院内感染株の流行により緑膿菌におけるカルバペネム耐性率は高率であったが、1990年代後半ではカルバペネム使用頻度の減少によりカルバペネム耐性率は低下し、メタロβラクタマーゼ産生株も認めなかった。使用頻度の減少の原因として、カルバペネム使用ガイドラインの効果とともに、予防抗菌薬の適正使用が影響したと考えた。すなわち予防抗菌薬として以前は広域セフェムが高率に使用されていたため、術後感染発症時には、カルバペネム使用やアミノ配糖体併用を行わざるをえない事が多く、これらの乱用につながったと推察した。

### 4. 女性性器感染症の基礎と臨床

岐阜大学医学部産婦人科 三嶋 廣繁

産婦人科領域感染症は、外性器感染症、膣炎、内性器感染症、子宮頸管炎、羊水感染症（絨毛羊膜炎も含む）、尿路感染症に大別される。外性器感染症としては、バルトリン腺炎・膿瘍、外陰炎・膿瘍がある。内性器感染症とは、子宮内感染、子宮付属器炎、骨盤腹膜炎、ダグラス窩膿瘍、子宮旁結合織炎など内性器およびその結合組織の炎症の総称である。内性器感染症は大部分が上行性感染であり、子宮内感染から子宮付属器炎へ、子宮付属器炎から骨盤腹膜炎へと進展することが一般的である。したがって、今日では骨盤内炎症性疾患(PID: pelvic inflammatory disease)と表現されている。今回の講演では、我々が明らかにしてきた女性性器感染症のトピックスについて概説したい。

バルトリン腺炎・膿瘍では、呼吸器感染症の代表的な原因菌である *Haemophilus influenzae* や *Streptococcus pneumoniae* などが検出される割合が増加している。近年の性活動様式の変化がこの原因として考えられるが、これをバルスフィールド電気泳動法により確認できた症例を呈示したい。また、呼吸器感染症において見られるようになってきたBLNARやPRSPなどの耐性菌も検出されており治療に難渋するケースもあり、具体的な症例を呈示したい。

産婦人科領域でも、*Pseudomonas aeruginosa*の検出率は、immnocompromised host化した担癌患者の感染症でしばしば検出されるために上昇してきている。このような宿主から検出された*P. aeruginosa*は多剤耐性菌であることが多いが、カルバペネム薬ではその感受性に違いが大きく、アズトレオナムで比較的感受性が保たれていた。*P. aeruginosa*による感染症の薬物療法においては薬剤感受性試験が極めて重要である。

*Chlamydia trachomatis*は、近年、増加傾向が著しい性感染症(STD)のひとつである。急性腹症のような激しい症状を示す骨盤腹膜炎や肝周囲炎を*C. trachomatis*感染により発症することがある。PIDでは、*C. trachomatis*感染の合併例の割合は増加傾向にある。子宮頸部に*C. trachomatis*の証明された例の30%前後に子宮内膜炎・子宮付属器炎が認められた。

産婦人科領域の真菌症は、表在性真菌症と深在性真菌症に大別される。表在性真菌症では、カンジダ膣・外陰炎が、深在性真菌症としては、骨盤腹膜炎などの骨盤内真菌症があげられる。最近の産婦人科領域の真菌症は、表在性真菌症と深在性真菌症ともに*Candida albicans*のみならず、non-*albicans* candidiasisとして*Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*などによるものが増加傾向にある。non-*albicans* candidiasisは、各種抗真菌薬に対して感受性が低く、*Candida*の環境への対応性、耐久性が強いために難治性になりやすい。

羊水感染症（絨毛羊膜炎も含む）は、早産、前期破水と関係することが最近明らかになってきた。妊婦の細菌性膣症の頻度は14～21%であり、羊水感染症、絨毛羊膜炎、正期前の低出生体重児出産、産褥子宮内膜炎と関係がある。我々は、早産、前期破水の予防のために、子宮頸管粘液中のエンドトキシン・インターロイキン-8(IL-8)の測定が有用であることを明らかにしたのでこれを示したい。また、GBS感染症の発症メカニズムについても新しい知見を紹介したい。

産婦人科領域においても尿路感染症の占める割合は高い。近年はSTDの原因菌である*C. trachomatis*の関与する尿道症候群にも注意すべきである。

### 5. *Chlamydomonas reinhardtii* の外膜構造と種特異抗原の解析

川崎医科大学呼吸器内科 宮下 修行・松島 敏春

クラミジアの感染、増殖は基本小体（以下EB）の動物細胞への侵入から始まるが、この動物細胞への侵入にはまずEBの動物細胞表面への吸着が必要である。この吸着にEB外膜構成成分が関与していることから、EB表面の性状は感染の成立に特に重視されている。EB外膜は物理的に強靱である。この剛性は外膜構成蛋白中のシステインのSS結合によるもので、クラミジアには一般細菌の形態保持に関するペプチドグリカンはない。外膜は厚さ約8nmの三層構造を呈し、ネガティブ染色やシャドウイング法で内葉は六角網目状の規則構造からなる。この内葉の規則構造は物理剛性を欠く網様体（以下RB）外膜にはなく、EBへの成熟変換に伴って形成される。換言すれば、EB外膜の剛性は外膜内葉の規則構造による。*C. pneumoniae*のEBを高純度に精製した後、さらに外膜を抽出し、これを他種クラミジアの外膜とIBAS高速画像解析装置を用いて比較したところ、規則構造の周期性は172～176Åにまたがるが、クラミジア種間で有意差はなく、かつ*C. pneumoniae*株間でも球形EBと西洋梨状EBとの間で大差はみられなかった。この結果は、*C. pneumoniae* EB外膜の基本形態は他種クラミジアのそれと差がないことを強く示唆している。この類似性はポリアクリルアミド電気泳動による蛋白パターンでも認められる。

電気泳動で識別可能な精製EB全体の蛋白は約35種類あり、外膜は少なくとも18種類の蛋白から成り立っている。これらのうち分子量40kDa前後の蛋白はクラミジア種のいかなを問わず、外膜全蛋白のおよそ60%を占め、主要外膜蛋白（以下MOMP）といわれており、この蛋白が*C. trachomatis*や*C. psittaci*などのEBの吸着に関与する蛋白アドヘジンであるとされている。MOMP以外にアドヘジンとして機能する外膜蛋白は、*C. psittaci*では分子量16, 30kDaの蛋白、*C. trachomatis*では分子量18, 32kDaの蛋白が知られている。StephensらはEBがムコ多糖 glycosaminoglycan (GAG) に対するレセプターを表面に持っており、EBに結

合したGAGが宿主細胞表面のレセプターと結合することによって吸着することを報告している。EB表面のGAGレセプターの本態は明らかでないが、MOMPや60kDa蛋白が推定されている。EB表面のGAGレセプターが抗体に結合すればGAGの結合が阻害され、その結果、吸着阻害が起こり、クラミジアの感染は成立しなくなる。

吸着を阻害すれば感染は成立しないという事実は吸着因子の特定と、その因子に対する生体反応、なかんずくワクチンの開発に直結する問題である。私どもは*C. pneumoniae*に対するモノクローナル抗体を作製し、これが種特異的であり、分離株の同定に使用出来ることを報告した。さらに本モノクローナル抗体は、吸着を阻害し感染を中和することも確認した。重要なことは、MOMPや60kDa蛋白と異なり株特異性ではなく、種特異性を示すところにある。しかし本抗体の対応抗原が菌体表面に分布していることは免疫電顕法で容易に証明出来るが、菌体あるいは外膜を可溶化して反応させる免疫プロット法では反応が認められず、対応抗原を特定できない。このことから対応抗原は易変性抗原あるいはコンフォメーション依存性抗原と考えられている。私どもは、radioimmunoprecipitation法を使用してこの対応抗原を明らかとし、*C. pneumoniae*種特異的の中和抗原として現在遺伝子解析を進めている。この感染中和能を持つ抗原が明らかにされたならばワクチン開発に大きく進歩するものと期待されている。

この他にも私どもは*C. pneumoniae*特異抗原の存在を明らかにしているが、中でも53kDa蛋白に対するモノクローナル抗体が、検討し得た全ての*C. pneumoniae*株と特異的に反応することを確かめた。さらに、λgt11に組み込んだDNAライブラリーから53kDa蛋白遺伝子を決定し、遺伝子レベルでもその種特異性を証明した。しかし、本蛋白が外膜に存在しているものの感染中和性のないことからワクチンの対応抗原とはならないことも明らかとなった。

## 6. 薬剤排出ポンプ

京都薬科大学微生物 後藤 直正

ペニシリンの臨床使用を幕開けとする近代の化学療法の進展は多くの耐性機構を明らかにし、交差耐性の発生に警鐘を鳴らしてきた。しかし、この交差耐性は同じ系統の抗菌薬間の交差耐性をもたらすが、他の系統の抗菌薬にその耐性が及ぶことはない。例えば、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生による耐性化の場合は、 $\beta$ -ラクタム間の交差耐性に限られ、またDNA ジャイレースの変異による交差耐性はキノロン間の交差耐性に限られるものである。また、耐性機構の研究から多剤耐性菌の存在とその臨床での重要性が問題視されてきたが、これらは、耐性遺伝子をもつプラスミドの重複した獲得により起こるものである。一方、一つの制御遺伝子の変異により発現し、多剤耐性化をもたらすことが出来る耐性機構の存在と重要性が明らかになってきた。これは抗菌薬化学療法の過程での耐性菌の出現が他の抗菌薬の治療効果まで低下させることを意味している。この耐性機構が基質域の広い薬剤排出ポンプ(システム)である。

細菌の薬剤排出ポンプは、細胞内に透過した抗菌薬、消毒薬、有機溶媒および重金属をエネルギー依存的に細胞外に排出する。この結果、細胞内蓄積量が減少し、細菌はこれら排出基質に対して耐性化する。細菌の薬剤排出ポンプは、エネルギー源とアミノ酸一次配列の相同性から、ATPの加水分解により生じたエネルギーを利用して薬物を排出するATP-binding cassette (ABC) superfamilyとプロト

ン駆動力により薬物を排出する Major facilitator superfamily (MFS), Small multidrug resistance (SMR) family および Resistance-noduration-cell division (RND) family の4つのグループに分類される。これらのうち、ABC, MFS および SMR の排出ポンプに分類されるものは、単一の蛋白質コンポーネントで機能し、RND の排出ポンプはペリプラスムコンポーネントおよび外膜コンポーネントとマルチコンポーネント構造を形成し機能している。(このことからマルチコンポーネント型のをポンプと呼ばず、特にシステムと呼ばれている) 临床上重要な細菌の薬剤耐性化に重要でかつ良く研究された排出ポンプは、ABC では *Escherichia coli* MdfA (Multidrug), MFS では *Staphylococcus aureus* NorA (Multidrug, 特にキノロン), SMR では *Klebsiella pneumoniae* QacE (消毒薬), Gram-negative bacteria QacED1 (消毒薬)であるが、RND では、*Pseudomonas aeruginosa* MexA-MexB-OprM, MexC-MexD-OprJやMexE-MexF-OprN および *Neisseria gonorrhoeae* MtrC-MtrD-MtrE が挙げられる。

ここでは、薬剤排出システムの全体像と抗菌薬耐性に重要性の高い *S. aureus* NorA や *P. aeruginosa* および *N. gonorrhoeae* のRND 排出システム、さらに、*Enterococcus faecalis* の排出ポンプの特徴に焦点を絞って話を進め、ディスプレイの材料を提供したい。

### 7. ニューキノロン耐性肺炎球菌の耐性遺伝子の解析とその臨床疫学

琉球大学医学部第一内科 田場 秀樹

肺炎球菌 *Streptococcus pneumoniae* は呼吸器感染症をはじめ、細菌性髄膜炎や急性化膿性中耳炎、急性副鼻腔炎等、種々の感染症の重要な起炎菌となっている。本菌は従来、多くの抗菌薬に対して良好な薬剤感受性を示していたが、1980年代以降、諸外国と同様に本邦においても臨床分離株に占めるペニシリン耐性株の増加が顕著となっており、本菌に対する抗菌薬療法に際しての重要な問題となっている。これまでの国内外の報告から、ペニシリン耐性肺炎球菌はペニシリン系薬剤のみならず、セフェム系やマクロライド系薬剤をはじめとして多剤耐性化傾向にあることから、本菌に対する治療薬剤の一つとしてニューキノロン系抗菌薬 (NQs) の有用性が注目されるに至ったという経緯がある。

NQs はこれまでの開発過程における改良の結果、グラム陰性菌のみならず肺炎球菌を含むグラム陽性菌に対してもその抗菌スペクトラムが拡大したことから、優れた経口吸収性と組織移行性も相まって、臨床における種々の感染症治療の現場におけるNQsの有用性が高まりつつある。これに伴い、種々の臨床分離菌株に占めるキノロン耐性菌の出現と増加が懸念されており、肺炎球菌もその例外ではない。

NQsの抗菌活性の主体は細菌のDNA合成阻害であり、主たる標的酵素はDNA gyraseおよびDNA topoisomerase IV (topo IV)の2種類のII型topoisomeraseであることが明らかとなっている。DNA gyrase蛋白質はGyrAおよびGyrB各2個のサブユニットからなる4量体構造、同様にtopo IV蛋白質はParCおよびParEサブユニットからなる4量体構造をとる。キノロン耐性の*E. coli*や*P. aeruginosa*より得られたGyrAやParCの解析結果から、キノロン耐性株ではこれらの各蛋白質に存在するキノロン耐性決定領域 (quinolone-resistance determining regions: QRDRs) にアミノ酸変異が集中していることが知られており、近年では

肺炎球菌でも同様な変化が生じていることが試験管内耐性獲得株および臨床分離株の解析結果から明らかとなっている。

従来の報告では、キノロン耐性の程度が比較的低い肺炎球菌にみられるアミノ酸変異は、selecting agentによる差はあるもののGyrAにおけるSer-81→Phe変異やParCにおけるSer-79→Phe変異が単独もしくは両者が同時に認められることが示されている。しかしながら、NQsの一つであるsparfloxacin (SPFX) に対して耐性を獲得した臨床分離肺炎球菌に関する検討の結果、これまでに見いだされたアミノ酸変異に加えて、GyrAにおけるGlu-85→Lys変異やTrp-93→Arg変異、またParCにおけるLys-137→Asn変異が存在することが明らかとなった。

これらの変異のなかには、厳密には先述のQRDRsに含まれないものもあるため、NQsに対するGyrA-DNA複合体やParC-DNA複合体の親和性がどの程度影響を受けるのかといった疑問が生じるが、その解明には個々の変異がいかなる役割を演じているかという点に関して種々の程度のNQs耐性肺炎球菌を対象とした解析の結果を待たねばならない。しかしながら、これまでの試験管内耐性獲得株およびSPFX高度耐性肺炎球菌の解析から、(1) NQsの標的酵素は薬剤によって異なり、SPFXの1次標的はGyrAである、(2) 肺炎球菌の高度耐性獲得にはGyrAおよびParC両蛋白質におけるアミノ酸変異が重要である、といった点が明らかとなっている。さらに近年ではGyrAやParC等の標的酵素の変異以外にグラム陰性桿菌にみられるようなキノロン排出機構 (efflux pump) の関与も示唆されており、肺炎球菌のキノロン耐性機構を考える上で興味深い知見であると考えられる。

今日に至るNQsの類用は新たな薬剤耐性菌を生み出しつつあり、肺炎球菌感染症は新局面を迎えつつある。本講演では基礎・臨床の両側面からのアプローチを試みたい。

## 8. ESBL

産業医科大学泌尿器科 村谷 哲郎・松本 哲朗

基質特異性拡張型  $\beta$ -lactamase (ESBL) は、腸内細菌科の菌種の染色体上にコードされている AmpC 型  $\beta$ -lactamase に対する安定性の増強された第三世代セフェムやモノバクタムなどを分解できる  $\beta$ -lactamase であり、主にペニシリンのみを分解する TEM-1, TEM-2, SHV-1 または OXA-1  $\beta$ -lactamase 遺伝子の point mutation により基質特異性が拡張した  $\beta$ -lactamase のことをいう。現在までに TEM 型 60 種類以上, SHV 型 10 種類, OXA 型 5 種類程度が報告されている。

現在国内で問題となっている  $\beta$ -lactamase による耐性菌としては、腸内細菌科の菌種や *P. aeruginosa* が産生する染色体性 AmpC 型  $\beta$ -lactamase の過剰産生株, プラスミド性の AmpC 型  $\beta$ -lactamase 保有株, Toho-1 型および MEN 型  $\beta$ -lactamase 産生 *K. pneumoniae* や *E. coli* および IMP-1 産生 *S. marcescens* および *P. aeruginosa* などがあげられるが, TEM 型や SHV 型 ESBL に関する報告は少ない。これらの  $\beta$ -lactamase 産生株は、汎用されている第 3 世代セフェムなどに耐性を示し、使用可能な抗菌剤は限られてくる。

欧米では TEM 型および SHV 型 ESBL を保有する *K. pneumoniae* による感染症が病院感染を中心に多くの報告がなされている。本邦においても TEM-26 や SHV-12 を産生する *E. coli* や *K. pneumoniae* が報告された。ESBL 保有率は 50% を超えると報告されている国もあるが、施設による違いはあるものの、国内ではほとんど分離されていないのが現状であろう。このような基質特異性を有する  $\beta$ -lactamase の国内報告例のほとんどは Toho-1 型や MEN 型  $\beta$ -lactamase である。これらの  $\beta$ -lactamase は基となる  $\beta$ -lactamase が確認されておらず、ESBL の範疇に含めない考え方もあるが、ここでは ESBL として扱う。

北九州市および近隣地区による調査では昨年は当院に

おいて MEN 型類似  $\beta$ -lactamase (UOEH-1) 保有 *E. coli* が尿より 1 株分離されたのみであったが、今年の 5 月以降異なる 6 施設より、ESBL 保有 *E. coli* が便、喀痰、血液、尿から分離された。ほとんどが Toho-2 型に類似した  $\beta$ -lactamase (UOEH-2, UOEH-3) であり、本地区での流行が懸念される。

昨年当科を受診した複雑性尿路感染症患者より分離された *E. coli* のデータでは、ampicillin 耐性株 (MIC > 8  $\mu$ g/ml) が 23% 認められ、そのうち 89% がプラスミド性の TEM-1  $\beta$ -lactamase であり、残りは染色体性の AmpC  $\beta$ -lactamase 過剰産生株であった。TEM 型  $\beta$ -lactamase 保有株が多いにもかかわらず、欧米のように TEM 型 ESBL 保有株の分離頻度は低く、MEN 型  $\beta$ -lactamase や Toho 型  $\beta$ -lactamase が分離され、なおかつ *K. pneumoniae* ではなく *E. coli* での報告が多いことは、我が国の特徴であると思われる。

ESBL は TEM 型だけでも 60 種を越えており、これらはそれぞれ基質特異性や  $\beta$ -lactamase 阻害剤に対する感受性も異なっている。ましてや国内での報告が多い、Toho-1 や MEN 型はアミノ酸配列も異なっており、基質特異性も異なっている。国内で分離された ESBL, TEM-26, SHV-12, Toho-1, MEN-1, CTX-M-3, UOEH-1, UOEH-2 および UOEH-3 の薬剤感受性を比較すると CAZ に対して、128, 128, 2, 2, 2, 32, 1 および 4  $\mu$ g/ml であり、CPDX に対して、16, 128, 128, 128, 256, 512, 128 および 8  $\mu$ g/ml と同じセフェム系薬剤間でもかなり異なっている。

国内で分離された ESBL 保有株の  $\beta$ -lactamase 阻害剤を含めた各種薬剤に対する感受性を中心に示し、福岡県で分離された ESBL 保有患者の患者背景についても示したい。

### 9. 耐性菌感染症の予防と対策：基礎

大日本製薬(株) 創薬研究所 吉田 博明

最近、抗菌薬に対して耐性を獲得した細菌による感染症が問題化している。耐性菌の出現メカニズムとして、1. 薬剤の修飾や不活化, 2. 標的分子の耐性変化, 3. 外膜透過性の変化, 4. 薬剤の排出亢進, などがあり、いずれも抗菌剤による攻撃から身を守る細菌側の防衛手段である。このようにして出現した薬剤耐性が他へ伝播することが問題を大きくする。耐性菌の伝播には耐性化した菌株自身が広がる場合の他に、耐性遺伝子が他の菌株に伝達して耐性が広がる場合もある。

このようにして出現し他へ伝播した耐性菌による問題を克服するための基礎的アプローチとしては、「耐性菌に有効な抗菌剤を見出す研究」が不可欠である。細菌における新たな標的分子が研究され、それに作用する新規抗菌剤を見出す研究が世界で進められている。 $\beta$ -ラクタム、ホスホマイシン及びグリコペプチド系抗生物質は細胞壁合成阻害剤として知られるが、細菌細胞壁は哺乳動物細胞には存在しないことから良い標的と考えられ、これらの抗生物質の作用点以外の細胞壁合成プロセスが研究されている。その結果、細胞壁主要成分であるペプチドグリカンの生合成に関与するいくつかの酵素の新規阻害物質が見出されつつある。この他、細菌の生存にとって必須の因子の中から標的分子が検討され、細菌のタンパク質分泌やアミノアシルtRNA合成酵素などについては阻害剤の探索が行われている。また、薬剤の菌体外への排出亢進による耐性を克服するために、排出を阻害して抗菌剤の効果を高める化合物も見出されている。さらに、宿主への感染過程の研究も進み、菌の宿主細胞への付着に関する研究の他に、外部シグナルによる細胞内応答の研究から、細菌の感染時の病原因子の発現を抑える化合物も登場している。

全く新しい作用メカニズムの抗菌剤だけでなく、従来

の抗菌剤の範疇に入る化合物に関しても、さらなる研究から耐性菌に有効な新しい抗菌剤を目指す余地があると考えられる。従来の抗菌剤の各々の作用および耐性メカニズムには未解明の部分もある。キノロンを例にとると、標的酵素であるII型トポイソメラーゼが変異を起こしてキノロンとの親和性が低下した結果、耐性化することは判明しているが、キノロンと標的酵素との相互作用の詳細については理解されていない。このキノロン耐性メカニズムが解明されれば、キノロン耐性変異を起こしたII型トポイソメラーゼに作用しうる化合物も見出される可能性もある。

一方、作用メカニズムの研究から新しい化合物を見出すことの困難さもあり、数多くの化合物のスクリーニングによって耐性菌に有効な新規化合物を見出す作業も行われていると考えられる。この他、抗菌力があることが知られている化合物の化学修飾によって新規抗菌剤を目指すことも進められ、オキサゾリジノン系化合物はその一つである。

以上のように、耐性菌に有効な薬剤を目指して、基礎的な研究は世界中で精力的に行われているが、これらの研究から新しい化合物を治療の現場に届けるまでにはかなりの時間を要する。したがって、耐性菌情報の把握と伝達が正確かつ迅速に行われる中で、耐性菌をできるだけ出現させないように現在の抗菌薬を処方するとともに、耐性菌の伝播を防ぐ努力を治療の現場の先生にお願いしたいと思う。治療の現場を知らない者の私見として、変異によって起こる低度耐性は従来あまり問題にされていなかったように思うが、段階的に耐性度が上昇することも多いことを知ると、低度耐性を起こさないことが高度耐性の出現と伝播を防ぐことにつながるのではないかと考える。

### 10. 耐性菌感染の予防と対策：臨床・泌尿器科領域

神戸大学泌尿器科 宮崎 茂典

泌尿器科領域感染症は単純性および複雑性尿路感染症（UTI）と性器感染症に大別される。単純性UTIおよびカテーテル非留置の複雑性UTIでは、大腸菌が最も多い原因菌であり、治療に苦慮することも少ない。しかし近年、欧米では第三世代セフェム系抗菌薬などに耐性を示す extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) を産生する大腸菌や *Klebsiella pneumoniae* などの分離頻度が増え、UTIなどの感染症を引き起こし、院内感染として広まるが多いため大きな問題となっている。本邦においては、その検出法が定まっていないことなどの理由から、ESBL産生菌の正確な分離頻度は不明であるが、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）と同様な対策が早急に必要と考えられる。また、UTIの治療に第一選択薬として使用されることの多いニューキノロン薬に対する耐性化も進行しており、特に緑膿菌においてその傾向が顕著である。当院での尿中分離緑膿菌のOFLX耐性率は約50%に達している。また、大腸菌においても7%程度ではあるがOFLX耐性菌を認め、ここ数年増加の傾向にあることより、その動向に注意が必要である。尿中分離菌に対するカルバペネム系薬の抗菌力は、他系抗菌薬に比し良好であり、特に大腸菌、*Enterococcus faecalis*では耐性株を認めていない。一方、メタロー $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌が話題となっている緑膿菌においては、イミペネム感受性株の比率は年々低下の傾向にあり、昨年度では85.9%となっている。なお、現在まで当院においてバンコマイシン耐性ブドウ球菌や腸球菌は分離されていない。

尿路感染症における耐性菌対策としては、1) 抗菌薬の適性使用、2) 十分な尿流の確保が重要である。一般に多

くの抗菌薬は尿路排泄型であるため、漫然とした長期間投与が行われると耐性菌が出現しやすいといえる。特に、術後感染予防を目的とした抗菌薬の投与は、その手術の部位によって想定される感染の原因菌に的を絞り、その菌種に有効な狭域スペクトラムの抗菌薬を短期間投与すべきである。抗菌薬の選択に当たっては当該施設における分離菌や感受性の動向を参考にする。また、尿流停滞がある症例においては、まずその改善に努めなければ、治療効果は期待できない。残尿を多く認める症例では、自己導尿などの指導が必要であるし、水腎症を有する症例では腎瘻造設術が必要となる場合がある。カテーテル留置例においては、細菌尿の出現を防ぐことは不可能であり、発熱などの感染症状がない限り、カテーテル管理に努め、むやみな抗菌薬の投与は慎むべきである。尿路感染症における耐性菌対策は、院内感染対策の観点からも重要であり、病院全体としての取組が必要である。

性器感染症においては、淋菌のニューキノロン耐性化が問題となっている。本邦においては、80年代において淋菌のペニシリン耐性化が進行したが、ニューキノロン薬が登場以後は、その使用頻度の増加につれ、ニューキノロン耐性淋菌が急増している。最近では、分離された淋菌の30~40%はニューキノロン耐性といわれている。淋菌性尿道炎患者では、その10~20%程度にクラミジア感染を合併しているため、両菌に有効なニューキノロン薬が好んで使用される傾向にあるためと考えられる。耐性菌対策として、セフェム系薬やペニシリン系薬を第一選択として用いることも考慮すべきである。

## ミニ特別講演

### 11. 耐性菌出現予防に向けた緑膿菌感染症の治療

大分医科大学検査部 平松 和史

緑膿菌は、広く自然界に存在するブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌であり、ヒトにおいても上気道、腸管内などに一過性の常在細菌叢を形成することがある。健常者には病原性を示すことは稀で、全身のあるいは局所的に免疫力の低下した宿主に緑膿菌感染症を発症して来る場合がほとんどで、その感染症は致死的となる場合もたびたびある。元来緑膿菌は各種抗菌薬に対して自然耐性を示すことが多く、さらに抗緑膿菌作用を持つ $\beta$ -ラクタム、ニューキノロン、アミノグリコシド系抗菌薬に対してしばしば耐性を獲得し、治療が困難となる場合がある。

1982～1998年に大分医科大学附属病院検査部にて分離された緑膿菌を用い、PIPC、CPZ、CAZ、IPM、TOB、OFLXのMICを調べてみると、IPMやOFLXは耐性化の傾向を示していた。またCAZ、IPM、OFLXのいずれの薬剤に対しても耐性を示す緑膿菌の分離頻度も高くなる傾向にあった。これらの耐性化には様々な耐性機序が関与していることが考えられる。

ニューキノロン系抗菌薬の耐性機序として薬剤透過性の低下、薬剤排出機構の存在、薬剤の標的蛋白であるジャイレース、トポイソメラーゼの変異が知られている。気道由来ニューキノロン系抗菌薬耐性緑膿菌ではOFLX 100 $\mu$ g/ml以上の耐性を示した全ての株でジャイレースAサブユニットの83番目のアミノ酸が変異していた。気道よりOFLX耐性緑膿菌が分離された症例をみると、その基礎疾患は慢性気道感染症、悪性腫瘍、神経疾患であり、ニューキノロン系抗菌薬をはじめ様々な抗菌薬が使用さ

れていた症例が多かった。またそれらの中で経過の追えた症例の菌株のパルスフィールドゲル電気泳動パターンをみると、経過中の菌株が同一の泳動パターンを呈している場合と異なる泳動パターンを呈する場合とがあった。このことは、経過中新たな耐性緑膿菌が感染する場合と宿主内で抗菌薬にさらされることなどにより薬剤耐性が進む場合があることを示唆している。

またカルバペネム系抗菌薬の耐性機序には、薬剤透過性の低下や $\beta$ -ラクタマーゼの存在が知られている。特にカルバペネム系抗菌薬のみならずほとんど全ての $\beta$ -ラクタム系抗菌薬を分解するIMP-1が、緑膿菌をはじめ様々なグラム陰性桿菌から検出されている。IMP-1はメタロ $\beta$ -ラクタマーゼに分類され、*bla<sub>IMP</sub>*遺伝子によりコードされている。この*bla<sub>IMP</sub>*は伝達性プラスミド上に検出されており、その拡散が危惧されている。当院においても1998年までに14株の臨床分離緑膿菌より*bla<sub>IMP</sub>*保有株が検出されている。14株のうち11株は尿から、喀痰、血液、膿より各1株が分離されていた。またその患者背景は尿路、生殖器系の悪性疾患が多かったが、入院期間、抗菌薬の使用状況は様々であった。これら*bla<sub>IMP</sub>*陽性緑膿菌をパルスフィールドゲル電気泳動にて解析してみると、同じ泳動パターンを呈する菌株が多く認められた。

本学会においては、カルバペネム系抗菌薬耐性およびニューキノロン系抗菌薬耐性緑膿菌感染症について、細菌学的検討、症例の臨床経過などから耐性菌出現予防を考えた緑膿菌感染症の治療について考察したい。

### 12. 耐性菌感染症の予防と治療 – 治療を中心に –

長崎大学医学部第二内科 朝野 和典

耐性菌感染症は、院内感染として拡がる場合は院内感染予防を優先すべきであり、抗菌薬の使用を制限することが最も重要な対策となる。耐性菌は多くの場合 immunocompromised host から分離されるが、そのような場合でも、治療を必要としない場合が多い。しかし、耐性菌は必ずしも弱毒であるとは言えず、健常人にも発症しうることを認識しておかなければならない。耐性菌感染症の治療の問題点の第一は治療の適応であり、第二が治療が必要な場合の治療法の選択である。

#### 1. 耐性菌感染症の治療の適応

耐性菌が検体から分離された場合、治療を行うか否かは、臨床上最も重要な問題である。なぜならば、治療を行うことで、有効な治療薬のオプションをひとつ失うことになるからである。単なる定着に対して数少ない有効な抗菌薬を用いることは、その薬剤に対して耐性を獲得する可能性があるからである。そのため、治療開始の判断は、より専門的なevidenceを必要とする。肺炎患者の喀痰からMRSAが分離された場合、MRSA肺炎と診断するには、1) 新たな陰影が出現したこと、2) 炎症反応が陽性であること、3) 喀痰のグラム染色所見で、貪食像が明らかなこと、4) 喀痰培養にてMRSAが有意に分離される、などである。このうち、喀痰のグラム染色は最も重要なevidenceであり、グラム染色所見なしにMRSA肺炎を診断することは困難である。もちろん、MRSAなどの耐性菌が無菌的な材料から分離された場合は、感染症の原因菌と判断できる。

#### 2. 耐性菌感染症の治療

耐性菌感染症の治療には、有効で強力な抗菌薬の使用のみならず、宿主側ならびに病原菌側の感染症の発症要因の除去のふたつの方向からの治療を考慮しなければならない。

広域の抗菌薬の開発は、常に新たな耐性菌を誘導してきた。そのため、強力な抗菌薬の開発は、現在、耐性菌に有効な狭域の抗菌薬の開発が主流になっている。特に

PRSP, MRSA, VREをはじめとするグラム陽性球菌は院内感染や市中肺炎として広がっており、これら耐性グラム陽性球菌に特異的に有効な抗菌薬の開発が行われている。一方、グラム陰性桿菌に対しては、カルバペネム系抗菌薬以来有効な抗菌薬の開発は進んでいない。

このような抗菌薬開発の状況は、目的とする菌が院内感染の原因菌として拡がりうるか否かという観点が大きく作用している。例えば緑膿菌感染症は、内因性感染症として発症することが知られており、既に定着している細菌叢によっても発症し、宿主内で耐性化を獲得しうるために、院内感染を防止しても有効な感染予防にならないためである。

耐性菌感染症は抗菌薬による治療では、限界がある。バンコマイシン低感受性MRSAの出現はまさにその限界を示すものである。細菌感染症は、細菌の病原因子と宿主の感受性の関係によって発症する。これらの関係を調節することで、細菌を除去することなく、感染症の病態を制御することが可能になることが予測されている。このような病態の制御には、宿主の感染成立のための感受性、感染症の持続や重症度を左右する感染防御反応の解析、および細菌側病原因子の解析が必要である。このような病態解析の結果をもとに、細菌の病原因子を調節する遺伝子の解析が進められている。緑膿菌は、病原因子の産生やバイオフィルムの産生にquorum sensingという細菌間の情報伝達を行い、急性感染や慢性感染の感染病態を制御していることが知られてきている。この情報伝達物質を解析し、その機能を阻止することで、原因菌を除去することなく感染病態を制御することが可能となるであろう。

耐性菌感染症の治療は、常に、抗菌薬の敗北で終わってきた歴史がある。その歴史の反省のうえに、近い将来に向けて、無毒化した細菌と共生による新たな感染症治療の方向に進んでいる。