

尿路バイオフィーム感染症の課題と展望

門田 晃一・公文 裕巳

岡山大学大学院医歯学総合研究科泌尿器病態学*

(平成 15 年 5 月 26 日受付・平成 15 年 6 月 9 日受理)

細菌バイオフィームは抗菌薬や生体側からの感染防御系に対して抵抗性因子となることから、尿路バイオフィーム感染症は難治性を示す。特に、バイオフィーム形成の場となった基礎疾患が存続する症例では、除菌が困難であり、尿路感染の持続を容認することになる。尿路バイオフィーム感染症は尿流動態が良好に保たれていれば発熱などの急性症状を呈することはまれであり、適切な尿路管理が実施されれば、宿主と尿路バイオフィーム感染症の共棲も可能である。しかし、尿路バイオフィーム感染症の持続は、感染宿主のみならず病院内全体に対し臨床的問題を引き起こす。具体的には、尿流動態の悪化に伴い急性感染症に移行し宿主の状態を重篤化させる病態であること、その慢性期においては院内感染に深く関与し交差感染の主たる汚染源となることが挙げられる。尿路バイオフィーム感染症の持続が宿主とそれを取り巻く環境におよぼす影響を考えると、除菌を目的とした治療方法の考案と積極的な予防策を講じる必要性はきわめて高いと考える。

Key words: 尿路感染症, 細菌バイオフィーム

近年、細菌バイオフィームは臨床各科領域の難治性感染症に関与する病態概念として注目されており、病態の解明や治療方法の開発など基礎的、臨床的研究が展開されている。尿路感染症においても、カテーテル留置感染症を代表とする難治性感染症の多くにこの細菌バイオフィームが関与している。

バイオフィーム感染症は特有の病態を示すことが知られているが、バイオフィーム細菌は菌自身が産生する菌体外多糖 (glycocalyx) に覆われていること、その菌体外多糖を介して間接的に粘膜やカテーテルなどの医療器材に定着し増殖すること、さらにバイオフィーム細菌は浮遊細菌と異なる薬剤耐性遺伝子を発現し得る¹⁾ことに起因する。具体的には、感染症そのものは比較的炎症所見に乏しいものの、抗菌性化学療法には抵抗性を示し、しばしば難治性となる。

本稿では、尿路バイオフィーム感染症の臨床的問題点、具体的には感染宿主における問題点と病院や病棟内における問題点について考え、現在取り組まれている課題とその展望、特に有効な抗菌薬治療法ならびに予防法について報告する。

I. 尿路バイオフィーム感染症の臨床的問題点

泌尿器科領域では、尿路内に腫瘍や結石などの新生物や異物を形成するという疾患の特性や内視鏡手術に伴いステントやカテーテルを多用する治療方法の特徴から尿路バイオフィーム感染症を発症する危険性が高い。また、慢性細菌性前立腺炎の経過中に発症する尿路感染症も前立腺腺管内に形成された細菌バイオフィームが関与している (Table 1)。

尿路に基礎疾患を有する複雑性尿路感染症についてその原因菌分布を検討すると、病態が複雑化するにつれて弱毒菌や耐性菌の分離頻度が増加する。具体的には、細

菌バイオフィームの関与が強い留置カテーテルのある複雑性尿路感染症では緑膿菌がもっとも高頻度に分離される。また近年では methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) などグラム陽性球菌の分離頻度が上昇しているのが特徴である (Fig. 1)。

尿路内の異物や粘膜に付着した細菌は自己の生育に不利なストレス環境を感知し、菌体外多糖を産生することでより強固に定着し増殖を続け、複数の多糖体を中心とするポリマーで包まれた細菌バイオフィームを形成する²⁾。尿路に形成された細菌バイオフィームは付着・定着因子としての役割だけでなく、抗菌薬や生体側からの感染防御系に対して抵抗性因子となることから、尿路バイオフィーム感染症はしばしば難治性を示す³⁾。特にバイオフィーム形成の場となった基礎疾患が存続する症例では除菌が困難となる。たとえ、見かけ上除菌されたとしても再燃は必至である。したがって、何らかの原因で基礎疾患の除去が困難な症例では尿路感染の持続を容認し、尿流動態を確保することが尿路管理の基本となる。バイオフィーム細菌は菌体外多糖を介する間接的な付着であるため粘膜刺激性が低く、加えて原因菌の多くが弱毒菌であることから、尿路バイオフィーム感染症は尿

Table 1. Biofilm infections in the urinary tract

Chronic UTI associated with

- ・ Urinary catheters
- ・ Infection stones (Primary and secondary)
- ・ Scar tissues and/or necrotic tissues
- ・ Obstructive uropathy inc. neurogenic bladder
- ・ Chronic bacterial prostatitis

*岡山県岡山市鹿田町 2-5-1

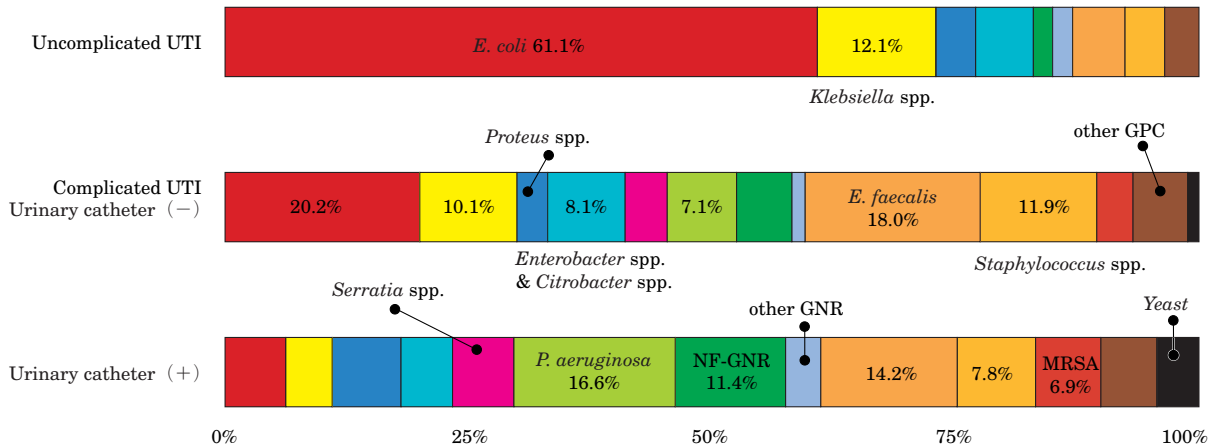


Fig. 1. Causative bacteria in urinary tract infection.
—Okayama University, 1997–2001—

動態が良好に保たれていれば発熱などの急性症状を呈することはまれである。適切な尿路管理が実施されれば、宿主（患者）と尿路バイオフィーム感染症の共棲も可能である。

しかし、尿路バイオフィーム感染症の持続は、種々の要因が加わり、感染宿主のみならず病院内全体に対し臨床的問題を引き起こす。宿主側では感染の急性増悪化が最大の問題となる。尿路バイオフィーム感染症では、結石の嵌頓やカテーテル閉塞などにより尿流障害が生じると、尿路内圧が急激に上昇し、細菌は機械的に腎実質および血中に侵入する。結果として、尿性敗血症を含む重症感染症を引き起こす (Fig. 2)³⁾。原因菌が薬剤耐性の場合も少なくなく、特に免疫抑制宿主では適切な治療法が選択されないと重篤化する。

著者らは緑膿菌による尿路バイオフィーム感染症の急性増悪モデルをラットで作成し、宿主に与える影響を検討した。ラットの膀胱内に経尿道的にポリエチレンチューブを挿入し、引き続き緑膿菌を接種すると、接種2日後にはチューブ上に緑膿菌バイオフィームが形成される。このラットの尿道を8時間クランプすると2日以内にすべてのラットの血中から緑膿菌が検出され、経時的に増加し菌血症の状態となる。シクロスポリン投与による免疫抑制ラットの死亡率は100%であった⁴⁾。このことは、慢性期の尿路バイオフィーム感染症が尿路閉塞という臨床的日常的に起こり得るトラブルを契機に急性増悪として尿性敗血症を生じ、特に免疫抑制宿主においては致死的となることを示唆している。岡山大学泌尿器科で経験した緑膿菌性尿路感染症の臨床背景を検討すると、すべての症例が複雑性であり、カテーテル留置症例は全体の約75%を占めた。約25%の症例は経過中に発熱を認めたが、発熱例と非発熱例のカテーテル留置状況を比較すると発熱例でカテーテル留置例の占める割合が高く、特に尿管ステントや腎ろうなど上部尿路に留置された症例が有意に高いことが判明した。留置カテーテ

ーブを挿入し、引き続き緑膿菌を接種すると、接種2日後にはチューブ上に緑膿菌バイオフィームが形成される。このラットの尿道を8時間クランプすると2日以内にすべてのラットの血中から緑膿菌が検出され、経時的に増加し菌血症の状態となる。シクロスポリン投与による免疫抑制ラットの死亡率は100%であった⁴⁾。このことは、慢性期の尿路バイオフィーム感染症が尿路閉塞という臨床的日常的に起こり得るトラブルを契機に急性増悪として尿性敗血症を生じ、特に免疫抑制宿主においては致死的となることを示唆している。岡山大学泌尿器科で経験した緑膿菌性尿路感染症の臨床背景を検討すると、すべての症例が複雑性であり、カテーテル留置症例は全体の約75%を占めた。約25%の症例は経過中に発熱を認めたが、発熱例と非発熱例のカテーテル留置状況を比較すると発熱例でカテーテル留置例の占める割合が高く、特に尿管ステントや腎ろうなど上部尿路に留置された症例が有意に高いことが判明した。留置カテーテ

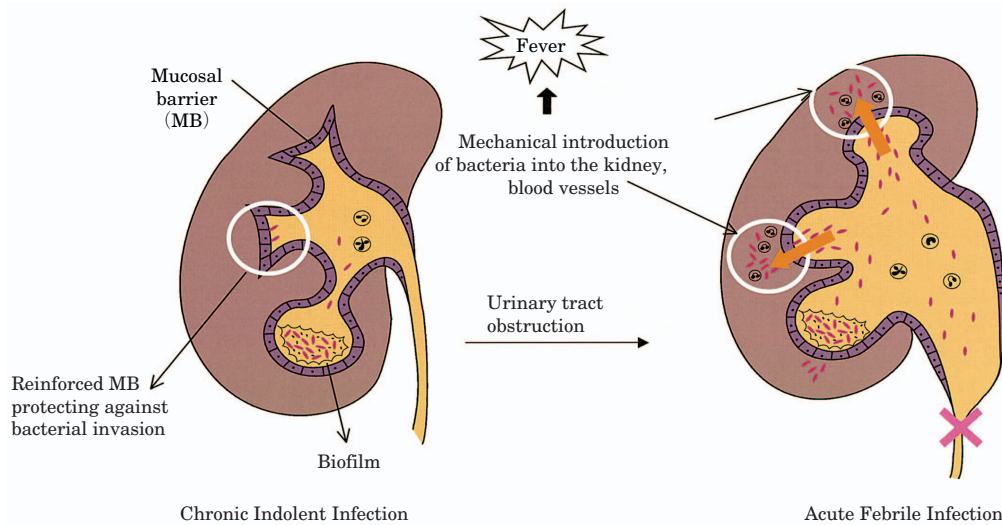


Fig. 2. Clinical features of biofilm infections.
—Mechanism of acute exacerbation—



Fig. 3. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm on the surface of a ureteral stent.

ルに形成された緑膿菌バイオフィームがカテーテルの内腔を閉塞し、同時に腎実質へ侵入する細菌を供給していることが容易に推測される (Fig. 3)。

近年、MRSA や緑膿菌など多剤耐性菌による院内感染が問題となっている。岡山大学附属病院においても、2001年のほぼ同時期に各科病棟でメタロβ-ラクタマーゼ産生緑膿菌が計18株分離された。分離検体の内訳を検討すると18株中10株が尿由来であり、そのほとんどの症例で尿路カテーテルが留置されていた。院内感染対策を徹底することによりアウトブレイクは終息したが、緑膿菌による尿路バイオフィーム感染症の感染尿を汚染源として、多剤耐性緑膿菌が病棟間を越え交差感染を繰り返す、院内に拡散したことも否定できない。

尿路バイオフィーム感染症の問題点をまとめると、尿流動態の悪化に伴い急性感染症に移行し宿主の状態を重篤化させる病態であることに加え、その慢性期においては院内感染に深く関与し交差感染の主たる汚染源となっていることが考えられる。

II. 尿路バイオフィーム感染症の課題と展望

尿路バイオフィーム感染症に対し抗菌性化学療法の絶対的適応となるのは、現時点ではその急性増悪期のみである。臨床症状に乏しい慢性期においては尿流動態の改善とバイオフィーム形成に関与する尿路基礎疾患の除去しか有効な方策はなく、原則として化学療法の適応はない。高齢者や重篤な合併症のため根治的治療の適応とならない患者では、止むを得ず慢性感染症の持続を容認しているというのが現状である。しかし、尿路バイオフィーム感染症の持続が、宿主とそれを取り巻く環境におよぼす影響を考えると、除菌を目的とした治療方法の考案

と積極的な予防策を講じる必要性はきわめて高く、今後の課題と考える。

これまで尿路バイオフィーム感染症に対する抗菌性化学療法は、併用療法を中心に検討されてきた。著者らは尿路バイオフィーム感染症に対し有効な治療法を考案する目的で modified Robbins device を用いた実験系で緑膿菌性バイオフィームを形成し、各種抗菌性物質の効果を検討した。単独療法では ofloxacin (OFLX) がかなりの高濃度 (20 MIC) でバイオフィーム形成菌に対し殺菌的効果を示した。しかし、いずれの抗菌薬も単剤では臨床的に効果が期待できる結果は得られなかった。現在、単剤で緑膿菌性バイオフィームに有効な薬剤が存在しないことから併用療法について検討を加えた。併用メカニズムから、1) バイオフィーム形成阻害作用、2) バイオフィームでの薬剤透過性亢進作用をもつ薬剤の選択が考えられる。具体的には前者ではマクロライド系薬剤、後者では fosfomycin (FOM) がその可能性を有することから、それらに単独療法で細菌バイオフィームに対してある程度殺菌的作用を示す OFLX を併用し検討した。マクロライド系薬剤では比較的尿中移行が良好である clarithromycin (CAM) を選択した。その結果、非増殖性メディウムである PBS 中では両者の併用療法はともに強い殺菌作用を示した。しかし、増殖性メディウムとして人工尿を使用した場合には CAM+OFLX の殺菌効果は不明確となり、FOM+OFLX では優れた殺菌効果を維持する結果となった⁴⁾。

さらに著者らは、FOM と OFLX の併用効果について、その作用メカニズムを解明する目的で検討を加えた⁵⁾。FOM で前処理をした緑膿菌バイオフィームでは、未処理バイオフィームのそれと比較し有意に OFLX の取り込み量が増加していた。また、FOM 処理バイオフィームに OFLX と FOM を同時に作用させると、OFLX 単独作用時より取り込み量はさらに上昇した。OFLX、FOM 単独および OFLX、FOM 併用作用による緑膿菌バイオフィームの形態学変化を透過型電子顕微鏡で観察すると、OFLX 単独では菌体の伸長化が認められ、FOM 単独では外膜の断裂および剥離が、OFLX と FOM の併用では菌体の軽度の伸長化と溶菌像がそれぞれ観察された。これらの結果より、FOM の作用によりバイオフィーム中の緑膿菌で形態の変化に伴う外膜の障害、膜透過性の変化が起こり、OFLX を併用した場合、OFLX の取り込みが増加したと考察できる。つまり、この併用療法における OFLX の役割は、主にバイオフィーム細菌の殺菌作用であり、FOM はその OFLX のバイオフィーム形成緑膿菌への取り込みを増加させるという、より重要な役割を果たしていることが確認された。その他、β-ラクタマーゼ阻害薬であるクラブラン酸が glycoaryx 抑制作用を有しており、フルオロキノロンとの併用効果が期待されている⁶⁾。ただし、これらの併用療法が臨床

的に効果を示す確証は得られておらず、今後、抗菌薬療法への適応と限界を見極めることが重要である。

バイオフィーム感染症が成立した症例では、抗菌薬療法で除菌することは難しい。バイオフィーム形成の危険性が高い症例に対して、細菌の定着やバイオフィーム形成を阻止することを目的とした予防的治療を考える方が現実的と思われる。臨床の場合でもっとも高頻度に遭遇する尿路バイオフィーム感染症であるカテーテル留置尿路感染症を予防するために、これまで銀イオンの抗菌作用を応用した抗菌カテーテルが開発されてきた。著者らもクエン酸銀と界面活性剤であるレシチンを配合した新しいカテーテル素材をクリエートメデック社と共同開発し、シリコンと比べ明らかに高い抗バイオフィーム効果を報告した⁷⁾。しかし、実際には、特に留置期間が長期化すると通常のカテーテルと比較して抗バイオフィーム効果に大差はなく、持続性という観点からは限界がある。

一方、薬物療法による予防法もいくつかの報告されている。フルオロキノロンを経口投与すると尿中に移行し、尿路に留置されたステントに一定期間吸着することが確認されている⁸⁾。このことを利用し、ステント留置患者を対象にバイオフィーム形成予防を目的として、フルオロキノロンのパルス療法（3日間投与、7日間休薬を1サイクル）が試みられている。まだパイロットスタディーの段階であるが、連日投与に比べると投与期間と投与量が縮小され副作用や医療コストの面で期待される治療法であり、耐性菌出現の有無を含めその臨床効果の確認が必要である。

クランベリージュースは尿路感染症の予防効果を有するが、そのメカニズムとして尿の酸性化作用やプロアントシアニンによる抗酸化作用が知られている。また、尿路における抗バイオフィーム効果も報告されている。Reidらは脊損の尿路感染症患者を対象とした臨床試験で、水分摂取とクランベリージュース摂取時の尿路におけるバイオフィーム形成状況を細胞に付着した菌数で比較し、クランベリージュースの抗バイオフィーム効果を確認している⁹⁾。

最近の話題として、菌は環境における自身の密度を感知し、その密度変化に応じて病原因子遺伝子の発現を巧妙に制御していることがわかってきた。緑膿菌もこのクオラム・センシング機構により病原因子の発現が制御されている。緑膿菌では少なくとも*las*および*rhl*の2つの系が存在し、この系自身から合成される自己誘発物質であるホモセリンラクトン（HSL）により病原因子の発現を調節している。このHSLは細菌間のシグナルとして細胞間を自由に通過でき、細菌が密集すると細菌内のHSL濃度が上昇し、各種病原因子の発現が促進され

る。Smith K Mら¹⁰⁾はHSLのアナログを合成し、そのアンタゴニストを同定し、*Vitro*の実験でアンタゴニストの投与によりバイオフィーム形成の抑制効果を確認している。今後、自己誘発物質のアンタゴニストがバイオフィーム形成抑制剤として臨床応用が期待される。

現在、バイオフィーム感染症の薬物治療や予防法に関しては、実施可能なものからまったくの研究段階までさまざまである。しかし、現時点では基礎疾患の除去が尿路バイオフィーム感染症を制圧するもっとも有効な手段である。何らかの理由で基礎疾患の除去が困難で慢性尿路感染症を容認する場合、①カテーテルの閉塞に注意し急性増悪の発症を予防する、②急性増悪期に備え、定期的に尿の監視培養を実施する。③手洗いを中心とした交差感染対策を徹底することが肝要と考える。

文 献

- 1) Whiteley M, Bangera M G, Greenberg E P, et al.: Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nature* 413: 860~864, 2001
- 2) Costerton J W: The etiology and persistence of cryptic bacterial infection; A hypothesis. *Rev Infect Dis* 6 (S-3): S 608~S 616, 1984
- 3) Kumon H: Pathogenesis and management of bacterial biofilms in urinary tract. *J. Infect. Chemother.* 2: 18~28, 1996
- 4) 門田晃一, 公文裕巳: Biofilm 実験モデルによる尿路バイオフィーム感染症の解析。泌尿器外科 13: 107~110, 2000
- 5) Monden K, Iida M, Kumon H, et al.: The Role of Fosfomycin in a Synergistic Combination with Ofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* Growing in a Biofilm. *Journal of Infection and Chemotherapy* 8: 218~226, 2002
- 6) 高畑正裕, 山田博司, 公文裕巳, 他: *Pseudomonas aeruginosa* バイオフィームに対する TFLX-CVA の併用効果 Robbins device を用いた解析。BACTERIAL ADHERENCE 研究会講演録 12: 39~43, 1998
- 7) 橋本英昭, 公文裕巳, 斯波 徹, 他: 抗菌性尿道留置カテーテルの開発に関する基礎的研究 (第1報) 抗菌性コーティング素材の開発。感染症学雑誌 74: 431~440, 2000
- 8) Reid G, Habash M, Vachon D, et al.: Oral fluoroquinolone therapy results in drug adsorption on ureteral stents and prevention of biofilm formation. *Int J Antimicrob Agents* 17: 317~320, 2001
- 9) Reid G, Hsieh J, Potter P, et al.: Cranberry juice consumption may reduce biofilms on uroepithelial cells: pilot study in spinal cord injured patients. *Spinal Cord* 39: 26~30, 2001
- 10) Smith K M, Bu Y, Suga H: Induction and Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing by Synthetic Autoinducer Analogs. *Chem Biol* 10: 81~89, 2003

Problems and prospects with biofilm infections in the urinary tract

Koichi Monden and Hiromi Kumon

Department of Urology, Okayama University Graduate School of Medicine and Dentistry,
2-5-1 Shikata, Okayama 700-8558, Japan

Biofilm is defined as the accumulation of microorganisms and their extracellular polymeric substances binding cells and other organic or inorganic materials. Infection associated with an indwelling catheter is a representative urinary biofilm infection. Bacteria in biofilm behave differently from planktonic free-floating bacteria. Biofilm bacteria are protected from antimicrobial chemotherapy and host defense mechanisms, establishing chronic, persistent infection. Management of the local urinary condition and removal of the local underlying disease are the most effective approaches for treating urinary biofilm infection. Ongoing urinary biofilm infection causes numerous problems. We review the role of bacterial biofilm formation in the urinary tract and problems and prospects with urinary biofilm infection.