

## 【総説】

## 呼吸器感染症原因微生物の質的变化による薬剤耐性化

生方 公子

北里大学北里生命科学研究所&amp;大学院感染制御科学府

感染制御・免疫学部門 感染情報学研究室\*

(平成 18 年 1 月 23 日受付・平成 18 年 1 月 26 日受理)

肺炎球菌、インフルエンザ菌、A 群溶血レンサ球菌 (GAS)、あるいはマイコプラズマニューモニエは、市中における呼吸器感染症の最もポピュラーな起炎菌である。本邦においては、これらの菌における多剤耐性菌の急速な増加が臨床上の問題として注目されている。肺炎球菌とインフルエンザ菌の  $\beta$ -ラクタム系薬耐性は、*pbp* 遺伝子がコードする PBP 酵素の変化に起因している。肺炎球菌と GAS におけるマクロライド耐性には 2 つのメカニズムが関わっている。すなわち、*mefA* 遺伝子による排出システムと、*ermB* あるいは *ermA* (*ermTR*) 遺伝子によるリボソームタンパクのメチル化である。マイコプラズマニューモニエのマクロライド系薬耐性には、23S rRNA 遺伝子のドメイン V 内に認められる変異が関わっている。一方、本邦で分離された肺炎球菌の中には、ニューキノロン系薬耐性菌は約 1-2% 存在するが、その耐性には DNA gyrase をコードする *gyrA* 上の変異と、トポイソメラーゼ IV をコードする *parC* および *parE* 遺伝子上の変異であることが明らかにされている。

病原体が本質的に保持する構成物上に生じた質的变化によるこれらの耐性は、通常感受性試験では明確に識別することが困難な軽度耐性であることが特徴である。もうひとつの特徴は、このような耐性レベルは、多くの場合、 $\beta$ -ラクタム系薬、マクロライド系薬、ニューキノロン系薬のような経口抗菌薬によって得られる血中濃度と似通ったレベルであるということである。

このような耐性に関与する酵素をコードする遺伝子上の変異は、経口抗菌薬の不適切な濃度によって容易に選択される。

最後に、このような耐性菌の増加を防止するためには、起炎菌の迅速な識別、ワクチンによる予防、PK/PD に基づく抗菌薬の適切な選択と使用、抗菌薬の市販後調査の確立などが必要であることを述べた。

**Key words:** drug resistance, qualitative alteration, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*

## 1. はじめに

「質的变化による薬剤耐性化」とは、一般的には菌の発育に必須の構成物、あるいはその構成物を合成するための酵素などが、その生存に差し支えない程度に変化して抗菌薬に耐性化することと定義される。表-1 には、本講演で述べる主な菌種とその薬剤耐性メカニズムとを示すが、このようにまとめてみると極めて多様化していることが明らかである。これら耐性菌の特徴は、早くからクローズアップされ、詳細に研究されてきている外来性のプラスミドやトランスポゾンに依存した  $\beta$ -ラクタメースを始めとする高いレベルの耐性を付加する耐性化機構を保持する菌とは本質的に異なる。

質的变化による薬剤耐性化の問題を過去に遡ると、球菌の中では最も耐性化しやすいとされた黄色ブドウ球菌にみられる誘導型 *mecA* 遺伝子を保持した MRSA にたどり着くが、この耐性メカニズムが本格的に注目されたのは、耐性肺炎球菌の出現以降である。その後、私どもが対象とした菌種だけでも、インフルエンザ菌、A 群溶血レンサ球菌、そしてマイコプラズマ・ニューモニエなど多岐にわたっている。

また、質的变化による耐性菌として問題になっている主な菌種は、その大部分が呼吸器感染症を惹起するものである。これらは生体部位の外界とつながる呼吸器系に生息し、健康人からもしばしば分離され、常在細菌としての一面も有している。つまり、抗菌薬に曝されやすい

\*東京都港区白金 5-9-1

状態にあるともいえる。そのような目で、抗菌薬の年次の開発状況と耐性菌出現との関係を眺めると、「質的変化による耐性菌」が我が国で増加し始めたのは、経口セフェム系薬の開発が始まり、市中感染症に対してペニシリン系薬に替わって繁用され始めた1980年代後半以降のことである。成人においてはマクロライド系薬の使用は1992年頃、ニューキノロン系薬は1994年頃から次第に増加している。

レトロスペクティブに解析すると、耐性化の初期段階における菌の遺伝子変異は、経口抗菌薬で得られる病巣内濃度をわずかに上まわったレベルから始まっていることに気付く。しかし、その時点においては、生物学的手法ではほとんど識別されておらず、その後数年を経て、さらに遺伝子上に変異が入り、耐性レベルが一段と上昇した耐性菌が選択されて始めて気付かれている。

本来、ヒト生体内における経口抗菌薬の体内動態と密接な関係にある「呼吸器感染症起炎微生物の質的変化による耐性化」は、それぞれの抗菌薬のPK/PDとの関わりの中で論じなければならない。しかし、それらを含めると問題が多岐にわたるので、PK/PDについては専門家に譲り、ここではそれらを念頭におきながらi)肺炎球菌、ii)インフルエンザ菌、iii)マイコプラズマ・ニューモニエ、およびiv)A群溶血性レンサ球菌等にみられる耐性化のメカニズムとその本質、そして耐性化の現状に焦点を当てて記述することにした。

## 2. 肺炎球菌<sup>1)</sup>

### 1) $\beta$ -ラクタム系薬耐性

#### (1) 耐性化に関わる遺伝子

本菌における $\beta$ -ラクタム系薬耐性化には、その標的

表-1. 呼吸器感染症起炎菌微生物において「質的変化による薬剤耐性化」に関わる標的とその遺伝子

菌名	薬剤	耐性化に関わる主な標的(遺伝子)
肺炎球菌	$\beta$ -ラクタム系薬	PBP1A ( <i>pbp1a</i> )
		PBP2X ( <i>pbp2x</i> )
	マクロライド系薬	PBP2B ( <i>pbp2b</i> )
		PBP2A ( <i>pbp2a</i> )
ニューキノロン系薬	23S rRNA ( <i>ermB</i> )	
	MefA (排出蛋白) ( <i>mefA</i> )	
	PmrA (排出蛋白) ( <i>pmrA</i> )	
インフルエンザ菌	$\beta$ -ラクタム系薬	DNAジャイレース ( <i>gyrA, gyrB</i> )
		トポイソメラーゼIV ( <i>parC, parE</i> )
	ニューキノロン系薬	PmrA (排出蛋白) ( <i>pmrA</i> )
		PBP3 ( <i>ftsI</i> )
A群溶血性レンサ球菌	マクロライド系薬	AcrA, AcrB (排出蛋白) ( <i>acrA, acrB</i> )
		DNAジャイレース ( <i>gyrA, gyrB</i> )
	トポイソメラーゼIV ( <i>parC, parE</i> )	
マイコプラズマ・ニューモニエ	マクロライド系薬	23S rRNA ( <i>ermB</i> )
		23S rRNA ( <i>ermTR</i> )
		MefA (排出蛋白) ( <i>mefA</i> )
		23S rRNA

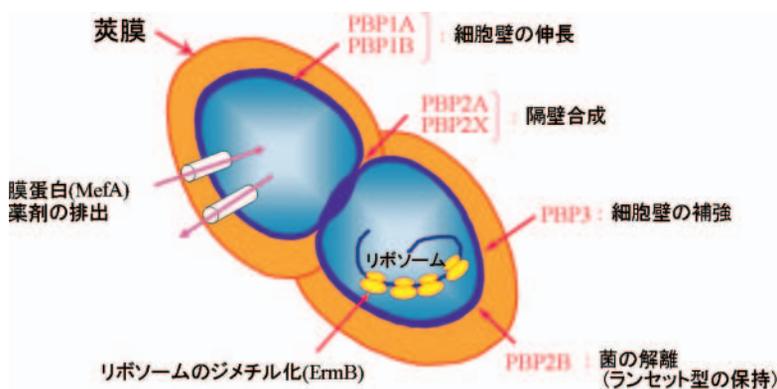


図-1. 肺炎球菌の $\beta$ -ラクタム系薬耐性化に関わる各PBPとマクロライド系薬耐性メカニズム  
6種のPBPのうち、PBP1A、PBP2X、およびPBP2Bが主に $\beta$ -ラクタム系薬の耐性化に関与している。

であるペプチドグリカン架橋酵素 (penicillin-binding protein: PBP) のうち、図-1 にスキームで示した3種類のPBP変化が主として関与している。すなわち、細胞壁を長軸方向へ伸長化させるPBP1A、隔壁合成を行うPBP2X、そして本菌特有のランセット型形成に関わっていると推定されるPBP2Bである。各PBPの機能は、penicillin-susceptible *Streptococcus pneumoniae* (PSSP) あるいは penicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP) の各PBPに対する $\beta$ -ラクタム系薬の親和性の特徴と形態変化との関連から推定されたものである。ごくまれにはあるが、PBP2Aも耐性化に関与している場合のあることも報告されている<sup>2)</sup>。ちなみに、ここでいうPBPの変化とは、各PBPをコードする遺伝子上に生じた塩基変異がアミノ酸レベルの置換となり、薬物の標的酵素としてみた際の感受性低下にまで影響しているものをいう。

臨床から分離されるさまざまな耐性レベルの肺炎球菌について、各PBPをコードしている5つの遺伝子 (*pbp1a*, *pbp2x*, *pbp2b*, *pbp1b*, *pbp2a*) を解析すると、耐性菌の *pbp1a*<sup>3)</sup>, *pbp2x*<sup>4)</sup> そして *pbp2b*<sup>5)</sup> 遺伝子上には感性菌とは異なった多数の塩基変異が認められる。図-2 にはそれら3遺伝子の塩基解析に基づいたPBP1A, -2X, -2B酵素のアミノ酸レベルでの成績をスキームで示す。アミノ酸置換が認められる領域をブルー、感性菌とほぼ同じ領域をグリーンで示したが、PBPによってはほぼ全域にわたってアミノ酸置換が認められる。

このようなPBP酵素をコードする肺炎球菌の遺伝子は、感性の肺炎球菌が保持する *pbp* 遺伝子と口腔内レンサ球菌の *pbp* 遺伝子との間で組み換えが生じて形成

されたモザイク型遺伝子である。後述するニューキノロン系薬耐性のように、遺伝子上に塩基変異が生じたために耐性化したものとは異なるので、正確にはモザイク(キメラ)型遺伝子、あるいは abnormal 遺伝子と呼ばれる。

現在、臨床検査材料から分離される耐性肺炎球菌にみられる *pbp* 遺伝子は、菌がさらに $\beta$ -ラクタム系薬に曝された結果、初期のモザイク型遺伝子にさらに塩基変異が加わって複雑化している。

一方、多数みられるアミノ酸置換は、すべてが耐性化に影響しているわけではない。明らかに耐性化に影響しているのは、図-2に示すSTMK(セリントレオニン-メチオニン-リジン)、SSN(セリン-セリン-アスパラギン)、KTG(リジン-トレオニン-グリシン)とした保存性アミノ酸配列中、あるいはそれらに隣接したアミノ酸である。最も詳細に研究されているのは *pbp2x* 遺伝子にコードされたPBP2Xである。図-3には私どもの解析した耐性菌におけるPBP2Xの三次元解析像を示すが、ステレオメガネで眺めると、保存性アミノ酸配列のSTMK、SSN、そしてKTGが活性ポケットを形成していることが判る<sup>4)</sup>。感性菌のSTMK中のセリンには、セフェム系薬は容易に結合して抗菌力を発揮するが、耐性菌が保持するPBP2Xではセリン隣のトレオニンがアラニンへ置換しているため、その立体構造にゆがみが生じ、薬剤結合能が低下する。後述するように耐性度がさらに上昇した菌では、メチオニンもフェニルアラニンに置換しているのによりセフェム系薬に耐性化することになる<sup>6)</sup>。なお、紙面の都合でここでは省略するが、PBP1AやPBP2Bの変化による耐性化への影響も同様の機構によるものである。

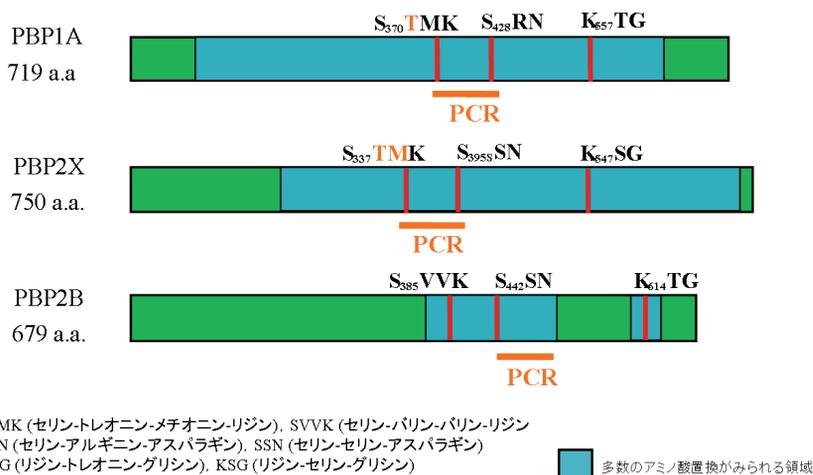


図-2.  $\beta$ -ラクタム系薬耐性肺炎球菌にみられるモザイク型 *pbp* 遺伝子にコードされたPBP酵素オレンジ色で示したアミノ酸は、耐性肺炎球菌においては他のアミノ酸へ置換している。PCRでは、それらの領域を含めて検索できるように各プライマーが設計されている。

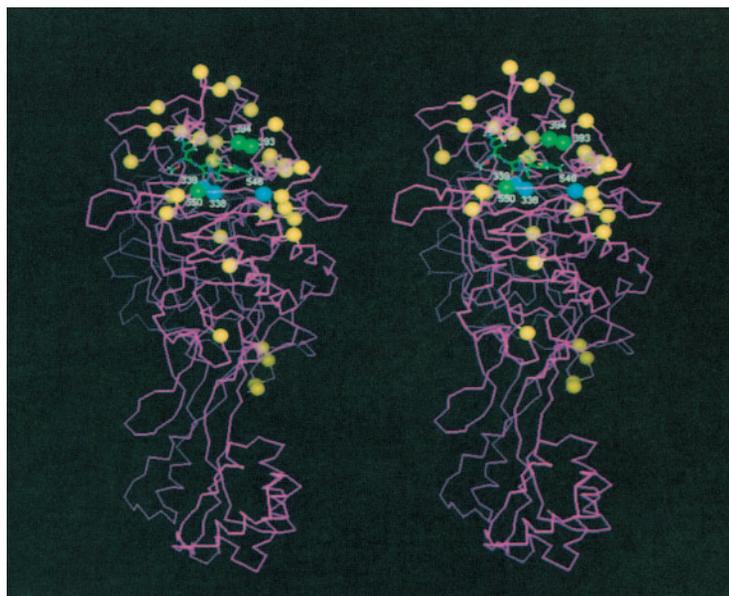


図-3. PBP2X で明らかにされたアミノ酸置換のPBP分子内における位置

*pbp2x* 遺伝子変異の解析で group V とした高度耐性菌におけるアミノ酸置換を黄色で示す。また、酵素機能上重要なアミノ酸置換はブルーで示す。グリーンで示したアミノ酸は group I と II の耐性菌において耐性化のキーとなっているアミノ酸を示している。ステレオ眼鏡を使用すると立体的に観察できる。

## (2) モザイク型 *pbp* 遺伝子と $\beta$ -ラクタム系薬感受性との関係

私どもは、多数の臨床分離株について解析した *pbp* 遺伝子の成績を元に、*pbp1a*、*pbp2x*、*pbp2b* 遺伝子上の最も耐性化に影響する箇所を PCR によって検索する迅速診断法を確立<sup>7,8)</sup>、研究用試薬として既に上市している。3 遺伝子を個別に検出しているの、その組み合わせは理論的には 8 クラスになるはずである。そして、これらの成績は CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) が勧告する生物学的手法の成績と区別するために、genotype 解析を意味する g を付して gPRSP (*pbp1a + pbp2x + pbp2b*) (( ) 内は変異遺伝子) のように表現する。

図-4 には、小児の肺炎例から分離された肺炎球菌の主な経口  $\beta$ -ラクタム系薬感受性と遺伝子との関係を示す。我が国で分離頻度の高いタイプは、gPRSP (*pbp1a + pbp2x + pbp2b*)、gPISP (*pbp2x*)、そして gPISP (*pbp1a + pbp2x*) と gPISP (*pbp2x + pbp2b*) である。

いずれも *pbp2x* が含まれていることが特徴であり、*pbp2x* 変異が強く関わっているか否かでペニシリン系薬とセフェム系薬に明らかな相違が見られる。gPISP (*pbp2x*) のペニシリン系薬感受性は感性菌に比べ 2 倍程度しか耐性側へシフトしていないのに対し、経口セフェム系薬では 0.125-0.5  $\mu$ g/ml 前後へと 8-16 倍低下している。gPISP (*pbp1a + pbp2x*) 株でも同様で、ペニシリ

ン系薬には 0.125-0.5  $\mu$ g/ml の感受性であるセフェム系薬では gPRSP のそれと同レベルまで低下している。

一方、gPISP (*pbp2b*) 株はペニシリン系薬が第一選択薬として推奨されている欧米で比較的多く分離され、日本では非常に少ないタイプである。その感受性変化をみると、gPISP (*pbp2x*) とは対照的に、ペニシリン系が影響を受け、セフェム系薬はほとんど影響を受けていない。一見同じような MIC を示す耐性菌であっても、それぞれの国で優位に使用されている抗菌薬の影響を強く受けたモザイク型遺伝子を保持していることが特徴である。正確な疫学調査には遺伝子レベルでの解析が必要とされる理由である。

ここで重要なことは、このような耐性菌による感染症に対し、これらの経口抗菌薬がどの程度の臨床効果を発揮するのであろうか? ということである。組織移行の悪い急性疾患が多い耳鼻咽喉科領域ではそれらが無効で入院を余儀なくされる症例の著しい増加、あるいは症状が遷延化することは報告されているが、経日的な菌の消長、あるいは病巣の炎症所見改善まで含めてペニシリン系薬とセフェム系薬が比較検討された研究は少ない。

それぞれの経口抗菌薬の吸収性や組織移行濃度と上記の感受性成績を「Craig の理論」を当てはめると、肺炎球菌全体に対して期待できる臨床効果は、吸収性に優れた AMPC が 1.8  $\mu$ g/ml (小児: 10 mg/kg 投与時) で最も期待できる成績となる。それに対し、経口セフェム系薬

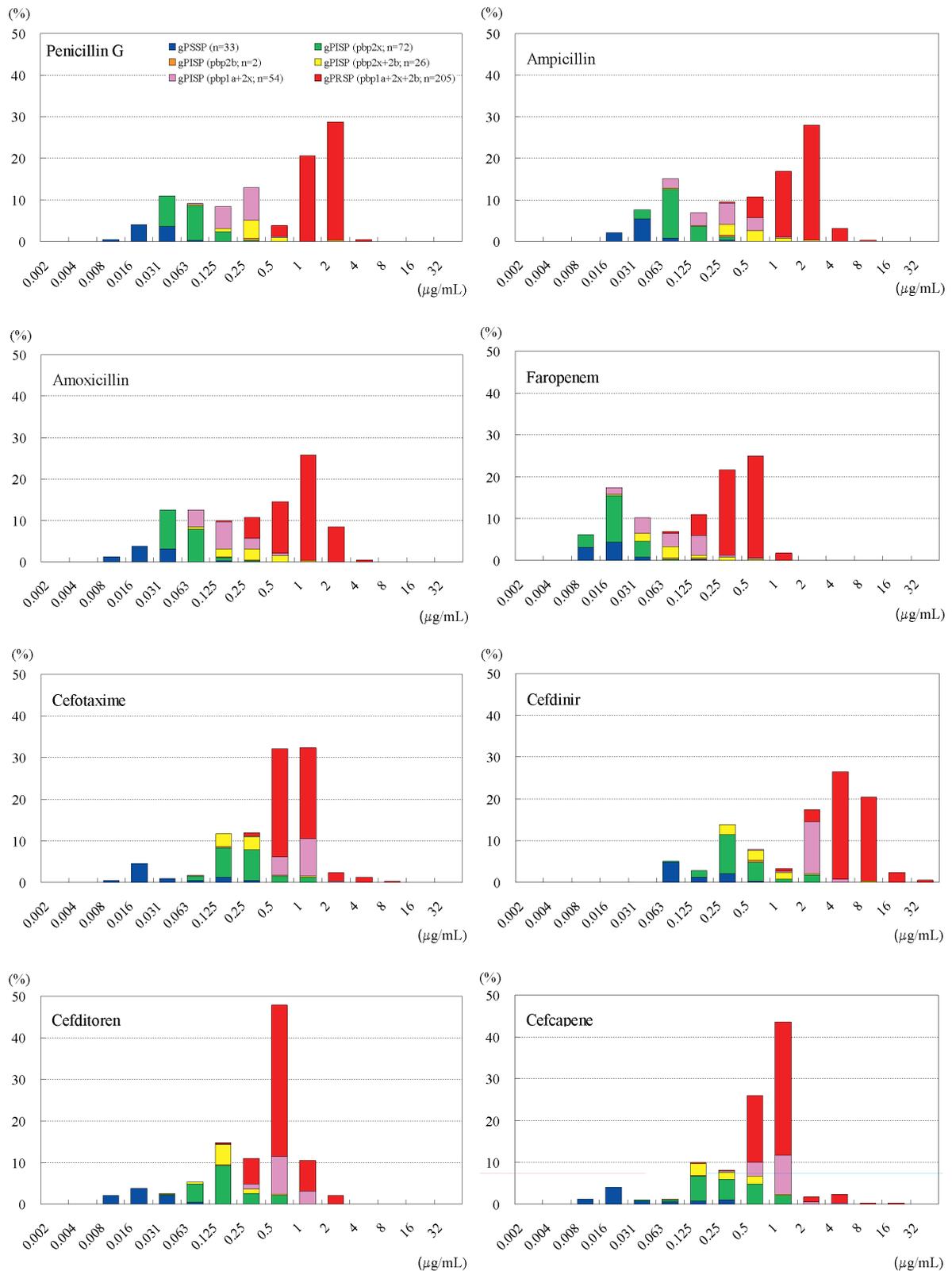


図-4. 小児肺炎例由来の肺炎球菌における *pbp* 遺伝子変異と  $\beta$ -ラクタム系薬感受性との関係 (n = 392)

の通常投与量で得られる最高血中濃度 (0.5–1.5  $\mu\text{g/ml}$ ) は gPISP (*pbp1a + pbp2x*) や gPRSP に対する MIC より

も低い。組織移行はさらに低いので、gPISP (*pbp2x*) にも細菌学的効果を示さず、臨床効果が得られないといっ

表-2. H-PRSP にみいだされるアミノ酸置換と  $\beta$ -ラクタム系薬耐性化との関係

Group	菌株No.	患者年齢	Geno type	Sero type	MIC( $\mu$ g/mL)							PBP1A		PBP2X		PBP2B		PBP2A	PBP1B
					PCG	ABPC	CFDN	CDIR	CTX	CTM	PAPM	STMK	STMK	KSGT	KTG周囲	SSNT	STIK	変異	
	PRSP				0.5-2	1-4	4-8	0.5-1	0.5-1	1-8	0.031-0.125	-A-	-A-	----	-	---A	----	-	
I	JPS-79	64	gPRSP	23F	2	8	8	1	1	16	0.25	-S-	-A-	----	A.A.置換	---A	----	-	
	JPS-122	1	gPRSP	19F	4	8	8	1	1	16	0.25	-S-	-A-	----	A.A.置換	---A	----	-	
	ARD-963	4	gPRSP	19F	2	8	8	0.5	0.5	8	0.25	-S-	-A-	----	A.A.置換	---A	----	-	
II	JPS-193	3	gPRSP	19F	2	4	32	4	8	4	0.063	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	ARD-1152	2	gPRSP	23F	2	4	32	2	8	8	0.063	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	ARD-1346	2	gPRSP	19F	2	4	32	2	4	8	0.063	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	JPS-3	6M	gPRSP	19F	4	4	16	4	4	16	0.125	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	JPS-173	4M	gPRSP	6B	2	2	16	4	4	8	0.031	-S-	-AF-	----	-	---S	----	-	
	ARD-213	1	gPRSP	6A	2	4	16	2	4	8	0.125	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	ARD-691	2	gPRSP	19F	2	4	16	2	4	8	0.063	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	ARD-2337	9M	gPRSP	19F	2	2	16	2	4	8	0.063	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	ARD-2098	1	gPRSP	19F	2	4	16	2	2	8	0.125	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	JPS-377	1	gPRSP	6B	2	4	16	1	4	16	0.125	-S-	-A-	----	-	---A	-A-	----	
	ARD-15	1	gPRSP	6B	2	2	16	1	2	4	0.063	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	JPS-216	84	gPRSP	14	0.5	1	16	1	2	2	0.031	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	ARD-241	4	gPRSP	NT	2	2	16	1	2	4	0.063	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	ARD-986	2	gPRSP	14	1	1	8	2	4	4	0.016	-A-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	JPS-303	65	gPRSP	23F	2	2	8	2	2	4	0.063	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	ARD-1850	6	gPRSP	6A	2	2	8	2	2	4	0.063	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	ARD-850	1	gPRSP	19F	2	2	8	1	2	4	0.063	-S-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	ARD-724	2	gPRSP	6B	1	1	8	1	2	4	0.031	-A-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	ARD-470	3	gPRSP	14	1	0.5	8	1	2	4	0.016	-A-	-AF-	----	-	---A	----	-	
	Z91	8M	gPRSP	14	0.125	0.25	4	2	4	1	0.008	-A-	-AF-	----	-	----	----	-	
	JPS-245	1M	gPRSP	14	0.125	0.5	4	2	4	2	0.016	-S-	-A-	---S	-	----	----	-	

※ KTG周囲に10個のアミノ酸置換が認められる

Chiba N., et al., J. Antimicrob. Chemother. 56: p756-760, 2005

た状況が生じている。

### (3) 高度耐性肺炎球菌 (High-resistant gPRSP : H-gPRSP)

肺炎や化膿性髄膜炎例から分離された gPRSP のうち、 $\beta$ -ラクタム系薬に対する耐性レベルが通常の gPRSP よりも明らかに高い株が散見され始めている。これらの株を H-gPRSP と規定し、すべての PBP 遺伝子について詳細な解析を行った成績を表-2 に示す。セフェム系薬に対する耐性度の上昇した株が、ペニシリン系薬に対するそれよりも圧倒的に多い。これらの株の PBP2X 酵素は、STMK 配列が SAFK へとアミノ酸置換しており、経口セフェム系薬の感受性低下のみならず、注射用セフェム系薬の MIC も 2-16  $\mu$ g/ml となっていることに留意が必要である。肺炎などの疾患に対しセフェム系薬を使用して一旦軽快退院しても、上咽頭に同一菌が残存しており、再発している例が臨床的に散見され始めている。

一方、ABPC を含むペニシリン系薬に 8  $\mu$ g/ml と高い耐性を示す株は、解析株中に 3 株認めたが、これらは PBP2B の KTG 配列周囲に 10 個のアミノ酸置換が挿入されていた。この領域は遺伝子組み換えを起こしたモザイク状態を呈していると考えられる。このような遺伝子を持つ株は、ペニシリン系以外のカルバペネム系薬、PAPM に 0.25  $\mu$ g/ml、MEPM に 1  $\mu$ g/ml と抗菌力が

やや低下している。ちなみに、米国では ABPC に 8  $\mu$ g/ml 以上の株の方がセフェム高度耐性株よりも多い。現在、H-gPRSP は数%であるが、将来このような耐性菌が次第に増加してくるのかも知れない。

### 2) マクロライド系薬、CLDM, TEL 感受性と耐性遺伝子との関係

図-5 には、肺炎球菌に見いだされるマクロライド耐性遺伝子と 14 員環マクロライド薬の CAM, 15 員環の AZM, リンコマイシン系の CLDM, ケトライド系薬の TEL 感受性との関係を示す。

マクロライド耐性遺伝子としては 23S rRNA のメチル化修飾酵素をコードする *ermB* 遺伝子がよく知られているが、PRSP と併行して増加したのは、菌体内に取り込まれたマクロライド系薬を菌体外へ排出する MefA 蛋白をコードする *mefA* 遺伝子保持株である。

MefA に限らず、種々の物質を菌体外へ排出するシステムは、本来細菌が生息環境に適応し、生き延びるために獲得してきた自己防衛システムである。後藤の総説<sup>9)</sup>によると、自然環境中に生息している細菌やヒトの腸管に生息するグラム陰性桿菌ほど多数の複雑な排出システム機構を保持し、ヒトの気道系という限られた環境下で生き延びてきた細菌ではその数は少なく、また単純なように思われる。

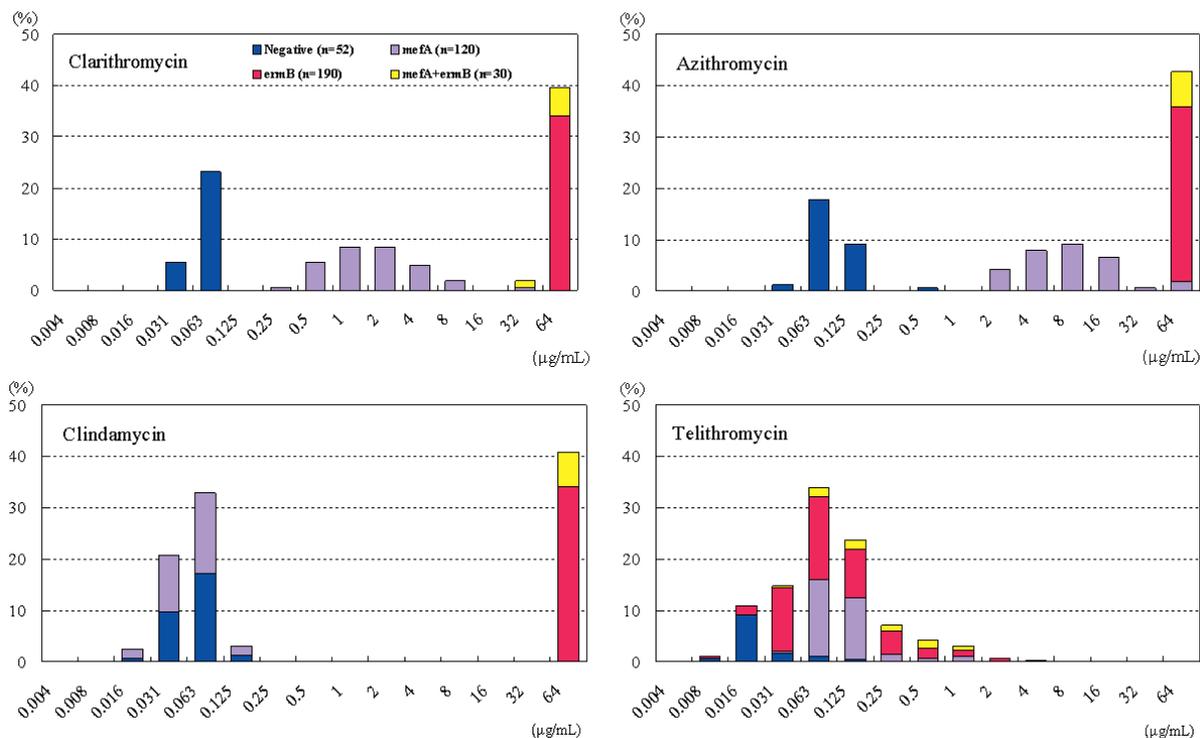


図-5. 肺炎球菌におけるマクロライド耐性遺伝子と薬剤感受性との関係 (n = 392)

さて、最近の肺炎球菌におけるマクロライド耐性遺伝子保有状況は、*mefA* 遺伝子保持株が30%、*ermB* 保持株は49%、その両方を保持する株が約8%認められ、耐性遺伝子を持たない感性株はわずか10%程度に過ぎない。図にみられるように、*ermB* 保持株に対しては、TELを除くCAM, AZM, CLDM等の既存のマクロライド系薬は $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ の高度耐性を示す。*mefA* 保持株には14員環と15員環マクロライド系薬は0.5–16  $\mu\text{g/ml}$ のMICを示している。

このような*mefA* 保持株に対して臨床効果が得られるのか否かが問題である。血中濃度は低くても、薬物が炎症巣の好中球内に取り込まれ臨床効果が得られるとする説もある。しかし、耳鼻咽喉科領域の各種疾患や小児の呼吸器感染症に対して、感性菌と同等の臨床効果が得られているかとなると、正確なevidenceは得られていないように思われる。CLDMの感受性は*mefA* 遺伝子の影響は受けず、感性株と同様の感受性を示す点が特徴である。

一方、新規抗菌薬であるTEL感受性は一峰性である。しかし、遺伝子との関係を見ると、耐性遺伝子保持株に対しては必ずしも感性菌に対するのと同じ抗菌力を発揮しているわけではなく、耐性側へtailした分布である。特に2–4  $\mu\text{g/ml}$ といったMICの高い株が存在していることが気になる点である。欧州において分離さ

れたMICが8  $\mu\text{g/ml}$ レベルの株では、既に23S rRNA遺伝子上に変異のあることが報告されている<sup>10)</sup>。当該薬で得られる血中濃度と肺炎球菌に対する殺菌性にアンバランスが生じれば、耐性菌は容易に選択されるかも知れない。

3) ニューキノロン系薬感受性と耐性遺伝子との関係  
肺炎球菌におけるニューキノロン系薬耐性は、本系統の薬剤が呼吸器感染症の第一選択薬として、しかも高用量で推奨されてきた欧米において、1990年代から出現し、注目されている耐性である。この耐性菌の選択には、ヒト生体内における薬物濃度が密接に関連しており、むしろ高用量投与下で生じる「time inside mutant selection window」の長さが問題といわれている。

その耐性率の動向は、ブレイクポイントをLVFXあるいはCPFVXのいずれの濃度に設定するかでかなり異なった数値となる。LVFXに8  $\mu\text{g/ml}$ 以上のMICを示す株を耐性としたPROTEKTの成績によると、EUでは1%前後、カナダや米国ではやや高率で香港や韓国では飛び抜けて高率である<sup>11)</sup>。その中に記載された日本株の成績は成人由来の肺炎球菌であろうと思われるが、耐性率は1.3%と記載されている。しかし、主に呼吸器感染症に関わる細菌に限ると、このブレイクポイントは得られる生体濃度から余りにもかけ離れていることは明白

表-3. 当研究室に収集された市中感染症由来肺炎球菌の LVFX 感受性低下株とアミノ酸置換

菌株	MIC LVFX ( $\mu\text{g/ml}$ )	DNAジャイレース		トポイソメラーゼIV	
		GyrA	GyrB	ParC	ParE
ARD741	1	-	-	-	-
JPS139	32	<b>Ser<sub>81</sub>Phe</b>	-	<b>Ser<sub>79</sub>Tyr</b>	<b>Ile<sub>460</sub>Val</b>
JPS237	32	<b>Ser<sub>81</sub>Phe</b>	-	<b>Ser<sub>79</sub>Tyr</b>	<b>Ile<sub>460</sub>Val</b>
ARD602	4	-	-	-	<b>Ile<sub>460</sub>Val</b>
ARD620	4	-	-	-	<b>Ile<sub>460</sub>Val</b>
ARD1026	4	-	-	-	<b>Ile<sub>460</sub>Val</b>
ARD616	2	-	-	-	-

である。

一方、ニューキノロン系薬に対する耐性メカニズムであるが、既に欧米の分離株で詳細に解析され、いくつかの遺伝子関与が報告されている<sup>12)</sup>。ひとつはキノロン薬の作用標的酵素である DNA ジャイレース(トポイソメラーゼ II とも呼ばれる)をコードする遺伝子上の変異である。DNA ジャイレースは ATP 存在下で DNA 鎖の高次構造形成(スーパーコイルリング)に機能する酵素であるが、サブユニット A(GyrA)とサブユニット B(GyrB)とからなる 4 量体であり、それぞれ *gyrA* と *gyrB* 遺伝子にコードされている。耐性化に関わっているのは主として *gyrA* 遺伝子上の変異であるが、この遺伝子にコードされた GyrA 上のアミノ酸置換は特定領域に偏在して認められ、その領域はキノロン耐性決定領域(quinolone resistance-determining region: QRDR)と呼ばれる。

もう一つは、トポイソメラーゼ IV と呼ばれる酵素をコードする遺伝子変異である。トポイソメラーゼ IV は複製された染色体 DNA を娘細胞へ分配するためのデカテネーション反応を触媒する酵素であるが、やはり 4 量体であり、サブユニット A(ParC)は *parC* 遺伝子、サブユニット B(ParE)は *parE* 遺伝子にそれぞれコードされている。

私どもはニューキノロン系薬の対象である成人由来の肺炎球菌を大規模に収集しているわけではない。しかし、「化膿性髄膜炎全国サーベイランス研究班」を通じ、過去 5 年間に成人と小児の髄液あるいは血液由来として収集された株の LVFX 感受性をみると、感性株の MIC (0.5–2  $\mu\text{g/ml}$ ) よりも明らかに高い値を示す株が 1% 存在している。表-3 にはそれら数株の LVFX 感受性と各遺伝子上に認められたアミノ酸置換の成績を示す。欧米の耐性株で認められている GyrA のセリン<sub>81</sub>のフェニルアラニンへの置換と ParC のセリン<sub>79</sub>のチロシンへの置換を同時に保持する株の耐性度が 32  $\mu\text{g/ml}$  と明らかに

高い。しかし、LVFX の感受性が 4  $\mu\text{g/ml}$  とわずかに低下した株でも ParE のイソロイシン<sub>460</sub>のバリンへの置換が既に認められている。ParE のような変異のみで感受性低下が軽微な場合には、生物学的手法では識別が不可能であり、さらにもう 1 つの遺伝子上に変異が生じて耐性度が上昇してから気付くことになる。本系統の抗菌薬の使用状況をみると、耐性化は徐々に進行するものと思われ、耐性菌のわずかな今の段階から軽度耐性菌の動向を把握しておく必要がある<sup>13)</sup>。

### 3. インフルエンザ菌

#### 1) $\beta$ -ラクタム系薬耐性

##### (1) 耐性化に関わる遺伝子

1998 年以降、日本でのみ急速に増加してきた耐性インフルエンザ菌は、感性/耐性を識別する基準薬となっている ABPC の名前をつけ、 $\beta$ -lactamase-nonproducing and ABPC-resistant (BLNAR) インフルエンザ菌と呼ばれる。インフルエンザ菌に対する ABPC の感受性は本来 0.25–0.5  $\mu\text{g/ml}$  である(図 8 参照)。1–2  $\mu\text{g/ml}$  の MIC を示す菌では、PBP3 に対する ABPC の親和性が低下していることは、Parr ら<sup>14)</sup>によって既に 1984 年に報告されていた。

私どもがインフルエンザ菌を研究対象としたきっかけは、肺炎球菌と同様に呼吸器系検査材料から高頻度に分離される本菌が、果たして耐性化しないのであろうかという素朴な疑問と、分離株が ABPC に 2 峰性の感受性分布を示し始めたことに気付いたことによる。その後、 $\beta$ -lactamase を産生せずに ABPC に 1  $\mu\text{g/ml}$  以上の MIC を示す菌では、隔壁合成酵素である PBP3 をコードしている *ftsI* 遺伝子上に塩基変異が生じ、いくつかのアミノ酸置換となって酵素機能が変化していることを明らかにした<sup>15)</sup>。その中で、BLNAR は後述するアミノ酸置換と耐性レベルとの関係から、耐性度上昇が軽度の株

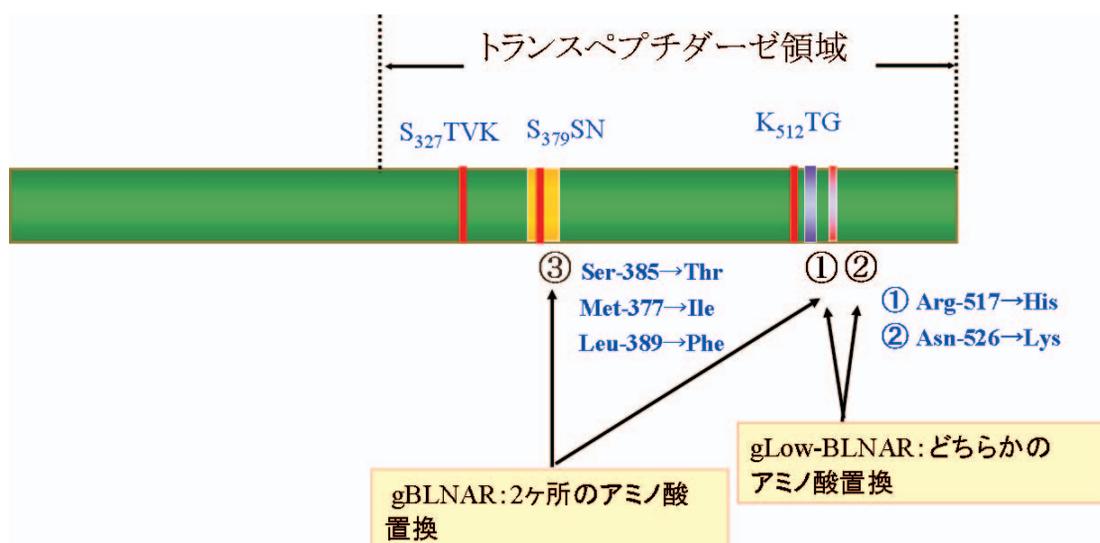


図-6. インフルエンザ菌の *ftsI* 遺伝子上の変異から推定される隔壁合成酵素 PBP3 にみられるアミノ酸置換 (アミノ酸残基: 610 a.a. 分子量: 67,000)

表-4.  $\beta$ -ラクタム系薬耐性インフルエンザ菌に対する呼称

	$\beta$ -lactamase (TEM-1, ROB-1)	PBP3( <i>ftsI</i> )変異	
		1ヶ所	2ヶ所
gBLNAS	-	-	-
gBLPAR	+	-	-
gLow-BLNAR	-	+	-
gBLNAR	-	-	+
gBLPACR-I	+	+	-
gBLPACR-II	+	-	+

gBLNAS:  $\beta$ -lactamase-nonproducing, ABPC-susceptible *H. influenzae*

gBLPAR:  $\beta$ -lactamase-producing, ABPC-resistant *H. influenzae*

gBLNAR:  $\beta$ -lactamase-nonproducing, ABPC-resistant *H. influenzae*

gBLPACR:  $\beta$ -lactamase-producing, amoxicillin/clavulanic acid-resistant *H. influenzae*

は Low-BLNAR, 耐性上昇の明らかな株を BLNAR として区別すべきであることも併せて報告している。

図-6 には *ftsI* 遺伝子にコードされた PBP 3 にみられるアミノ酸置換をスキームで示す。1998-2000 年頃の耐性化初期の分離株で多くみられたのは、図中に①としたアルギニン(Arg)<sub>517</sub> のヒスチジン(His)への置換, あるいは②としたアスパラギン(Asn)<sub>526</sub> のリジン(Lys)への置換である。中でも, 後者の変異株が 9 割を占めていた。電荷的に中性のアスパラギンから塩基性のリジンへ置換することで, 酵素中の活性ポケット部位の立体構造に揺

らぎが生じ, その安定性を低下させているのでであろうと想像される。そして, ①あるいは②のどちらかと, ③とした領域にセリン(Ser)<sub>385</sub> のトレオニン(Thr)への置換を含むいくつかのアミノ酸置換が加わると, 耐性度は明らかに上昇する。これが臨床的に問題となる BLNAR であり, 前者が Low-BLNAR である。

インフルエンザ菌における  $\beta$ -ラクタム系薬耐性メカニズムをまとめると表-4 のようになる。感性菌は  $\beta$ -lactamase-nonproducing and ABPC-susceptible (BLNAS) インフルエンザ菌,  $\beta$ -lactamase 産生菌は  $\beta$ -lac-

tamase-producing and ABPC-resistant (BLPAR) インフルエンザ菌と呼ばれる。ちなみに、日本で5%前後の割合で分離されているBLPARはそのほとんどがTEM型の $\beta$ -lactamase産生菌で、ROB型を産生するBLPARは滅多に分離されない。しかし、同時期に分離された米国株ではインフルエンザ菌全体の26%がTEM型 $\beta$ -lactamase産生菌、10%がROB型産生菌である<sup>16)</sup>。

近年、さらに*ftsI* 遺伝子変異と $\beta$ -lactamase産生能を

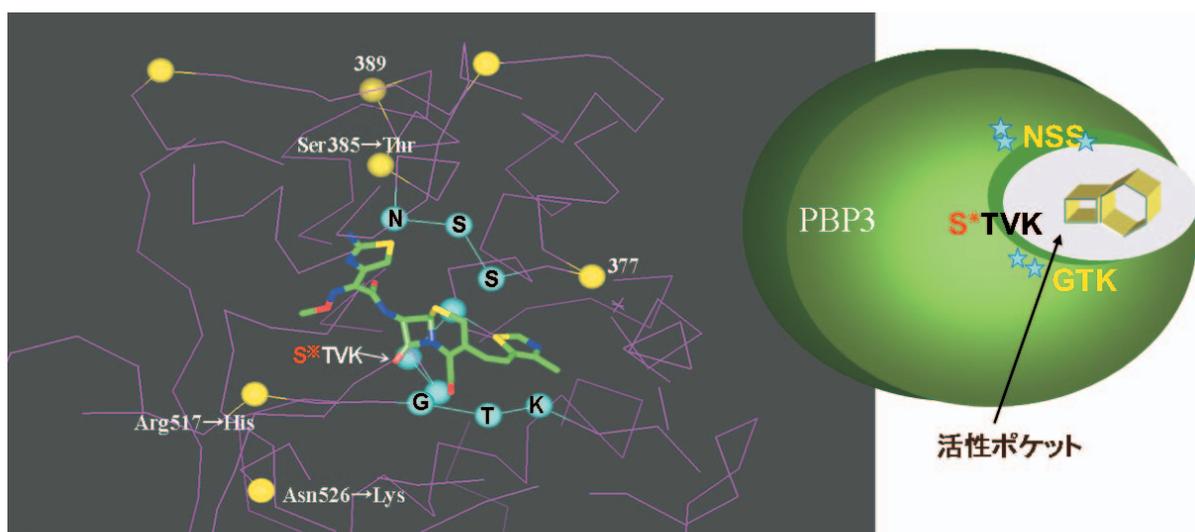
有する耐性菌が分離され始めている。これらは $\beta$ -lactamase-producing and amoxicillin/clavulanic acid-resistant (BLPACR) インフルエンザ菌と呼ばれ、*ftsI* 遺伝子の変異レベルからやはりBLPACR-IとBLPACR-IIに区別される。

私どもはインフルエンザ菌に対してもPCRによる遺伝子検索法を確立し、遺伝子レベルで感性/耐性を正確に識別し、それらには肺炎球菌の場合と同様に genotype

表-5. gBLNAR株のPBP3にみられるアミノ酸置換と薬剤感受性との関係(n=146)

Subgroup	No. of Strain	アミノ酸置換									平均的MIC ( $\mu$ g/mL)		
		STVK	SSN配列周囲			KTG配列近位			ABPC	CTX	MEPM		
		Val- <sub>329</sub>	Met- <sub>377</sub>	Ser- <sub>385</sub>	Leu- <sub>389</sub>	Ala- <sub>502</sub>	Val- <sub>511</sub>	Arg- <sub>517</sub>	Ile- <sub>519</sub>	Asn- <sub>526</sub>			
Control	MT 196	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.125	0.016	0.031
I	10	—	—	Thr	—	—	—	His	—	—	1	0.063	0.063
II	7	—	Ile	Thr	—	—	—	His	—	—	2	0.125	0.125
III	9	—	Ile	Thr	Phe	—	—	His	—	—	1	0.5	0.031
IV	7	—	—	Thr	—	—	—	—	—	Lys	1	0.25	0.25
V	3	—	Ile	Thr	—	—	—	—	—	Lys	1	0.25	0.063
VI	1	—	—	Thr	Phe	—	—	—	—	Lys	2	0.25	0.125
VII	102	—	Ile	Thr	Phe	—	—	—	—	Lys	2	1	0.25
i	2	—	Ile	Thr	Phe	—	Ala	His	—	—	2	0.5	0.125
ii	1	Ala	Ile	Thr	—	—	—	His	—	—	1	0.5	0.25
iii	1	—	—	—	—	Val	Ala	—	Leu	Lys	16	0.25	2
iv	1	—	—	Thr	—	Val	Ala	—	Leu	Lys	4	0.5	0.5
v	1	—	Ile	Thr	Phe	—	Ala	—	—	Lys	2	0.5	0.25
vi	1	Ile	—	Thr	Phe	—	—	—	—	Lys	4	1	0.5

注: 黒字で示したのは既に公表したアミノ酸置換, 赤字は新たに見いだされたアミノ酸置換



※セリン

図-7. インフルエンザ菌PBP3の3次元解析モデルからみたアミノ酸置換の位置(肺炎球菌のPBP2Xをモデルとして構築したものである)

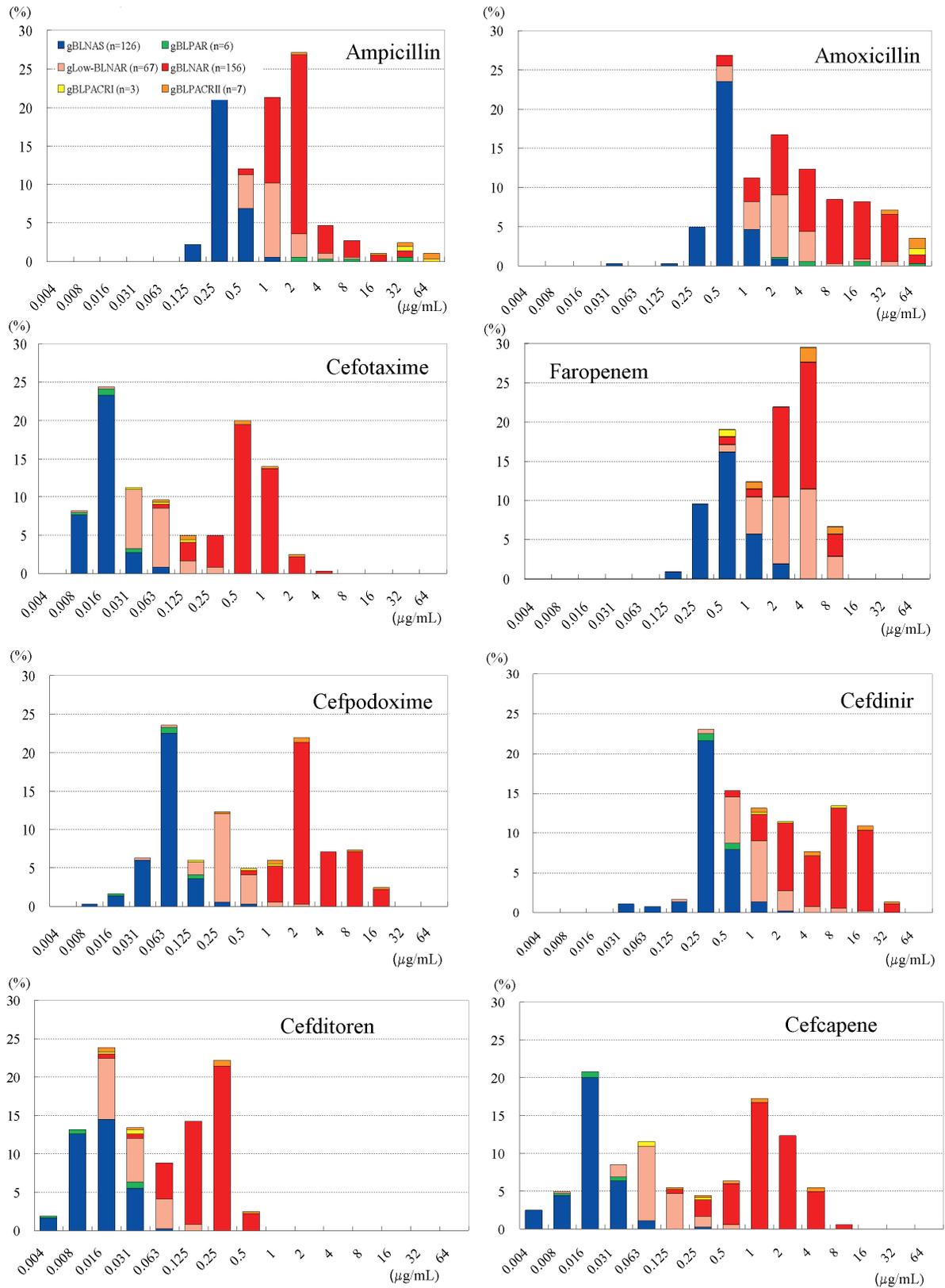


図-8. 小児の呼吸器感染症由来インフルエンザ菌における耐性遺伝子と $\beta$ -ラクタム系薬感受性との関係 (n = 365)

を表す g を付けて表記している<sup>17)</sup>。その理由は、インフルエンザ菌に対する  $\beta$ -ラクタム系薬の感受性は接種量の影響を受けやすく、MIC を正確に判定し難いという理由による<sup>18)</sup>。ここでは省略したが、PBP4 をコードする *dacB* 遺伝子などの解析では、耐性化に明らかに影響している変異は今のところ見いだされていない。

## (2) 多様化してきた *ftsI* 遺伝子上の変異

BLNAR が注目され始めてから既に 5 年が経過した。その間に分離された小児および成人呼吸器感染症由来株について *ftsI* 遺伝子を解析すると、表-5 に示すアミノ酸置換が認められる。上段に I~VII として示した初期からみられたアミノ酸置換に加え、i~vi としたさらなるアミノ酸置換が認められ始めている。そして、アミノ酸置換の数が多くなるほど耐性レベルは高くなる傾向がみられ、そのことは *ftsI* 遺伝子のトランスフォーメーション実験によっても裏付けられている（未発表データ）。なかでも注目されるのは、 $\beta$ -ラクタム系薬の結合サイトであるセリンを含む STVK のバリン (Val) がアラニン (Ala) あるいはイソロイシン (Ile) に置換した株が出現していることである。肺炎球菌の項でも述べたように、この位置の置換は特に重要と思われる。今後さらなる変異株が選択されてくる可能性は十分に考えられる。

一方、これらのアミノ酸置換が三次元解析上、PBP3 のどの位置にあるのかを図-7 に示す。この成績は PBP3 を精製して解析し構築したものではなく、相同性のみられる肺炎球菌の PBP2X をモデルとして解析されているので、必ずしも正確とは言い難いが、それでも上述した

アミノ酸置換が STVK を含む活性ポケットの近位に存在していることは明らかである。

## (3) $\beta$ -ラクタム系薬感受性と *ftsI* 遺伝子変異との関係

図-8 には、小児呼吸器感染症由来のインフルエンザ菌に対する経口  $\beta$ -ラクタム系薬および CTX 感受性と耐性遺伝子との関係を示す。gBLNAR は赤、gLow-BLNAR はオレンジで示した。基準薬 ABPC の感受性成績では gBLNAS の MIC ピークが  $0.25 \mu\text{g/ml}$  にあるのに対し、gLow-BLNAR のそれは  $1 \mu\text{g/ml}$ 、gBLNAR は  $2 \mu\text{g/ml}$  にある。AMPC や FRPM でも同様で、これらの薬剤では 3 者を明確に区別することは不可能に近い。しかし、セフェム系薬の CTX、CPDX、CDTR、CFPN、CFDN 等の成績をみると、gBLNAR は耐性側にひとつのグループを形成し、かなり明確に識別されている。

一方、経口抗菌薬でどの程度の臨床効果が期待できるのかをそれぞれの血中濃度と感受性成績から推定すると、経口セフェム系薬では 1 薬剤を除き、すべての薬剤が gBLNAR に対して  $1-16 \mu\text{g/ml}$  といった MIC を示している。Craig の理論に当てはめるまでもなく、細菌学的効果は期待し難いことが判る。また、AMPC の抗菌力も gBLNAR に対しては  $2-32 \mu\text{g/ml}$  と明らかに低下している。つまり、生体内に侵入した細菌のフォカスとなっている上咽頭に生息する耐性インフルエンザ菌に対し、確実に生菌数を減少させ得る経口薬のないことが短期間に gBLNAR を増加させた一因であることが判

表-6. 当研究室に収集された市中感染症由来・インフルエンザ菌中にみいだされた LVFX 感受性低下株とアミノ酸置換

菌株	MIC LVFX ( $\mu\text{g/ml}$ )	DNAジャイレース		トポイソメラーゼIV	
		GyrA	GyrB	ParC	ParE
ARD104	0.016	-	-	-	-
ARD253	0.5	<b>Ser<sub>84</sub>Leu</b>	-	-	-
ARD761	0.5	<b>Asp<sub>88</sub>Tyr</b>	-	-	-
Spain株-1 <sup>a)</sup>	0.12-4.0	<b>Ser<sub>84</sub>Leu or Phe</b> <b>Asp<sub>88</sub>Tyr or Asn</b>	-	<b>Ser<sub>84</sub>Ile or Arg</b>	-
Spain株-2	32	<b>Ser<sub>84</sub>Leu or Phe</b> <b>Asp<sub>88</sub>Asn or Tyr</b>	<b>Asp<sub>489</sub>Asn</b> <b>Thr<sub>472</sub>Ile</b>	<b>Gly<sub>82</sub>Asp</b>	-
USA株 <sup>b)</sup>	32	<b>Ser<sub>84</sub>Phe</b> <b>Asp<sub>88</sub>Tyr</b>	-	<b>Asn<sub>138</sub>Ser</b>	<b>Ser<sub>458</sub>Ala</b>

a) Pérez-Vázquez M., et. al, J. Clin. Microbiol. **42**: 1185-1191, 2004

b) Li X., et. al, Antimicrob. Agents Chemother. **48**: 3570-3572, 2004

る。

また、米国 Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) の勧告では ABPC に  $4\mu\text{g/ml}$  以上を生物学的な BLNAR,  $2\mu\text{g/ml}$  は中間と判定するようになっているが、薬物の投与量や使用抗菌薬の異なる日本の特殊事情の中から増加してきた gBLNAR の識別に際し、それらが非常にまれな国のブレイクポイントを無条件に当てはめることには危険が伴う。感受性検査に対してコメントすると、セフェム系薬の中では注射薬の CTX に加え、いくつかの経口セフェム系薬の感受性を併せて測定し、それらを含めて総合的に判断すべきである。

## 2) ニューキノロン系薬耐性と耐性遺伝子

インフルエンザ菌に対するニューキノロン系薬の感受性、殺菌性は極めて優れており、現在その耐性菌が臨床的に問題となっている訳ではない。しかし、世界的レベルでみると、既に遺伝子変異を有するニューキノロン系薬耐性インフルエンザ菌の出現が報告されはじめている<sup>19,20)</sup>。私どもは主として小児由来のインフルエンザ菌のみを対象としているため、成人由来株の中にどの程度のニューキノロン系薬感受性低下株が存在するのか定かではない。小児由来株に対して LVFX の感受性を測定しているが、ごくわずかではあるものの、LVFX 感性株の  $0.008\text{--}0.031\mu\text{g/ml}$  の MIC よりも 16-32 倍高い

MIC, すなわち  $0.5\text{--}1\mu\text{g/ml}$  を示す株が分離され始めている。

表-6 にはそれら 2 株についてキノロン薬耐性遺伝子を解析した成績を欧米のそれと比較して示した。LVFX に対する耐性度が低い場合には *gyrA* と *parC* 遺伝子のそれぞれの QRDR 領域に変異があり、 $32\mu\text{g/ml}$  と高い耐性株は *gyrB* あるいは *parE* 遺伝子にも変異を認めている。私どもの収集株では *gyrA* 遺伝子の QRDR 領域のみに同様の変異が証明されている。将来、このような株において、それ以外の遺伝子変異株が選択されれば、耐性度は一挙に上昇することになる。特にニューキノロン系薬が使用されている成人由来株に対する監視が必要と考える。なお、その他に薬剤の排出に関わる蛋白として AcrA と AcrB の存在が報告されているが、 $\beta$ -ラクタム系薬の耐性化にどの程度関与しているのかは不明である<sup>21)</sup>。

## 4. マイコプラズマ・ニューモニエ

マイコプラズマ・ニューモニエ(マイコプラズマ)は細胞壁のない自己増殖可能な最小の微生物である。最適な分離培養にはドライ・イーストから抽出した新鮮なエキスをういた PPLO 培地を作製して用いることがコツである。労力を必要とする割には分離までに日数を要し、

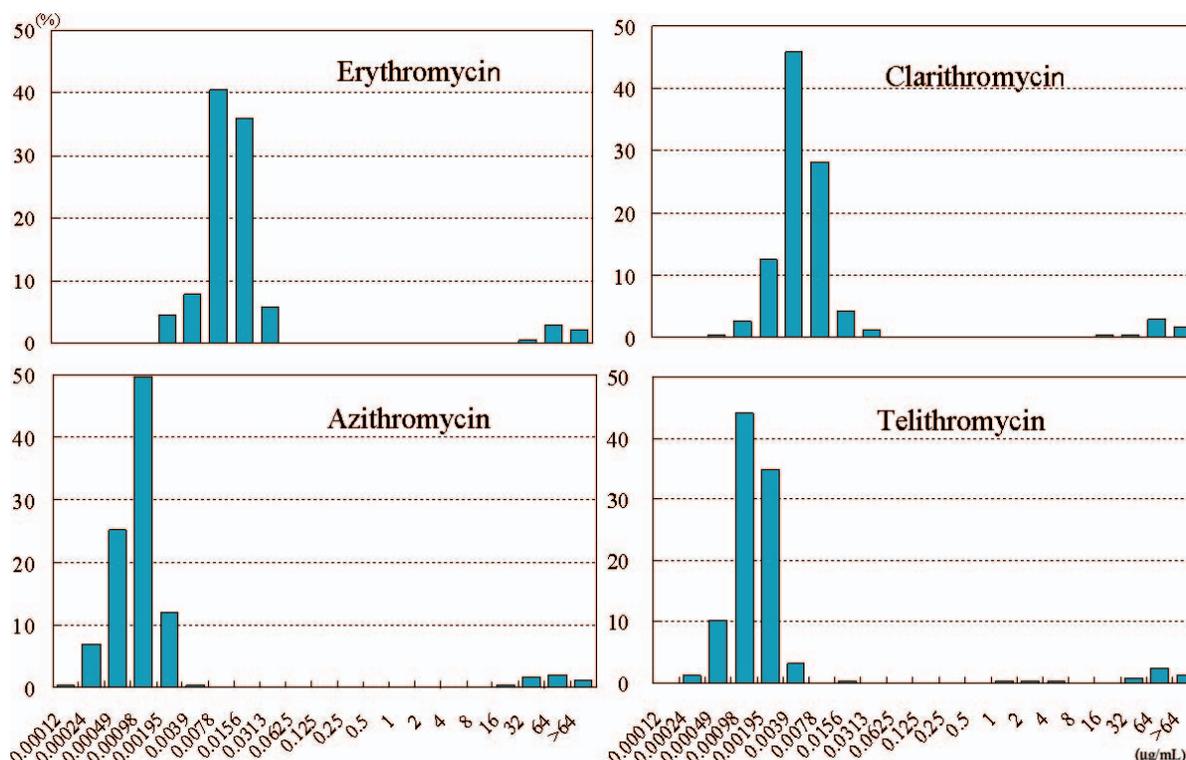


図-9. *Mycoplasma pneumoniae* に対するマクロライド系薬と TEL の感受性 (n=243)

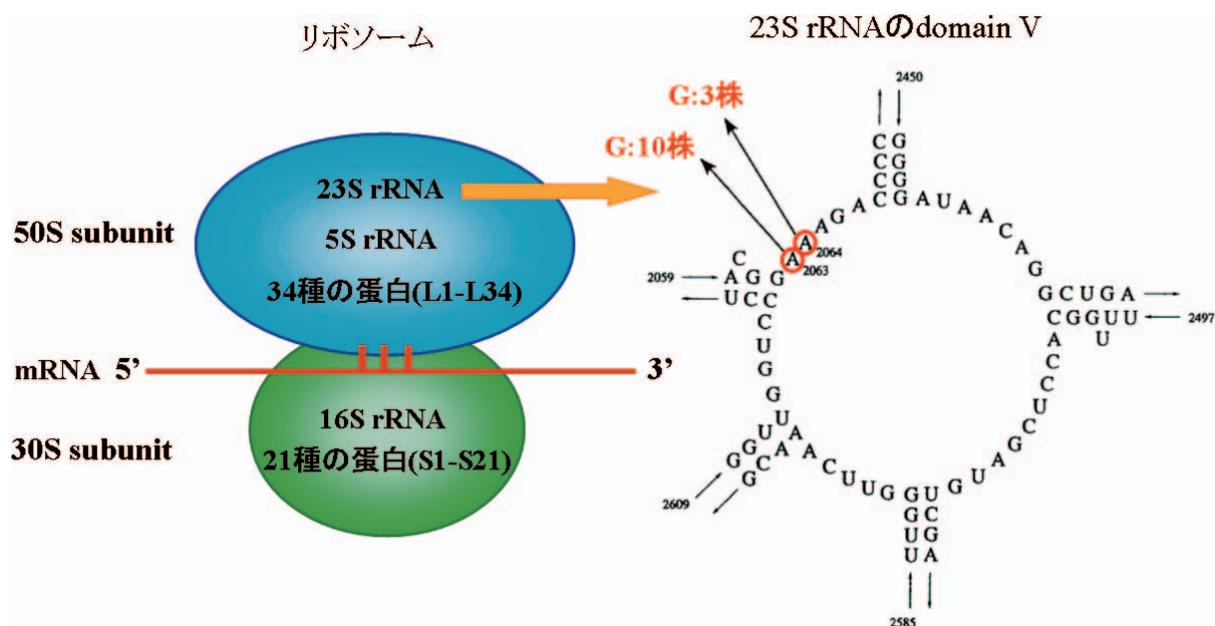


図-10. *Mycoplasma pneumoniae* におけるマクロライド耐性メカニズム

表-7. マクロライド耐性 *Mycoplasma pneumoniae* の各種薬剤感受性 (n=14)

Nucleotide change on 23S rRNA	Strain no.	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )						
		EM	CAM	AZM	TEL	JM	MDM	RKM
I (A2063G)	# 176	32	32	32	32	4	8	0.25
	# 1909	64	64	32	32	4	4	0.25
	# 1940	64	64	64	64	2	2	0.0313
	# 1986	64	64	64	64	8	8	0.125
	# 2000	64	64	64	64	8	64	0.125
	# 2159	>64	>64	>64	>64	8	8	0.125
	# 2313	64	64	32	64	64	>64	16
	# 2316	>64	>64	>64	>64	8	8	0.125
	# 2381	>64	>64	>64	>64	8	8	0.125
# 2956	64	64	64	64	16	0.0313	16	
II (A2064G)	# 2081	>64	16	16	2	>64	>64	8
	# 2323	>64	>64	64	4	>64	>64	16
	SY-42	32	16	8	1	64	16	64
III (Unknown)	# 185	64	64	32	64	0.0625	0.0313	0.0156

Morozumi M., et. al., Antimicrob. Agents Chemother., 49:2302-2306, 2005

診断にはほとんど役に立たないことから、日常の確定診断には専ら抗体価の測定が行われ、日本では数施設でしか培養が行われなくなりました。

しかし、臨床的には3歳以上の小児から成人にかけてみられる異型肺炎のほとんどはマイコプラズマが起炎菌であるといわれ、本来重要な微生物である。私どもはその分離効率を高めるにはどのような手段が必要かということをきっかけとしてPCRによる迅速診断法を確立し

たが、その感度と精度を確認するために培養を行っている<sup>22,23)</sup>。小児肺炎例の約20%がPCR陽性となり、数例を除いて抗体価も上昇している。また、そのうちの75%からマイコプラズマが単離されている<sup>24)</sup>。

#### 1) マクロライド系薬感受性

肺炎例からマクロライド薬耐性マイコプラズマが分離されたことを世界で初めて報告したのは、神奈川衛生研

究所の岡崎，札幌鉄道病院の成田らのグループである<sup>25)</sup>。私どもは2002年から2年半の間に，小児肺炎炎から250株近いマイコプラズマを分離したが，それらに対するマクロライド系薬感受性成績は図-9に示した通りである。

図にみられるように，本来マクロライド薬はマイコプラズマに対し極めて優れた抗菌活性を有している。しかし，いずれの薬剤においても約6%の明らかな耐性株を認める。

## 2) マクロライド耐性メカニズム

マイコプラズマのマクロライド耐性メカニズムであるが，図-10にスキームで示すように，マクロライド薬の作用標的である23S rRNAの塩基変異である。23S rRNAは5S rRNA，34種の蛋白(L1~L34)とともに50Sリボソームの構成体であるが，その中心部に位置するドメインVはペプチジルトランスフェラーゼ(転移酵素)の機能発揮に重要である。マクロライド薬はこのドメインVに結合することにより，その転移活性を阻害して抗菌力を発揮する。ちなみに，TELはその化学構造の特性からドメインVとドメインIIに結合して抗菌力が発揮される。

マクロライド耐性株では，ドメインVの2063番のアデニン(A)がグアニン(G)へ，あるいは2064番のアデニン(A)がグアニン(G)へ変異している。この変異によってマクロライド系薬はドメインVに結合できなくなり，結果として耐性化することになる。

私どもが収集した耐性株の詳細は表-7に示したが，変異が隣同士であるにもかかわらず，耐性を示す薬剤とそのレベルが微妙に異なっている。すなわち，A2063G

の変異株では14員環，15員環，TELに高度耐性を示すが，16員環には耐性レベルはやや低い。それに対し，A2064GではTELのみにやや感性側よりのMICを示している<sup>26)</sup>。いずれにしてもTELが耐性マイコプラズマに抗菌力を発揮しない理由は，ドメインIIのTEL結合サイトとされる785番のアデニンがマイコプラズマではシトシンのため，薬剤の特性が十分に発揮できないのではないかと推定される。

上述したように，本来マイコプラズマの正確な疫学調査は必要である。しかし，現状では恐らく最も難しいテーマのひとつであろう。その理由は，分離培養の技術的困難さもさることながら，その病態が一般的には比較的軽症であること，自然治癒例もかなりあることから，成人例では最初から検査設備の備わった病院を受診する例が極端に少ないと考えられるためである。また，たとえ受診したとしても，ほとんどの症例に対して診療所レベルで抗菌薬が投与されており，加えて発症から日時も経ち過ぎ，マイコプラズマが分離できる検査のタイミングを失っている。成人に対する疫学調査には診療所も含めたチームワーク研究が望まれる。

## 5. A群溶血レンサ球菌等

### 1) 耐性遺伝子と薬剤感受性

A群溶血レンサ球菌(A群レンサ球菌)は，小児の咽頭炎，扁桃炎などの上気道感染症，あるいはまれに成人での劇症型A群レンサ球菌感染症，軟部組織感染症の原因菌として重要な細菌である。市中感染症の主要細菌が次々と耐性化していく中で，本菌のみは耐性化し難いとされてきた。唯一問題となったのは，1970年代半ばにT12型が大流行した際の溶原化ファージによって伝

表-8. *Streptococcus pyogenes* のβ-ラクタム系薬感受性

抗菌薬	MIC( $\mu$ g/mL)		
	Range	50%	90%
Ampicillin	0.016 - 0.031	0.031	0.031
Amoxicillin	0.016 - 0.063	0.016	0.031
Cefaclor	0.063 - 0.25	0.125	0.125
Cefdinir	0.004 - 0.016	0.008	0.008
Cefpodoxime	0.008 - 0.031	0.016	0.016
Cefditoren	0.008 - 0.016	0.008	0.008
Cefcapene	0.008 - 0.016	0.008	0.008
Faropenem	0.016 - 0.031	0.016	0.031

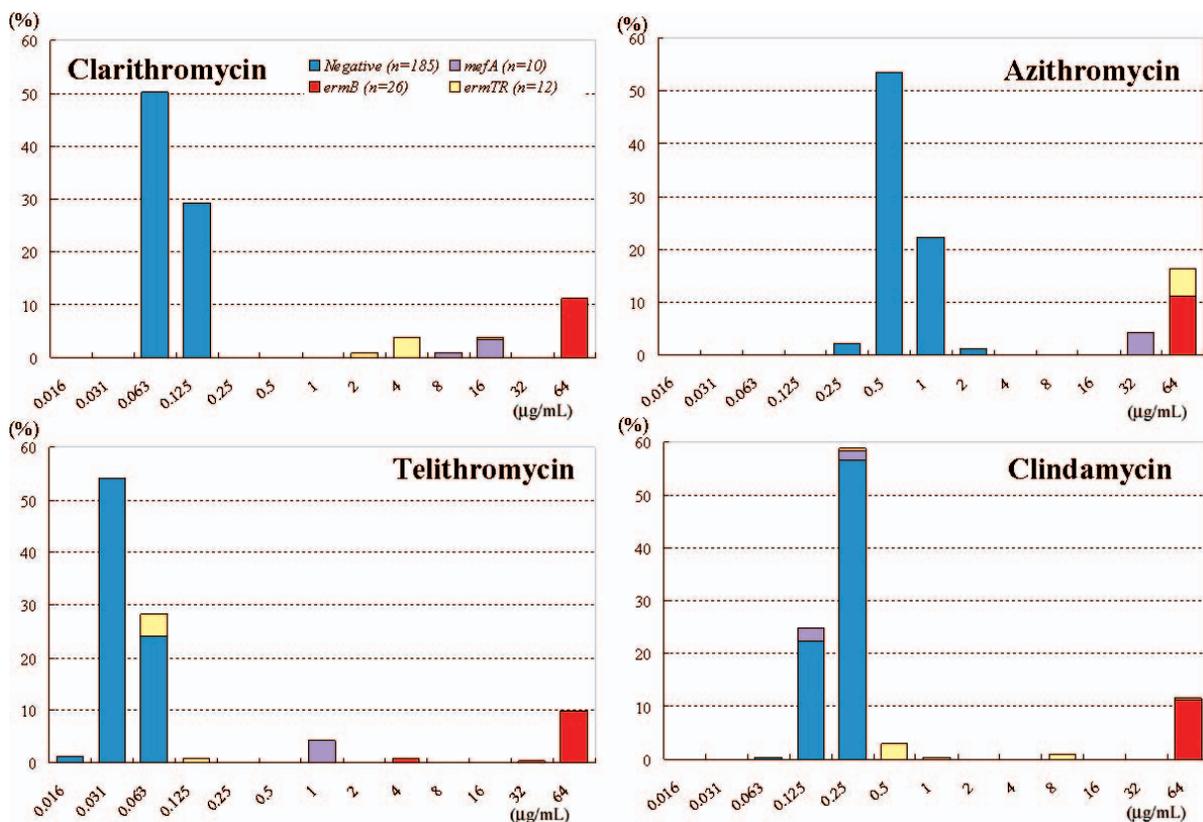


図-11. 小児気道感染症由来 *Streptococcus pyogenes* のマクロライド系薬感受性と耐性遺伝子との関係 (n = 233)

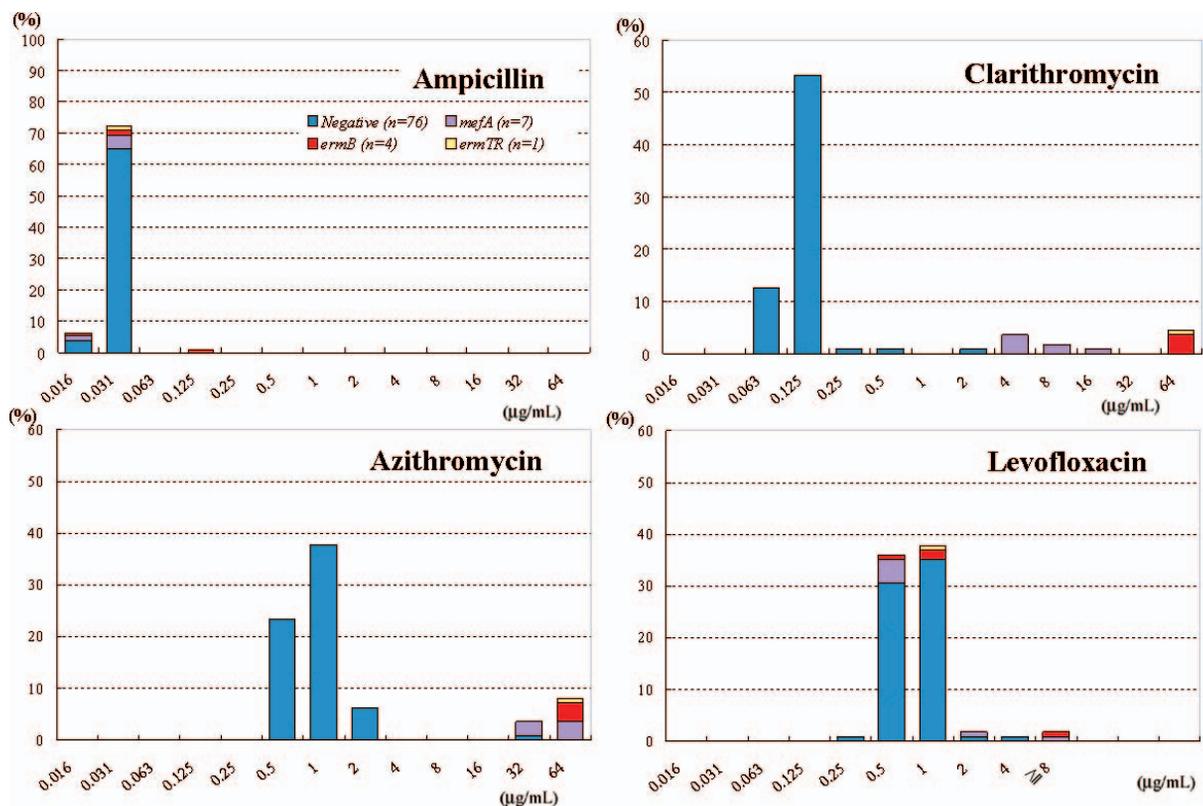


図-12. *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* のマクロライド, および LVFX 感受性と耐性遺伝子との関係 (n = 88)

達可能であったマクロライド耐性のみであったが、T12型株の流行の終息やマクロライド系薬の使用が減少したことにより、耐性株はほとんど分離されなくなっていた。1992年、突然、劇症型A群レンサ球菌感染症が注目されたことは記憶に新しく、本菌はもっぱらその病態との関連において注目されている細菌である<sup>27)</sup>。その当時の流行菌型としてはT1型やT3型が多かったが、国立感染症研究所のレファレンスセンターに報告されている劇症型の症例では、現在でもそれらのタイプに起因することが多いようである<sup>28)</sup>。

一方、CAMやAZM等のマクロライド薬の新作用が注目され、再び本系統の薬剤の使用される機会が増えていることに加え、近年、再びT12型が優位となってきていることは、抗菌薬感受性に変化をもたらしているように見受けられる。

表-8と図-11には、2004年から2005年にかけて全国から収集されたA群レンサ球菌(n=233株)に対するβ-ラクタム系薬とマクロライド系薬に対する感受性を示す。β-ラクタム系薬は本菌に対して依然として優れた抗菌力を示し、しかも経口セフェム系薬がペニシリン系薬よりも臨床効果の点で優れていることが明らかにされている<sup>29)</sup>。しかし、マクロライド系薬には21%の耐性菌がみられ、それらの耐性遺伝子を調べると、*ermB*、*mefA* 遺伝子の他に、*ermTR* と呼ばれるEUで最近報告された耐性遺伝子保持株が散見される。この遺伝子は*ermB* 遺伝子とホモロジーが高いが、TELにのみ挙動が異なっている。2年前の私どもの成績<sup>30)</sup>に較べると、耐性遺伝子保持株が増加しており、持続的な疫学調査はぜひとも必要である。

## 2) その他のβ溶血性レンサ球菌

A群、B群以外のβ溶血性レンサ球菌にはLancefieldの凝集反応でC、G、F群などが含まれる<sup>31)</sup>。しかし、それらについては病原性が低いとされ、その性状はほとんど検討されていない。しかし、ヒトに対してA群と同様の病原性を発揮する菌種として、1996年にVandammeら<sup>32)</sup>によって*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae* から*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* を独立させることが提唱された。その性状としてC、G群に凝集し、ストレプトキナーゼやプロテオリジンを生産することが挙げられている。また、最近では、A群に凝集するレンサ球菌の中にも*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* が存在すると報告されている<sup>33,34)</sup>。ちなみに、私どもの収集したA群レンサ球菌の中にもそれに該当する菌が1%含まれていたことが注目され

る。Cohen-Poradosuら<sup>35)</sup>は、G群によるbacteremiaについてその大多数が基礎疾患を有し、蜂巣炎が原疾患としている。そして、病原性と関連するM蛋白の*emm*型が多岐にわたっているとしている。Humarら<sup>36)</sup>は組織壊死(necrotizing)には本菌のstreptolysin S(SLS)が関与するとも報告している。

上述した国立感染症研究所の劇症型A群レンサ球菌感染症に関する年次報告書のうち、1998年の症例中には10%がG群と記載されており、G群レンサ球菌の一部が臨床的に重要であろうことが推察できる。

私どもがこれらに注目した理由は、PCRによる細菌の網羅的迅速診断確立に向けてA群レンサ球菌の識別にstreptolysin O(SLO)遺伝子を応用したいと考えたことに始まっている。SLOはA群レンサ球菌のみが保持するわけではなく、G群でも陽性の場合が多い。当然それらの株によって感染を起こしたヒトはASO抗体価が上昇するはずであり、事実、G群が無菌部位から分離された成人例ではASOが有意に上昇していたのである。昨年から本年にかけて、A群レンサ球菌とともに収集したC群、あるいはG群株は、生化学的性状からその大部分が上記の*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* であると同定され、ごく一部がいわゆるAnginosus groupに属する菌株であった。

当該菌の特徴は、血液寒天培地上ではA群レンサ球菌よりもコロニーが大きく、β溶血性も非常に強く、そしてなによりも嫌気培養を行うとムコイドタイプの大きなコロニーを作ることが特徴である。β溶血性を示すレンサ球菌に対し、Lancefieldの群別のみではもはや適切ではなく、PYR(ピロリドニルアシルアミダーゼ(アミノペプチダーゼ))産生性や、β-D-グルクロニダーゼ活性、糖の利用能、そして病原性に関わる*emm*型、SLO、ストレプトキナーゼ、ヒアルロニダーゼ産生等を検討し、性状に基づいた菌名として表記すべきであるということである。

なぜこの菌種を採りあげたかということ、図-12に示したように、本菌に対するマクロライド系薬やニューキノロン系薬の一部の感受性は必ずしも優れていないからである。マクロライド耐性遺伝子を保持しない株でもAZMに0.5-2μg/ml、LVFXでも同様に0.5-1μg/mlである。特にマクロライド耐性遺伝子保持株においてニューキノロン系薬8μg/ml以上の株が既に存在していることが危惧される。最近、私どもが行った「本年になってからのC群、G群が無菌検査材料から分離された症例に関する全国規模のアンケート調査(回答:190施設の細菌検査室(回収率:67%))でも、240例以上から

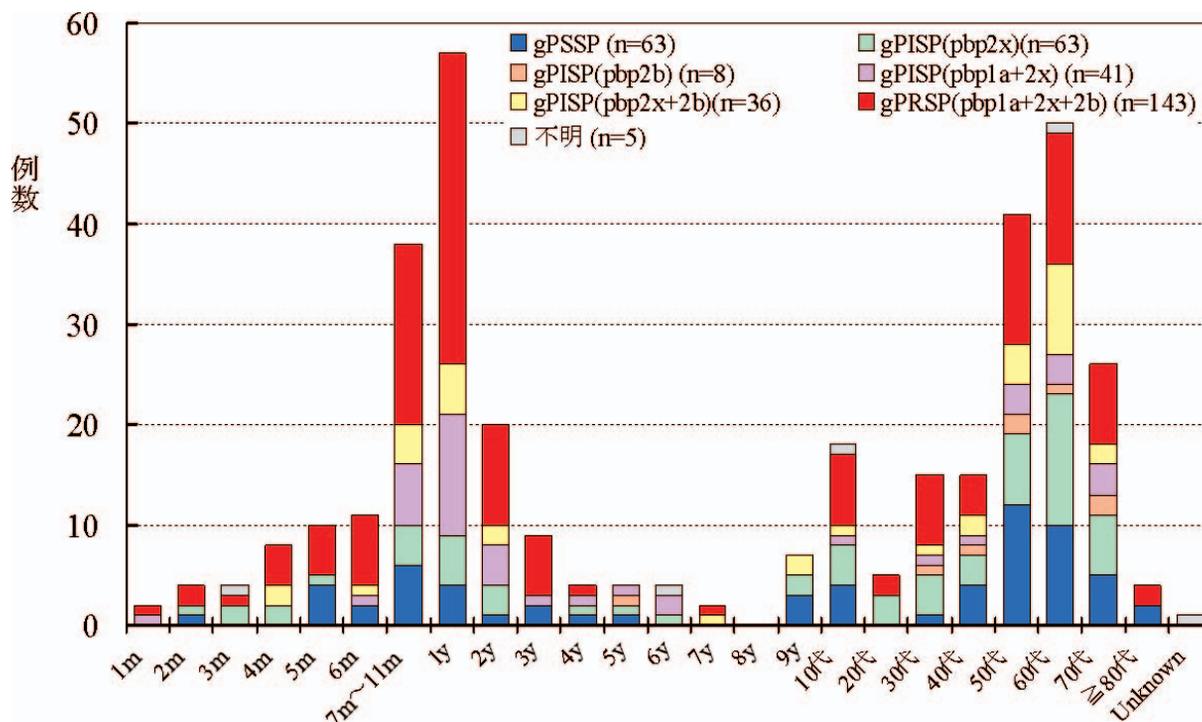


図-13. 肺炎球菌性髄膜炎の年齢分布と起炎菌の遺伝子レベルでの識別 (n = 359)

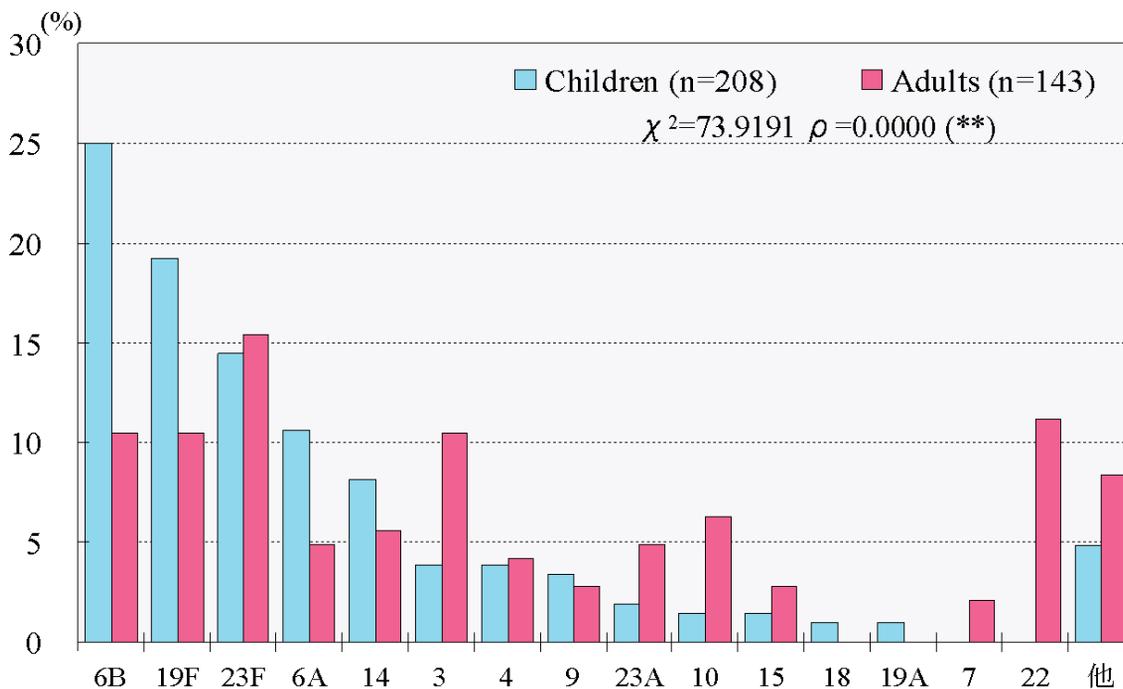


図-14. 化膿性髄膜炎由来肺炎球菌の血清型：小児と成人由来株の比較

本菌が分離されており，血液，閉鎖性の膿，関節液由来が圧倒的に多い。発症例はさまざまな基礎疾患を有する壮年期から高齢者である。薬剤耐性化動向も含めて，本菌の病態，疾患の疫学研究が必要である。

## 6. 質的变化を遂げた耐性菌による化膿性髄膜炎

質的に変化を遂げた耐性菌が，臨床的にもまた社会的にも問題提起している感染症として化膿性髄膜炎があげ

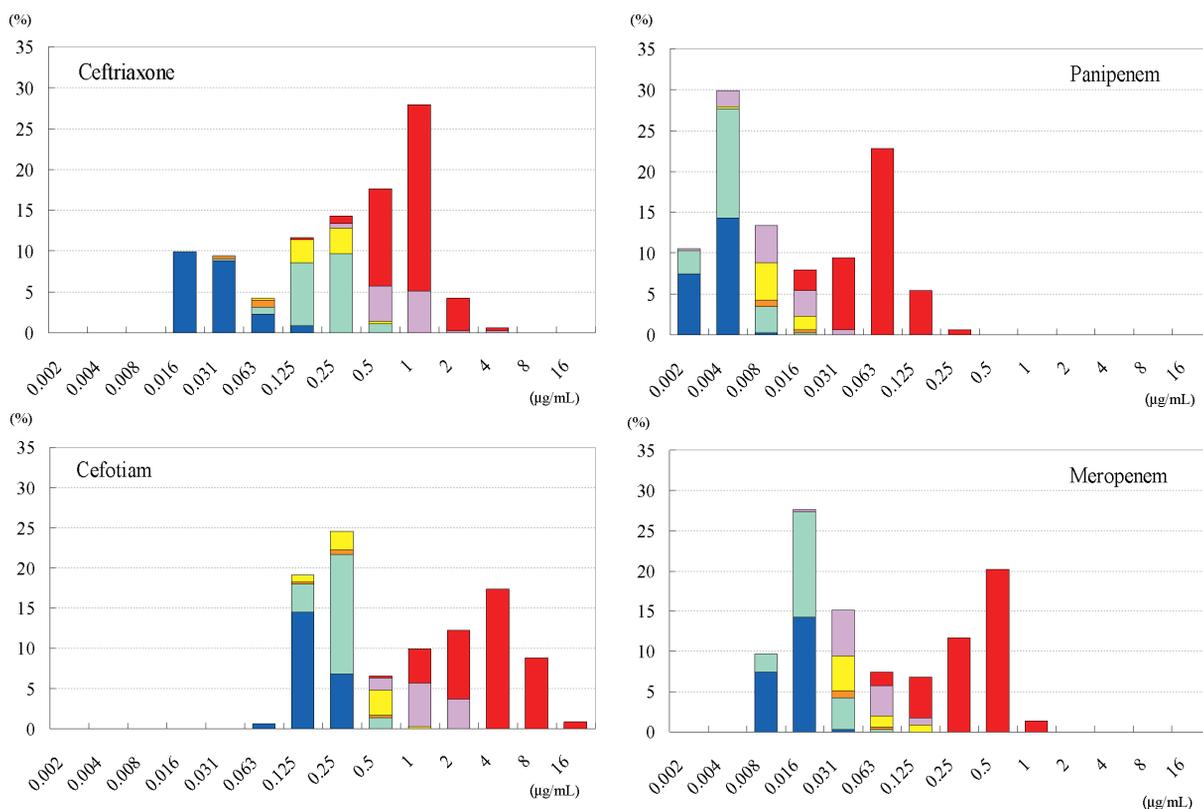


図-15. 注射用β-ラクタム系薬の感受性と耐性遺伝子との関係(n=351)

られる。砂川ら<sup>37)</sup>、上原ら<sup>38)</sup>のグループが小児科領域を対象として継続的に行っている調査成績をみても、この疾患では依然として重篤な後遺症を残しやすいことが示されている。私どもはそれらの症例から分離される起炎菌について、薬剤耐性遺伝子レベルでの解析と症例の予後に関連する背景因子の解析を目的として、1999年の暮れに「化膿性髄膜炎全国サーベイランス研究班(代表：北里大学医学部感染症学 砂川慶介教授)」を組織した。この研究には、280医療施設の細菌検査室にご協力をいただいているが、5年間に送付を受けた菌株は肺炎球菌が359株、インフルエンザ菌が662株、その他が89株で、1,000例を超えている。ここでは肺炎球菌とインフルエンザ菌について述べる。

#### 1) 肺炎球菌<sup>39,40)</sup>

図-13には、肺炎球菌性化膿性髄膜炎の発症年齢と起炎菌の薬剤耐性遺伝子との関係を示す。図にみられるように、総計359例のうち19歳以下が202例、20歳以上が156例と、成人例が予想以上に多いことが注目される。

小児においては、gPRSPが46.5%、次いでgPISP(*pbp2x*)が14.9%、gPISP(*pbp2x*)が13.4%、gPSSP

は14.3%に過ぎない。それに対し、成人例ではgPRSPの割合は31.4%とやや低く、gPISP(*pbp2x*)が23.1%、gPSSPは21.8%と小児に比してやや高率であるが、小児と成人の間に耐性率に関して有意差は認められない。

一方、発症の好発年齢は小児では1歳以下にみられ、小児全体の66.3%を占めている。年齢の上昇とともに暫時減少するが、そのほとんどが3歳までで、それ以上の年齢における発症例の多くは器質的基礎疾患を有している児である。小児の肺炎球菌性髄膜炎例全体では32.6%が何らかの器質的基礎疾患を有し、インフルエンザ菌の11.3%に較べると明らかにその比率が高い。成人の好発年齢は50~60代にみられるが、30~40代の症例も多く、やはり何らかの基礎疾患を有している例が多数を占めている。

肺炎球菌はその病原性との関連において菌体の最外層に存在する莢膜のタイプ(血清型)が重要視されている。図-14には小児と成人とに分けて血清型別の成績を示す。両者の間には有意差がみられる。小児で問題となる血清型はgPRSPが多い6B, 19F, 23F, そして6Aタイプであるが、成人ではそれらの割合は低くなり、むしろムコイドタイプの3型や22型、その他が多くなっている。米国で認可された7価 conjugate vaccine は、肺

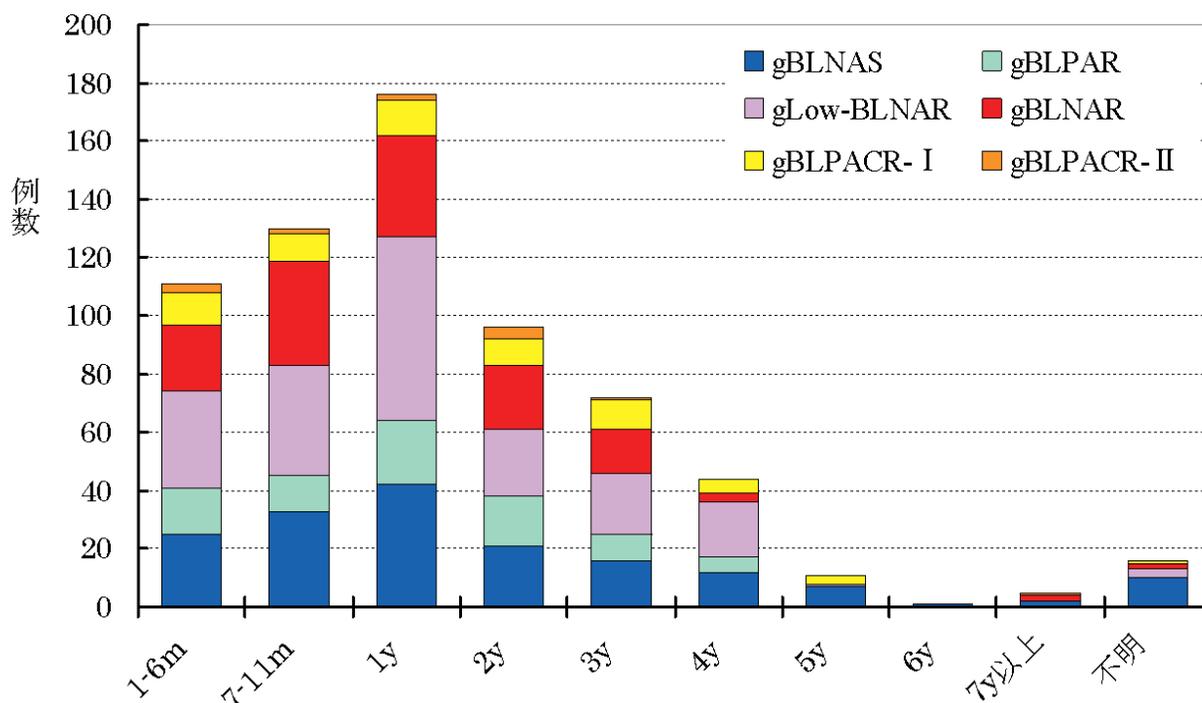


図-16. インフルエンザ菌性化膿性髄膜炎例の年齢分布と耐性菌との関係(1999~2004年, n=662)

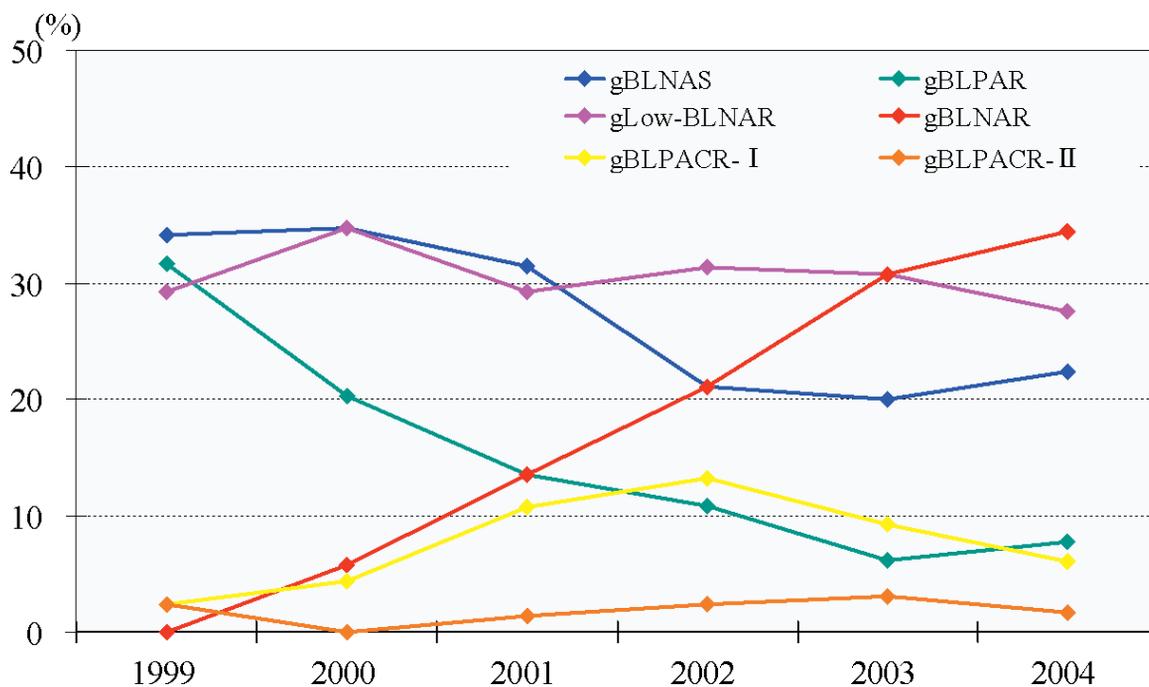


図-17. 化膿性髄膜炎由来インフルエンザ菌にみられる耐性化の経年的変化(n=662)

炎や化膿性髄膜炎例に対する世界的な疫学情報に基づいて分離率の高いタイプをカバーするように考えられていると思われるが、ちなみに我が国の小児分離菌に対しては70%から75%程度をカバーする値となる。

参考までに治療抗菌薬の成績を図-15に示した。

gPRSPに対してはカルバペネム系薬の抗菌力ならびに殺菌力が優れていることは既に報告した通りである<sup>4)</sup>。しかし、このような薬剤をもってしても、小児における死亡例を含む重篤な後遺症残存率は28%に達している。重症感染症においては、いかに治療開始のタイミング

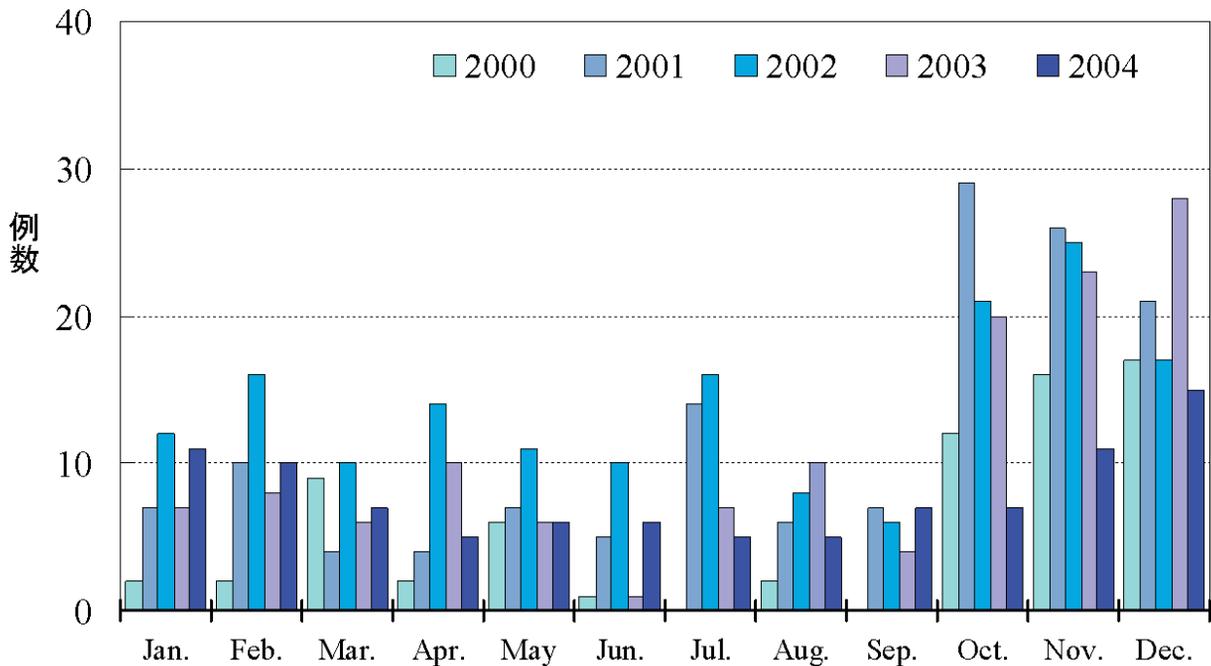


図-18. 月別にみたインフルエンザ菌性化膿性髄膜炎例の発症数 (n=621)

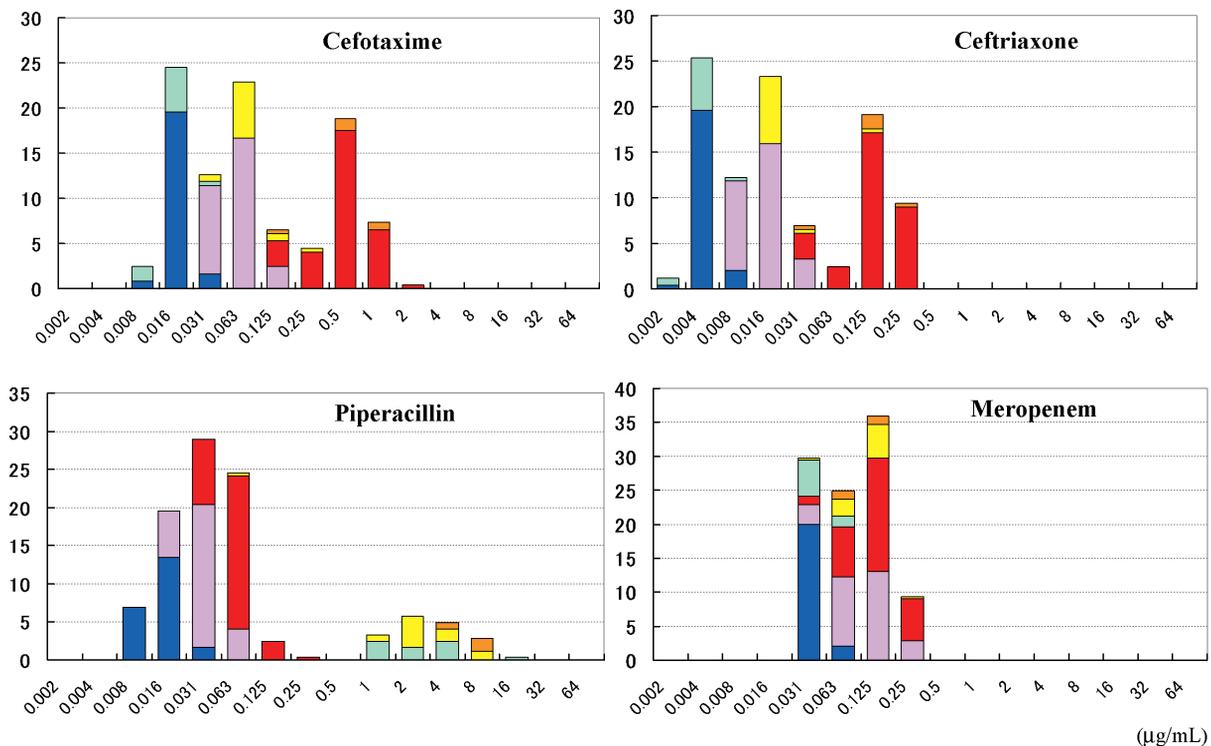


図-19. 注射用β-ラクタム系薬の感受性と耐性遺伝子との関係 (n=245)

グが重要であることを示唆するものである。

## 2) インフルエンザ菌<sup>(2,43)</sup>

図-16にはインフルエンザ菌による化膿性髄膜炎例の年齢分布と薬剤耐性化状況を示す。小児例が圧倒的多数

を占め、成人例は極めて稀である。これら662例のうち、4株を除いてすべてが血清型bのインフルエンザ菌(Hib)であった。そして、何よりも生後3ヶ月以降に発症例が急速に増え、1歳未満例が有意に多く、肺炎球菌例よりも年齢の高い4歳まで留意しなければならないこ

とが示されている。

しかも、分離菌の薬剤耐性化は図-17に示すように経年的に急速に進行しており、gBLNARの増加は驚くべき状況にある。ここにはその成績を示していないが、これらの耐性菌を無作為に抽出してパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)を行うと、DNAの相同性が非常に高く、ひとつのクローンが全国へ拡散したことがうかがえる。

一方、発症例の背景因子を調べると、基礎疾患を有する児は少なく、また前投与抗菌薬もなく、著明な前駆症状もなしに急速に発症している例が半数近くを占めていることが注目される。そのような発症にはワクチン以外には防ぐ手段はないといわれている。死亡例を含む重篤な後遺症残存例は19.6%にみられている。ちなみに、発症時期は図-18に示したように晩秋から初冬にかけて多く、冬場と年度の初めに発症例の多い肺炎球菌例とはやや異なっている。

図-19には注射用抗菌薬の感受性と耐性遺伝子との関係を参考までに示した。gBLNARに対する単なる感受性のみを比較すると、最も優れているのはPIPCであり、次いでCTR、MEPM、CTXの順となる。しかし、化膿性髄膜炎においては、髄液中薬剤濃度は起炎菌に対するMBC(最小殺菌濃度)の10~20倍必要とされている<sup>41)</sup>ので、仮にMBCが0.5 $\mu$ g/mlであるとすると、髄液濃度は最低限5 $\mu$ g/ml必要ということになる。また、インフルエンザ菌に対し $\beta$ -ラクタム系薬を作用させると、菌は長いフィラメントを形成した後溶菌に至るので、一定濃度以上に長時間接触させることが必要である。

## 7. まとめ：耐性菌を生じさせないために何が必要か？

冒頭でも述べたが、呼吸器感染症由来の病原微生物にみられる薬剤耐性化の本質は、菌の生存にとって不可欠な酵素やリボソームなどを巧みにマイナー・チェンジさせて、種を保持させていくことにある。従って、「質的变化による耐性化」の初期には、感受性測定のみでは容易に識別できないところに問題がある。その後、抗菌薬の繁用に伴い耐性レベルが次第に上昇した菌が選択されることによって、初めて気付くのである。重要なことは、新薬開発当初には問題がないと判定された投与量は、これらの耐性菌に対しては不十分な量となり、さらには殺菌性の低さや投与期間の曖昧さも加わって、その増加に拍車をかけることになる。また、人口密度や社会環境の変化に伴って新たに生じてきた免疫学的に未熟な保育園

児の増加、交通網の発達に伴う激しいヒトの交流も耐性菌の拡散に拍車をかけている。このような耐性菌に対する対応としては、次のようなことが要約される。

臨床検査室にあっては、提出された検査材料から何を読み取るかというトレーニングが重要である。そして、何を優先すべきかを瞬時に把握できる能力を高めていく必要がある。また、そのようなシステムを構築することも必要である。救急で入院した感染症が疑われる症例と、一般外来の咽頭ぬぐい液等が同一時系列で処理されてはならない。そして、日々に進歩する検査診断技術を採用するには、中規模病院レベルまでの細菌検査は地域ネットワーク型検査システムの確立が求められる。なぜなら、起炎菌検索の精度を高めるには、もはや遺伝子迅速診断法を採用することは必須のことで、加えてグローバル化しているさまざまな感染症に即座に対応するためには、それ相当の設備を必要とするからである。起炎菌が短時間に確定できれば、常時更新されている疫学情報に基づいて最も適切な抗菌薬が選択出来得るはずである。多菌種に対する感受性情報は全国から起炎菌と特定された菌株のみを収集し、薬剤感受性と耐性遺伝子も併せて解析した大規模疫学サーベイランスで事足りるはずである。

臨床にあっては、少なくとも二つのコンセンサスが必要である。一つは、「細菌検査は抗菌薬使用前の適切に採取された検査材料で行う」という最も基本的なことに対する再教育である。二つ目は、抗菌薬の投与期間の短縮化に関わる明確なエンドポイントの確立である。上気道に生息する細菌は抗菌薬投与からせいぜい3日目前後が最も菌数が減少し、それ以降はむしろ増加傾向に転じる<sup>45)</sup>。むしろ漫然とした抗菌薬の投与は共存する常在細菌叢をかく乱させ、耐性菌を出現させるtriggerになる。

抗菌薬の開発を手掛けてきた製薬企業の方々は、MRSAと第三世代セフェム系薬の関係、そして市中感染症にみられる「質的变化に伴う耐性菌の問題」をどのように捉えているのであろうか？ MICやPK/PDの理論だけで果たして良いのであろうか？ MICは格段に良好であるとはいうものの、主たる標的を隔壁合成酵素とするセフェム系薬は、グラム陰性桿菌細胞の分裂は阻害するが、異常に長くフィラメント化した細胞を幅広い薬剤濃度域にわたって形成する。そして、抗菌薬の消失とともに容易に元の細胞へと戻る。このような現象は、*in vitro*のみならず、生体内でも認められることを私どもが示したのは既に35年も前のことである<sup>46)</sup>。グラム陽性球菌でも巨大な膨化細胞を形成するのみで溶菌せ

ず、容易に元の細胞に戻る。薬剤濃度が刻々と変化する生体内を考えれば、そのような薬剤が臨床的に望ましくないことは当然帰結されることである。人工培地の上で20時間後に一様に判定する見かけ上の感受性の優劣よりも、せいぜい4時間程度の生体内における短時間殺菌力の優劣、あるいは遺伝子変異株を選択しない投与方法を明確に示す努力をしなければならなかったのではないだろうか。

行政側の問題点も指摘しておきたい。CDCのwebsiteを開くまでもなく、感染症に対する最大の防御は自らの感染防御能を高めるワクチンであることは論をまたない。特にHib耐性インフルエンザ菌や耐性肺炎球菌は、もはや抗菌薬のみでコントロールすることは不可能であることがサーベイランスの成績によって示されている。先進国ではHibワクチンは既に15年以上も前から実施され、Hib化膿性髄膜炎は過去の感染症とされている。細菌に対するワクチンを本当に必要としているのは、免疫学的に未熟な生後3ヶ月以降5歳までの乳幼児である。これに関連して病児保育の問題もクローズアップされなければならないであろう。

最後に申し上げたいことがある。私どもは人類が脅威としてきた感染症に対し、抗体獲得という自己防衛能力以外に、抗菌薬療法という新たな手段を手に入れた。それからわずか60年を経たに過ぎない。微生物と共存してきたヒトの気道系や腸管系の常在細菌叢、あるいは免疫機能は、人類が地球上に誕生した極めて長い歴史の中で形成された感染防御システムである。検査材料を塗布した培地上に純培養状に発育する耐性菌を眺めるとき、抗菌薬がヒトの正常細菌叢を攪乱する一面を有していることを忘れてはならないと痛切に思うのである。

## 文 献

- 1) 紺野昌俊, 生方公子編: 改訂ペニシリン耐性肺炎球菌, 株式会社協和企画通信, 1999.
- 2) Sanbongi Y, et al: Complete sequences of six penicillin-binding protein genes from 40 *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates collected in Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48: 2244-2250, 2004.
- 3) Asahi Y, et al: Association of a Thr-371 substitution in a conserved amino acid motif of penicillin-binding protein 1A with penicillin resistance of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 2267-2273, 1998.
- 4) Asahi Y, et al: Diversity of substitutions within or adjacent to conserved amino acid motifs of penicillin-binding protein 2X in cephalosporin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 1252-1255, 1999.
- 5) Yamane A, et al: Directly repeated insertion of 9-nucleotide sequence detected in penicillin-binding protein 2B gene of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40: 1257-1259, 1996.
- 6) Chiba N, et al: Antibiotic susceptibility according to genotype of penicillin-binding protein and macrolide resistance genes, and serotype of *Streptococcus pneumoniae* isolates from community-acquired pneumonia in children. *J. Antimicrob. Chemother.* 56: 756-760, 2005.
- 7) Nagai K, et al: Evaluations of the primers for PCR to screen *Streptococcus pneumoniae* isolates,  $\beta$ -lactam resistance and to detect common macrolide resistance determinants. *J. Antimicrob. Chemother.* 48: 915-918, 2001.
- 8) Ubukata K, et al: Identification of penicillin and other  $\beta$ -Lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae* by PCR. *J. Infect. Chemother.* 3: 190-197, 1997.
- 9) 後藤直正: 透過障害と能動的排出を含めた抗菌薬耐性機構総論. *化学療法の領域* 21: 1226-1234, 2005.
- 10) Reinert R R, et al: Molecular characterization of the first telithromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolate in Germany. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 3520-3522, 2005.
- 11) Canton R, et al: Worldwide incidence, molecular epidemiology and mutations implicated in fluoroquinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae*: data from the global PROTEKT surveillance programme. *J. Antimicrob. Chemother.* 52: 944-952, 2003.
- 12) Doern G V, et al: Antimicrobial resistance among *Streptococcus pneumoniae* in the United States: Have we begun to turn the corner on resistance to certain antimicrobial classes? *Clin. Infect. Dis.* 41: 139-148, 2005.
- 13) 田中真由美他: キノロン薬耐性. *化学療法の領域* 21: 1283-1290, 2005.
- 14) Parr T R, et al: Mechanism of resistance of an ampicillin-resistant,  $\beta$ -lactamase-negative clinical isolate of *Haemophilus influenzae* type b to  $\beta$ -lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 25: 747-753, 1984.
- 15) Ubukata K, et al: Association of amino acid substitutions in penicillin-binding proteins 3 with  $\beta$ -lactam resistance in  $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 1693-1699, 2001.
- 16) Hasegawa K, et al: Diversity of ampicillin-resistance genes in *Haemophilus influenzae* in Japan and the United States. *Microbial Drug Resistance.* 9: 39-46, 2003.
- 17) 生方公子他: 本邦において1998年から2000年の間に分離された *Haemophilus influenzae* の分子疫学解析—肺炎球菌等による市中感染症研究会収集株のまとめ

- 一. 日化療会誌 50 : 794-804, 2002.
- 18) Ubukata K, et al : Differentiation of  $\beta$ -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* from other *H. influenzae* strains by a disc method. J. Infect. Chemother. 8 : 50-58, 2002.
- 19) Pérez-Vázquez M, et al : Laboratory detection of *Haemophilus influenzae* with decreased susceptibility to nalidixic acid, ciprofloxacin, levofloxacin, and moxifloxacin due to *gyrA* and *parC* mutations. J. Clin. Microbiol. 42 : 1185-1191, 2004.
- 20) Li X, et al : Quinolone-resistant *Haemophilus influenzae* in a long-term-care facility : nucleotide sequence characterization of alterations in the genes encoding DNA gyrase and DNA topoisomerase IV. Antimicrob. Agents Chemother. 48 : 3570-3572, 2004.
- 21) Sanchez L, et al : The *acrAB* homolog of *Haemophilus influenzae* codes for a functional multidrug efflux pump. J. Bacteriol. 179 : 6855-6857, 1997.
- 22) 諸角美由紀他 : *Mycoplasma pneumoniae* の迅速検索を目的とした PCR 法の確立—小児呼吸器感染症例より採取された臨床検査材料を用いて—。日化療会誌 51 : 289-299, 2003.
- 23) Kuroki H, et al : Characterization of children with *Mycoplasma pneumoniae* infection detected by rapid polymerase chain reaction technique. J. Infect. Chemother. 10 : 65-67, 2004.
- 24) Morozumi M, et al : Application of PCR for *Mycoplasma pneumoniae* detection in children with community-acquired pneumonia. J. Infect. Chemother. 10 : 274-279, 2004.
- 25) Okazaki N, et al : Characteristics of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* strains isolated from patients and induced with erythromycin *in vitro*. Microbial Immunol. 45 : 617-620, 2001.
- 26) Morozumi M, et al : Emergence of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* with a 23S rRNA gene mutation. Antimicrob. Agents Chemother. 49 : 2302-2306, 2005.
- 27) 渡辺治雄, 清水可方監修 : 劇症型 A 群レンサ球菌感染症. 近代出版, 1997.
- 28) IDSC 国立感染症研究所感染症情報センター <http://idsc.nih.gov/jp/iasr/index-j.html>
- 29) 中山栄一他 : A 群溶血レンサ球菌性咽頭炎・扁桃炎例に対する経口抗菌薬投与後の除菌率の比較. 日化療会誌 52 : 426-432, 2004.
- 30) 砂押克彦他 : 小児性気道感染症より分離された A 群溶血レンサ球菌の薬剤感受性と T 型別. 日化療会誌 48 : 401-407, 2004.
- 31) Murray P R. (ed) : 8<sup>th</sup> Manual of Clinical Microbiology. ASM press, 2003.
- 32) Vandamme P, et al : Taxonomic study of lancefield Streptococcal groups C, G, and L (*Streptococcus dysgalactiae*) and proposal of *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* subsp. nov. International J. Systematic Bacteriol. 46 : 774-781, 1996.
- 33) Brandt C M, et al : Characterization of blood culture isolates of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* possessing lancefield's group A antigen. 37 : 4194-4197, 1999.
- 34) 勝川千尋他 : Lancefield の A 群抗原を保有する *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* 感染症学雑誌. 76 : 155-160, 2002.
- 35) Cohen-Poradosu R, et al : Group G Streptococcal bacteremia in Jerusalem. Emerg. Infect. Dis. 10 : 1455-1460, 2004.
- 36) Humar D, et al : Streptolysin S and necrotizing infections produced by group G streptococcus. Lancet. 359 : 124-129, 2002.
- 37) 砂川慶介他 : 本邦における 1997 年 7 月以降 3 年間の小児化膿性髄膜炎の動向. 感染症学雑誌 75 : 931-939, 2001.
- 38) 上原すゞ子他 : わが国の小児インフルエンザ菌髄膜炎の疫学調査成績. 日小児会誌 102 : 656-665, 1998.
- 39) 千葉菜穂子他 : 「化膿性髄膜炎・全国サーベイランス研究班」 : 化膿性髄膜炎例から分離された *Streptococcus pneumoniae* の疫学解析—1993 年から 2002 年の分離株について—。日化療会誌 51 : 551-560, 2003.
- 40) Ubukata K, et al : Antibiotic susceptibility in relation to penicillin-binding protein genes and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* strains responsible for meningitis in Japan, 1999-2002. Antimicrob. Agents Chemother. 48 : 1488-1494, 2004.
- 41) 千葉菜穂子他 : 肺炎球菌に対するカルバペネム系薬の抗菌作用の比較. 日化療会誌 50 : 161-170, 2002.
- 42) Hasegawa K, et al : Rapidly increasing prevalence of  $\beta$ -lactamase-nonproducing, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* type b in patients with meningitis. Antimicrob. Agents Chemother. 48 : 1509-1514, 2004.
- 43) 長谷川恵子他 : 化膿性髄膜炎例から分離された *Haemophilus influenzae* の疫学解析. —1999 年から 2003 年の分離株について—。感染症学雑誌 78 : 835-845, 2004.
- 44) 小林 裕 : 髄膜炎 a) 総論. p 127-134. 小児の感染症と化学療法(砂川慶介 編), 金原出版(株), 1993.
- 45) 紺野昌俊, 他 : 上気道細菌叢に関する研究—特に上咽頭のバクテリオダイナミクスについて—. Japanese J. Antibiotics. 58(Suppl. A), 2005.
- 46) 藤井良他 : ペニシリン, セファロsporin C 系薬剤による大腸菌のフィラメント形成ならびにその臨床的意義について. 第 1 編~第 3 編. 感染症学雑誌 44 : 62-85, 1970.

## Drug resistance caused by qualitative changes in respiratory pathogen components

Kimiko Ubukata

Kitasato Institute for Life Sciences and Graduate School of Infection Control Sciences, Kitasato University,  
5-9-1 Shirokane, Minato-ku, Tokyo 108-8641, Japan

*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes*, and *Mycoplasma pneumoniae* are causative pathogens widely detected in community-acquired respiratory tract infections (RTIs). In Japan, the rapidly increasing prevalence of isolates resistant to multiple antibiotics is becoming a serious clinical problem. Resistance to  $\beta$ -lactam agents in *S. pneumoniae* and *H. influenzae* has occurred due to changes in penicillin-binding proteins (PBPs) encoded by *pbp* genes. Macrolide resistance in *S. pneumoniae* and *S. pyogenes* are mediated by 2 mechanisms—efflux pumping by the *mefA* gene and methylation of the ribosomal protein by *ermB* or *ermA* (*ermTR*) genes. Macrolide resistance in *M. pneumoniae* is also mediated by a mutation detected in domain V of the 23 S rRNA gene.

In Japan, although the frequency of *S. pneumoniae* resistant to new quinolones is 1–2%, we confirmed that the mechanism of resistance occurred due to mutations on the *gyrA* gene encoding DNA gyrase and those on the *parC* and *parE* genes encoding topoisomerase IV.

Resistance caused by qualitative changes in pathogen components is characterized as intermediate resistance not clearly distinguished by conventional susceptibility testing. The resistant level is also the approximate concentration acquired by oral antibiotics dosing of  $\beta$ -lactams, macrolides, and new quinolone agents. Microorganisms bearing mutations in genes encoding resistance-associated enzymes are easily selected by insufficient concentrations of oral antibiotics.

Several actions prevent such resistance from increasing : rapid identification of causative pathogens, vaccination against these pathogens, proper selection and use of antibiotics based on PK/PD, and the establishment of postmarketing surveillance of antibiotics.

## 謝 辞

本総説の内容は、2005年10月27日と28日の2日間にわたり、東京ドームホテルにおいて開催された「第54回本感染症学会東日本地方会総会」と「第52回日本化学療法学会東日本支部総会」の合同学会において、会長講演としてお話した内容をまとめたものです。

現在、感知情報学研究室の専任スタッフは私と村山琮明講師の2名、その他に、本大学院・感染制御科学府の修士課程を修了した長谷川恵子、諸角美由紀、千葉菜穂子研究員、そして小林玲子ならびに小野暁子研究員が研究に携わっています。大学院生としては、高田恵未、井上永子、油橋宏美の3名が在籍しています。学外からの研究生としては、埼玉県衛生研究所の砂押克彦、博慈会記念総合病院小児科の中山栄一医師（現当研究室研究生）、そして客員研究員として獨協医科大学病院医療安全管理部感染防止対策課の奥住捷子先生をお願いしています。

ここに記した内容の多くは、上記の方々によって熱心に行われた研究成果であり、心より感謝申し上げます。

また、このような研究環境を与えていただいております本学副学長ならびに微生物学教室教授 井上松久先生、北里大学北里生命科学研究所所長&大学院感染制御科学府長 山田陽城先生、そして（社）北里研究所理事、所長 大村智先生に感謝申し上げます。

そして何よりも、私の研究の根底をなすインターサイエンス的なものの見方と考え方は、恩師である帝京大学名誉教授 紺野昌俊先生ならびに帝京大学名誉教授 藤井良知先生のご指導のお陰であります。ここに改めて深謝申し上げます次第です。