

# 日本化学療法学会 特定感染症全国サーベイランス事業 尿路・性器より検出される *Mycoplasma genitalium* の薬剤耐性遺伝子変異の 全国サーベイランス

岐阜大学大学院医学系研究科病態制御学講座泌尿器科学分野教授：出口 隆  
岐阜大学医学部附属病院泌尿器科講師：安田 満  
あいクリニック院長：伊藤 晋  
公益社団法人日本化学療法学会理事長：清田 浩

## はじめに

*Mycoplasma genitalium* は、男子非淋菌性尿道炎の起炎菌であるだけでなく男女の性器感染症に関与している。近年、*M. genitalium* 感染症においてキノロン薬およびマクロライド薬による治療失敗例が報告されている。しかし、*M. genitalium* の臨床検体からの分離培養が極めて困難なことから *M. genitalium* の薬剤感受性試験はほとんど行われていない。われわれは仙台の1つのクリニックを受診した少数例の患者から得られた *M. genitalium* のDNA検体を用いてニューキノロン耐性に関わる *gyrA* 遺伝子と *parC* 遺伝子の変異とマクロライド耐性に関与する 23S rRNA 遺伝子の変異を検討してきた。しかし、日本各地から得られた検体による全国規模での検討は行われていない。日本における *M. genitalium* の薬剤耐性の現状を明らかにするために、日本の各地から得られた比較的多数例での *M. genitalium* の薬剤耐性遺伝子変異を検討することは、尿道炎症療法の今後の指針を検討するに当たり意義があることと考えた。

## 研究

今回のサーベイランスは、公益社団法人日本化学療法学会の公益目的事業として日本における *M. genitalium* の薬剤耐性の現状を明らかにすることを目的として行った。*M. genitalium* は、臨床検体からの培養分離が困難であることから、臨床検体中の *M. genitalium* DNA を用いてニューキノロン耐性に関わる *gyrA* 遺伝子と *parC* 遺伝子の変異とマクロライド耐性に関与する 23S rRNA 遺伝子の変異を検討した。*M. genitalium* の検出は、保険適応がないために検出を行っている施設は限られている。その上、*M. genitalium* は非淋菌性尿道炎患者の約 20% にしか検出されないため、効率的に多数例での薬剤耐性遺伝子の検査を実施するために、LSI メディエンス感染症検査部に保存されている *M. genitalium* 陽性検体を用いることとした。岐阜大学および LSI メディエンス社内の倫理委員会の承認を得た後に、2013 年から 2017 年の間に医療機関を受診した男子尿道炎患者の *M. genitalium* 陽性の初尿より得られ保存されていた DNA 検体を用いて、*gyrA* 遺伝子と *parC* 遺伝子および 23S rRNA 遺伝子の変異を検討した。DNA 検体より *gyrA* 遺伝子と

Table 1. Numbers of DNA specimens by year and area of collection of the specimens

Year	No. of DNA specimens				Total
	Area in clinics, from which DNA specimens were collected				
	Sendai	Tokyo	Osaka	Other <sup>a</sup>	
2013	19	82	14	4	119
2014	24	76	17	8	125
2015	30	79	19	7	135
2016	23	80	22	4	129
2017	23	58	32	6	119
Total	119	375	104	29	627

<sup>a</sup>Fukuoka, Sapporo, Kanazawa, Kochi are included.

Table 2. Numbers of DNA specimens, in which Met95 or Asp99 in GyrA, Ser83 or Asp87 in ParC, or A2071 or A2072 in the 23S rRNA gene could be analyzed, by year of collection of the specimens

Year	No. of DNA specimens				Analyzed nucleic acid in the 23S rRNA gene	
	Analyzed amino acid in:				A2071 (A2058)	A2072 (A2059)
	GyrA		ParC			
	Met95 (Ser83 <sup>a</sup> )	Asp99 (Asp87)	Ser83 (Ser80)	Asp87 (Glu84)		
2013	78	78	84	81	100	100
2014	112	112	101	111	118	118
2015	125	124	101	96	123	123
2016	102	102	111	107	112	112
2017	112	112	112	112	115	115
Total	529	528	509	507	568	568

<sup>a</sup>Amino acids and nucleic acids in *E. coli*, to which those in *M. genitalium* correspond, respectively, are given in the parentheses.

*parC* 遺伝子および 23S rRNA 遺伝子の一部を増幅し、既報の方法に従ってマクロライド耐性およびキノロン耐性に関連する遺伝子変異を検討した。遺伝子変異の検討は、LSI メディエンス感染症検査部にて行った。

## 結果概要

Table 1 が、今回のサーベイランス事業として収集された初尿 DNA 検体の内、治療後に収集された検体を除外して、1 患者 1 検体とした場合の検体数である。総数は 627 検体となり、これらの検体について遺伝子変異の頻度を解析した。東京の医療施設を受診した患者より収集された検体が半数以上を占めた。

保存検体を使用したために一部の検体では DNA の劣化によると思われるが、遺伝子解析が出来なかった。Table 2 は、各遺伝子について解析可能であった検体数を示す。Figs. 1~3 で、今回の検討で認められた GyrA 蛋白の Met95 と Asp99 (大腸菌の GyrA 蛋白の Ser83 と Asp87 に相当)、ParC 蛋白の Ser83 と Asp87 (大腸菌の ParC 蛋白の Ser80 と Glu84 に相当)、23S rRNA 遺

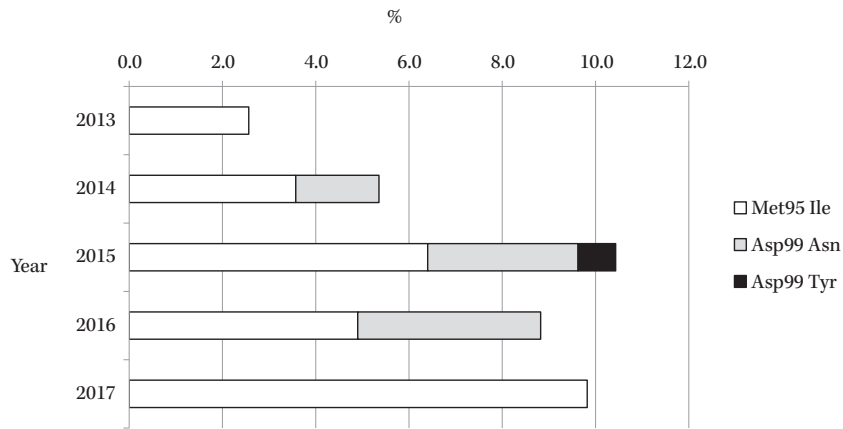


Fig. 1. Incidence of amino acid changes at Met95 or Asp99 in GyrA of *M. genitalium*, corresponding to Ser83 or Asp87 in *E. coli*, by year of collection of DNA specimens

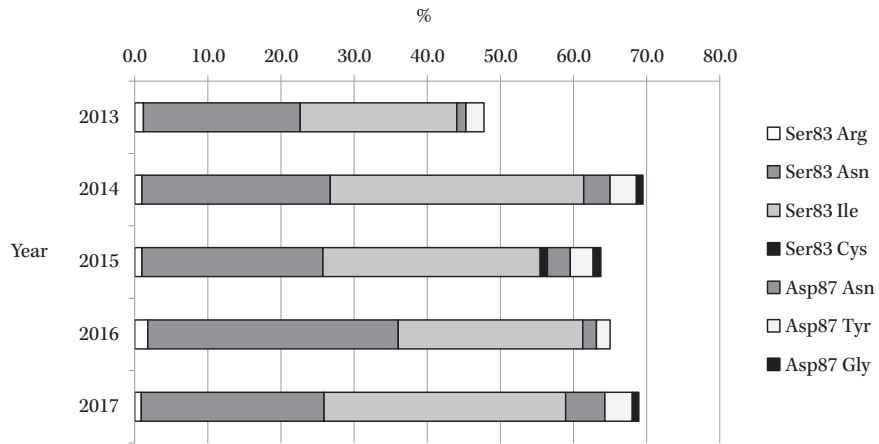


Fig. 2. Incidence of amino acid changes at Ser83 or Asp87 in ParC of *M. genitalium*, corresponding to Ser80 or Glu84 in *E. coli*, by year of collection of DNA specimens

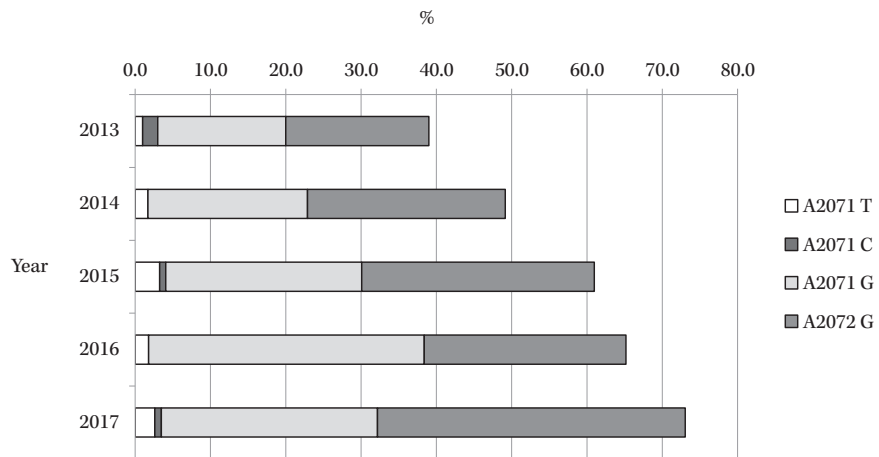


Fig. 3. Incidence of nucleic acid changes at A2071 or A2072 in the 23S rRNA gene of *M. genitalium*, corresponding to A2058 or A2059 in *E. coli*, by year of collection of DNA specimens

Table 3. Numbers of DNA specimens, in which Met95 and Asp99 in GyrA, Ser83 and Asp87 in ParC, and A2071 and A2072 in the 23S rRNA gene could be analyzed, by year and area of collection of the specimens

Year	No. of DNA specimens				Total
	Area in clinics, from which DNA specimens were collected				
	Sendai	Tokyo	Osaka	Other <sup>a</sup>	
2013	16	37	8	4	65
2014	24	62	15	4	105
2015	25	48	11	5	89
2016	21	50	18	2	91
2017	23	52	28	5	108
Total	109	249	80	20	458

<sup>a</sup>Fukuoka, Sapporo, Kanazawa, Kochi are included.

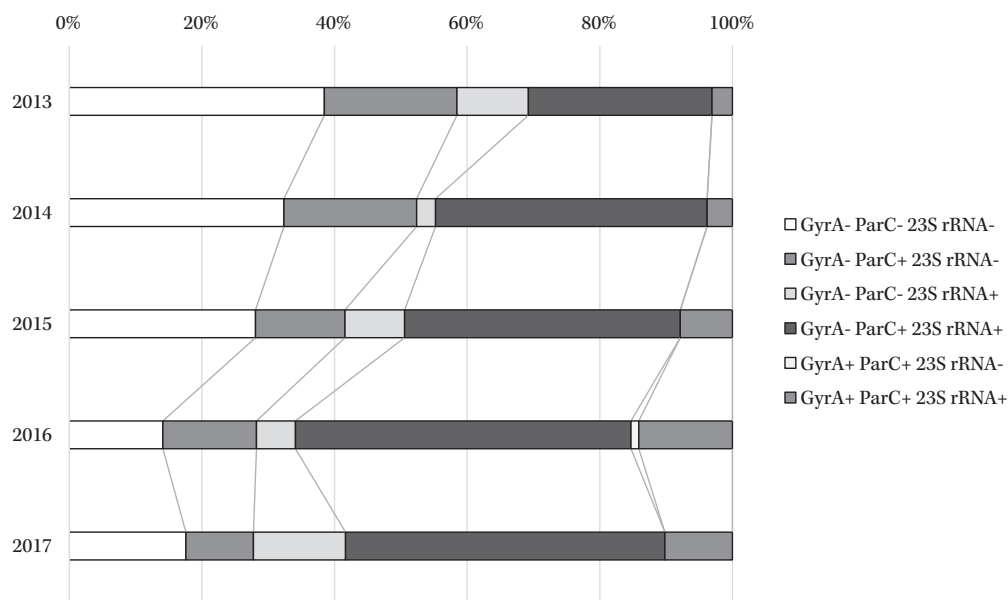


Fig. 4. Prevalence of *M. genitalium* with or without amino acid changes in GyrA and/or ParC and/or mutations in the 23S rRNA gene by year of collection of DNA specimens

伝子の A2071 と A2072 (大腸菌の 23S rRNA 遺伝子の A2058 と A2059 に相当) におけるアミノ酸変化と遺伝子変異の頻度を示す。GyrA 蛋白の変化は 2013 年から認められ、年々増加傾向にあった。ParC 蛋白の変化は、2013 年から 2014 年にかけて増加し、その後はその割合は 60% から 70% でほぼ同様の傾向を示した。23S rRNA 遺伝子変異は、年々増加傾向を示し、2017 年にはその割合は約 70% に達した。

GyrA 蛋白の Met95 と Asp99, ParC 蛋白の Ser83 と Asp87, 23S rRNA 遺伝子の A2071 と A2072 におけるアミノ酸変化と遺伝子変異のすべての検討が可能であった症例数は、2013 年、2014 年、2015 年、2016 年、2017 年で、それぞれ 65 検体、105 検体、89 検体、91 検体、108 検体であった (Table 3)。Fig. 4 は、GyrA 蛋白、ParC 蛋白と 23S rRNA 遺伝子のアミノ酸変化と遺伝子変異の割合を示す。全体では、遺伝子変化のない検体の割合は年々減少傾向であり、2016 年と 2017 年では 20% 以下であった。ParC 蛋白と 23S rRNA 遺伝子に変化のある検体の割合は増加

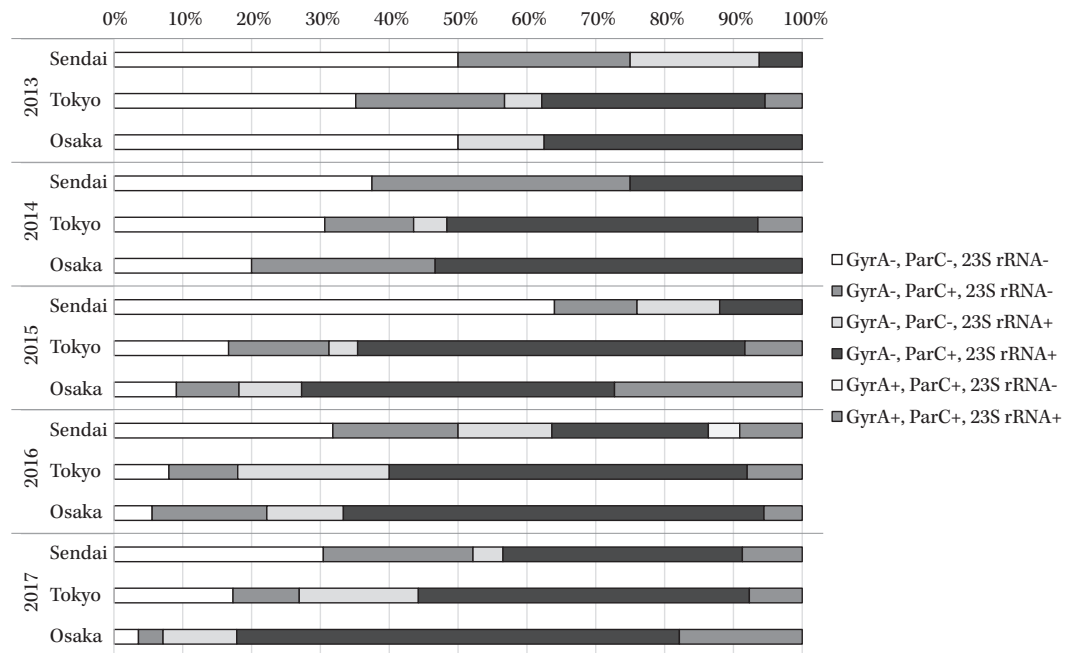


Fig. 5. Prevalence of *M. genitalium* with or without amino acid changes in GyrA and/or ParC and/or mutations in the 23S rRNA gene in terms of years and areas in which DNA specimens were collected

し約70%にまで達していた。GyrA 蛋白, ParC 蛋白と 23S rRNA 遺伝子のすべてに変化のある検体は, 2013 年にすでに認められておりその割合は増加傾向にあり, 2016 年と 2017 年では 10~15%に達していた。仙台, 東京, 大阪の地域別では, 仙台で他の地域に比較して GyrA 蛋白, ParC 蛋白と 23S rRNA 遺伝子のすべてに変化を認めない検体の割合が多かった (Fig. 5)。GyrA 蛋白, ParC 蛋白と 23S rRNA 遺伝子のすべてに変化のある検体は, 東京では 2013 年に, 大阪では 2015 年に, 仙台では 2016 年に認められ, それ以後各地で毎年認められていた。

## 考察

キノロン耐性遺伝子変異およびマクロライド耐性遺伝子変異を持つ *M. genitalium* の頻度が年々上昇傾向にあることが明らかになった。キノロン耐性遺伝子変異およびマクロライド耐性遺伝子変異の両方を有する多剤耐性の *M. genitalium* の割合が 2016 年以降 60~70%に達し, 特に, sitafloxacin と azithromycin による治療失敗例が報告されている GyrA 蛋白, ParC 蛋白と 23S rRNA 遺伝子のすべてに変化のある *M. genitalium* の頻度が 2016 年と 2017 年には 10~15%に達しており, 今後, *M. genitalium* 感染症の治療が困難になることが示唆された。

*M. genitalium* の薬剤耐性化には地域により差があることが明らかになった。東京, 大阪での耐性化が仙台に比較して急速に進んでいたことが示唆された。臨床上問題となる GyrA 蛋白, ParC 蛋白と 23S rRNA 遺伝子のすべてに変化のある *M. genitalium* は, 東京では 2013 年にすでに出現しており, その後, 大阪, 仙台で出現していた。

今回のサーベイランスの結果から日本における *M. genitalium* の急激な耐性化が明らかになり, 抗菌薬により治癒できない *M. genitalium* 感染症の今後の蔓延が危惧された。このような大規模なサーベイランスは今までに実施されておらず, 本研究は *M. genitalium* の薬剤耐性化の進行を

防ぐための対策と今後の尿道炎治療の指針に重要なデータを提供することが期待される。

共同研究者：

ソフィア祐子レディースクリニック 佐藤祐子

あおぞらクリニック 内田千秋

新宿さくらクリニック 澤村正之

アルバコーポレーション 萬田和志

LSI メディエンス感染症検査部 高梨真樹

利益相反自己申告：

出口 隆と安田 満は、アステラス製薬株式会社，小野薬品工業株式会社，グラクソ・スミス  
クライン株式会社，第一三共株式会社，武田薬品工業株式会社，ノバルティス ファーマ株式会社  
より奨学寄付金を受けている。

伊藤 晋は，利益相反自己申告なし。

清田 浩は，第一三共株式会社，アステラス製薬株式会社，富山化学工業株式会社，サノフィ  
株式会社から奨学寄附金を受けている。