



2016年12月28日放送

「わが国の健常人における ESBL 産生菌の分離状況と特徴」

名古屋大学大学院 病態解析学准教授
川村 久美子

はじめに

抗生物質などの抗菌薬が細菌感染症の治療に用いられるようになり、感染症治療は目覚ましい進歩を遂げました。しかし、抗菌薬の使用に伴いやがて、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌やバンコマイシン耐性腸球菌などの薬剤耐性菌が出現し、それらは瞬く間に全世界の医療機関に広がりました。なかでも基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生菌による感染症は院内感染症のみならず、市中感染症でも増加傾向を示し、現在の公衆衛生上の大きな関心事となっています。

本日は、基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生菌の特徴と問題点、さらにわが国の健常人における本菌の分離状況について解説していききたいと思います。

基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼとは

基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (extended-spectrum β -lactamase, ESBL) は、活性中心にセリン残基を配する β -ラクタマーゼで、Ambler の分類のクラス A あるいはクラス D に、Bush-Jacoby-Medeiron の分類ではグループ 2 に属する酵素の一つです。本酵素は、オキシミノセファロスポリン系薬などのセファロスポリン系薬やモノバクタム系薬などの広範囲にわたる β -ラクタム系抗菌薬を分解することができる酵素ですが、セファマイシン系薬やカルバペネム系薬は基本的に分解できません。しかし、 β -ラクタマーゼ阻害剤であるクラブラン酸によって、その活性が阻害されるという特徴を有します。

ESBL には大きく分けて2つのタイプがあり、一つ目は TEM-1 型や SHV-1 型などペニシリナーゼの親酵素にアミノ酸変異が生じたことで基質特異性が拡張した酵素群です。一般に、これらのアミノ酸置換により酵素全体 あるいは基質結合部位には大きな立体構造の変化は認められておりません。二つ目は、TEM-1 型などの従

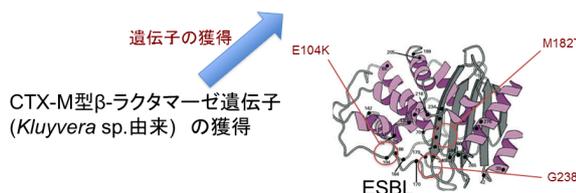
来のペニシリナーゼとアミノ酸配列の相同性が低い酵素群です。本酵素群は、細菌の染色体上にコードされていた基質特異性の広いβ-ラクタマーゼがプラスミド伝達性になることで広く伝搬したもので、代表例としてCTX-M型酵素群が挙げられます。現在CTX-M型には100種類以上のバリエーションが報告されておりますが、それらはクルイベラ属の異なる種や株が生来染色体上に持っているβ-ラクタマーゼに個別に由来する場合と、伝搬の過程において種々のアミノ酸置換をおこなうことで、多くのバリエーションが生じたものと考えられています。

基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ

クラスA β-ラクタマーゼ (TEM-1,2, SHV-1) ペニシリン, 第一世代セファロスポリンを分解

遺伝子変異 アミノ酸置換

分解する基質を拡張 セフトキシムやセフトジジムなどの第三世代セファロスポリンを分解 (TEM-, SHV-variants & CTX-M)



ESBLを産生するのは、主に腸内細菌科のグラム陰性桿菌で、もともとAmpCなどのセファロスポリナーゼを産生しない菌種、具体的には大腸菌、肺炎桿菌やクレブシエラ・オキシトカ、プロテウス・ミラビリス、シトロバクター・コセリなどがあります。2000年以降、これらESBL産生菌は急激に増加しつつあり、なかでもESBL産生大腸菌が最も顕著で、2015年のJANIS検査部門の公開データではESBL産生株に相当すると思われるセフトキシム耐性大腸菌株の検出率は25%と報告されています。

ESBL産生大腸菌における特定クローンの蔓延

現在、世界各国において、CTX-M-15を産生し、系統発生群B2、血清型O25b:H4、Multilocus sequence typing (MLST)でserotype(ST)131、線毛の先端のFimHの型がH30という疫学マーカーを有する大腸菌が蔓延しており、「CTX-Mパンデミック」と呼ばれる社会問題になっています。このCTX-M-15産生遺伝子を媒介するプラスミドの多くは、レプリコンタイプIncFに分類されます。このIncFは多くの腸内細菌科菌種に保有され、伝達頻度が高く、bla_{TEM-1}、bla_{OXA-1}を保有し、さらにアミノグリコシド系薬とフルオロキノロン系薬に同時に耐性を付与するaac(6')-Ib-cr遺伝子を媒介することが多く、多系統の薬剤に耐性を示すという特徴を持ちます。すなわち、CTX-M-15産生大腸菌は、セファマイシン系やカルバペネム系薬を除くほとんどすべてのβ-ラクタム系薬に耐性であり、且つキノロン系薬やアミノグリコシド系薬に対しても耐性を獲得していることが多いことから、抗菌薬の選択が限定され、近年では治療に難渋する事例も報告されております。

ESBL 産生菌の問題点

ESBL 産生菌の増加が国内外で問題視される理由としては、本菌が院内感染のみならず、健常者でも罹患することがある尿路感染症や胆道感染症など市中感染症の起因菌であるということです。元来、腸内細菌科の細菌は第2、第3世代セファロスポリン薬に感受性の菌種でありますので、一般に尿路感染症や胆道感染症などの治療薬としてこれら薬剤が選択されてきました。しかしながら、ESBL 産生菌が起因菌の場合には、これら薬剤の効果が期待できず、さらに尿路感染症の際に経口薬として投与されることが多いフルオロキノロンにも耐性を示す株が多いという特徴を示します。さらに、腸内細菌科の細菌はグラム陰性桿菌であるので、細胞壁の外膜成分としてリポ多糖体を持っております。これは人体に強い毒性をもち別名エンドトキシンとも呼ばれています。仮に感染巣から血中にグラム陰性桿菌が侵入すると、エンドトキシンの作用で発熱などとともに急激な血圧低下などを呈するエンドトキシンショックが引き起こされ、場合によっては多臓器不全などが誘発され、死亡することもあります。したがって、尿路感染症の外 来患者さんにおいても ESBL 産生菌の可能性を視野に入れ、早期診断と適切な抗菌薬の選択には十分注意する必要性が生じつつあります。

2つ目の問題点は、ESBL 産生菌が多剤耐性化傾向を示すことです。ESBL 産生菌はオキシミノセファロスポリン系薬やモノバクタム系薬など多くのβ-ラクタム系薬に耐性を示します。先にも述べましたが、現在、CTX-M型の ESBL を産生し O25b:H4-ST131 で FimH のタイプが H30 に属する特定のクローン株の広まりが問題となっていますが、これらの H30 型株のほとんどがフルオロキノロン耐性を獲得しています。さらに、アミノグリコシド系薬や ST 合剤にも耐性を示す多剤耐性株であることも多く、このような多剤耐性株による感染症では、治療に難渋するケースが増えつつあります。治療の遅れは死亡率の増加を引き起こすのみならず、これら抗菌薬の投与で逆に耐性菌を選択的に増殖させてしまう危険性もあり、抗菌薬の選択には注意を要します。

3つ目の問題は、ESBL をコードする遺伝子がプラスミド媒介性に広く伝播することです。ESBL 関連遺伝子の多くは伝達性プラスミド上に存在します。そのプラスミドは F プラスミドなどとして高い接合伝達性を有することから、菌から菌へと ESBL 関連遺伝子が容易に伝播していきます。このことは、サルモネラ属菌や赤痢菌など強い伝染性をもつ菌種にも遺伝子の伝播が起こりうる事を示唆しており、そのような病原性が強い菌種における ESBL 産生菌の出現は公衆衛生上重要な問題となります。ESBL 産生菌は大腸菌やクレブシエラが代表ですが、現在では多くの腸内細菌科細菌に広がり、スペイン、アメリカ、フランス、ブラジルなどではサルモネラ属菌で、中国、ベトナム、レバノンなどでは赤痢菌で ESBL 産生株が確認されており、今後もその動向を注視する必要があります。

4つ目の問題として、ESBL 産生菌には、大腸菌やクレブシエラ、プロテウスの

ようにヒトの腸管内に定着しやすい腸内細菌科の菌種が多い点です。これまで問題となってきた多剤耐性のグラム陰性菌は緑膿菌やアシネトバクター・バウマニーという菌種が主なものでした。これらの耐性菌は、主に病院に入院している患者さんで問題となる菌種で、市中で健康な生活を送っている健常者に対してはほとんど影響がない菌種です。しかし、大腸菌やクレブシエラなどの菌種は、入院患者とともに市中で普通に生活している健常者でも膀胱炎や肺炎などの感染症の原因になることがある菌種で、多剤耐性菌の脅威が市中にも広がり始めているということです。そして、これらの菌種は、通常は下痢毒素や腸管毒素などを産生しないため、腸管内に保菌していても下痢や腹痛などの症状が出現しませんので、保菌に気づかず発見が遅れます。その結果、感染や伝播を防止する対策も遅れ、病院の複数の患者さんに広がってしまっている、また健常人や新規入院患者を通して医療環境へ持ち込まれるなどの事態が起きる危険性があります。これまでの耐性菌の動向監視は、主に医療環境を中心に行なわれてきましたが、近年のESBL産生菌の急激な増加をうけ、市中で健康な生活を送る健常者の保菌率も監視する必要が出てきました。

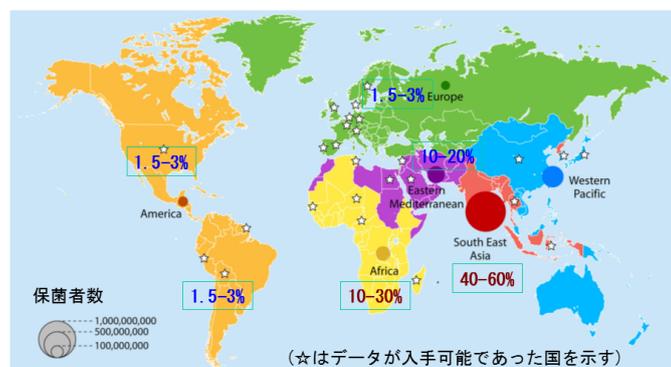
ESBLの特徴

- **多剤耐性傾向を示す**
セファロスポリン系以外にもフルオロキノロン系薬やアミノグリコシド系薬など複数の薬剤に対して耐性を獲得している
- **接合伝達により耐性遺伝子が伝播される**
ESBL関連遺伝子は伝達性プラスミド上にコードされており、接合伝達により、様々な菌種に伝播される
- **市中感染症の起原菌となる**
- **ESBL産生菌には大腸菌やクレブシエラ、プロテウスのようにヒトの腸内に定着しやすい腸内細菌科細菌が多い**
→ **健常人を通して医療環境へ持ち込まれる可能性がある**

健常人におけるESBL産生菌の保菌率

このような急激なESBL産生菌の市中環境への拡散の原因として、抗菌薬が飼育の際に大量に使用されている家畜からの伝播、環境の汚染や伴侶動物の関与、健常人の腸管内への保菌などが考えられており、欧米からはそれらを示唆する研究成果が報告されつつあります。このうち、健常人の腸管内保菌については、スペイン(2001年)とポーランド(2002年)から最初の報告がなされて以来、多くの国や地域で調査が行なわれてきました。2010年時点のWHO地域エリア別にみた市中健常人におけるESBL産生菌の保

2010年のWHO地域グループ別にみた市中健常人におけるESBL産生菌の保菌率



Woerther PL, et al. Clin Microbiol Rev. 2013; 26, 744-758を改変

菌率をみますと、アメリカ、南米、ヨーロッパでは 3%以下に留まっておりますが、東南アジア地域では 40-60%と際立って高い保菌率を示しています。

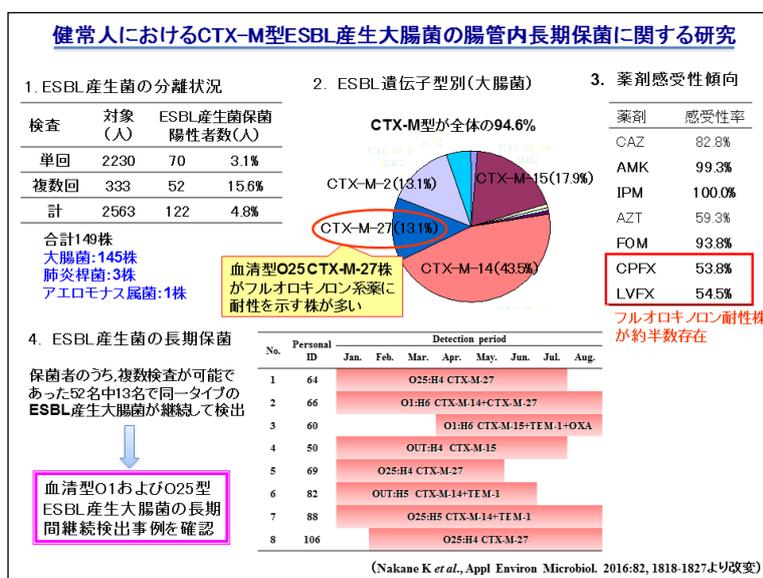
わが国の健常人における ESBL 産生菌の分離状況と特徴

それでは日本の健常人における ESBL 産生菌の分離状況はどうなっているのでしょうか？ ここからは 2010 年に我々が行いました健常人を対象とした保菌調査の結果をご紹介します。わが国における ESBL 産生菌の問題と対策について考えていきたいと思います。

調査は 2010 年 1 月から 2011 年 12 月までの 2 年間に愛知県岡崎市の保健所に提出された健常人 2,563 名(男性 1,050 名/女性 1,513 名)の糞便 4,314 検体を対象として行なわれました。一般的な方法により検査した結果、単回検査者 2,230 名中 70 名(3.1%)および複数回検査者 333 名中 52 名(15.6%)から ESBL を産生する大腸菌 145 株、肺炎桿菌 3 株および アエロモナス・ハイドロフィラ 1 株が分離されました。単回検査の検出率(3.1%)はフランスやチュニジアの報告、また本邦の他の研究報告とほぼ同程度のものでしたが、複数回検査者の分離率(15.6%)は単回検査よりもかなり高い結果となりました。単回検査者に比し複数回検査者の方が高い分離率となりましたが、この結果は、糞便検体中の菌数が検出限界程度の場合、単回の検査では偽陰性となってしまうことが多いことを示唆しており、複数回検査の 15.6%という値は市中で生活する日本人腸管内における ESBL 産生菌保有の実態をより正確に反映しているものと考えます。

ESBL 関連遺伝子型別については、大腸菌 145 株うち 138 株が CTX-M 遺伝子を保有しており、その内訳は CTX-M-14 (43.5%)、次いで CTX-M-15 (17.9%)、CTX-M-27 (13.1%)、CTX-M-2 (13.1%)であり、主な O 血清型は O25b (27 株)、O1 (11 株)、O153 (8 株)でした。これらの CTX-M 型は臨床分離株から分離されるものと

同じ遺伝子型であり、その割合も類似しています。このように市中環境で抗菌薬の服用をせず、健康に生活しているヒト腸管内にも、感染症をおこした菌株と同じ遺伝子を保有する大腸菌が保菌されていることが明らかになりました。一般に O25 および O1 型の O 抗原株はヒト腸管内に保持され易い



と考えられております。今回の結果からも腸管内に定着しやすい血清型 O25 や O1 型の大腸菌が ESBL を産生する能力を獲得することが保菌の一要因であると考えます。

薬剤感受性傾向は、ほとんどの ESBL 産生大腸菌がセフメタゾール、イミペネム、アミカシン、ホスホマイシンに感受性を示す一方、アズトレオナム、ミノサイクリン、シプロフロキサシンには耐性を示しました。興味あることに、CTX-M-27 遺伝子を保有する O25 株は他の遺伝子を保有する株に比し、有意にシプロフロキサシンの MIC が高く、CTX-M-15 遺伝子保有株はアズトレオナムおよびセフメタゾールの MIC が高い傾向にありました。現在、世界的に蔓延している CTX-M-15 産生大腸菌 O25b:H4-ST131-H30 は 通 常フルオロキノロン系薬に耐性を示します。本研究では、CTX-M-27 産生大腸菌 O25b:H4-ST131 フルオロキノロン系薬耐性菌の保菌が確認されたことから、今後、日本やアジアにおける本菌の流行が危惧されます。

本研究では、もう一つの新たな発見がありました。調査期間中、複数回の検査が可能であった 52 名について追跡調査を行ないましたところ、13 名において同一タイプの ESBL 産生大腸菌が 3 ヶ月から最長 2 年以上にわたり、継続して検出されることを確認しました。このような長期にわたる保菌を確認した研究は国内外でも珍しく、今回の調査が 2500 名を越える対象から得られた結果であることを鑑み、一般的な日本人における ESBL 産生菌の保菌状況をより正確に反映していると考えます。

これら長期保菌株の特徴としては、O25b:H4-ST131 と O1:H6-ST648 に属する一定のクローンが主流であること、ESBL 遺伝子型は CTX-M グループ 9 に属する CTX-M-14 と -27 がメインであること、検出菌株の 85%がフルオロキノロン系薬に耐性を示すこと、伝達性が確認されたプラスミドのレプリコンタイプの多くが IncF や IncFIB であることでした。大腸菌の ESBL 遺伝子獲得後の安定化には IncF グループのプラスミドが関与しているとの報告もあり、本研究の結果もそれを支持するものでした。今回の対象者は 3 ヶ月以内の抗菌

健常人の腸管内に長期保菌される ESBL産生大腸菌の特徴-1

- ✓ O25b:H4-ST131 と O1:H6-ST648 に属する一定のクローンが主流であること、
- ✓ ESBL遺伝子型はCTX-M グループ9に属するCTX-M-14と-27がメインであること、
- ✓ 検出菌株の85%がフルオロキノロン系薬に耐性を示すこと、
- ✓ 伝達性が確認されたプラスミドのレプリコンタイプの多くが IncF や IncFIB であること

健常人腸管内に長期保菌されるESBL産生大腸菌の特徴-2

		ESBL産生大腸菌 (145株/122名)	長期保菌株 (13株/13名)
血清型	O1	11 (7.5%)	3 (23.1%)
	O25	27 (18.6%)	4 (30.8%)
	その他	107 (73.9%)	6 (46.1%)
ESBL関連遺伝子	CTX-M-1 group	30 (20.7%)	3 (23.1%)
	CTX-M-2 group	19 (13.1%)	0 (0%)
	CTX-M-9 group	82 (56.6%)	10 (76.9%)
	その他の遺伝子型	14 (9.6%)	0 (0%)
薬剤耐性率	セフトラジム	25 (17.2%)	3 (23.1%)
	アズトレオナム	59 (40.7%)	5 (38.5%)
	ゲンタマイシン	334 (23.4%)	2 (15.4%)
	ホスホマイシン	9 (6.2%)	0 (0%)
	シプロフロキサシン	67 (46.2%)	11 (84.6%)

薬の服用歴はありませんでしたが、85%がフルオロキノロン耐性率という注目すべき結果となりました。この耐性率はわが国で臨床分離される大腸菌の耐性率よりも高いものであり、ESBL 産生大腸菌の長期保菌への関与が示唆されます。

今回の調査研究から、市中で普通に生活を送っている日本人も腸管内に一定の割合で ESBL 産生大腸菌を保菌していることが明らかになりました。なかには 2 年以上継続して保菌し続ける事例もあり、抗菌薬の服用がない場合でも長期間保菌し続けることが分かりました。腸管内に保菌される ESBL 産生大腸菌はフルオロキノロン系薬への耐性率も高く、尿路感染症や敗血症などの市中感染症の治療における抗菌薬選択への影響が懸念されます。このような市中健常人における ESBL 産生大腸菌の保菌は、健常人や新規入院患者を通して医療環境へ ESBL 産生菌が持ち込まれる可能性を示唆しております。したがって、院内感染や伝播を防止するためには、急性期病院とくに ICU などへの新規患者入所時には積極的に細菌検査を行う必要があると考えます。さらに、ESBL 産生菌の動向を把握し、感染対策を立てるためには、健常人における保菌状況も継続的に監視する必要性が高まりつつあると考えます。