

第 57 回新潟化学療法研究会

日 時 平成 29 年 7 月 21 日 (土)
午後 4 時～5 時 50 分
会 場 新潟第一ホテル
2 階 「インペリアル」

I. 一 般 演 題

1 肺炎球菌とマクロライド：新潟市内の耐性菌分離率と病原性抑制作用の解析

土門 久哲¹⁾²⁾, 前川 知樹¹⁾²⁾
永井 康介¹⁾²⁾, 柳原 克紀³⁾, 木村 征⁴⁾
寺尾 豊¹⁾²⁾
新潟大学大学院医歯学総合研究科
微生物感染症学分野¹⁾
同 高度口腔機能教育研究センター²⁾
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
病態解析・診断学分野³⁾
しおかぜ医院⁴⁾

【目的】近年、薬剤耐性肺炎球菌の増加が社会的な問題となっている。一方、マクロライド系抗菌薬は、マクロライド耐性の有無に関わらず、肺炎球菌の菌体内毒素であるニューモリシンの放出を抑制することが報告されている。本研究では、新潟市内における薬剤耐性肺炎球菌検出率の現状を把握するため、しおかぜ医院にて検出した肺炎球菌の薬剤感受性を調査した。次に、マクロライド耐性肺炎球菌に対するマクロライドの病原性抑制作用について、分子生物学的な解析を行った。

【方法】2014 年～2017 年の検体より分離された肺炎球菌株のペニシリン G およびアジスロマイシン (AZM) に対する非感受性を算定した。感受性の判定は CLSI ブレイクポイント (2017 年版) に準じた。次に、マクロライド耐性肺炎球菌 NU4471 株に対し、2～4 $\mu\text{g/mL}$ の AZM もしくはエリスロマイシン (ERY) を作用させ、増殖定常期に達するまで培養を行った。培養上清を採取し、ニューモリシンおよび自己溶菌酵素の漏出についてウェスタンブロット法にて解析した。同時に、菌体内におけるニューモリシン遺伝子の

転写についてリアルタイム PCR 法にて解析した。

【結果】検出された肺炎球菌株数は 2,608 株であった。そのうち、ペニシリン G 非感受性は 37.5%, AZM 非感受性は 82.2% であった。一方、AZM および ERY はマクロライド耐性肺炎球菌の培養上清におけるニューモリシンおよび自己溶菌酵素の漏出を抑制した。遺伝子転写解析より、AZM および ERY はニューモリシン遺伝子の転写を抑制した。

【考察と結論】マクロライド非感受性肺炎球菌の検出率が高い一方、マクロライドは肺炎球菌からのニューモリシンの漏出を抑制した。その分子メカニズムとして、同抗菌薬が肺炎球菌に対し 1) 自己溶菌酵素漏出抑制作用および 2) ニューモリシン遺伝子転写抑制作用を示すことが明らかとなった。

2 String test 陽性により速やかな AST 介入がなされ良好な経過をたどった組織侵襲性 *Klebsiella pneumoniae* の一症例

麻生さくら¹⁾⁵⁾, 松永 悠里¹⁾
細貝みゆき¹⁾, 藤田 裕美¹⁾, 鈴木 邦恵²⁾
柴田 怜³⁾, 手塚 貴文³⁾⁴⁾⁵⁾
塚田 弘樹³⁾⁴⁾

新潟市民病院 臨床検査科¹⁾
同 救急科²⁾
同 呼吸器内科³⁾
同 感染症内科⁴⁾
同 感染制御室⁵⁾

【背景】*Klebsiella pneumoniae* は莢膜を有するグラム陰性桿菌で、免疫不全患者に感染を起こすことが多く、医療関連感染の原因菌としても重要である。病原因子として莢膜多糖体、リポ多糖、アドヘジン、シデロフォアなどが知られているが、莢膜多糖体が主要な病原因子と考えられている。過粘稠性を呈する *K. pneumoniae* は組織侵襲性が高く、肝膿瘍、敗血症、髄膜炎、眼内炎などを惹起しやすく、近年、これらの高病原性株による重症例が問題となっている。

【症例】76 歳、女性。3 ヶ月前より右中耳炎の

加療中であったが、右耳の痛みとふるえ、嘔吐、下痢が出現。近医を受診するもショックバイタルとなり、当院に緊急搬送された。WBC $25.6 \times 10^3 / \mu\text{l}$, CRP 13.20mg/dl であり、血液培養、尿、耳漏培養採取後、MEPM 開始。血液培養より *K. pneumoniae* が検出され、CEZ に de-escalation された。CEZ 投与中に、腸腰筋膿瘍、化膿性椎体炎が認められ、再度血液培養より string test 陽性の *K. pneumoniae* が検出された。組織侵襲性株を疑い、主治医、AST に連絡し、MEPM に変更。ドレナージと抗菌薬治療により軽快し、59 病日に転院となった。

【細菌学的検査所見】2 病日、約 10 時間で血液培養が陽転化し、塗抹で厚い莢膜を有する腸内細菌様のグラム陰性桿菌が認められ、質量分析装置による直接同定で *K. pneumoniae* と判明した。薬剤感受性検査結果は多くの薬剤に感性であった。また、尿、耳漏培養からも同菌が検出された。10 病日、CEZ 投与下での血液培養は約 12 時間で陽転化し、再度 *K. pneumoniae* が検出された。コロニーは白色、光沢があり、string test 陽性であった。薬剤感受性検査結果は前回と同様であった。病原因子検索のための遺伝子検査を愛知医科大学病院に依頼し、K1 型、*rmpA* 遺伝子を含む複数の遺伝子が検出された。

【考察】過粘稠性株は非過粘稠性株と比較し、感染臓器に付着しやすく洗浄されにくい、炎症局所で容易に増殖し、治療が難渋化する要因のひとつと考えられる。CEZ は感性であったが、敗血症に伴う播種性可能性疾患という極めて菌量の多い状況での過剰な β -ラクタマーゼ産生により CEZ が奏功しなかった可能性がある。

AST における臨床微生物検査技師の役割として、迅速な結果報告に加え、string test をはじめとした、専門知識に基づく臨床へのフィードバックが重要である。

- 菌量が多い症例、膿瘍など菌量の多い部分に対する治療は抗菌薬投与期間を長くするかつ殺菌的抗菌薬の必要性の可能性。
- 重症感染患者では静菌的抗菌薬では失敗の恐れ。

- Inoculum effect はまだ完全には解明されていない現象。
- 肝膿瘍における治療で CEZ と広域セファロスポリン系薬の治療を比較したところ、重篤な合併症の発生率に有意な差があったという報告 (Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 2088-92) の一方で、明らかな死亡率の差はなかったという報告も発表されている (Clin Infect Dis 2008; 47: 642-50)。
- 感染症を起こした in vivo における inoculum effect については、マウスモデルを用いた検討がある (Clin Microbiol Infect 2014; 20: O831-9)。ESBL 産生の KP 肺炎マウスに T/P あるいは MEPM を十分量投与したところ、菌量の少ないマウスではすべて生存したのに対し、菌量が多いマウスでは、T/P 治療群が全て死亡した。MEP 治療群のマウスはすべて生存した。T/P で inoculum effect が起きた理由について、論文著書らは、菌量の増加に伴って過剰に産生された β -ラクタマーゼによる TAZ の用量不足が生じたことを指摘している。
- KP 敗血症に伴う播種性化膿性疾患という極めて菌量の多い状況で、過剰な β -ラクタマーゼ (ペニシリナーゼ) が産生されていた可能性がある。十分量と考えられた S/A を投与していたが、 β -ラクタマーゼ阻害薬である SBT の量が相対的に不足していた可能性。
- 頻回ドレナージによる菌量の減少は徐々に効果を奏した可能性。
- ペニシリナーゼで分解されない抗菌薬投与による治療効果。
- Inoculum effect があったとする実証には至らないが、治療効果から可能性は考えられるのでは。
- 播種性病変の残存も経過が長い場合考えた方が良いのでは。
- 病勢が抑えられていない状況における静菌性抗菌薬への変更は治癒までの期間延長になる可能性もある。
- 感染症トライアングルを考える感染部位、微

生物, 抗菌薬.

- 血液培養陽性化の理由 膿瘍という菌量の多い状況下において, 感受性があるはずの抗菌薬の効果を認めなかったことから inoculum effect の可能性もある.
- Inoculum effect とは, in vitro において MIC 測定開始時に菌量により MIC に差が出る現象. 感染症トライアングルの中で, 微生物と抗菌薬の間ぐらいにあるものとイメージする.

3 非結核性抗酸菌バイオフィルムの細菌学的研究

立石 善隆, 松本 壮吉

新潟大学大学院医歯学総合研究科
細菌学分野

Mycobacterium avium subsp. hominissuis (MAH) は近年日本で急増している肺 MAC 症の主要な原因菌であり, その病態形成の機序を解明することは喫緊の課題である. 今回, 発表者 MAH が低酸素かつ富栄養の条件において特異的に, バイオフィルムを形成することを見出した. さらに, 浴室環境より分離した臨床菌株においても低酸素条件下で特異的にバイオフィルム形成が促進されたことから, 結核菌群に属する BCG では高炭酸ガス条件がバイオフィルム形成に重要であるのとは対照的であることを示した.

MAH の細胞壁を構成する糖脂質の一種, グリコペプチド (GPL) の欠損株 (ラフ型) を用いて, GPL の有無がバイオフィルム形成に及ぼす影響を調べたところ, ラフ型菌株ではバイオフィルムの厚みが減少した. また, 野生型菌株では, ラフ

型菌株に比べて, バイオフィルムが強固な微細構造を示したことから, GPL がバイオフィルム発育の因子となることが分かった.

MAH バイオフィルム形成における低酸素条件の意義について, 酸素センサー機構の構成蛋白である DosSR が, 低酸素条件下で多数の遺伝子発現を誘導する可能性が考えられる. 結核菌は, 2 種の酸素感知蛋白 DosS (a redox sensor) と DosT (a hypoxia sensor) をもつ. 一方, *M. avium* は一種の酸素感知蛋白 (DosT) しか持たず, 結核菌の DosT や DosS とは系統的に離れている. この相違が, MAH と結核菌群のバイオフィルム形成機構の相違に関与する可能性がある. また, バイオフィルム形成ないしは発育に関与する糖脂質として, 今回の研究で GPL の関与を示すことができた. 一方で, TDM や TMM, リポアラビノマンナン, フォスファチジルイノシトールマンノシドなどの主要な細胞壁構成糖脂質も, バイオフィルム形成・発育に関与する可能性がある.

低酸素条件は, 生体内での持続感染においても重要な因子となるため, バイオフィルム形成因子の解明は, 生体内持続感染を阻止する治療法の開発につながる.

Ⅱ. 特 別 講 演

日本版 AST に求められるもの

名古屋大学大学院医学系研究科
臨床感染統御学分野

教授 八木 哲也