

シンポジウム：小児の上気道感染症の現状とその対応

細菌の耐性機序とその対策 — PRSP を中心に —

大野 章

(東邦大学医学部微生物学教室)

抗菌化学療法が臨床導入されて約 60 年が経過するが、この間細菌感染症の様相は大きく変化した。すなわちペスト、赤痢、腸チフスなどの強毒菌による広域伝染性感染症から、平素無害菌あるいは弱毒菌による日和見感染症へのシフトであり、なかでも重要なことは日和見感染症原因菌を中心とした抗菌薬耐性菌の出現と蔓延である。特に 1990 年代以降は、治療可能な抗菌薬が極端に狭まった多剤耐性菌感染症が増加している。小児科領域で特に問題となっている多剤耐性ペニシリン耐性肺炎球菌 (MDR-PRSP) も、そのような耐性菌の一つである。本シンポジウムで私に与えられた課題は、この PRSP を中心とした細菌の耐性機序とその対策についての考察である。

1. PRSP の出現と蔓延

PRSP は、1967 年にオーストラリアパプアニューギニアではじめて分離された¹⁾。ペニシリン耐性は 1940 年代半ば、黄色ブドウ球菌に初めて出現したが、これはペニシリンを分解する酵素ペニシリナーゼの産生によるものであった。しかしペニシリナーゼを産生する PRSP は現在もおお出現していない。PRSP に見られるペニシリン耐性はペニシリンの作用標的である細胞壁合成酵素 (ペニシリン結合蛋白質: PBP) の、ペニシリン結合親和性低下による。このような耐性は、ペニシリナーゼ非産生ペニシリン耐性 (BLNAR) ヘモフィルス・インフルエンザや淋菌、腸球菌などにも見られる。

通常ペニシリン感性肺炎球菌に対するペニシ

リンの MIC 値はほとんどが $\leq 0.03 \mu\text{g/ml}$ であるが、この時分離された肺炎球菌株の MIC 値は $0.6 \mu\text{g/ml}$ で、感性株の約 20 倍高い値であった。その後、ペニシリン耐性肺炎球菌はカナダ、アメリカ合衆国、ブラジル、フランス、スペイン、ハンガリー、南アフリカ、などから続々分離されるようになった。これらペニシリン耐性肺炎球菌株に対するペニシリンの MIC 値は多くは $0.1-1.0 \mu\text{g/ml}$ の間にあったが、1977 年、MIC 値 $2.0 \mu\text{g/ml}$ 以上を示すペニシリン耐性株が南アフリカダーバンで分離された²⁾。しかし髄膜炎を除けばこれら耐性株に対してはペニシリン大量投与によってなお治療可能であった。一方髄膜炎に対しては欧米では髄液移行性に優れたセフトキサシムやセフトリアキソンなどの第三世代セフェムが推奨されているが、1990 年代になると第三世代セフェムに対する耐性を獲得した株が分離されるようになり³⁾、加えてこれら耐性株の中にテトラサイクリン、クロラムフェニコール、エリスロマイシン、クリンダマイシン、ST 合剤などいずれかに同時に耐性を有する多剤耐性株が出現し現在に至っている。

2. PRSP の耐性機構

ペニシリン耐性肺炎球菌の耐性メカニズムは、すべてペニシリン結合蛋白 (PBP) の変異に由来する。肺炎球菌は 5 個の PBP (高分子量: 1a, 1b, 2a, 2b, 低分子量: 3) を有し、ペニシリン感性株は基本的にすべて同じ PBP 電気泳動パターンを示す。これに対しペニシリン耐性肺炎球菌では、各菌株の耐性度の違いに依存

してPBP電気泳動パターンに多様性が見られ、さらにPBP2_xが出現した。またペニシリン結合親和性の低下が認められる。

ペニシリン高度耐性株では5個の高分子量PBPの内、3個以上のPBPの結合親和性の低下が認められている (Fig. 1)。第三世代セフェム剤耐性臨床分離株では1aと2x遺伝子だけに結合親和性の低下が認められている。この理由としては1aと2x以外のPBPがもともと第三世代セフェム剤に対する結合親和性が低いのではないとも考えられている。特に

PBP2_xのアミノ酸変異部位の相違が第三世代セフェム薬のMIC値に大きく影響する。PBP2_bの変異は第三世代セフェム薬の耐性化には全く寄与せず (第三世代セフェム薬は元々肺炎球菌のPBP2_bと反応しない)、ペニシリンに対する軽度耐性化に関係している。ペニシリンに対する中等度および高度耐性化にはさらにPBP1a, 2_xのペニシリン結合親和性の低下が必要とされる。またその後さらにそれぞれの耐性株においてPBP遺伝子に点変異が起こり高度耐性化が生じたと推定されている (Fig. 2)⁴⁾。

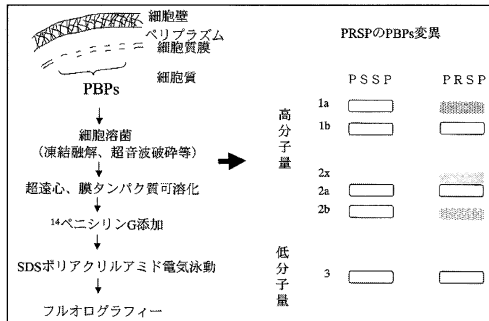


Fig 1. PRSP の PBP 変異

3. ペニシリン耐性はどのようにして獲得されたか

1) 低ペニシリン結合親和性 PBP の由来

ペニシリン耐性肺炎球菌株から結合親和性の低下した PBP 2_b, 2_x をコードしている遺伝子の DNA 塩基配列は、*Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis* などの口腔連鎖球菌の PBP 遺伝子の DNA 塩基配列の一部と高い相同性を有する。これら菌

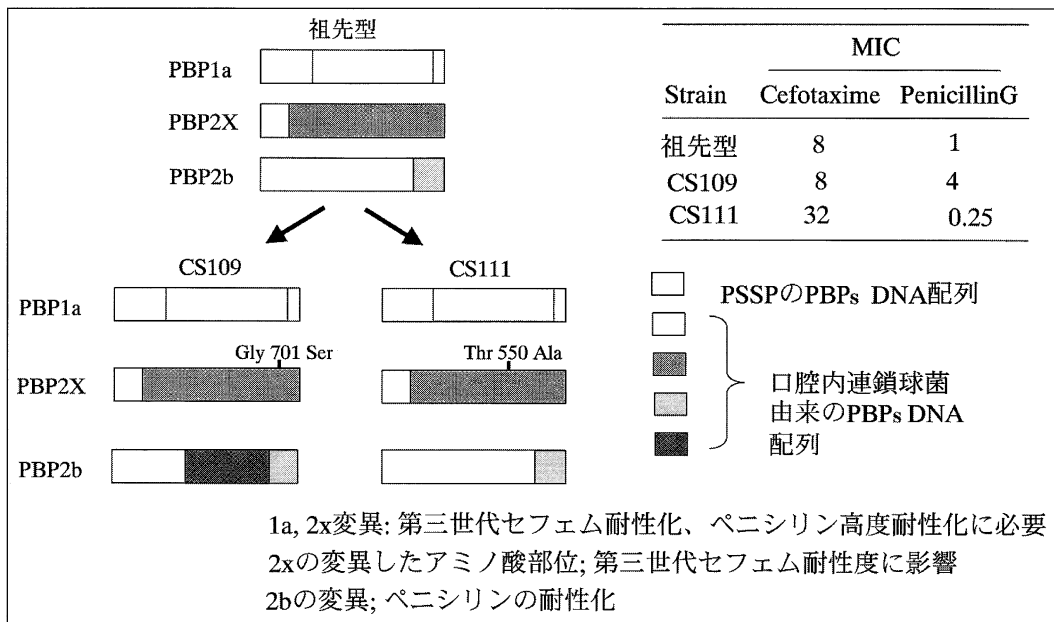


Fig. 2 PRSPのPBP DNA 変異と耐性発現の関係

種のPBP_sのペニシリンに対する結合親和性もまた低く、PRSPのPBP_s遺伝子は、口腔内連鎖球菌のPBP_s遺伝子の一部と肺炎球菌のPBP_s遺伝子の一部が組替えられて構成されていることが明らかになった⁵⁾。これは形質転換によって生じる。すなわち口腔内で溶菌した口腔内連鎖球菌から、ペニシリン低親和性のPBP_s遺伝子を含むDNAの一部が遊離し、共存する肺炎球菌の細胞内に積極的に取り込まれ、相同部分が肺炎球菌のPBP_s遺伝子部位に組み込まれたものである (Fig. 3)。

4. PRSP 感染症に対する有効な抗菌薬

PRSP 感染症に対する有効な治療法の検討については、本教室の高島、館田らにより行われたPRSP マウス肺炎モデルを用いた研究がある⁶⁾。本モデルは、さまざまな条件検討から最終的にCBA/J マウスが選択され、ペニシリンに対するMIC値が $1\mu\text{g/ml}$ のPRSP No. 741株を経鼻感染させる系として確立された。すなわち感染後5日目からマウスが徐々に死にはじ

め、9日目までで80%が死亡し、また肺内生菌数は3日目を降より増加し、7日目からは血中、および髄液から菌が検出されるなど臨床に酷似するモデルである。本モデルを用いて、ペニシリンの大量投与、セフトキシム、イミペネム、バンコマイシンなどの治療を試み、有効な治療法の検討を行った。無治療群では、感染6日目から死亡例が出始め、感染後8日目で100%マウスは死亡した。まずペニシリン大量投与群では、12日までは死亡例は認められなかったが、13日目以降から徐々に死にはじめ、最終的に得られた生存率は40%強であった。一方セフトキシムについては、感染6日から死亡例が観察され、その後は緩やかなカーブでの死亡例が続き、最終生存率は30%強であった。イミペネムあるいはバンコマイシン投与群では100%のマウスが生存した (Fig. 4)。以上の成績、そして多くの症例などからPRSPに対する有効な治療法を考察すると、まず呼吸器感染症に対して、軽症の場合は、ペニシリンの大量投与、あるいはニューキノロンが、中等症以上の場合には、ペニシリン+アミノ配糖体、グリコペプチド、カルバペネムが、中耳炎・副鼻腔炎に対しては経口ペネム、ニューキノロン、さらに敗血症・髄膜炎に対してはカルバペネム、カルバペネム+アミノ配糖体、カルバペネム+グリコペプチド、グリコペプチド (敗血症) などが有効と考えられる。

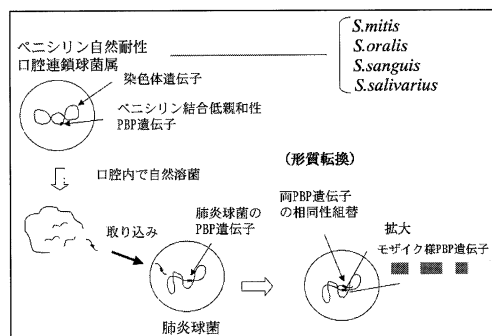


Fig 3. 推定されるPRSPの出現機構

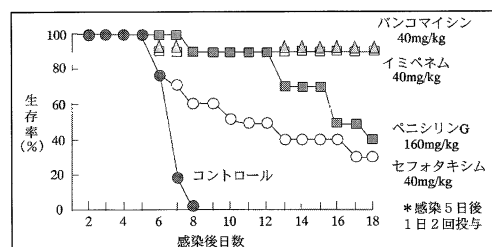


Fig 4. CBA/JマウスPRSP肺炎モデルにおける各種抗菌薬の生存率に及ぼす影響

5. 抗菌薬耐性菌への対応

細菌の著しい適応力を反映するかのよう、現在複雑な耐性機構を示す多種耐性菌が出現し (Table 1)、しかもこれらの耐性菌は多剤耐性を同時に獲得し、しかも地球規模で蔓延しつつある。この背景には、さまざまな要因が関与するが、いずれにしても現状では新規抗菌薬の開発速度は急速に減衰しており、このままでは抗菌薬耐性の問題を解決するのは困難と思われる。今後抗菌薬耐性をどのように克服するか、現在

Table 1. 最近の問題となっている抗菌薬耐性菌

| | |
|-------------------------------------|--|
| ・バンコマイシン耐性腸球菌(VRE) | 〔バンコマイシン テイコブラニン |
| ・バンコマイシン低感受性メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(VISA) | 〔バンコマイシン 全てのβ-ラクタム薬 |
| ・ペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP) | 〔ペニシリン 第3世代セフェム |
| ・基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生グラム陰性桿菌 | 〔ペニシリン 第3世代セフェム モノバクタム(一部) カルバペネム(一部) |
| ・カルバペネム分解型クラスBβ-ラクタマーゼ産生グラム陰性桿菌 | 〔モノバクタムを除くほとんどのβ-ラクタム薬 |
| ・β-ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性(BLNAR)インフルエンザ菌 | 〔多くのβ-ラクタム薬 |
| ・多剤耐性結核菌 | 〔リファンピシン イソニアジド ストレプトマイシン etc. |

考えられる方法は三つのカテゴリーに分けられる。一つは抗菌薬の適正な使用法や院内感染のコントロールであり、二つ目は古典的な抗菌薬の見直し、三つ目は従来の枠を超えた新規抗菌作用標的を有する抗菌物質の探索である。これには細菌のゲノム解析、新たな病原性因子の発見方法の開発、これらの結果の集大成としての病原性発現システムの全貌などの解明が不可欠である。すなわち感染症のプロセスである付着、定着、侵入、発症のそれぞれのステップのシステムを明らかにし、それらに関与する因子の中から高い選択毒性が得られるターゲットを見出し、それに対する阻害剤を探索すること、すなわち感染症制御の概念を取り入れることである。以下には、新たな抗菌薬を生み出す可能性のある標的についてその一部を述べる。

a) 2成分シグナルトランスダクションシステムの阻害による病原性因子の発現抑制

細菌は多かれ少なかれ宿主などの環境変化に適応する2成分シグナルトランスダクションシステムを構築している。すなわち環境の変化を、細菌細胞質膜上に存在するセンサーがキャッチし、病原性因子群などの転写を調節する転写調節因子を活性化し、これらの因子が産生され病原性が発揮される。最近、このシステムの作動や、それを活性化するステップを阻害する化合

物がいくつか開発されている^{7,8)}。

b) 宿主細胞への付着阻害

菌の宿主細胞への付着は、感染初期の重要なプロセスである。付着はまた、それだけではなくシグナルとしても働き、サイトカイン等の産生を促進させ、炎症反応を惹起する。宿主細胞の細胞表面にはさまざまなレセプターが存在し、それぞれ細胞機能に役割を果たしている。病原性細菌はこれらのレセプターに結合するリガンド、例えば線毛のような付着因子を進化の過程で獲得してきた。そしてそれぞれの菌種の好む感染組織の細胞表面レセプターに特異的に結合し付着する。従って細菌付着因子と、宿主細胞表面レセプターとの結合を拮抗的に阻害する化合物が見出せば、感染の成立を阻止することが可能である。現在いくつかの化合物が開発されつつある^{9,10)}。

c) アンチセンスヌクレオチド

DNAあるいはRNAの重要な遺伝子の特定領域の塩基配列に対し、その塩基配列に対応するアンチセンスヌクレオチドを抗菌薬として開発することができれば、直接遺伝子をつぶすことになり有力である。しかしその実現に向けては、非特異的な結合や安定性、細胞内ターゲットへの到達性など多くのハードルがある。しかしその実現に向け努力される価値は十分にある¹¹⁾。

以上の例は、ごく一部であり現在は他にも多くのアイデアがあり、研究が進められている。

しかし、いずれにしろ抗菌薬耐性菌の問題で忘れてならないことは、抗菌薬使用と、耐性の出現における関係を十分に認識し、適正な抗菌薬の使用を行うことであることは言うまでもない。

参 考 文 献

- 1) D. Hansman and M. M. Bullen : A resistant pneumococcus. *Lancet* 2 : 264-265, 1967
- 2) Appelbaum PC., et al. : *Streptococcus pneumoniae* resistant to penicillin and chloramphenicol. *Lancet*. 2 : 995-7, 1977
- 3) Figueiredo AM., et al. : A pneumococcal clinical isolate with high-level resistance to cefotaxime and ceftriaxone. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 36 : 886-889, 1992
- 4) Spratt BG, et al. : Genetic analysis of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* with high-level resistance to expanded-spectrum cephalosporins. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 39 : 1306-1313, 1995
- 5) Dowson CG., et al. : Origin and molecular epidemiology of penicillin-binding-protein-mediated resistance to beta-lactam antibiotics. *Trends in Microbiology*. 2 : 361-366, 1994
- 6) Takashima K et al. : Establishment of a model of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* pneumonia in healthy CBA/J mice. *J Med Microbiol* 45 : 319-22, 1996
- 7) Roychoudhury, S, et al. : Inhibitors of two-component signal transduction systems : inhibition of alginate gene activation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 90 : 965-9, 1993
- 8) Hlasta, DJ., et al. : Novel inhibitors of bacterial two-component systems with gram positive antibacterial activity : pharmacophore identification based on the screening hit closantel. *Bioorg Med Chem Lett.* 8 : 1923-8, 1998
- 9) 大村 智. : 21世紀の抗生物質像. *Jap J Antimicrob.* 755 (1) : 755-765, 1996
- 10) Setti, EL. : New trends in antimicrobial development. *Cur Med Chem.* 5 : 101-113, 1998
- 11) Moelleing, RC., et al. : Past, present, and future of antimicrobial agents. *Am J Med.* 99 (Suppl 6A) : 11S-18S, 1995

連絡先 : 大野 章

〒143-8540

東京都大田区大森西 5-21-16

東邦大学医学部微生物学教室

TEL 03-3762-4151 FAX 03-5493-5415