

学 位 論 文 要 旨

氏 名 中山 亮



論 文 題 目

「日本で分離されたカルバペネム耐性緑膿菌における
メタロ型カルバペネマーゼの保有率およびその特性に関する研究」

指 導 教 授 承 認 印

北里 英郎



日本で分離されたカルバペネム耐性緑膿菌における

メタロ型カルバペネマーゼの保有率とその特性に関する研究

氏名 中山 亮

【背景と目的】 薬剤耐性菌に対する対策を怠った場合、2050年には薬剤耐性菌感染症による死者数が年間1千万人、経済損失が100兆ドルに達するという衝撃的な予測がJim O'neillにより報告されたことを皮切りに薬剤耐性菌に係る問題は、公衆衛生および社会経済的に重大な課題となっている。

2017年に世界保健機関は抗菌薬開発を要する12種類の薬剤耐性菌リストを公表した。このリストの最も緊急性の高い耐性菌の1つにカルバペネム耐性緑膿菌(CRPA)がある。カルバペネム耐性機構には、排出ポンプ亢進、ポーリン蛋白質の発現低下や変異があるが、カルバペネマーゼ(CPase)が特に寄与すると考えられている。CPaseには、活性中心にセリン残基を要するセリン型と亜鉛イオンを要求するメタロ型に大別される。CPase産生カルバペネム耐性菌に対する治療薬としてβ-ラクタム薬とβ-ラクタマーゼ阻害薬(BLI)を配合した薬剤が上市されているが、アピバクタムなどいずれもセリン型CPaseを阻害するBLIであり、メタロ型CPaseを阻害できるBLIはない。

メタロ型CPase産生緑膿菌(MCPPA)の遺伝子型の同定とその特性に関する研究は、MCPPA感染症の動向把握、及び、BLIの創薬標的とすべきメタロ型CPaseのサブタイプ把握に繋がるため薬剤耐性菌対策において非常に意義がある。また、CRPAに対する理解を深め、治療薬選択肢の一助ともなる。本研究では、三学会合同抗菌薬感受性サーベイランス事業において収集されたCRPAを用いて、メタロ型CPase遺伝子の保有率ならびにその特性を検討した。

【方法】 主たるメタロ型CPaseであるIMP型、VIM型、NDM型遺伝子検出のためのリアルタイムPCR系を構築した。本邦におけるメタロ型CPase保有率を調べる目的で2006年から2015年に収集された臨床分離緑膿菌1716株からCLSIの定めたメロペネムの耐性ブレイクポイントを参照しCRPA275株を入手した。これらCRPAのDNAを抽出し、メタロ型CPase遺伝子をリアルタイムPCRにて検出した。PCR陽性株は、シーケンス解析によりサブタイプを決定した。

次に、対象年度の全臨床分離緑膿菌に対するメロペネムのMICデータとMCPPAの関係を調べるため、PCR結果とサーベイランス事業から供与されたMICデータを用いて、メロペネム(カルバペネム)耐性株のメタロ型CPase遺伝子保有率を調査した。また、MCPPAとメタロ型CPase非産生CRPA(nonMCPPA)の薬剤感受性特性につき分析を行った。CRPAにおけるメタロ型CPase遺伝子保有率の地域性についてもカイ二乗法により検証した。

【結果と考察】 臨床分離緑膿菌1716株に対するメロペネムのMIC分布は、感受性域と耐性ブレイクポイントにピークをとる二峰性を示した。全緑膿菌の16%に相当する275株がCRPAに

該当し、その内の 8.4%を占める 23 株が MCPPA であった。これら 23 株中、21 株が IMP 型、2 株が VIM-2 であった。MCPPA の株数はメロペネム感受性の低下とともに増加し、MIC>128 μ g/mL を示す株の 90%以上が MCPPA であった。一方、nonMCPPA はメロペネム感受性の低下とともに減少した。以上より、メロペネムの感受性低下はメタロ型 CPase の寄与が非常に大きいことが示唆された。

MCPPA に対する MIC₉₀ (μ g/mL) はメロペネム (>128)、ピペラシリン (>128)、セフェピム (>128)、アズトレオナム (64)、アミカシン (128)、レボフロキサシン (>128)、ミノサイクリン(>128)であった。一方で、nonMCPPA は、メロペネム (32)、ピペラシリン(>128)、セフェピム (32)、アズトレオナム (64)、アミカシン (8)、レボフロキサシン (64)、ミノサイクリン (>128) であった。MCPPA は nonMCPPA と異なり、カルバペネムのみならず他の抗緑膿菌活性を有する抗菌薬に対しても高度耐性を示した。

全臨床分離緑膿菌株のメタロ型 CPase 保有率は凡そ 1.3% (23/1716 株) であり、これまでの報告と大差はなく過去 30 年の年間分離率 (0.4~3.0%) と大きな変化はないと推測された。さらに本件結果では CRPA のメタロ型 CPase 保有率の地域差は認められなかった。

本研究により、臨床分離緑膿菌の 1.3%が MCPPA であり、多くは IMP 型であることを明らかにした。この検出結果から、過去 30 年間の年間分離率と比較しても大きな差は認められず、日本では極端な増加はおきていないと考えられた。また、本邦における主たるメタロ型カルバペネマーゼの種類にも大きな変化はないと考えられた。