

[別紙 1]

論文の内容の要旨

論文題目

癌専門病院における β -lactam antibiotic induced vancomycin-resistant MRSA (BIVR)の検出状況と薬剤感受性試験、および遺伝学的分類方法に関する研究

指導教官

上別府圭子 助教授

東京大学医学系研究科

平成 14 年 4 月進学

博士後期課程

健康科学・看護学専攻

氏名 細坂泰子

緒言

耐性菌が出現すると瞬く間に全国に拡散する。中でも methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)は、わが国でもっとも多い院内感染症の起炎菌である。多剤耐性を有す MRSA は難治性感染症をおこす場合が多く、入院期間の延長や予後不良に陥る症例が散見される。代表的な MRSA 感染症治療薬である vancomycin(VCM)は、1991 年に静注用製剤が発売されて以来、多くの MRSA 感染症の治療に貢献してきた。しかし VCM はグラム陰性菌に対する抗菌力がないため、MRSA 感染症に併発するグラム陰性菌感染症への対応として β -ラクタム薬が併用され、その併用頻度は 70%以上と考えられている。これらの併用は、MRSA に対して相加、相乗作用を示すという多数の報告に裏づけされた併用方法であったが、近年この併用で拮抗作用を示す MRSA が報告され、 β -lactam antibiotic induced vancomycin-resistant MRSA (BIVR)と命名された。また BIVR の出現は、MRSA が蔓延し、かつ VCM と β -ラクタム薬の併用率

が高いわが国特有の現象と考えられていたが、2004年にフランスおよび韓国でVCMとβ-ラクタム薬が拮抗するMRSA(BIVR)が報告されたことから、今後、世界中から検出される可能性が高まっている。

MRSAの治療薬としてもっとも使用頻度の高いVCMとβ-ラクタム薬がBIVR感染症に対して併用された場合、その治療に苦慮すると考えられる。本研究ではBIVRの臨床における実態を明らかにすることで、今後のBIVRの出現抑制と耐性化の防止及び治療指標を考察し、BIVR感染症の治療に寄与することを目的として本研究1-5を行った。

研究1 癌専門病院でのBIVR検出状況に関する研究

本研究では、癌専門病院におけるBIVRの実態を調べることを目的とし、当該病院から分離された500株のMRSAを用いてBIVRの検出を試みた。さらに最適なBIVRの検出方法を検討するために、前培養にceftizoxime (CZX)添加(添加法)と無添加の従来法の条件下でBIVRの検出率を算出した。その結果、添加法では20.4%(102株)、従来法では9.0%(45株)であり、有意に添加法で検出率が高かった($\chi^2=53.1$, $p<0.001$)。また1999年から2002年に一般病院から分離された先行研究とのBIVR検出率の比較では、本研究のBIVR検出率はやや高い結果であった。これは抗菌薬の使用頻度が高く、宿主の抵抗力が弱い癌専門病院の特性が反映しているためと考えられた。

研究2 MRSAとBIVRに対する単剤抗菌薬感受性の比較に関する研究

1998年から2002年までに分離された102株のBIVRを含む500株のMRSAを対象に、抗MRSA薬としてVCM、teicoplanin (TEIC)、linezolid (LZD)、arbekacin (ABK)と、MRSA感染症に多用される抗MRSA薬以外の抗菌薬minocyclin (MINO)、rifampicin (RFP)、pazufloxacin (PZFX)、sulfamethoxazole+trimethoprim (ST合剤)の8薬剤の感受性をNCCLSに準拠した方法を用いて比較検討した。代表的な抗MRSA薬ではBIVR、non-BIVR MRSAとも耐性化はほとんど認められなかった。またRFP、ST合剤でも良好な感受性を示し、耐性化が示されたのはPZFXのみであった。MINOは特異的にBIVRに対しての耐性化が顕著であったが、これはMINO耐性遺伝子保有のMRSAからBIVRが派生しているためと考えられた。8抗菌薬による最小発育阻止濃

度(MIC)の比較では MINO 以外に BIVR と non-BIVR MRSA との抗菌薬感受性に対する差異は認められず、単剤の抗菌薬感受性試験のみで両株を明確に区別することは困難であった。さらに、BIVR に対しても今回使用した抗菌薬の多くが感受性であり、適切な抗菌薬を投与することで BIVR を含む MRSA 感染症を治療することができることが明らかとなった。

研究 3 BIVR 検出培地の検討とイミペネム添加によるバンコマイシンおよびテイコプラニンの抗菌力への影響に関する研究

現在の BIVR スクリーニングで使用される Mu3 培地はコストが高いために普及しにくく、そのため BIVR の検出が遅れ治療に難渋するケースが多い。そのため安価でかつ入手しやすい材料を用いた BIVR スクリーニング培地を作成し、その培地を用いて、β-ラクタム系抗菌薬である imipenem(IPM)とグリコペプチド系抗菌薬の VCM および TEIC の併用効果を 99 株の BIVR、27 株の non-BIVR MRSA、27 株の MSSA について検討した。6 種類の培地で BIVR 検出培地の検討を行った結果、「Brain heart infusion Agar+4%NaCl」が BIVR の特性をもっとも反映した。この培地を用いて併用効果を判定したところ、BIVR では VCM+IPM 10µg/ml を除くすべての併用で強い拮抗作用が認められた。TEIC との併用では IPM 0.01 µg/ml で弱い拮抗作用が見られたが、その他の濃度における併用では拮抗作用が認められなかった。non-BIVR MRSA および MSSA では相加・相乗効果のみが認められた。β-ラクタム薬が微量でも体内に存在する場合には BIVR も視野に入れた治療が必要であることが示唆された。

研究 4 バンコマイシンおよびテイコプラニンと β-ラクタム薬併用時の BIVR に対する殺菌曲線に関する研究

BIVR と non-BIVR MRSA を対象に IPM と VCM もしくは TEIC との併用効果を生菌数(殺菌曲線)で検討した。BIVR に対する殺菌曲線では VCM 単剤では 99.9%の殺菌効果を示したのに対し、併用では菌が増殖した。これは同様に試験した non-BIVR MRSA とは相反する結果であった。一方、同系抗菌薬である TEIC と IPM との併用では、BIVR でも non-BIVR MRSA でも単剤に比べ残存生菌数は減少し、併用による相加・相乗効果

を示した。BIVR に対しては、単剤では効果のある濃度の VCM を投与していても併用ではその効果は消失し、一方、単剤では効果のない濃度の TEIC でも併用すれば効果的な治療法となることが示された。

研究 5 パルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)を用いた BIVR の年次的推移の解析 および院内感染に関する遺伝学的分類に関する研究

本研究では比較的 BIVR の検出率の高い癌専門病院で検出された BIVR の起源を明らかにすることを目的として、PFGE を用いた genotype の解析を行い、かつ臨床における抗菌薬投与の指標となる薬剤感受性試験の phenotype(MIC 値)の結果を合わせた解析を同時に行った。102 株の BIVR では 85%の株が Type A に分類され、起源の同じ BIVR が長期にわたって病院内で生存していたことが示唆された。また 2000 年に検出された 49 株の BIVR と 51 株の non-BIVR MRSA の genotype が異なる分布を表したことから、BIVR は使用薬剤および免疫能による MRSA からの変異よりも、変異した BIVR が院内感染によって伝播する可能性が示された。この結果から、BIVR でも MRSA と同様に院内感染の原因菌となりえることが強く示唆された。また genotype が同一な Type A において phenotype が完全に一致したのはわずかに 8%で、PFGE では同一とみなされる株でも抗菌薬に対する感受性は異なることが示された。genotype は伝播経路の探索などの疫学調査に、phenotype は効果的な薬剤抽出の検討に優れており、genotype と phenotype を組み合わせた疫学調査を行えば、より詳細な耐性菌の伝播経路および臨床的な応用が明確になると考えられた。

結論

本研究で BIVR 検出率が高かった理由として、易感染患者が多い状況で抗菌薬が多く使用される癌専門病院の特性に加え、BIVR の病院内での継続的な存続とその BIVR のアウトブレイクが示唆された。BIVR の耐性化と蔓延の防止は、院内感染対策と抗菌薬のコントロールによって達成できると考えられる。今後、BIVR の動向に注意すると同時に、新たな耐性菌を出現させないためにも積極的な院内感染に対するコントロールが必要である。