

最新のトピックス

忍び寄る脅威—コリスチン耐性グラム陰性桿菌

- 1) 信州大学医学部保健学科病因・病態検査学領域
- 2) 名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学/耐性菌制御学

長野 則之¹⁾ 長野由紀子²⁾

I はじめに

コリスチンは特に近年世界的な拡散が問題視されているカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*; CPE) や *Acinetobacter baumannii* などをはじめとする多剤耐性グラム陰性桿菌に起因する重篤感染症の最後の砦となる治療抗菌薬として、ヒトへの臨床使用が増えつつある。コリスチンは1949年に日本で *Bacillus polymyxa subspecies colistinus* から発見されたサイクリックポリペプチド系抗菌薬で、1960~1970年代にはグラム陰性桿菌感染症に使用されたが、元来腎機能障害や神経毒性など強い副作用を有することや、 β -ラクタム系薬をはじめ他の安全性が高く且つ有効な種々の抗菌薬が開発されたことから2004年には国内で注射剤の承認が取り消された。しかしながら、多剤耐性グラム陰性桿菌の世界的な拡散、蔓延化の現状にありながら、新規抗菌薬の開発の停滞が続いており治療抗菌薬の選択肢も限られてきていたことから、2012年にWHOがコリスチンをヒト臨床治療における非常に重要な薬剤として位置付けた。国内では2015年3月に注射剤が再承認されている。このような背景からコリスチンは古くて新しい抗菌薬として臨床現場に再登場した。

II コリスチン耐性菌の出現

海外では2000年前後からコリスチン耐性株が *Pseudomonas aeruginosa*, *A. baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* などで確認されていた。それらの報告の中には耐性機序として染色体上の遺伝子変異を確認しているものも含まれていたことから、コリスチン耐性が感性株へ伝播 拡散する可能性は低いものと考えられていた。しかしながら、2015年に中国でブタ、ブタ生肉、さらにはヒト由来 *Escherichia coli* から初めて伝達性プラスミド媒介性のコリスチン耐性遺伝子

*mcr-1*が発見され¹⁾、臨床現場でのコリスチン使用に深刻な影響を及ぼすこととなった。その後の後方視的研究では *mcr-1* 遺伝子がより早期の1980年代に中国で鶏から出現していたこと、次いで2000年代後期以降アジア、ヨーロッパ、アフリカ、北アメリカでヒトよりも食用動物由来の主に *E. coli*, *K. pneumoniae* などの腸内細菌科の菌種でより高頻度に拡散していったことが明らかとなった²⁾。

国内では2008、2009および2015年に北海道で分離されたヒト臨床由来 *E. coli* 514株において、コリスチンに耐性 (MIC>2 μ g/mL) を示す株が4株あったことが報告された。しかしながら、これらの株は *mcr-1* または *mcr-2* 遺伝子を保有しておらず、また、この4株のうち3株はヒト流行クローンとして知られる O25b:H4-ST131であった³⁾。国内では現在までにヒト由来コリスチン耐性株で *mcr-1* や *mcr-2* 遺伝子は確認されていないが、*mcr-1* 遺伝子はウシやブタの臨床由来株で初めて確認され、プラスミドの配列は中国から報告されたプラスミド pHNSHP45の配列と高い相同性を示していた⁴⁾。また、*mcr-1* 遺伝子の検出率は2000~2004年に収集された健常家畜由来 *E. coli* では0.02% (2/9308株) と低率であったのに対して、2007~2014年に収集されたブタ臨床由来 *E. coli* では13% (90/684株) と高率で、且つ2010年以降増加傾向がみられることが報告されている⁴⁾⁵⁾。しかしながら、市販の食肉における *mcr-1* 遺伝子の疫学情報は得られていない。

III 市販鶏肉由来 *E. coli* から *mcr-1* 遺伝子を確認

われわれは食肉における基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生 *E. coli* の分子疫学解析研究として2015年8月から2016年6月の間に市販鶏肉から70株のESBL産生株を収集していたが、それらのうち松本市内で購入した国産若鶏むね肉由来のCTX-M-1 ESBL産生株1株がコリスチン耐性を示し (MIC

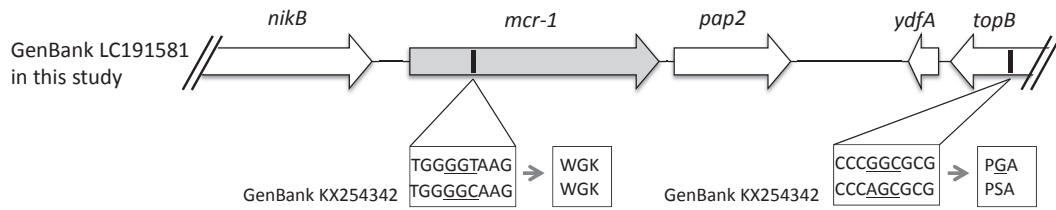


図1 プラスミド媒介性コリスチン耐性遺伝子 *mcr-1* の周辺構造

8 µg/mL), *mcr-1* 遺伝子を保有することを明らかにした⁶⁾。この株は phylogroup A に属し、毒性関連遺伝子 *fimH* および *iutA* 陽性であった。また、MLST 解析で ST1684 と同定されたが、この sequence type はヒトと家畜に共通して認められている。一方、*mcr-1* 遺伝子（構造遺伝子内に1つの同義的置換を有する）については *bla*_{CTX-M-1} を担う IncII プラスミドとは別の IncI2 プラスミド上に担われていた。さらに周辺構造解析により *nikB-mcr-1-pap2-ydfA-topB* 領域の塩基配列 (GenBank LC191581) は、中国のブタ糞便由来 *E. coli* が保有する IncI2 プラスミド pECJS-61-63 (GenBank KX254342) と類似していることが明らかとなった (図1)。

IV 愛玩動物からもコリスチン・チゲサイクリン同時耐性 *K. pneumoniae* 株を確認

われわれの研究で2016年5月～9月の5カ月間に全国の動物病院より収集した臨床材料由来オキシイミノセファロスポリン系薬耐性株の中で、イヌカテーテル尿由来の DHA-1・SHV-12 同時産生 *K. pneumoniae* 1株がコリスチン耐性 (MIC 64 µg/mL) に加えてチゲサイクリンにも耐性 (MIC 8 µg/mL) を示すことが見いだされた。この株は ST37 と同定されたが、ST37 はヒトに親和性が高い流行クローンであり、多剤耐性 *K. pneumoniae* での報告も多い。また、コリスチン耐性に重要な役割を果たすプラスミド性 *mcr-1* や *mcr-2* 遺伝子は検出されなかった。コリスチン耐性には本薬剤の標的部位である外膜 LPS の Lipid A 構造の修飾による陰性荷電の減少が関わっており、新たに発見された獲得型のプラスミド性耐性因子による修飾の他に、従来より染色体上の遺伝子変異が関与する二成分制御系による修飾が知られている。本株では二成分制御系の *pmrA*, *pmrB*, *phoP*, *phoQ* 遺伝子に変異は認められなかったが、*phoP/phoQ* 系の負調節因子 MgrB の構造遺伝子に挿入配列 IS10R の挿入が認められたことから、*mgrB* 遺伝子の破壊により耐性化し

たものと考えられた。なお、コリスチン同様多剤耐性グラム陰性桿菌重篤感染症の貴重な治療抗菌薬であるチゲサイクリンに対する耐性機序としては、本菌の場合負調節因子 RamR 構造遺伝子に挿入配列 IS10R の挿入が認められたことから、*ramR* 遺伝子の破壊による AcrAB-TolC 多剤排出ポンプの過剰発現が考えられた。

V 忍び寄る脅威一気の抜けない水際対策

コリスチンはヒト臨床における慎重使用が求められる一方、ウシ、ブタおよびニワトリなどの家畜を対象に動物用医薬品や飼料添加物としてわが国をはじめヨーロッパなど世界の国々で1950年代から広範に使用されてきている (米国、カナダ、オーストラリアは除く)。特に中国ではコリスチンが成長促進剤としてブタやニワトリに大量に投与され続けた。最近では中国やヨーロッパを含め飼料添加物としてのコリスチンの使用を禁止する動きが相次いでみられるが、ヒト、家畜、環境からの *mcr-1* 遺伝子保有腸内細菌科細菌の検出報告が中国、フランスを筆頭に多くの国々で見られてきており、コリスチン耐性 CPE によるアウトブレイクも報告され深刻な状況にある⁷⁾⁸⁾ (図2)。日本では *mcr-1* 遺伝子保有菌はいまだヒトからは検出されていないが、われわれの解析により *mcr-1* が初めて市販食肉から検出され、また、愛玩動物由来ヒト流行クローンで初めてコリスチン・チゲサイクリン同時耐性株が検出された。カルバペネム系薬耐性腸内細菌科細菌の検出頻度がまだまだ低率ではあるものの、抗菌薬開発の枯渇期にある中慎重な臨床使用が要求される最終選択薬としてのコリスチンの寿命をできる限り延ばす必要がある。そのためにも WHO が提唱するワンヘルス・アプローチの概念に基づくヒトやヒトと生活圏を共有する愛玩動物、コリスチンの選択圧下にある家畜や食肉、環境を対象に包括的な調査によりコリスチン耐性菌の実態を把握してゆくことが急務と考えられる。

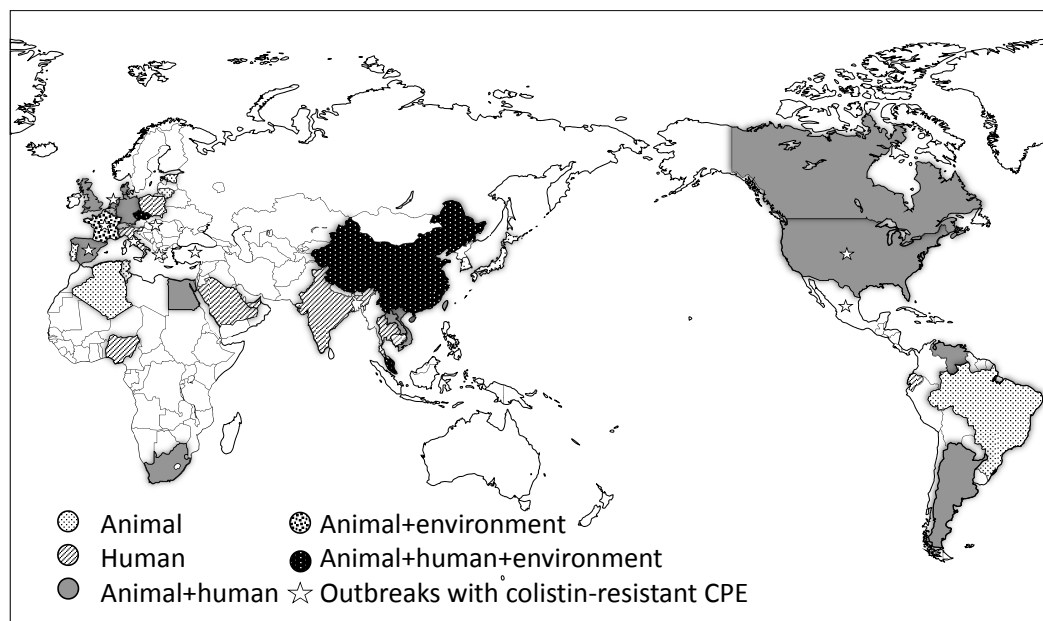


図2 プラスミド媒介性コリスチン耐性遺伝子 *mcr-1* の報告国 (2016年現在)
文献7), 8) に基づき著者作成

文 献

- 1) Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B, Huang X, Yu LF, Gu D, Ren H, Chen X, Lv L, He D, Zhou H, Liang Z, Liu JH, Shen J: Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis* 16: 161-168, 2016
- 2) Skov RL, Monnet DL: Plasmid-mediated colistin resistance (*mcr-1* gene): three months later, the story unfolds. *Euro Surveill* 21: 30155, 2016
- 3) Sato T, Fukuda A, Suzuki Y, Shiraishi T, Honda H, Shinagawa M, Yamamoto S, Ogasawara N, Usui M, Takahashi H, Takahashi S, Tamura Y, Yokota SI: Pathogenic lineage of *mcr*-negative colistin-resistant *Escherichia coli*, Japan, 2008-2015. *Emerg Infect Dis* 22: 2223-2225, 2016
- 4) Suzuki S, Ohnishi M, Kawanishi M, Akiba M, Kuroda M: Investigation of a plasmid genome database for colistin-resistance gene *mcr-1*. *Lancet Infect Dis* 16: 284-285, 2016
- 5) Kusumoto M, Ogura Y, Gotoh Y, Iwata T, Hayashi T, Akiba M: Colistin-resistant *mcr-1*-positive pathogenic *Escherichia coli* in swine, Japan, 2007-2014. *Emerg Infect Dis* 22: 1315-1317, 2016
- 6) Ohsaki Y, Hayashi W, Saito S, Osaka S, Taniguchi Y, Koide S, Kawamura K, Nagano Y, Arakawa Y, Nagano N: First detection of *Escherichia coli* harboring *mcr-1* gene from retail domestic chicken meat in Japan. *Jpn J Infect Dis* 2017 (in press)
- 7) Al-Tawfiq JA, Laxminarayan R, Mendelson M: How should we respond to the emergence of plasmid-mediated colistin resistance in humans and animals? *Int J Infect Dis* 54: 77-84, 2017
- 8) Poirel L, Jayol A, Nordmann P: Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. *Clin Microbiol Rev* 30: 557-596, 2017