

氏名	かたおか だいすけ 片岡 大輔
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第455号
学位授与年月日	平成16年 3月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	<b>The indirect pathogenicity of <i>Stenotrophomonas maltophilia</i></b> (ステノトロフォモナス・マルトフィリア菌の間接的病原性)
学位論文審査委員	(主査) 岸本 拓治 (副査) 猪川 嗣朗 田中 吉紀

## 学位論文の内容の要旨

ステノトロフォモナス・マルトフィリア菌(以下、マルトフィリア菌)はセファロスポリン系、カルバペネム系およびアミノグリコシド系の抗菌薬に対して非常に強い耐性を示す。セファロスポリン系およびカルバペネム系抗菌薬に対する耐性は、2種類のベータラクタマーゼ(加水分解酵素)を産生することによる。マルトフィリア菌は広く環境中に棲息し、様々な臨床材料から分離されるが、その病原性はごく限られたものである。そのため実際に患者材料からマルトフィリア菌が分離されても起炎菌であると断定されずに無視されることも多いと思われる。その結果として効果のない抗菌薬が濫用されれば、マルトフィリア菌のような多剤耐性菌が選択的に増加し、ベータラクタマーゼの産生を誘導する可能性がある。これらの可能性を検討するために本研究を行った。

## 方法

2001年に鳥取大学医学部附属病院で分離された155株のマルトフィリア菌、数株の緑膿菌およびセラチア菌について患者の年齢、分離検体の種類などを調べた。また、マルトフィリア菌、緑膿菌ならびにセラチア菌についてディスク法による抗菌薬感受性試験を行った。イミペネムならびにセフトラジジム耐性株についてはメルカプト酢酸、クラブラン酸を用いてベータラクタマーゼ阻害試験を行い、ベータラクタマーゼ産生能を調べた。また、これら3菌種について、ブドウ糖、麦芽糖または乳糖からの酸産生性を調べた。

2種類の濃度のイミペネム(4, 16  $\mu$ g/ml)またはセフトラジジム(8, 32  $\mu$ g/ml)を含有した液体培地内で、緑膿菌またはセラチア菌の純培養と、緑膿菌またはセラチア菌とマルトフィリア菌との混合培養を行った。37°C、3時間の振盪培養後、ブドウ糖とBTBを含む平板培地に塗布し生菌数を測定した。菌数の比較はt検定で行った。

## 結 果

①マルトフィリア菌のうちほとんど全ての菌は入院患者から分離され、60歳以上の患者または乳児から分離されたものが多かった。部位別では、喀痰、気管支洗浄液から頻繁に分離された。グラム陰性桿菌の中では、緑膿菌やセラチア菌がマルトフィリア菌とともに同一検体から分離されることが多かった。

②マルトフィリア菌はメルカプト酢酸とクラブラン酸に感受性を示し、ベータラクタマーゼを産生することが確認された。しかし、イミペネム耐性緑膿菌はベータラクタマーゼ産生能が陰性であった。

③マルトフィリア菌はブドウ糖から酸を産生したが、緑膿菌およびセラチア菌はブドウ糖から酸を産生した。これらの結果から、ブドウ糖の分解能を混合培養時の菌の識別に利用した。

④緑膿菌またはセラチア菌の純培養をイミペネムあるいはセフトラジジムの存在下で行うと、3時間後にはそれぞれの菌数は著しく減少した。しかし、前もって一定濃度に調整したマルトフィリア菌を接種して同様に実験を行うと、緑膿菌ならびにセラチア菌の生菌数は緑膿菌およびセラチア菌単独の場合より有意に増加した ( $P < 0.01$ )。マルトフィリア菌の代わりにイミペネム耐性緑膿菌を用いて同様に実験を行ったが、セラチア菌の増加を認めなかった。

## 考 察

培養液中に含まれる抗菌薬に曝露されることにより、マルトフィリア菌の加水分解酵素が活発に産生される。これら酵素の作用により、ベータラクタム環の開環に伴うベータラクタム系抗菌薬の不活化が行われる。そのためセラチア菌のように本来ベータラクタム系抗菌薬に感受性を示す菌までもが培地中で生存し得るようになり、セラチア菌本来の旺盛な増殖力によりやがてマルトフィリア菌を凌ぐほどに菌数を増加させたと考えられる。この現象は、セラチア菌に比べてベータラクタマーゼ産生能力が劣る緑膿菌において、より顕著に認められた。多剤耐性緑膿菌はマルトフィリア菌のように加水分解酵素を大量に産生しているわけではなく、その耐性機構は抗菌薬排出ポンプ機能の亢進によっていることが知られている。従って、多剤耐性緑膿菌と抗菌薬感受性セラチア菌を混合培養した場合、耐性緑膿菌自身は抗菌薬存在下で生き残ることが可能であっても、培養液中の抗菌薬を不活化することはできないので、抗菌薬に感受性であるセラチア菌は通常の抗菌薬により死滅したと考えられる。

## 結 論

イミペネムやセフトラジジムはその高い抗菌活性と副作用の少なさにより、グラム陰性菌感染症に対して最も頻繁に用いられる抗菌薬の一種である。これらの抗菌薬に感受性である緑膿菌やセラチア菌が、マルトフィリア菌の存在下において抗菌薬に耐えうることを示した。このことから、マルトフィリア菌は必ずしも起炎菌となるとは限らないが、間接的に緑膿菌やセラチア菌の増殖を助け、これらの菌による肺炎や敗血症などが起こる可能性が示唆された。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、第3世代、第4世代のセフェム系抗生物質に感受性である緑膿菌やセラチア菌が環境中に存在するマルトフィリア菌の存在下で生き残ることを示したもので、マルトフィリア菌の持つ強力なベータラクタマーゼ活性によるものであることが分かった。これらの結果は、抗菌薬の濫用が単に

耐性菌を選択増殖させるだけでなく、加水分解酵素をコードする遺伝子の発現を誘導により、生体内における抗菌薬の働きを無効とする危険性を含んでいる可能性があることを示唆したものであり、明らかに学術の水準を高めたものと認める。