

び *Neisseria gonorrhoeae* 保有状態

藤原道久

日本性感染症学会誌(0917-0324)19 巻 1 号

Page110-114(2008.06)

咽頭のクラミジア、および淋菌の保有状態を検討。

2004年5月～2007年10月までに性感染症を疑われた女性127例で、子宮頸管と咽頭擦過スワブで検査。

子宮頸管と咽頭の双方から検出はクラミジア:6例(4.7%)、淋菌:1例(0.8%)、子宮頸管のみから検出はクラミジア:17例(13.4%)、淋菌:6例(4.7%)。咽頭のみから検出はクラミジア:3例(2.4%)、淋菌:2例(1.6%)。クラミジア陽性率は子宮頸管で18.1%、咽頭で7.1%、双方ともで4.7%、淋菌陽性率は子宮頸管で5.5%、咽頭で2.4%、双方ともで0.8%。

20歳未満、20歳代、30歳以上の陽性率は、クラミジアではいずれの部位でも年齢の低下と共に上昇。淋菌では年齢による差異は無し。子宮頸管陽性例での咽頭陽性率はクラミジア:26.1%、淋菌:14.3%、咽頭陽性例での子宮頸管陽性率はクラミジア:66.7%、淋菌:33.3%。全例での咽頭のみ陽性率はクラミジア:2.4%、淋菌:1.6%。

当科および性感染症クリニックにおける咽頭の淋菌およびクラミジア陽性率

余田敬子

口腔・咽頭科(0917-5105)20 巻 3 号

Page347-353(2008.06)

大学病院耳鼻科と性感染症クリニック受

診者について2005年11月からの6ヵ月間に咽頭の淋菌とクラミジアを検査した者が対象。当科12人、性感染症クリニック543人で、男性272人(18～69歳、平均36.8歳)、女性は283人(17～55歳、平均27.9歳)であった。咽頭淋菌陽性者は男性35人、女性36人、咽頭クラミジア陽性者は男性7人、女性25人で、陽性者はすべて性感染症クリニック受診者であった。

咽頭における淋菌の保有状態

藤原道久

川崎病院医学ジャーナル(1881-025X)3 巻

Page14-16(2008.03)

2004年5月から2007年9月までの3年5ヵ月間に受診した患者で、性感染症が疑われた114例が対象。子宮頸管と咽頭より培養法による淋菌の検索を実施。子宮頸管および咽頭の両方から淋菌が検出されたのは1例、子宮頸管のみからは6例、咽頭のみからは2例。

淋菌陽性率は、子宮頸管で6.1%、咽頭で2.6%、両方からでは0.9%。子宮頸管淋菌陽性例での咽頭陽性率は14.3%。咽頭淋菌陽性例での子宮頸管陽性率は33.3%であり、全症例での淋菌咽頭のみ陽性率は1.8%。

当院における淋菌性尿道炎の臨床的検討および薬剤感受性

小六幹夫

泌尿器科紀要(0018-1994)53 巻 5 号

Page293-296(2007.05)

2005～2006 年に受診し尿道膿汁分泌を認めた淋菌性尿道炎 51 例(15～55 歳)が対象。性行動様式と淋菌薬剤耐性状況を調査。10 歳代 5 人、20 代 25 人、30 代 10 人、40 代 3 人、50 代 2 人。尿道炎発症前に性交を行った人数は 1 人 23 例、2 人 12 例、3・4 人各 2 例、5・6・7・8 人各 1 例。30 歳未満群では感染源は恋人、ナンパなど金銭の授受のない素人の頻度が高い傾向がみられた。膣性交のみ 8 例、膣性交と口腔性交 24 例、口腔性交のみ 16 例、両方行わず 1 例で、8 割以上で口腔性交が行われコンドーム使用率は口腔性交 0%、膣性交 21.9%であった。コンドーム未装着の口腔性交が STD の原因と知っている症例は 50%であった。

当院における急性尿道炎についての臨床的検討：北川育秀 日本性感染症学会誌(0917-0324) 17 巻 1 号 Page72-77(2006.06)

2005 年 10 月までの 2 年 10 ヶ月間に来院した急性尿道炎患者 129 症例(16～60 歳平均 29.1 歳)が対象。臨床像、治療成績について検討。淋菌 58 例・クラミジア 29 例・非淋菌非クラミジア 37 例・淋菌とクラミジア混合感染 5 例で、感染経路は Commercial sex worker からの感染が 61 例(47%)と最も多く、次いで不特定の友人 49 例・パートナー 19 例であった。性交形態が特定できた 119 例では口腔性交 37 例・膣性交 82 例で、95.3%がコンドームを使用していなかった。

当科外来における男子急性尿道炎症例の臨床的検討

近藤捷嘉

岡山赤十字病院医学雑誌(0915-8073)16 巻 Page85-86(2005.11)

過去 20 年間の男子急性尿道炎症例中の淋菌単独感染 478 例、クラミジア単独感染 280 例、混合感染 61 例の計 819 例。

感染経路では、口腔性交単独の感染が増加し、1999 年までは 479 例中 32 例(6.7%)であったが、2000 年以降では 340 例中 70 例(20.6%)であった。従来、感染源は風俗営業関係者が中心で淋菌が主であり、2000 年以降では風俗営業関係者が 197 例中 94 例(47.7%)で、82 例(87.2%)が淋菌感染、素人・友人からの感染は 81 例(41.1%)で、43 例(53.1%)が淋菌感染。

性風俗従事者の咽頭ヒトパピローマウイルス(HPV)感染：笹川寿之

日本性感染症学会誌(0917-0324)15 巻 1 号 Page154-160(2004.06)

オーラルセックスを主として提供する性風俗従事者(CSW-NV)の咽頭と子宮頸部のヒトパピローマウイルス(HPV)感染について実態調査。171 名を対象にし、無作為に選り口内及び子宮頸部から擦過細胞を綿棒で採取。HPV は子宮頸部 57%、咽頭 36%検出され、16 型が両部位で最も多く検出されたが、咽頭と比べ子宮頸部では 52,56 型などの高リスク型が多かった。咽頭では 6 型、11

型などの低リスク型が多い傾向がみられた。型不明は子宮頸部 3 例,咽頭 12 例認められ,咽頭では新しいタイプの HPV 感染が考えられた。

川崎市の男性及び女性咽頭より分離した *Neisseria gonorrhoeae* の細菌学的及び疫学的検討

伊与田貴子

感染症学雑誌 (0387-5911)77 巻 2 号

Page103-109(2003.02)

淋菌感染症が疑われた 168 名(男 127 名, 女 41 名)を対象に,尿道又は子宮頸管からの材料について淋菌の検査を実施。男性尿道 127 例から淋菌が検出されたのは 117 例で,咽頭からは 14 例。咽頭から淋菌が検出され, 14 例は全て尿道からも淋菌が認められた。女性においては子宮頸管 41 例中 2 例,咽頭 41 例中 14 例が淋菌陽性例。咽頭,子宮頸管共に陽性は 41 例中 11 例で,咽頭のみ陽性は 3 例。淋菌の PFGE パターンを比較した結果,25 例中女性 1 例を除き咽頭および尿道または子宮頸管からの分離菌は同一菌株であることが判明した。症例間ではバンドパターンは多様であった。

厚生労働科学研究(エイズ対策)1999 年度

「日本人の HIV/STD 関連知識, 性行動, 性意識についての全国調査」および「全国国立大学生 Sexual Health Study 調査」

木原雅子ら

調査 1 「日本人の HIV/STD 関連知識, 性

行動, 性意識についての全国調査」

全国の住民基本台帳から無作為に抽出した男女 5,000 人(18~59 歳)を対象に個別訪問・面前自記式による調査。回収率は 71.2% (3,562 人)。

調査 2 「全国国立大学生 Sexual Health Study 調査」

国立大学生を対象とした大規模な性行動調査。対象は 26 大学,参加者は 13645 人(男 7,749 人 女 5,866 人)。平均回収率は 57.5%

調査 1:セックス(膣性交だけでなく,オーラル, アナルセックスも含む)経験者の割合は, 18~24 歳では男性の 67%, 女性の 64%で, 35 歳以上の各年齢層では 97%以上。

決まった相手との性交では,膣性交は全年齢層で頻度が高く(80%以上)、フェラチオ, クニリングスは明らかに世代が若いほど頻度が高く, 18~24 歳では 80%近くが行っていた。アナルセックスは頻度が低く(男性 5.4%, 女性 6.3%)、明確な年代差はなし。

調査 2:過去 1 年間のコンドーム使用率

(毎回使用または半分以上使用した割合)は,決まった相手では 74%。不定期の相手では 48%。オーラルセックスでのコンドーム使用率は,決まった相手(6%), 不定期の相手(7%)ともにきわめて低かった。

決まった相手とのセックスの場合, HIV/STD 予防のためにコンドームを必要

と感じる女子学生（膣性交：74%，オーラルセックス 43%）は男子学生（膣性交：60%，オーラルセックス 27%）に比べて多い。しかし、女性でコンドーム使用を自分で決める人は 27%にすぎず、男性の 58%がコンドーム使用を自分で決めると答えた。コンドーム使用に対して否定的な態度を持つ男性は女性に比べて多く、男性の 61%が「コンドーム使用は快感を損なう」、15%が「相手から言われたとき以外は使用したくない」と答えた。

千葉大学学生の性に関する意識と行動のアンケート調査 2009 年
第 47 回全国大学保健管理研究集会

平成 21 年 4 月 2 日から 5 月 14 日までのべ 21 日間に保健センターで定期検診を受診した学部学生を対象に実施。大学における研究倫理審査委員会の審査承認後、「性に関する意識と行動のアンケート調査Ⅱ-大学生の HIV 感染予防のために-」＜国立大学法人保健管理施設協議会エイズ感染症特別委員会作成＞を用いてアンケート調査。

アンケート回収数（定期健康診断受診 7799 人） 7602 人、有効回答数（1 年次から 4 年次の未婚者） 7134 人。

コンドームの使用状況は、「決まった相手との膣性交」では、女子の 69.2%男子の 74.1%が毎回使用したと回答。「その場限りの相手との膣性交」では、女子の 56.9%、男子の 62.5%が毎回使用したと回答。

「決まった相手とのオーラルセックス」

では、女子の 83.1%男子の 81.1%が一度もコンドームを使用しなかったと回答。「その場限りの相手とのオーラルセックス」では、男子の 74.9%、女子の 81.6%が一度も使用しなかったと回答。

英語での oral sex に関する文献は米国の、MSM を対象にしたものが多いが、ここではヘテロセクシュアル関係における調査を例示する。

Oral sex: Behaviours and feelings of Canadian young women and implications for sex education

Brea L. Malacad, et al, The European Journal of Contraception and Reproductive Health Care June 2010, Vol. 15, No. 3, Pages 177-185

カナダの女性を対象に行った調査。調査協力者の 4 分の 3 の女性はオーラルセックスを実施しており、膣性交と同レベルであった。

50%の女性はオーラルセックスは膣性交よりも親密度においておとると考えているが、41%はオーラルセックスは膣性交同様に親密な行為と考え、9%は膣性交よりも親密な行為と回答。

初回性交の中間年齢は 17 歳であり、27% は 16 歳前にオーラルセックスの経験があった。16 歳前に膣性交があったのは 16%であった。回答者の多くは、最近の関係におけるオーラルセックスに肯定的な感情を

もっていた。

オーラルセックスを実施していた女性のうち、82%はこれまでに一度も感染予防をしていなかった。膣性交で一度も予防をしていないのは7%であった。

これらの結果から、性教育においては、膣性交と同様にオーラルセックスについても扱い、若年層はそのリスク、予防、行為に関連する感情について情報提供が行われるべきと著者は考えている。

Predictive Relationship Between Adolescent Oral and Vaginal Sex: Results From a Prospective, Longitudinal Study. Anna V. Song; Bonnie L. Halpern-Felsher. Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine, 2010

カリフォルニア州の2つの高校、9-11年生600名以上を対象とした調査で、2002年から2005年まで半年ごとの行動評価を行った。調査期間の3年間に性行為が始まった対象では、膣性交とオーラルセックスは同時期であった。

9年生の間にオーラルセックスを開始した対象では膣性交も早く、逆に11年生までオーラルセックスもなかった学生では性交開始が遅かった。

Halpern-Felsherらのこれまでの調査では、9年生でのオーラルセックスの経験率は20%、15-19歳では50%となっていた。教育の際には異なる行為についてのリスクと予防について伝えることが重要であると

まとめている。

Oral Sex Among Adolescents: Is It Sex or Is It Abstinence?

Lisa Remez, Family Planning

Perspectives Volume 32, Number 6, November/December 2000

結婚まで性交をしない禁欲教育が強く勧められてきた時代の米国では、思春期を含めた子どもたちが性について正確な知識や情報を得る機会が制限された。この結果、性交開始に伴うリスク、性行為の定義などについての学習不足から、「性器と性器での挿入 intercourse」がなければセックスではないといった解釈から、オーラルセックスやアナルセックスはOKであるという解釈をする層が存在する。

1994-1995年の南部の大学1年生1101人のデータでは、61%は相互マスターベーションを、37%はオーラルセックスを、24%はアナルセックスを「禁欲」として定義した。

また、72人の健康教育の専門家を対象とした1999年のメール調査では、30%がオーラルセックスは「禁欲」の行為と定義していた。

Prevalence of Oral HPV Infection in the United States, 2009-2010.

Gillison ML, et al,

JAMA. 2012 Jan 26.

14-69 歳の米国人を対象とした National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2009-2010 調査において、口腔内の HPV 感染率は 6.9%であり、男性が女性よりも高かった。性、年齢、性的パートナーの数、現在の日あたりの喫煙本数が関連していた。

E. 結論

国内の日本語文献は知識レベルの調査や症例研究は多いが、どのような阻害因子や促進因子についてどのような介入を行えば、性感染症の早期診断につながる受診行動に寄与するのかは検討ができなかった。

英語文献と同レベルのエビデンスを得るためには、1) より精度の高い疫学データ（感染症サーベイランス）、2) 特定リスク層における行動科学的な因子を含めた疫学調査、3) サービスを利用する当事者による評価、4) 保健医療従事者が準拠すべき手法の明確化とコンプライアンスの評価、5) RCT 調査を可能とする倫理審査や予算の確保 が重要と思われた。

F. 研究発表 学会発表 なし

G. 知的所有権 なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
小野寺 昭一, 清田 浩, 遠藤 勝久, et.al	男子淋菌性尿道炎由来 <i>Neisseria gonorrhoeae</i> の各種抗菌薬に対する感受性と cefixime 低感受性株 <i>penA</i> 遺伝子の解析	日本化学療法学会雑誌	59(1)	17-24	2011
遠藤 勝久, 小 野寺 昭一, 清 田 浩, et.al	男子淋菌性尿道炎由来淋菌の各種抗菌薬に対する感受性—2006～2010 年分離株の比較—	日本化学療法学会雑誌	59(3)	308-312	2011
余田 敬子, 尾 上 泰彦, 西田 超, et.al	性感染症クリニックにおける咽頭の淋菌およびクラミジア陽性者の背景	日本口腔・咽頭科学学会雑誌	24(2)	171-177	2011
余田 敬子, 尾 上 泰彦, 西田 超, et.al	淋菌およびクラミジアの咽頭および性器感染:性感染症クリニック受診者からみた現状	日本口腔・咽頭科学学会雑誌	23(2)	207-212	2010
余田 敬子, 尾 上 泰彦, 海野 壮	性感染症クリニック女性受診者における Real-time PCR を用いた <i>Neisseria gonorrhoeae</i> および <i>Chlamydia trachomatis</i> の検出性の検討	日本性感染症学会誌	20(1)	127-133	2009
余田 敬子	特殊感染症	MB ENT	131	173-179	2011
余田 敬子	淋菌およびクラミジアの咽頭感染の現状	微研ジャーナル友	33(1)	3-8	2010
余田 敬子	その他の感染症 STI	JOHNS	26(11)	1818-1824	2010
余田 敬子	オーラルセックスによる性感染症	臨床皮膚科	64(5)	169-171	2010
川名 尚	外陰および膣の感染症	日産婦誌	61(1)	47-53	2009
川名 尚	性器ヘルペス	日本臨牀	67(1)	143-152	2009
Kenichi Umene, Takashi Kawana, Yasuyuki Fukumaki	Serologic and Genotypic Analysis of a Series of Herpes Simplex Virus Type 1 Isolates From Two Patients With Genital Herpes	Journal of Medical Virology	81	1605-1612	2009
川名 尚	性器ヘルペスウイルス感染症(性器ヘルペス)	日本性感染症学会誌	20(1)	45-49	2009
西澤 美香, 川 名 尚, 西井 修	新しい単純ヘルペスウイルス型特異抗体検出キットの評価	日本性感染症学会誌	20(1)	162-168	2009
川名 尚	性感染症 診断・治療ガイドライン 2008	成人病と生活習慣病	39(6)	651-654	2009
東出 誠司, 保 坂 憲光, 太田 嘉則, et.al	新しい核酸抽出法を用いた LAMP 法による単純ヘルペスウイルスの検出	日本性感染症学会誌	21(1)	120-127	2010
川名 尚	周産期ウイルス感染症の診断と治療	産婦人科治療	100(2)	194-210	2010
川名 尚	単純ヘルペスウイルス	産科と婦人科	77	75-83	
川名 尚	性器ヘルペスの診断と母子感染	産婦人科治療	102(2)	151-160	2011
川名 尚	性器ヘルペスと単純ヘルペスウイルスの母子感染—産婦人科医の立場から—	小児科臨床	64(3)	347-360	2011

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
川名 尚	単純ヘルペスウイルス	周産期医学	41(2)	189-194	2011
川名 尚, 土屋裕子, 西井 修, et.al	LAMP 法に簡易核酸抽出法 (PURE 法) を組み合わせた PURE-LAMP 法による単純ヘルペスウイルスの簡易迅速検出法の臨床評価	産婦人科の実際	61(1)	119-125	2012
川名 尚	ウイルス性性感染症のワクチン戦略	日本性感染症学会誌	22(1)	16-28	2011
川名 尚, 小島俊行	単純ヘルペスウイルス感染妊婦の取扱い	母子感染		219-234	
Kei Kawana, Toshiharu Yasugi, Yuji Taketani	Human papillomavirus vaccines : current issues & future	Indian J Med	130	341-347	2009
Hidetaka Sato, Rika Kusumoto-Matuo, Yoshiyuki Ishii, et.al	Identification of nucleolin as a protein that binds to human papillomavirus type 16 DNA	Biochemical and Biophysical Research Communications			2009
Yuki Iwasawa, Tomoyuki Fujii, Takeshi Nagamatsu, et.al	Expression of Autotaxin, an Ectoenzyme that Produces Lysophosphatidic Acid, in Human Placenta	American Journal of Reproductive Immunology	62	90-95	2009
K Shoji, K Oda, S Nakagawa, et.al	The oncogenic mutation in the pleckstrin homology domain of AKT1 in endometrial carcinomas	British Journal of Cancer	101	145-148	2009
Zhongying Huang, Hironobu Hyodo, Tomoyuki Fujii, et.al	Effect of Progesterone on HLA-E Gene Expression in JEG-3 Choriocarcinoma Cell Line	American Journal of Reproductive Immunology	61	221-226	2009
Shiho Miura, Kei Kawana, Danny J. Schust, et.al	CD1d, a Sentinel Molecule Bridging Innate and Adaptive Immunity, Is Downregulated by the Human Papillomavirus(HPV) E5 Protein:a Possible Mechanism for Immune Evasion by HPV	JOURNAL OF VIROLOGY	84(22)	11614-11623	2010
Kae Okuma, Hideomi Yamashita, Kei Kawana, et.al	Advanced age is a significant determinant of poor prognosis in patients treated with surgery plus postoperative radiotherapy for endometrial cancer	Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	36(4)	757-763	2010
Keiko Shoji, Katutoshi Oda, Shunsuke Nakagawa, et.al	Aromatase inhibitor anastrozole as a second-line hormonal treatment to a recurrent low-grade endometrial stromal sarcoma:a case report	Med Oncol			2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Katsuyuki Adachi, Kei Kawana, Terufumi Yokoyama, et.al	Oral immunization with a <i>Lactobacillus casei</i> vaccine expressing human papillomavirus(HPV) type 16 E7 is an effective strategy to induce mucosal cytotoxic lymphocytes against HPV16 E7	Vaccine	28	2810-2817	2010
Hideomi Yamashita, Kae Okuma, Kei Kawana, et.al	Comparison Between Conventional Surgery Plus Postoperative Adjuvant Radiotherapy and Concurrent Chemoradiation for FIGO Stage IIB Cervical Carcinoma	American Journal of Clinical Oncology			2010
Makoto Ohnishi, Yuko Watanabe, Emi Ono, et.al	Spread of a Chromosomal Cefixime-Resistant <i>penA</i> Gene among Different <i>Neisseria gonorrhoeae</i> Lineages	ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY	54(3)	1060-1067	2010
Makoto Ohnishi, Emi Ono, Ken Shimuta, et.al	Identification of TEM-135 β -Lactamase in Penicillinase-Producing <i>Neisseria gonorrhoeae</i> Strains in Japan	ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY	54(7)	3021-3023	2010
Makoto Ohnishi, Takeshi Saika, Shinji Hoshina, et.al	Ceftriaxone-Resistant <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , Japan	Emerging Infectious Diseases	17(1)	148-149	2011
Makoto Ohnishi, Daniel Golparian, Ken Shimuta, et.al	Is <i>Neisseria gonorrhoeae</i> Initiating a Future Era of Untreatable Gonorrhea?:Detailed Characterization of the First Strain with High-Level Resistance to Ceftriaxone	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	55(7)	3538-3545	2011
Shu-ichi Nakayama, Chanwit Tribuddharat, Sasiprapa Prombhul, et.al	Molecular Analyses of TEM Genes and Their Corresponding Penicillinase-Producing <i>Neisseria gonorrhoeae</i> Isolates in Bangkok, Thailand	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	56(2)	916-920	2012

IV. 研究成果の刊行物・別刷

男子淋菌性尿道炎由来 *Neisseria gonorrhoeae* の各種抗菌薬に対する感受性と
cefixime 低感受性株 *penA* 遺伝子の解析

小野寺昭一¹⁾・清田 浩²⁾・遠藤 勝久³⁾・伊藤 博之⁴⁾・細部 高英⁵⁾
讃岐邦太郎³⁾・吉田 正樹¹⁾・高倉真理子⁶⁾・高畑 正裕⁶⁾

¹⁾ 東京慈恵会医科大学感染制御部

²⁾ 東京慈恵会医科大学附属青戸病院泌尿器科

³⁾ JR 東京総合病院泌尿器科

⁴⁾ 公田クリニック

⁵⁾ 細部医院

⁶⁾ 富山化学工業株式会社総合研究所

【原著・基礎】

男子淋菌性尿道炎由来 *Neisseria gonorrhoeae* の各種抗菌薬に対する感受性と
cefixime 低感受性株 *penA* 遺伝子の解析小野寺昭一¹⁾・清田 浩²⁾・遠藤 勝久³⁾・伊藤 博之⁴⁾・細部 高英⁵⁾
讃岐邦太郎³⁾・吉田 正樹¹⁾・高倉真理子⁶⁾・高畑 正裕⁶⁾¹⁾ 東京慈恵会医科大学感染制御部*²⁾ 東京慈恵会医科大学附属青戸病院泌尿器科³⁾ JR 東京総合病院泌尿器科⁴⁾ 公田クリニック⁵⁾ 細部医院⁶⁾ 富山化学工業株式会社総合研究所

(平成 22 年 8 月 30 日受付・平成 22 年 9 月 17 日受理)

男子淋菌性尿道炎由来 *Neisseria gonorrhoeae* において、2000 年頃より cefixime (CFIX) など経口セフェム系薬に対する感受性が低下する傾向が認められ、これらの株では PBP2 (PenA) の構造遺伝子 *penA* の塩基配列がモザイク様に変異しているとの報告が多数ある。今回、東京慈恵会医科大学附属病院ならびに首都圏の関連施設で分離された新鮮臨床株(2009 年株)の各種抗菌薬に対する薬剤感受性を測定し、1999 年、2003 年および 2006 年分離株の成績と比較するとともに、新たに確認された CFIX 低感受性株における *penA* 遺伝子の塩基配列を解析した。その結果、CFIX に対する感受性率は 2006 年まで 96.6% 以上で推移していたが、2009 年株では 47.4% に低下していた。注射セフェム系薬、ceftriaxone に対する感受性率は、いずれの年度も 100% であったが、2009 年株では MIC 累積分布の低感受性化傾向が認められた。Spectinomycin に対しては、いずれの年度も感受性率は 100% であった。Levofloxacin に対する 2009 年株の感受性率は 5.3% であり、2006 年株の 17.0% より、耐性化がさらに進行していた。2009 年分離 CFIX 低感受性株の *penA* 遺伝子はこれまでの報告と同様、他の *Neisseria* 属菌種である *Neisseria perflava/sicca* または *Neisseria flavescens* の *penA* 遺伝子に近似したモザイク変異を含むことが認められた。

今回検討した 2009 年株の日本性感染症学会のガイドラインで推奨されている薬剤に対する感受性率は 100% であったが、経口および注射セフェム系薬では低感受性化の傾向が認められ、今後も継続したサーベイランスの必要性が示唆された。

Key words: mosaic, *penA*, susceptibility, cefixime, *Neisseria gonorrhoeae*

淋菌感染症は sexually transmitted diseases (STD) として、性器クラミジア感染症と並び、臨床的に頻度の高い感染症である¹⁾。治療の中心であった、ペニシリンやテトラサイクリンに対する耐性菌の出現後は経口セフェム系薬やフルオロキノロン系薬が使用されてきた。しかしながら、1990 年代後半より、これらの薬剤に耐性を示す男子淋菌性尿道炎由来 *Neisseria gonorrhoeae* が増加し、臨床的に大きな問題になっている²⁻⁶⁾。フルオロキノロンは耐性株の著しい増加のため、日本においては淋菌感染症の治療に推奨されておらず、米国においても 2007 年、治療薬リストから除外された⁷⁾。また、2000 年頃より出現した cefixime (CFIX) 低感受性の *N. gonorrhoeae* は、現在、臨床分離株の 30% ほどに達しているとの報告もあり、これら薬剤が担ってきた治療選択肢を奪っている^{5,8)}。この

ような背景から、現在、日本の性感染症診断・治療ガイドラインで推奨されている薬剤は、注射セフェム系薬の ceftriaxone (CTRX)、cefodizime (CDZM) および注射アミノグリコシド系薬 spectinomycin (SPCM) の非経口抗菌薬 3 剤となっている¹⁾。

本邦で *N. gonorrhoeae* における経口セフェム系薬低感受性化が確認され始めた頃より、われわれはその低感受性化の要因を検討し、これらの菌では PBP2 の構造遺伝子である *penA* の塩基配列がモザイク様に変異し、PenA (PBP2 蛋白) の構成アミノ酸が変化していることを認めた^{9,10)}。経口セフェム系薬低感受性化の傾向は、これ以後、国内また海外で多数の報告がなされ、*N. gonorrhoeae* の *penA* 塩基配列がモザイク変異していることも報告されている¹¹⁻¹³⁾。また、*penA* 遺伝子のモザ

*東京都港区西新橋 3-25-8

Table 1. Oligonucleotide primer used in this study

Oligonucleotide Primer	Sequence
F1	5'-TCGGGCAATACCTTTATGGTGGAAACAT-3'
F2	5'-GAACGCCTGTCCGAGCTTGTC-3'
F3	5'-ACAAGCGGTGCAATACCATC-3'
F4	5'-TATACCGCACTGACGCACGAC-3'
F5	5'-GACAGTTTGCATGCTGGAGA-3'
F6	5'-TACTGCTGGTGGGTAGATG-3'
R1	5'-ACAACGGCGGGGATATAACT-3'
R2	5'-AACGCCGTTGACGAACTTGC-3'
R3	5'-CATCGCGCACGGGAGACGGTC-3'
R4	5'-GCGAAAAGTTCAAACCTTCCT-3'
R5	5'-CCGTCATGGGTCAAGACAGTA-3'

イク様変異より PenA のアミノ酸配列の変化は幾種かのパターンにわかれることが報告されており^{6,13,14)}、このうち最も一般的なものはパターン X とされ、これまでわれわれが報告してきた、他の *Neisseria* 属菌種である *Neisseria perflava/sicca* または *Neisseria flavescens* の PenA に近似したモザイク変異を含むものである^{9,10)}。

今回、2008年11月～2009年4月に分離された新鮮臨床株(2009年株)の薬剤感受性を測定し、これまでの感受性成績と比較するとともに、新たに確認された CFIX 低感受性株における PenA のアミノ酸変異を調べた。

I. 材料と方法

1. 使用菌株

東京慈恵会医科大学附属病院ならびに首都圏の関連施設で1999年、2003年、2006年および2009年に分離された男子淋菌性尿道炎由来 *Neisseria gonorrhoeae* のそれぞれ、41株、58株、47株および38株を用いた。臨床検体は Modified Thayer-Martin selective agar (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社 BD, 東京) に植菌し、Bio-Bag environmental chamber (type C, BD) に封入して同定施設に移送した後、5% CO₂ 下で 35°C、20 時間培養した。培養後、Gram 染色、oxidase tests および catalase tests を実施した。さらに Chocolate II agar (BD) に生育させ、Gonocheck-II kit (EY Laboratories, San Mateo, CA) で同定を行った。分離した *N. gonorrhoeae* はスキムミルク中で -80°C にて保存した。これら分離株の β -lactamase 産生は β -check (Nippon Bio-Supp. Center, 東京) で確認した。

2. 使用薬剤

Penicillin G (PCG, 明治製菓株式会社, 東京), clavulanic acid/amoxicillin (CVA/AMPC, グラクソ・スミスクライン株式会社, 東京), cefixime (CFIX, アステラス製薬株式会社, 東京), cefteteram (CFTM, 富山化学工業株式会社, 東京), ceftriaxone (CTRX, 中外製薬株式会社, 東京), cefodizime (CDZM, 杏林製薬株式会社, 東京), aztreonam (AZT, エーザイ株式会社, 東京), spectinomycin (SPCM, シグマ アルドリッチ ジャパン株式会

社, 東京), levofloxacin (LVFX, 第一三共株式会社, 東京), azithromycin (AZM, ファイザー株式会社, 東京), tetracycline (TC, シグマ アルドリッチ ジャパン株式会社) を用いた。

3. 薬剤感受性の測定

各年度臨床分離株を Chocolate II agar 平板培地に植菌し、5% CO₂ 下で 35°C、20 時間培養した後、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) のガイドライン¹⁵⁾に基づき、1% Iso VitaleX (BD) を含む GC agar base (BD) を用いた寒天平板希釈法にて MIC を測定した。接種菌量は 10⁴ colony forming unit (CFU) /spot とし、5% CO₂ インキュベーターで 35°C、20 時間培養し、肉眼的に生育の認められない最小濃度を MIC とした。また、CLSI の MIC Interpretive Standards¹⁶⁾に基づき、各年度、各薬剤感受性率を算出した。なお、LVFX については設定がないため、ofloxacin (OFLX) の MIC Interpretive Standards を参考に設定した。

4. CFIX 低感受性 *N. gonorrhoeae* の *penA* 遺伝子の解析

2009年分離の CFIX 低感受性 (MIC : 0.5 μ g/mL および 1 μ g/mL) の 10 株 (NG-130, 132, 135, 136, 137, 143, 146, 142, 139, 148) について *penA* 遺伝子を解析した。Modified Thayer-Martin Agar 上で 23 時間、35°C 5% CO₂ 下で培養した。生育した菌を 100 μ L の溶菌液 (10 mM Tris-HCl pH 8.0, 1 mM EDTA, 1% triton-X) に懸濁させた後、100°C 10 分加熱後 15,000 \times g で 10 分間遠心し、その上清を PCR の template とした。*penA* 遺伝子の全長を、これまでの報告^{9,10)}に基づき、oligonucleotides primer の F1 (forward sequences) と R1 (reverse sequences) (Table 1), および Ex Taq polymerase (タカラバイオ株式会社, 大津) を用い PCR で増幅した。PCR は 94°C、2 分間の変性の後、94°C、30 秒の変性、55°C、30 秒のアニーリング、72°C、3 分間の伸長を 30 サイクル行った後、最後に 72°C、1 分間の伸長の条件で行った。増幅された *penA* 遺伝子の解析は oligonucleotides の F1, F2, F3, F4, F5, F6 および R1, R2, R3, R4, R5

Table 2. Antibacterial activity of agents against clinical *N. gonorrhoeae* isolates

Antibacterial agent	1999 (n = 41)			2003 (n = 58)		
	MIC ₅₀ (μ g/mL)	MIC ₉₀ (μ g/mL)	MIC range (μ g/mL)	MIC ₅₀ (μ g/mL)	MIC ₉₀ (μ g/mL)	MIC range (μ g/mL)
PCG	ND	ND	ND	1	4	0.03-4
CVA/AMPC	ND	ND	ND	0.5	1	0.03-2
CFIX	0.008	0.03	0.002-0.125	0.03	0.5	0.002-0.5
CFTM	0.06	0.125	0.002-0.5	0.125	0.5	0.008-1
CTRX	0.008	0.015	\leq 0.001-0.06	0.03	0.125	0.002-0.125
CDZM	0.03	0.06	0.002-0.25	0.03	0.125	0.002-0.125
AZT	0.25	0.5	0.06-8	0.25	4	0.03-8
SPCM	8	16	4-16	8	16	2-16
LVFX	0.5	8	0.002-16	4	8	0.004-16
AZM	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TC	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Antibacterial agent	2006 (n = 47)			2009 (n = 38)		
	MIC ₅₀ (μ g/mL)	MIC ₉₀ (μ g/mL)	MIC range (μ g/mL)	MIC ₅₀ (μ g/mL)	MIC ₉₀ (μ g/mL)	MIC range (μ g/mL)
PCG	1	4	0.06-64	1	4	0.06-4
CVA/AMPC	0.5	1	0.06-2	1	2	0.125-4
CFIX	0.06	0.125	0.004-0.25	0.5	0.5	0.008-1
CFTM	0.125	0.5	0.004-1	0.25	0.5	0.004-1
CTRX	0.03	0.06	0.002-0.125	0.06	0.125	0.004-0.25
CDZM	0.06	0.125	0.002-0.125	0.06	0.25	0.004-0.5
AZT	0.5	4	0.031-8	4	16	0.125-16
SPCM	16	16	4-16	16	16	8-32
LVFX	4	8	0.004-16	8	8	0.002-16
AZM	0.25	0.5	0.008-1	0.25	1	0.008-8
TC	1	2	0.06-16	1	4	0.125-32

Shading shows antibacterial activity of oral and parenteral cephem antibiotics and monobactam antibiotic.

Table 3. Percentage of susceptible strains of antibacterial agents in clinical *N. gonorrhoeae* isolates

Antibacterial agent	Breakpoint MIC (μ g/mL) ^a	Percentage of susceptible strains in			
		1999 (41) ^b	2003 (58)	2006 (47)	2009 (38)
PCG	0.06	N.D.	1.7	4.3	10.5
CFIX	0.25	100	96.6	100	47.4
CTRX	0.25	100	100	100	100
SPCM	32	100	100	100	100
LVFX ^c	0.125	41.5	17.2	17.0	5.3

^a: CLSI, ^b: No. of strains, ^c: Assumed from OFLX breakpoint MIC

(Table 1) を用い^{9,10)}, Dragon Genomics Center (タカラバイオ株式会社, 四日市) にて行った。遺伝子の解析結果はアミノ酸に置換し, *N. gonorrhoeae* LM306 (ペニシリン感受性株; GenBank accession no. M32091), NG-3 (2001年に分離されたCFIX低感受性株; GenBank accession no. AB071984) および NG-122 (2006年に分離されたCFIX低感受性株) の PenA と比較した。また, 他の *Neisseria* 属である *N. perflava/sicca* 1654/1659 (GenBank accession no. X76422), *N. flavescens* NCTC 8263 (GenBank accession no. M26645), *Neisseria cinerea* NCTC 10294 (GenBank accession no. X59540) の PenA

との比較を行った。

II. 結 果

1. 薬剤感受性

1999年から3~4年間間隔の1999年, 2003年, 2006年および2009年の各年度臨床分離株における薬剤感受性を Table 2 に, また, 各薬剤に対する感受性率を Table 3 に示す。なお, β -lactamase 産生株の割合は1999年: 1/41株: 2.4%, 2003年: 3/58株: 5.2%, 2006年: 2/47株: 4.3%, 2009年: 0/38株: 0%であった。

1999年にはすでにキノロン耐性菌の存在が認められ, LVFX の MIC₉₀ 値は 8 μ g/mL と高かった。一方, 経口セ

LM306	MLIKSEYKPRMLPKEEQVKKPMTSNRGI SFVLMAMAVLFACLIARGLYLQTVTYNFLKEQGDNRIVRTQALPATRGTVSDRNGAVLALSAPTESLFAVPKDMKEMPSSAAQLERLSELVDV	120
NG-142	-----E-----	
NG-139	-----E-----	
NG-122	-----E-----	
NG-130	-----E-----	
NG-132	-----E-----	
NG-3	-----V-----E-----	
LM306	PVDVLRNKLQKQKSF IWKRLDPKVAEEVKALGLENFVFEKELKRHYPMGNLFAHVIGFTDIDGKQGELELSLEDLSYGEDGAEVVLDRDRQGNIVDSLSPRNKAPQNGKDIILSLD	240
NG-142	-----A-----S-----HAGE-----E-----	
NG-139	-----A-----S-----HAGE-----E-----	
NG-122	-----A-----S-----HAGE-----E-----	
NG-130	-----A-----S-----HAGE-----Q-----	
NG-132	-----A-----S-----HAGE-----E-----	
NG-3	-----A-----S-----HAGE-----E-----	
LM306	QR I Q T L A Y E E L N K A V E Y H Q A K A G T V V L D A R T G E I L A L A N T P A Y D P N R P R G A D S E Q R R N R A V T D M I E P G S A I K P F V I A K A L D A G K T D L N E R L N T O P Y K I G P S P V R - D T H V P S L D V R G I M	359
NG-142	-----V-----E-----K-----Q-----M-----T-----S-----V-----A-----T-----D-----T-----F-----L-----S-----A-----T-----Q-----T-----	
NG-139	-----V-----E-----K-----Q-----M-----T-----S-----V-----A-----T-----D-----T-----F-----L-----S-----A-----T-----Q-----T-----	
NG-122	-----V-----E-----K-----Q-----M-----T-----S-----V-----A-----T-----D-----T-----F-----L-----S-----A-----T-----Q-----T-----	
NG-130	-----V-----E-----K-----Q-----M-----T-----S-----V-----A-----T-----D-----T-----F-----L-----S-----A-----T-----Q-----T-----	
NG-132	-----V-----E-----K-----Q-----M-----T-----S-----V-----A-----T-----D-----T-----F-----L-----S-----A-----T-----Q-----T-----	
NG-3	-----V-----E-----K-----Q-----M-----T-----S-----V-----A-----T-----D-----T-----F-----L-----S-----A-----T-----Q-----T-----	
LM306	QKSSNVGTSKLSARFGAEEMDFYHELGI GVRMHSGFPGETAGLLRNWRWRP I EQATMSFGYGLQLSLQLARAYTAL THDGVLLPLSFEKQAVAPQGR I FKESTAREVRNLMVSVTE	479
NG-142	-----M-----TPK-----D-----V-----S-----OK-----V-----E-----V-----K-----VI-----A-----KK-----E-----	
NG-139	-----M-----TPK-----D-----V-----S-----OK-----V-----E-----V-----K-----VI-----A-----KK-----E-----	
NG-122	-----M-----TPK-----D-----V-----S-----OK-----V-----E-----V-----K-----VI-----A-----KK-----E-----	
NG-130	-----M-----TPK-----D-----V-----S-----OK-----V-----E-----V-----K-----VI-----A-----KK-----E-----	
NG-132	-----M-----TPK-----D-----V-----S-----OK-----V-----E-----V-----K-----VI-----A-----KK-----E-----	
NG-3	-----M-----TPK-----D-----V-----S-----OK-----V-----E-----V-----K-----VI-----A-----KK-----E-----	
LM306	PGGTGTAGAVDGFVGAKTGTARKFVNGRYADNKHVATF IGFAPAKNPRV I VAVT I DEPTAHGYGGVAVGPFKK I MGGSLN I LG I SPTKPLT-AAAVKTPS*	581
NG-142	A-----L-----V-----Y-----N-----SS-----*	
NG-139	A-----L-----V-----Y-----N-----S-----*	
NG-122	A-----L-----V-----Y-----N-----S-----*	
NG-130	A-----L-----V-----Y-----N-----S-----T-----V-----QV-----V-----NV-----*	
NG-132	A-----L-----V-----Y-----N-----S-----T-----V-----QV-----V-----NV-----*	
NG-3	A-----L-----V-----Y-----N-----S-----T-----V-----QV-----V-----NV-----*	

Fig. 1. Amino acid sequences of *N. gonorrhoeae* PenA with reduced cefixime susceptibility isolated in 2009 and before.

LM306: penicillin-susceptible strain, NG-142, NG-139, NG-130 and NG-132 (isolated in 2009), NG-122 (isolated in 2006) and NG-3 (isolated in 2001): the mosaic-like strain with reduced cefixime susceptibility. Active sites of serine residue (SXXK, SXN and KTG)-conserved motifs are indicated by underlining. Dashes indicate amino acid residues identical to those of LM306. Asterisks are stop codons.

フェム系薬の CFIX, CFTM の 1999 年分離株に対する MIC₅₀, MIC₉₀ 値はともに低く (Table 2), CFIX に対する感受性率は 100% であった (Table 3)。また, 注射セフェム系薬の CTRX に対する感受性率も 100% であったが, モノバクタム系注射薬 AZT に対しては, すでに感受性の低い株が含まれていた (Tables 2, 3)。2003 年になるといずれの β-ラクタム系薬も MIC range の高濃度域への拡がりや MIC₉₀ 値の上昇が認められた。また, LVFX では MIC₅₀ 値のさらなる上昇が認められた。2006 年分離株の感受性は 2003 年分離株と比較していずれの薬剤も大きな感受性の低下は認められなかった。しかし, 2009 年株の感受性は 2006 年度と比較すると, 経口セフェム系薬 (CFIX) および注射セフェム系薬 (CTRX, CDZM) における感受性の低下がみられた。即ち, CFIX, CDZM の MIC₉₀ 値がそれぞれ 4 倍および 2 倍に, CFIX, CTRX, CDZM の MIC range 上限値がそれぞれ 4 倍, 2 倍, 4 倍に増大していた (Table 2)。経口セフェム系薬, CFIX に対する 2006 年までの感受性率は 96.6% 以上で推移していたが, 2009 年分離株では 47.4% に低下した (Table 3)。2009 年分離株に対して, 注射セフェム系薬, CTRX

は MIC 分布で低感受性化傾向が認められるものの, 感受性率は依然 100% であった。SPCM に対しては 1999 年から 2009 年までの分離株で大きな感受性の変化は認められず, 感受性率は 100% であり, SPCM 耐性菌の出現は当該施設では認められなかった。LVFX に対しては感受性率が 1999 年には 41.5% であったが, 年々低下し, 2009 年度は 5.3% と耐性化がさらに進行していた (Table 3)。

2. CFIX 低感受性 *N. gonorrhoeae* の PenA 蛋白の変異と薬剤感受性

2009 年分離 CFIX 低感受性 10 株の PenA はすべての株でモザイク様変異が認められた。変異アミノ酸の種類はほとんど同一であったが, A549 以降にモザイク変異がないもの (I 型) とあるもの (II 型) の違いで 2 パターンに分かれた。10 株中 3 株 (NG-142, 139, 148) が I 型, 7 株 (NG-130, 132, 135, 136, 137, 143, 146) が II 型であった。Fig. 1 に今回分離された株のうち, I 型の NG-142, NG-139, II 型の NG-130, NG-132 におけるアミノ酸配列を示す。

I 型は 2008 年にわれわれが報告した NG-122 (2006 年

LM306	MLIKSEYKPRMLPKEEQVKKPMTSNGRISFVLMAMAVLFACLIARGLYLQTVTYNFKKEQGDNRIVRTQALPATRGTVSDRNGAVLALSAPTESLFAVPKDKMEMPSSAAQLERLSELVDV	120
NG-142	-----E-----	
NG-139	-----E-----	
NG-132	-----E-----	
1654	-----E-----	
8263	-----E-----	
10294	-----E-----	
LM306	PVDVLRNKLEQKGSFVWIKRQLDPKYAEVVKALGLENFVFEKELKRHYPMGNLFAHVIGFTDIDGKGQEGLELSLEDSLYGEDGAEVFLRDRQGNIVDSLSPRNKAPQNGKDIILSLD	240
NG-142	-----A-----S-----HAGE-----E-----	
NG-139	-----A-----S-----HAGE-----E-----	
NG-132	-----A-----S-----HAGE-----E-----	
1654	-----R-----R-----K-----NK-----SV-K-Q-M	
8263	-----N-----R-----R-----K-----NK-----SV-K-Q-M	
10294	-----HA-E-----E-----	
LM306	QRISQTLAYEELNKAVEYHQAKAGTVVVLDAKTGEILALANTPAYDPNRPGRADSEQRNRRAVTDMEPGSAIKPFVIAKALDAGKTDLNERLNTQPKYIGPSPVR-DTHVYPSLDVIRGIM	359
NG-142	-----V-----E-----K-----Q-----M-----T-----S-----V-----ATDTF-----L-----SAT-----Q-----T-----	
NG-139	-----V-----E-----K-----Q-----M-----T-----S-----V-----ATDTF-----L-----SAT-----Q-----T-----	
NG-132	-----V-----E-----K-----Q-----M-----T-----S-----V-----ATDTF-----L-----SAT-----Q-----T-----	
1654	D-----A-----K-----Q-----V-----S-----Q-----Q-----N-----M-----T-----S-----V-----ATDTF-----L-----AT-----Q-----T-----	
8263	D-----A-----K-----A-----Q-----V-----S-----Q-----Q-----N-----M-----T-----S-----V-----PTDTF-----L-----AT-----Q-----T-----	
10294	-----V-----E-----K-----Q-----D-----N-----AQ	
LM306	QKSSNVGTSKLSARFSGAEEMYDFYHELGI GVRMHSGFPGETAGLLRNWRWRP I EQATMSFGYGLQLSLLQLARAYTALTHDGYLLPLSFEKQAVAPQGR I FKESTAREVRNLMVSVTE	479
NG-142	M-TPK-----D-----V-----S-----QK-----V-----E-----V-----K-----VI-----A-----KK-----E-----	
NG-139	M-TPK-----D-----V-----S-----QK-----V-----E-----V-----K-----VI-----A-----KK-----E-----	
NG-132	M-TPK-----D-----V-----S-----QK-----V-----E-----V-----K-----VI-----A-----KK-----E-----	
1654	M-TPK-----D-----V-----S-----QK-----V-----E-----V-----K-----VI-----A-----KK-----E-----	
8263	M-TPK-----D-----V-----S-----QK-----V-----E-----V-----K-----VI-----A-----KK-----E-----	
10294	SSK-----L-----S-----A-----QK-----V-----V-----V-----A-----Q-----E-----	
LM306	PGGTGTAGAVDGFVGAKTGTARKFVNGRYADNKHVATF IGFAKPNPRV I VAVT I DEPTAHGYGGVAVGPPFK I MGGSLN I LGI SPTKPLT-AAAVKTPS*	581
NG-142	A-----L-----V-----Y-----N-----SS-----*	
NG-139	A-----L-----V-----Y-----N-----S-----*	
NG-132	A-----L-----V-----Y-----N-----S-----T-----V-----QV-----V-----NV-----*	
1654	A-----L-----V-----G-----N-----V-----EV-----S-----V-----SNT-----T-----V-----*	
8263	A-----I-----L-----V-----G-----N-----V-----EV-----S-----V-----SNT-----T-----V-----*	
10294	IK-----V-----VN-----V-----QV-----V-----INV-----*	

Fig. 2. Amino acid sequences of *N. gonorrhoeae* and other *Neisseria* spp. PenA.

LM306: penicillin-susceptible strain, NG-142, NG-139 and NG-132: the mosaic-like strain with reduced cefixime susceptibility isolated in 2009, 1654: *N. perflava/sicca* 1654/1659, 8263: *N. flavescens* NCTC 8263, 10294: *N. cinerea* NCTC 10294. Active sites of serine residue (SXXK, SXN, and KTG)-conserved motifs are indicated by underlining. Dashes indicate amino acid residues identical to those of LM306. Asterisks are stop codons.

分離菌), II型は2002年に報告したCFIX低感受性株 NG-3 (2001年分離菌) とほぼ同一のアミノ酸変異であった (Fig. 1)^{9,10)}。なお, II型の NG-130 は他の9株でみられた Q214E の変異がなく, 感受性株と同じアミノ酸 (Q) を保有していた。G545S 変異はすべての株にみられたが, I型の1株, NG-142 ではさらに, これまでに報告のない G546S の変異が認められた (Fig. 1, GenBank Accession number: AB536877 として登録済)。これら CFIX 低感受性株の PenA は他の *Neisseria* 属の *N. perflava/sicca* 1654/1659 (GenBank Accession number: X76422), あるいは *N. flavescens* NCTC 8263 (GenBank Accession number: M26645) の PenA に近似しており, いずれの株にも活性中心近傍に *N. gonorrhoeae* には認められない2つのアミノ酸 (I312M と V316T) の変異が認められた (Fig. 2)。

PenA の解析を行った CFIX 低感受性 10 株はすべて LVFX に対して耐性であった (Table 4)。また, CFIX の MIC 値は 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ あるいは 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり, セフェム薬感受性の ATCC 19424 株における MIC 値 (0.001 $\mu\text{g}/\text{mL}$) と比べ, 感受性は 1/512-1/1024 に低下し

た。これらに対して, CTRX の MIC 値は 0.03~0.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり, 比較的良好な抗菌活性を保有していたが, ATCC 19424 株の MIC 値 (0.00025 $\mu\text{g}/\text{mL}$) に比べ感受性は 1/128-1/512 に低下した。さらに, これまでの報告にみられない G546S 変異が認められた NG-142 株では, 検討した経口および注射セフェムの4薬剤に対し, 他の9株のセフェム薬低感受性株よりもさらに 1-1/16 の低感受性を示した (Table 4)。

III. 考 察

1999~2001年当時, 男子尿道炎患者から分離した *N. gonorrhoeae* のキノロン系薬に対する高度耐性化が臨床的に大きな問題になっており, その原因は標的酵素 ParC, GyrA の変異であることも報告されていた¹⁾。また, 同時期, 淋菌感染症治療の重要な選択剤である経口セフェム系薬に対しても, 低感受性を示す *N. gonorrhoeae* の出現が認められ始めていた^{2,3)}。東京慈恵会医科大学附属病院ならびに首都圏の関連施設で1999年より開始したわれわれのサーベイランスの成績では, 1999年の CFIX の MIC₉₀ 値ならびに MIC range はそれぞれ 0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.002~0.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であるのに対し, 2003年

Table 4. Antibacterial activity of agents against clinical *N. gonorrhoeae* isolates with reduced cefixime susceptibility

Strain	MIC ($\mu\text{g/mL}$)						
	PCG	CFIX	CFTM	CTRX	CDZM	SPCM	LVFX
NG-142	4	1	1	0.12	0.5	16	8
NG-139	1	0.5	0.5	0.06	0.12	16	8
NG-148	4	0.5	0.5	0.06	0.25	16	8
NG-130	2	0.5	0.5	0.06	0.12	16	16
NG-132	4	0.5	0.5	0.06	0.12	16	8
NG-135	1	0.5	0.5	0.06	0.12	8	4
NG-136	4	0.5	0.5	0.06	0.12	16	8
NG-137	4	0.5	0.5	0.12	0.25	16	16
NG-143	2	0.5	0.5	0.06	0.06	8	16
NG-146	0.5	0.5	0.25	0.03	0.03	16	4
ATCC 19424	0.004	0.001	0.004	0.00025	0.00025	2	< 0.004

は $0.5 \mu\text{g/mL}$, $0.002 \sim 0.5 \mu\text{g/mL}$ と MIC_{90} 値, MIC range 上限値はそれぞれ 16 倍, 4 倍上昇した。これらの経口セフェム系薬に対する低感受性化のメカニズムは, 当時明らかになっていなかったが, *N. gonorrhoeae* では薬剤排出ポンプの存在が報告されており^{17,18)}, 当初, われわれはキノロン薬耐性に引き続いて起こったセフェム薬低感受性化は, 薬剤排出機能の亢進によるものではないかと考えていた。そこで, *N. gonorrhoeae* の薬剤排出ポンプ, MtrC-MtrD-MtrE efflux pump の *mtrR* 遺伝子発現を RT-PCR 法により検討したが, 明確な結論を得ることができなかった。このため, *N. gonorrhoeae penA* における D345 挿入によるラクタム薬耐性の報告¹⁹⁾に基づき, セフェム薬低感受性株の *penA* 遺伝子を改めて検討したところ, これらは感受性株と異なり, 他の *Neisseria* 属菌種の *penA* に近似した部分を含むモザイク構造であることを認め⁹⁾。その後, 本邦のみならず, 海外でも多数の同様な報告がなされ, セフェム薬低感受性 *N. gonorrhoeae* の蔓延が確認された^{5,11-14)}。

セフェム薬低感受性株の *penA* 遺伝子のモザイク構造は Fig. 2 に示したように, 他の *Neisseria* 属, 特に *N. perflava/sicca* 1654/1659 あるいは *N. flavescens* NCTC 8263 の *penA* 遺伝子に近似しており, ヒト生体内でこれら菌種遺伝子から *N. gonorrhoeae* への遺伝子導入が起こり, PBP2 がモザイク構造になったものと考えられている⁹⁾。

PBP2 の活性中心は C 末端の transpeptidase ドメインに位置し, 保存配列をもつ 3 つのモチーフ (SXXK, SXN, KTG) が存在する²⁰⁾。SXXK モチーフは, 触媒反応に重要な 2 つのアミノ酸 Ser310 と Lys313 を含んでいる。セフェム系薬に低感受性を与えていると考えられる重要な変異 (I312M と V316T) は, *N. perflava/sicca* または *N. flavescens* からの遺伝子導入と考えられ, SXXK モチーフが関与する活性中心構造に大きな変化を与えているものと示唆された。また, 他のモザイク様変異も活性中心の構造を変化させ, セフェム系薬の低感受性化に影響を与

えているものと考えられた。しかしながら, セフェム薬低感受性株に認められた G545S 変異は, KTG モチーフの下流に位置しているものの, 他の *Neisseria* 属のいずれの菌種もこれを所有しておらず, 本変異は, 薬剤の選択圧による *N. gonorrhoeae* の後天的なものと考えられている¹⁴⁾。

2009 年分離 CFIX 低感受性 10 株の PenA はすべての株でモザイク変異が認められたが 1 株を除いてこれまでわれわれが報告^{9,10)}してきたものと同一であった。これらの株はすべて I312M と V316T 変異を保有し, G545S 変異もまた, いずれの株でも認められた。モザイク変異は A549 以降にモザイク変異がない I 型と, 変異がある II 型の 2 種類に分けられたが (Fig. 1), 両型で感受性にはほとんど差異がないことから, A549 以降のモザイクの有無はセフェム薬低感受性にかかわっていないものと考えられた。また, II 型の NG-130 は他の 9 株でみられた Q214E の変異がなく, 感受性株と同じアミノ酸 (Q) を保有していたが, Takahata らが mosaic-3 のパターンと報告¹⁴⁾しており, 新規な変異ではなかった。しかし, I 型の 1 株 (NG-142) ではこれまでに報告のない G546S の新規な変異が認められた。

2006 年分離株の感受性を 2003 年分離株と比較すると, いずれの薬剤においても MIC_{90} 値から見ると, 大きな感受性の低下は認められなかった。しかし, 2009 年分離株の感受性は 2006 年と比較すると, 経口セフェム系薬 (CFIX) および注射セフェム系薬 (CTRX, CDZM) に対する感受性の低下が認められた。セフェム薬感受性の全体的な低下はモザイク変異株を中心とする低感受性株の分離頻度の増加によるものと考えられるが, MIC range 上限値の上昇については, 新たなモザイク変異 (G546S) 株の出現などがその原因と考えられた。他方, セフェム薬低感受性化の要因としては, *penA* 以外にも *mtrR*, *porB1b*, *ponA* などの変異に関する報告²¹⁾があり, 今後, これらについても明らかにしていくことが必要と考えられた。

現在、淋菌感染症に対し、フルオロキノロン系薬および経口セフェム系薬による治療は不可能あるいは不十分であるため、抗菌活性が維持されている注射セフェム系薬、CTRX、CDZM、あるいはSPCMを適正な用法・用量で使用することが重要である。日本性感染症学会のガイドラインで推奨されているこれら3薬剤に対する2009年分離株の感受性率はいずれも100%であったが、CTRXおよびCDZMのMIC累積分布では低感受性化傾向が認められており、今後も薬剤感受性、また、PenAの解析などの継続したサーベイランスが必要と考えられた。

文 献

- 1) 性感染症 診断・治療ガイドライン2008。日本性感染症学会誌 2008; 19(Supplement): 49-56
- 2) Muratani T, Akasaka S, Kobayashi T, Yamada Y, Inatomi H, Takahashi K, et al: Outbreak of cefozopran (penicillin, oral cepheems, and aztreonam)-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 3603-6
- 3) Akasaka S, Muratani T, Yamada Y, Inatomi H, Takahashi K, Matsumoto T: Emergence of cephem- and aztreonam-high-resistant *Neisseria gonorrhoeae* that does not produce β -lactamase. *J Infect Chemother* 2001; 7: 49-50
- 4) Tanaka M, Nakayama H, Notomi T, Irie S, Tsunoda Y, Okadome A, et al: Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Japan, 1993-2002: continuous increasing of ciprofloxacin-resistant isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 24 (Suppl 1): S15-22
- 5) Ito M, Yasuda M, Yokoi S, Ito S, Takahashi Y, Ishihara S, et al: Remarkable increase in central Japan in 2001-2002 of *Neisseria gonorrhoeae* isolates with decreased susceptibility to penicillin, tetracycline, oral cephalosporins, and fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 3185-7
- 6) Ito M, Deguchi T, Mizutani K, Yasuda M, Yokoi S, Ito S, et al: Emergence and spread of *Neisseria gonorrhoeae* clinical isolates harboring mosaic-like structure of penicillin-binding protein 2 in central Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 137-43
- 7) CDC: Update to CDC's sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006: fluoroquinolones no longer recommended for treatment of gonococcal infections. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2007; 56: 332-6
- 8) Ochiai S, Ishiko H, Yasuda M, Deguchi T: Rapid detection of the mosaic structure of the *Neisseria gonorrhoeae penA* gene, which is associated with decreased susceptibilities to oral cephalosporins. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1804-10
- 9) Ameyama S, Onodera S, Takahata M, Minami S, Maki N, Endo K, et al: Mosaic-like structure of penicillin-binding protein 2 gene (*penA*) in clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae* with reduced susceptibility to cefixime. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 3744-9
- 10) Osaka K, Takakura T, Narukawa K, Takahata M, Endo K, Kiyota H, et al: Analysis of amino acid sequences of penicillin-binding protein 2 in clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae* with reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone. *J Infect Chemother* 2008; 14: 195-203
- 11) Ochiai S, Sekiguchi S, Hayashi A, Shimadzu M, Ishiko H, Matsushima-Nishiwaki R, et al: Decreased affinity of mosaic-structure recombinant penicillin-binding protein 2 for oral cephalosporins in *Neisseria gonorrhoeae*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 54-60
- 12) Wang S A, Lee M V, O'Connor N, Iverson C J, Ohye R G, Whiticar P M, et al: Multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* with decreased susceptibility to cefixime-Hawaii, 2001. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 849-52
- 13) Whitley D M, Limnios E A, Ray S, Sloots T P, Tapsall J W: Diversity of *penA* alterations and subtypes in *Neisseria gonorrhoeae* strains from Sydney, Australia, that are less susceptible to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 3111-6
- 14) Takahata S, Senju N, Osaki Y, Yoshida T, Ida T: Amino acid substitutions in mosaic penicillin-binding protein 2 associated with reduced susceptibility to cefixime in clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 3638-45
- 15) Clinical and Laboratory Standards Institute: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard-Eighth Edition. M07-A8. Wayne, PA, 2009
- 16) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth informational supplement. M100-S20. Wayne, PA, 2010
- 17) Hagman K E, Pan W, Spratt B G, Balthazar J T, Judd R C, Shafer W M: Resistance of *Neisseria gonorrhoeae* to antimicrobial hydrophobic agents is modulated by the *mtrRCDE* efflux system. *Microbiology* 1995; 141: 611-22
- 18) Veal W L, Nicholas R A, Shafer W M: Overexpression of the MtrC-MtrD-MtrE efflux pump due to an *mtrR* mutation is required for chromosomally mediated penicillin resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *J Bacteriol* 2002; 184: 5619-24
- 19) Brannigan J A, Tirodimos I A, Zhang Q Y, Dowson C G, Spratt B G: Insertion of an extra amino acid is the main cause of the low affinity of penicillin-binding protein 2 in penicillin-resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*. *Mol Microbiol* 1990; 4: 913-9
- 20) Powell A J, Tomberg J, Deacon A M, Nicholas R A, Davies C: Crystal structures of penicillin-binding protein 2 from penicillin-susceptible and -resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae* reveal an unexpectedly subtle mechanism for antibiotic resistance. *J Biol Chem* 2009; 284: 1202-12
- 21) Lindberg R, Fredlund H, Nicholas R A, Unemo M: *Neisseria gonorrhoeae* isolates with reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone: association with genetic polymorphisms in *penA*, *mtrR*, *porB1b*, and *ponA*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 2117-22

Susceptibility of male gonococcal urethritis-isolated *Neisseria gonorrhoeae*
against antibacterial agents and *penA* gene analysis of strains
with reduced cefixime susceptibility

Shoichi Onodera¹⁾, Hiroshi Kiyota²⁾, Katsuhisa Endo³⁾,
Hiroyuki Ito⁴⁾, Takahide Hosobe⁵⁾, Kunitaro Sanuki³⁾,
Masaki Yoshida¹⁾, Mariko Takakura⁶⁾ and Masahiro Takahata⁶⁾

¹⁾ Department of Infection Control, Jikei University School of Medicine, 3-25-8 Nishishinbashi, Minato-ku, Tokyo, Japan

²⁾ Department of Urology, Jikei University School of Medicine, Aoto Hospital

³⁾ Department of Urology, JR Tokyo General Hospital

⁴⁾ Kuden Clinic

⁵⁾ Hosobe Clinic

⁶⁾ Research Laboratories, Toyama Chemical Co., Ltd.

From about 2000, male gonococcal urethritis-derived *Neisseria gonorrhoeae* strains tend to show reduced susceptibility to oral cephem agents such as cefixime (CFIX). Many reports find the base sequence of the structural gene *penA* of penicillin binding protein (PBP) 2 to be mosaic in these strains.

We measured the susceptibility of 2009 fresh clinical strains isolated in the Tokyo metropolitan area to antibacterial agents, using CLSI broth microdilution method, and comparing it to results for strains isolated in 1999, 2003, and 2006. We also analyzed the base *penA* gene sequence in 10 strains newly confirmed to show reduced CFIX susceptibility.

Results showed that 96.6% or more of strains isolated before 2006 were susceptible to CFIX, compared to only 47.4% of 2009 strains. Although 100% of strains were susceptible to cephem injection, such as ceftriaxone, the distribution of minimum inhibitory concentrations (MICs) of these agents indicated a trend toward reduced susceptibility. The susceptibility to spectinomycin was 100%. The susceptibility of isolates to levofloxacin in 2009 was 5.3%, suggesting further resistance (17.0%: isolates in 2006). For the *penA* gene of strains with reduced CFIX susceptibility, we analyzed mosaic-like *penA* gene changes. As a result, the mosaic-like *penA* gene similar to other *Neisseria* genus species, such as *Neisseria perflava/sicca* or *Neisseria flavescens*, were recognized as in past reports. These mosaic-like changes were divided into two patterns, with or without a mosaic variation after PenA, A549. This mosaic variation was almost the same as we reported. All agents recommended in guidelines by the Japanese Society for Sexually Transmitted Diseases showed susceptibility of 100%, but a trend toward reduced *N. gonorrhoeae* susceptibility to cephem antibiotics is continuing, suggesting the necessity for ongoing observation.