

マクロライド耐性肺炎マイコプラズマ感染症に対する 抗菌薬の有効性に関する研究 —肺炎マイコプラズマ感染症の地域的な解析と基幹病院定点の評価—

研究分担者 石黒 信久 北海道大学病院 感染制御部
研究協力者 海方 美紀 北海道大学医学研究科 小児科学分野
有賀 正 北海道大学医学研究科 小児科学分野
菊田 英明 北海道大学
大庭 幸治 東京大学大学院 情報学環・学際情報学府
富樫 武弘 北海道結核予防会 札幌複十字総合健診センター

研究要旨

【目的】マクロライド（ML）耐性肺炎マイコプラズマのサーベイランスを行い、それを経時的にフィードバックするシステムを構築することで、臨床医の抗菌薬選択に寄与することを目的とする。

【方法】前向き観察研究（検体による探索的研究）。2016年7月以降、マイコプラズマ抗原検査あるいはLAMP法によるマイコプラズマ核酸検出検査を行ない、検査で陽性となった検体の残り液を用いてML耐性の有無を検査した。

【結果】（1）2016年7月より2017年11月までに合計338名の患者から検体を採取し、222名（65.7%）の検体より肺炎マイコプラズマが検出された。222名中98名（44.1%）から採取された検体からML耐性肺炎マイコプラズマが検出され、残りの124名（55.9%）から採取された検体からML感受性肺炎マイコプラズマが検出された。ML耐性検体のうち、23SリボゾームRNA上にA2064G変異を有していたのが3検体、C2617G変異を有していたのが1検体、残りは全てA2063G変異を有していた。（2）旭川市では17検体中2検体（11.8%）、江別市では24検体中9検体（37.5%）、岩見沢市では16検体中11検体（68.8%）、帯広市では64検体中39検体（60.9%）、札幌市では76検体中33検体（43.4%）がML耐性であり、地域による偏りが存在した。

【結語】ML耐性肺炎マイコプラズマの検出頻度には地域による偏りがあることが再確認された。ML耐性肺炎マイコプラズマのサーベイランスの臨床的有用性が高いと思われた。

A. 研究目的

近年、マクロライド（ML）耐性肺炎マイコプラズマの出現が大きな問題となっている。ML耐性肺炎マイコプラズマは *in vitro* の検査でエリスロマイシン（EM）、クラリスロマイシン（CAM）、アジスロマイシン（AZM）等に対して耐性を示し、感染症を起こした場合にはMLによる治療は無効とされている。その一方で、ML耐性肺炎マイコプラズマによる感染症の治療にミノサイクリン（MINO）やトスフロキサシン（TFLX）を必要とするのか等については統一した見解が得られて

いない。小児に対するMINO使用は歯牙着色などの問題があり、TFLX使用は関節障害やキノロン耐性菌出現増加の危険性を抱えており、これらの安易な使用は慎むべきである。

過去の研究から、ML耐性マイコプラズマの検出率は地域によって大きな偏りが存在すること（*Jpn J Infect Dis.* 2016 May 20; 69(3):186-90）、ML耐性マイコプラズマによる肺炎に対してはMINOが有効であるが、他の3剤（AZM, CAM, TFLX）の効果は限定的であること（*in submission*）を明らかにしてきた。

これらの成果を踏まえて、本研究では、ML 耐性肺炎マイコプラズマのサーベイランスを行い、それを経時的にフィードバックするシステムを構築することで、臨床医の抗菌薬選択に寄与することを目的とする。

B. 研究方法

1. 研究の種類・デザイン

前向き観察研究（検体による探索的研究）

2. 対象患者

2016年7月以降、道内の医療機関に通院または入院した18歳以下のマイコプラズマ感染症（疑いも含む）患者のうち、マイコプラズマ抗原検査あるいはLAMP法によるマイコプラズマ核酸検出検査を行ない、本研究の参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理解の上、患者本人（代諾者を含む）の自由意思による同意が得られた患者を対象とする。

3. 検体採取方法

マイコプラズマ抗原検査あるいはLAMP法によるマイコプラズマ核酸検出検査は、各検査キットの添付文書に則り実施し、検査で陽性となった検体の残り液を凍結・保存する。これらの残り液を北大小児科の研究室に集めて、以下に示す測定をおこなう。

4. 遺伝子検査方法

マイコプラズマ抗原検査の残り液からQIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN社)を用いて核酸を抽出し、real-time PCR法にてマイコプラズマ遺伝子を検出する。プライマーの設計や各種条件設定はWinchellらの報告に従った(J. Clin. Microbiol. 2008, 46(9): 3116)。ML耐性遺伝子の検出はMatsuokaらの報告に従い、23SリボソームRNAドメインV上のA2063C, A2063G, A2064G, C2617G変異の有無を検査した(Antimicrob Agents Chemother. 48: 4624, 2004)。

LAMP法によるマイコプラズマ核酸検出検査を行う際にDNAは抽出されているので、検査残り液を直接用いてreal-time PCR法にてマイコプラズマ遺伝子を検出する。プライマーの設計や各種条件設定は上記と同じである。

5. 被験者の診療情報

以下の項目について、情報を入手する。

被験者への調査票から入手する診療情報：①性別、②年齢、③外来・入院、④検体採取1週間以内にML系抗菌薬服用したか否か。

6. 統計学的解析

マクロライド耐性率について、地区別に、外来患者/入院患者の区別、患者年齢、を調整した標準化割合ならびにその95%信頼区間を年ごとに算出する。標準集団は全体集団における分布とする。また、マクロライド耐性遺伝子の有無を従属変数、外来患者/入院患者の区別、患者年齢、患者性別、患者が居住している地区、調査年、検体提出1週間以内にマクロライド系抗菌薬服用の有無を独立変数としてロジスティック回帰分析を行なう。

7. 倫理的配慮

本研究のすべての担当者は、「ヘルシンキ宣言(2008年10月修正)」および「臨床研究に関する倫理指針(平成20年7月31日改正、以下臨床研究倫理指針)」を遵守して実施する。本研究は、北海道大学病院自主臨床研究審査委員会の審査を経て、北海道大学病院により承認されている(臨床研究番号：自014-0269, 自016-0097)。

C. 研究結果

1. ML耐性肺炎マイコプラズマの検出頻度

2016年7月より2017年11月までに合計338名の患者から検体を採取し、222名(65.7%)の検体より肺炎マイコプラズマが検出された。222名中98名(44.1%)から採取された検体からML耐性肺炎マイコプラズマが検出され、残りの124名(55.9%)から採取された検体からML感受性肺炎マイコプラズマが検出された。ML耐性検体のうち、23SリボソームRNA上にA2064G変異を有していたのが3検体、C2617G変異を有していたのが1検体、残りは全てA2063G変異を有していた(表)。

2. ML耐性率の地域差

旭川市では17検体中2検体(11.8%)、江別市では24検体中9検体(37.5%)、岩見沢市では16検体中11検体(68.8%)、帯広市では64検体中39検体(60.9%)、札幌市では76検体中33検体(43.4%)がML耐性であり、札幌市内の区によってML耐性は11.1~100.0%までの変動があった(表)。

D. 考察

1. ML耐性肺炎マイコプラズマの検出頻度

全体の集計では、ML耐性株の占める割合は44.1% (98/222)であったが、ML耐性率には地域による大きな偏りが存在した。今回の研究結果は過去の結果と一致する (Jpn J Infect Dis. 2016 May 20; 69(3): 186-90)。

2. 感染症発生動向調査における肺炎マイコプラズマのサーベイランス

感染症発生動向調査においては、マイコプラズマ肺炎は基幹定点把握疾患であり、道内23か所の基幹定点医療機関から318例(2017年)の報告がなされている。ただし、感染症発生動向調査においては、マクロライド耐性のサーベイランスが行われていないことから、今回の研究は感染症発生動向調査を補填する点で有用性があると考えられる。今後、感染症発生動向調査にマクロライド耐性の結果を取り入れるかどうかについては、費用対効果の観点の検討が必要である。

3. 薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン

薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプランの成果目標に「マクロライド系薬の人口千人あたりの一日使用量を2013年の水準から50%削減する」ことが挙げられている。ML耐性率には大きな地域差がある為、自施設の周辺のマクロライド感受性/耐性率を知った上で、診療を行うことが重要である。道内各地区のマクロライド耐性率の集計をネット上で閲覧できるシステムを構築したい。

E. 結論

ML耐性肺炎マイコプラズマの検出頻度には地域による偏りがあることが再確認された。ML耐性肺炎マイコプラズマのサーベイランスの臨床的有用性が高いと思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Ishiguro N, Koseki N, Kaiho M, Ariga T, Kikuta H, Togashi T, Oba K, Morita K, Nagano N, Nakanishi M, Hara K, Hazama K, Watanabe T, Yamanaka T, Sasaki S, Furuyama H, Shibata M, Shida S, Ishizaka A, Tabata Y, Aoyagi H, Naito H, Yoshioka

M, Horino A, Kenri T; Hokkaido Pediatric Respiratory Infection Study Group. Therapeutic efficacy of azithromycin, clarithromycin, minocycline and tosufloxacin against macrolide-resistant and macrolide-sensitive Mycoplasma pneumoniae pneumonia in pediatric patients. PLoS One. 2017 Mar 13; 12(3): e0173635.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

※謝辞:

本研究にご協力頂いた先生方に厚く御礼申し上げます。飽津泰史先生 (あくつこどもクリニック)、森田啓介先生 (旭川赤十字病院小児科)、東克己先生 (あずま子ども家庭クリニック)、稲川昭先生 (いな川こどもクリニック)、田端祐一先生 (岩見沢こども・産科婦人科クリニック)、岡村暁子先生 (うめつ小児科)、山崎茂先生 (ウルトラ内科・小児科クリニック)、信太知先生 (江別市立病院小児科)、小田川泰久先生 (小樽市立病院小児科)、青柳勇人先生 (帯広協会病院小児科)、仲西正憲先生 (釧路赤十字病院小児科)、汲田喜宏先生 (くみたこどもクリニック)、成田光生先生 (札幌徳洲会病院小児科)、古山秀人先生 (JCHO北海道病院小児科)、川村信明先生 (市立札幌病院小児科)、内藤広行先生 (市立千歳市民病院小児科)、石坂明人先生 (住吉こどもクリニック)、高田公彦先生 (たかだ小児科クリニック)、竹林武恭先生 (竹林小児科医院)、土田晃先生 (土田こどもクリニック)、椿原圭二先生 (椿原こどもクリニック)、小杉山清隆先生 (手稲溪仁会病院小児科)、飯塚進先生 (天使病院小児科)、菊田英明先生 (東栄病院小児科)、飛世千恵先生 (とびせ小児科内科医院)、長野奈緒子先生 (ながのこ

どもクリニック)、間峽介先生(はざま小児科クリニック)、柴田睦郎先生(北海道医療大学病院小児科)、八十嶋弘一先生(真駒内キッズクリニック)、松藺嘉裕先生(まつぞの小児科医院)、小池明美先生(宮の沢小池こどもクリニック)、畑江芳郎先生(恵み野病院小児科)、有岡秀樹先生(め

ばえこどもクリニック)、山中樹先生(山中たつる小児科)、渡辺徹先生(わたなべ小児科・アレルギー科クリニック)、日向平明先生(文苑日向小児科)、佐藤大介先生(さとう小児科)、米川元晴先生(おひげせんせいのこどもクリニック)。(順不同)

表. 肺炎マイコプラズマのマクロライド耐性率(2016-17年シーズン)

地区	ML耐性株	検体数	ML耐性率	変異
札幌市	33 /	76	43.4%	31株 A2063G, 1株 A2064G
手稲区	19 /	25	76.0%	19株 A2063G
厚別区	6 /	23	26.1%	6株 A2063G
豊平区	3 /	15	20.0%	2株 A2063G, 1株 A2064G
白石区	1 /	9	11.1%	1株 A2063G
東区	4 /	4	100.0%	4株 A2063G
帯広市	39 /	64	60.9%	39株 A2063G
江別市	9 /	24	37.5%	8株 A2063G, 1株 A2064G
旭川市	2 /	17	11.8%	2株 A2063G
岩見沢市	11 /	16	68.8%	11株 A2063G
小樽市	2 /	13	15.4%	1株 A2063G, 1株 C2617G
千歳市	0 /	10	0.0%	
釧路市	2 /	2	100.0%	2株 A2063G
(合計)	98 /	222	44.1%	