

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）

（総括）研究報告書

「環境中における薬剤耐性微生物及び抗微生物剤の調査法等の確立のための研究」

研究代表者 金森 肇 金沢大学医薬保健研究域医学系感染症科学・臨床検査医学 教授

研究要旨

ヒト、医療、動物、家畜はもとより、国内外の河川、下水等の環境中からも薬剤耐性菌が検出されており、ワンヘルスの観点から環境の薬剤耐性対策に関心が高まっている。抗菌薬の環境汚染による薬剤耐性菌拡大とヒトへのリスクが懸念される中、ヒトに及ぼす影響に関する定まった見解はない。環境中における薬剤耐性や抗菌薬のサーベイランス手法が確立されていないことから、本邦の環境薬剤耐性菌および残留抗菌薬の実態は不明である。本研究班では、環境中の薬剤耐性微生物及び抗微生物剤の調査法の確立に向けた研究を行い、日本における環境中の薬剤耐性および抗菌薬の実態調査を実施し、ヒトへの影響についての評価方法を提案する。令和 6 年度の研究課題である 1) 環境中の薬剤耐性のヒト感染症へのリスク評価、2) 薬剤耐性ワンヘルスのデータ比較解析と文献レビューに基づくリスク評価、3) 環境中の薬剤耐性の調査方法と薬剤耐性微生物ゲノム解析、4) 大都市圏の環境中の薬剤耐性の調査方法、5) 環境中の抗菌薬の検査・評価に関する方針策定、6) 環境中の抗菌薬の調査方法と薬剤耐性へのリスク評価を実施した。下水処理場の全国的なサーベイランスの継続、医療機関および地域における下水中の薬剤耐性モニタリングは、薬剤耐性の全体像を理解し、実態把握に有用である。環境水中の残留抗菌薬の調査方法の確立に向けて、環境水の抗菌薬の測定法と抗菌薬濃度の推計法を検討した。日本における環境水中の薬剤耐性の実態調査を継続し、薬剤耐性ワンヘルスの観点から薬剤耐性対策を推進していく必要がある。

研究分担者

松永 展明	国立健康危機管理研究機構・国立国際医療センター AMR 臨床リファレンスセンター・副センター長、臨床疫学室長
菅原 庸	国立健康危機管理研究機構・国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 第七室 室長
山口 進康	大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部生活環境課 課長
渡部 徹	山形大学 農学部 教授
東 剛志	大阪医科薬科大学 大学院薬学研究科 講師

A. 研究目的

ヒト、医療、動物、家畜はもとより、国内外の河川、下水等の環境中からも薬剤耐性菌が検出されており、ワンヘルスの観点から環境の薬剤耐性対策に関心が高まっている。抗菌薬の環境汚染による薬剤耐性菌拡大とヒトへのリスクが懸念される中、ヒトに及ぼす影響に関する定まった見解はない。また、環境中における薬剤耐性や抗菌薬のサーベイランス手法が確立されていないことから、本邦の環

境薬剤耐性菌および残留抗菌薬の実態は不明である。環境がヒトに与えるリスクの定量評価・推定、薬剤耐性機序や伝播経路解明につながる調査法を確立する必要がある。

令和 6 年度に環境中の薬剤耐性微生物及び抗微生物剤の調査法の確立に向けた研究を行い、日本における環境中の薬剤耐性および抗菌薬の実態調査を実施し、ヒトへの影響についての評価方法を提案することを目的とした（図 1）。

B. 研究方法

本研究における研究代表者および研究分担者は、1) 環境中の薬剤耐性のヒト感染症へのリスク評価(金森)、2) 薬剤耐性ワンヘルスのデータ比較解析と文献レビューに基づくリスク評価(松永)、3) 環境中の薬剤耐性の調査方法と薬剤耐性微生物ゲノム解析(菅原)、4) 大都市圏の環境中の薬剤耐性の調査方法(山口)、5) 環境中の抗菌薬の検査・評価に関する方針策定(渡部)、6) 環境中の抗菌薬の調査方法と薬剤耐性へのリスク評価(東)を担当した。研究方法と結果の詳細は各分担研究報告書を参照されたい。

(倫理面への配慮)

本研究は環境中における薬剤耐性の調査法を確立するための研究であり、環境由来のサンプルを解析対象とした。個人情報を取り扱う一部の研究においては、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に基づき、当該研究を実施する施設の倫理委員会審査・承認を得てから実施した。微生物ゲノムデータの取り扱いに関しては、セキュリティ対策を実施し、データを公表する際に個別の施設名が特定できないように配慮した。

C. 研究結果

1. 環境中の薬剤耐性のヒト感染症へのリスク評価

- (1) 小児の臨床と病院排水から薬剤耐性菌を分離し、リスク評価を行った。
- (2) 大学病院排水の薬剤耐性モニタリングを実施するための体制構築を進めた。
- (3) 病院下水 AMR(antimicrobial resistance)の調査方法に関する文献レビューを行った。

2. 薬剤耐性ワンヘルスのデータ比較解析と文献レビューに基づくリスク評価

- (1) 薬剤耐性ワンヘルス動向調査報告書内の抗菌薬販売量と放流水 ARG(antimicrobial resistance genes)を比較した。
- (2) 特定の地域の抗菌薬使用量、薬剤耐性菌、

放流水 ARG の比較の準備をした。

3. 環境中の薬剤耐性の調査方法と薬剤耐性微生物ゲノム解析

- (1) 下水処理施設からの放流水のメタゲノム解析用サンプル調製方法とメタゲノム解析手法、及び施設への下水流入水サンプルからのバンコマイシン耐性腸球菌の分離方法について検討を行った。
- (2) 下水処理施設からの放流水及び施設への流入水サンプルの採取・送付(各地方衛生研究所による)についての手順書を作成し、サンプルの受入れを進めた。放流水サンプルについては31施設から、流入水サンプルについては24施設からの受け入れを完了し、サンプルの解析を進めた。

4. 大都市圏の環境中の薬剤耐性の調査方法

- (1) 全地衛研に研究協力を依頼し、協力可の回答を得た。32機関にサンプリング等に関するプロトコルを配布した。夏期のサンプリングを8月から9月に実施するとともに、冬期のサンプリングを1月から2月に実施予定である。試料は国立感染症研究所及び大阪医科大学にて解析・分析を進めた。
- (2) 環境水中の薬剤耐性菌の分離培養法の確立のための研究を進めている。引き続き、環境水から薬剤耐性菌の分離を行うとともに、得られた分離株のゲノム解析を進めた。

5. 環境中の抗菌薬の検査・評価に関する方針策定

- (1) 河川環境(特に河川底質に着目して)での薬剤耐性に関する文献を中心にレビューを行った。
- (2) 先行研究で研究分担者が提案した河川水からの抗菌薬検出手法について、河川底質からの検出にも適用する試験を行った。

6. 環境中の抗菌薬の調査方法と薬剤耐性へのリスク評価

- (1) 環境中に残留する抗菌薬濃度の推定方法

について、都市圏の河川と下水処理場の排水を用いてハイスループット解析系の有効性評価を試みた。検討を継続して、知見の収集に努めた。

(2)自治体の下水処理場の放流水中に内在する残留抗菌薬濃度の測定に向けた基礎検討を開始した。抗菌薬濃度解析に向けた準備を進めた。

D. 考察

1. 環境中の薬剤耐性のヒト感染症へのリスク評価

小児の臨床と病院排水から薬剤耐性菌を分離し、ESBL(extended-spectrum β -lactamases)産生大腸菌を収集し、ゲノム解析を開始した。また、大学病院排水における化学物質負荷および微生物群集構造に病棟の機能特性や薬剤使用状況が影響を及ぼしている可能性が示唆された。環境 AMR の調査方法に関する文献収集を行い、文献レビュー結果を整理することで、病院下水 AMR の標準的な調査法を確立するための資料を作成した。日本の医療環境中の薬剤耐性に関するエビデンスが不十分なことから、病院下水中の薬剤耐性の調査法を確立し、環境中の薬剤耐性のヒトへのリスクを明らかにする必要がある。

2. 薬剤耐性ワンヘルスのデータ比較解析と文献レビューに基づくリスク評価

抗菌薬販売量と放流水 ARG を比較した。年毎、半年毎の抗菌薬販売量と放流水 ARG では、抗菌薬販売量が減少しているにも関わらず放流水中の Total RPKM の変動は軽微であり、相関性を確認することは出来なかった。抗菌薬使用量および放流水 ARG は、周期性があり地域毎に差異があることから、期間と地域を絞った検討が必要と考えられた。

3. 環境中の薬剤耐性の調査方法と薬剤耐性微生物ゲノム解析

下水処理施設放流水のメタゲノム解析は、過去の解析結果との比較解析を行うことによ

り、環境に拡散する薬剤耐性遺伝子の経年変化が明らかになることが見込まれる。流入水中からの VRE 検出では、今後、得られた分離株と臨床分離株との比較ゲノム解析により、市中に存在する VRE の評価方法として適切かどうかの判断が可能となることが期待される。

4. 大都市圏の環境中の薬剤耐性の調査方法

全国レベルの環境 AMR モニタリングのため、地方衛生研究所全国協議会のネットワークを活かして、国内各地の地方衛生研究所に対して研究協力を依頼した。その結果、31 地方衛生研究所から協力が得られ、2024 年 8 月～9 月に下水処理場放流水及び流入水を、2025 年 1 月～2 月に下水処理場放流水を収集できた。各試料水は各地衛研において前処理を行い、放流水中のメタゲノム解析による薬剤耐性因子の検出、流入水からのバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) の分離、放流水中の残留抗菌薬量の測定が行われた。また、大阪府内の下水処理場からの放流水及びその流入後の河川から、各種 β -ラクタマーゼ産生遺伝子を保有する腸内細菌科細菌を分離した。

5. 環境中の抗菌薬の検査・評価に関する方針策定

山形県内の河川 3 か所から集めた底質試料を用いて実施した抗菌薬検出手法の改良では、底質からの抗菌薬の抽出行程を加えることで、その検出効率が向上することが確認された。マッキルベイン緩衝液およびメタノール：EDTA 含有マッキルベイン緩衝液を抽出液に使用した際に検出される抗菌薬の数が増えるとともに、その検出濃度も高まった。同じ地点で測定をした河川水での測定結果と比較すると、河川水の濃度が高い抗菌薬は底質でも検出される傾向があった。3 か所の底質から検出できた抗菌薬は、3 種類(サルファメトキサゾール、トリメトプリム、エリスロマイシン)に過ぎず、河川水試料に比べて、底質試料からの検出が難しいことが確認された。

6. 環境中の抗菌薬の調査方法と薬剤耐性へのリスク評価

手作業によるマニュアル測定系と、自動分注装置と自動固相抽出前処理装置を組み合わせ駆使するハイスループット測定系による環境水中の残留抗菌薬の検出濃度には相関関係があり、マニュアル測定系による検出濃度／ハイスループット測定系による検出濃度の値は最大で 2 倍程度の誤差を認めたが、良好な対応性がみられた。抗菌薬による国内の環境汚染問題の概要を把握する上で有効なアプローチとなりうると考えられた。今後、環境水中の残留抗菌薬の調査方法の標準化に向けて検討を行うとともに、下水処理場の放流水を対象にした環境水中の抗菌薬の全国的なモニタリングを実施して知見の収集を行い、薬剤耐性菌の諸問題について包括的に理解していくことが重要である。

E. 結論

下水処理場の全国的なサーベイランスの継続、医療機関および地域における下水中の薬剤耐性モニタリングは、薬剤耐性の全体像を理解し、実態把握に有用であると考えられた。環境水中の残留抗菌薬の調査方法の確立に向けて、環境水の抗菌薬の測定法と抗菌薬濃度の推計法を検討した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Gomi R, Adachi F. Quinolone Resistance Genes *qnr*, *aac(6')-Ib-cr*, *oqxAB*, and *qepA* in Environmental *Escherichia coli*: Insights into Their Genetic Contexts from Comparative Genomics. Microb Ecol. 2025 Feb 17;88(1):6
2. Yoneda I, Nishiyama M, Watanabe T. Significant factors for modelling survival of *Escherichia coli* in lake sediments. Microorganisms, 12(6),

- 1192, 2024
3. Yoneda I, Nishiyama M, Watanabe T. Comparative experiment to select water quality parameters for modelling the survival of *Escherichia coli* in lakes. Environmental Pollution, 357, 124423, 2024
4. Azuma T, Usui M, Hasei T, Hayashi T. Occurrence and environmental fate of anti-influenza drugs in an urban river in a subcatchment of the Yodo River Basin, Japan, Sci. Total Environ., 953, 176086, 2024.
5. Azuma T, Usui M, Hasei T, Hayashi T. On-site inactivation for disinfection of antibiotic-resistant bacteria in hospital effluent by UV and UV-LED, Antibiotics, 13(8), 711, 2024.
6. Azuma T, Matsunaga N, Ohmagari N, Kuroda M. Development of a high-throughput analytical method for antimicrobials in wastewater using an automated pipetting and solid-phase extraction system, Antibiotics, 13(4), 335, 2024.
7. Azuma T, Usui M, Hayashi T. Inactivation of antibiotic-resistant bacteria in hospital wastewater by ozone-based advanced water treatment processes, Sci. Total Environ., 906, 167432, 2024.
8. 東 剛志. ワンヘルス・アプローチ～AMR の現状と今後の課題 水環境と病院の排水を中心とした環境分野における AMR の現状と対策, モダンメディア, 71(1), 1-30, 2025.
9. 東 剛志. 薬剤耐性菌による新たな環境汚染問題－医療と環境との繋がりを、インфекションコントロール, 34(1), 76-81, 2025.

その他発表

1. 薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2024. (4)環境.
2. 安達史恵, 原 直寛, 井澤恭子, 山本か

- おり，柿本健作，左近直美，元岡大祐，河原隆二：カルバペネム耐性腸内細菌目細菌の大都市下水サーベイランスの試み，第 53 回薬剤耐性菌研究会，志摩（2024）
3. Masateru Nishiyama, Masaya Mori, Ichiro Yoneda, Toru Watanabe. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from in a river basin in Yamagata prefecture, Japan. 7th Environmental Dimension of Antimicrobial Resistance conference (EDAR7), Montreal, Canada, May 26-31, 2024.
 4. 米田一路，西山正晃，渡部徹，湖沼における重要な環境因子を採用した大腸菌生存モデルの開発，第 27 回日本水環境学会シンポジウム，令和 6 年 9 月 11～12 日，岩手県盛岡市
 5. 米田一路，西山正晃，渡部徹，機械学習を用いた湖沼における大腸菌生存モデルの開発，第 61 回環境工学研究フォーラム，令和 6 年 11 月 26～28 日，新潟市
 6. 鹿内靖成，米田一路，盧歆，西山正晃，渡部徹，水環境における大腸菌の生存に関する標準株と野生株の比較，第 61 回環境工学研究フォーラム，令和 6 年 11 月 26～28 日，新潟市
 7. 倉持祥太，釵持ひろ，米田一路，渡部徹，西山正晃，東北地方の一級河川から単離した ESBL 産生大腸菌の薬剤耐性感受性と遺伝子型の特徴，第 61 回環境工学研究フォーラム，令和 6 年 11 月 26～28 日，新潟市
 8. 鹿内靖成，米田一路，西山正晃，渡部徹，河川から分離された大腸菌野生株と標準菌株の水中での生残性の違い，第 30 回庄内・社会基盤技術フォーラム，令和 7 年 1 月 29 日，山形県酒田市
 9. 鹿内靖成，米田一路，西山正晃，渡部徹，河川から分離された大腸菌野生株と標準菌株の水中での生残性の比較，令和 6 年度土木学会東北支部技術研究発表会，令和 7 年 2 月 28 日～3 月 1 日，宮城県仙台市
 10. 米田一路，西山正晃，渡部徹，湖沼における複数の環境因子の影響を考慮した大腸菌動態モデルの開発，第 59 回日本水環境学会年会，令和 7 年 3 月 17～19 日，北海道札幌市
 11. 東 剛志．ワンヘルス・アプローチ～AMR の現状と今後の課題 水環境と病院の排水を中心とした環境分野における AMR の現状と対策，栄研化学株式会社モダンメディア 新春放談（東京ステーションホテル），2024 年 11 月 11 日．（招待講演）
 12. 東 剛志，臼井 優，内藤博敬，林 哲也，中室克彦．オゾン水を用いた医療排水処理への応用の試み，日本機能水学会 第 22 回学術大会（日本薬学会 長井記念ホール），2024 年 10 月 5～6 日．（招待講演）
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）**
なし

環境中における薬剤耐性微生物及び抗微生物剤の調査法等の確立のための研究

- 環境薬剤耐性に関する文献レビューとリスク評価
 - ・薬剤耐性ワンヘルスのデータ比較解析と文献レビューに基づくリスク評価
- 環境中の薬剤耐性の調査方法の確立および環境・ヒト由来の薬剤耐性の関連性
 - ・環境中の薬剤耐性のヒト感染症へのリスク評価
 - ・環境中の薬剤耐性の調査方法と薬剤耐性微生物ゲノム解析
 - ・大都市圏の環境中の薬剤耐性の調査方法
- 抗菌薬の調査方法の確立と評価
 - ・環境中の抗菌薬の検査・評価に関する方針策定
 - ・環境中の抗菌薬の調査方法と薬剤耐性へのリスク評価



環境がヒトへ与える影響についての評価方法を提案

図1 環境中における薬剤耐性微生物及び抗微生物剤の調査法等の確立のための研究