

氏名（本籍） みやざき もとやす  
宮崎 元康 (福岡県)

学位の種類 博士（薬学）

報告番号 乙第 1517 号

学位授与の日付 平成 26 年 3 月 25 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当（論文博士）

学位論文題目

MRSA 菌血症血液分離株の多様性とグリコペプチド類抗菌薬に対する治療効果との関連

論文審査委員（主査）	福岡大学	教授	原 周司
（副査）	福岡大学	教授	神村 英利
	福岡大学	准教授	高田 徹
	福岡大学	講師	自見 至郎

# MRSA 菌血症血液分離株の多様性とグリコペプチド系抗菌薬に

## 対する治療効果との関連

福岡大学筑紫病院薬剤部

宮崎 元康

### 諸言

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*: MRSA) は、未だに施設内での分離率および耐性率が高く、医療現場において非常に重要な菌種である。MRSA の感染拡大の防止には、標準予防策に加えて接触予防策の実施および感染経路の調査が重要である。個々の菌株を区別する方法として、近年、DNA 配列に基づいた分子疫学的解析が注目されている。その中でも、世界的にゴールドスタンダードとして用いられているのが、染色体 DNA の制限酵素切断断片を電気泳動により分離し、その分離パターンを比較するパルスフィールドゲル電気泳動 (*pulsed-field gel electrophoresis*: PFGE) 法である。その他、ポリメラーゼ連鎖反応 (*polymerase chain reaction*: PCR) による特定の遺伝子増幅パターンの比較や、メチシリン耐性遺伝子 *mecA* を含む可動性 DNA 断片である SCC*mec* (*staphylococcal cassette chromosome mec*) の遺伝子タイピング、病原因子を調節する遺伝子群である *agr* (*accessory gene regulator*) の遺伝子タイピング、変異の少ない基礎代謝系に関連した数種の遺伝子の塩基配列のバリエーション (*sequence type*: ST) を比較する MLST (*multilocus sequence typing*)、染色体上に存在する多数の非コード反復配列を分離して、その増幅パターンを比較する Rep-PCR (*repetitive sequenced-based PCR*) 法など、さまざまな手法が分子疫学的解析に用いられている。

MRSA 感染症は、多剤耐性菌による日和見感染症であり、その病態として、肺炎に代表される呼吸器感染症、熱傷や褥創に伴う創傷感染、重度の下痢症状を伴う腸炎などが挙げられる。バンコマイシン (*vancomycin*: VCM) は、MRSA 感染症に対して 50 年以上前から世界中で使用されている標準的治療薬であり、日本においても 1991 年より臨床の現場で使用されるようになった。しかしながら、近年、VCM 低感受性株の出現や殺菌作用の発現が遅いことで、その臨床的な有効性に疑問が生じ始めている。VCM は MRSA を含む多くのグラム陽性菌に対して殺菌的に作用する薬剤であるが、ブドウ球菌に対する殺菌作用は、*in vitro* において  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬と比較して殺菌作用の発現が遅いと言われている。MRSA 菌血症においては、MRSA に対する VCM の *in vitro* での殺菌作用の低下が臨床的効果の低下や菌消失までの時間の遅延と関連していると言われている。また、VCM の MRSA に対する最少発育阻止濃度 (*minimum inhibitory concentration*: MIC) が Clinical and Laboratory

Standards Institute (CLSI) 基準で感性的 ( $\leq 2\mu\text{g/mL}$  以下) と判定される株であっても、VCM に対して低感受性を示すバンコマイシンヘテロ耐性黄色ブドウ球菌 (heterogeneous vancomycin-intermediate *S. aureus*: hVISA) や、 $\beta$ -ラクタム系抗菌薬の存在下において VCM 耐性が誘導される MRSA ( $\beta$ -lactam antibiotic induced vancomycin resistant MRSA: BIVR) の存在が確認されており、それらの菌株に対しては、VCM による治療効果が得られない、もしくは治療失敗と関連するという報告も散見されている。

MRSA 感染症の中でも、菌血症や心内膜炎などの血流感染症は死亡率 20% 以上とも報告されており、極めて重篤な疾患である。したがって、MRSA 血液分離株の分子疫学的解析や、MRSA 菌血症患者における臨床的予後と関連する因子について研究することは、MRSA 菌血症治療を行っていく上でも非常に重要であると考えられる。本研究では、以下の 3 つの研究成果について報告する。

1. MRSA 臨床血液分離株の遺伝子多型
2. MRSA 菌血症における VCM 殺菌活性と生命予後との関連性
3. MRSA 菌血症における VCM 低感受性株 (hVISA および BIVR) の経年的動向およびその生命予後への影響

1. 1987 年から 2004 年までの 18 年間に、福岡大学病院 (当院) 腫瘍・血液・感染症内科および救命救急センターの入院患者血液から分離された MRSA 137 株を対象に、様々な分子疫学的解析 (SCCmec typing, agr typing, 病原遺伝子保有パターン解析, MLST, Rep-PCR 法, PFGE 法) を行った。調査期間を 3 期に分類し (I 期: 1987~1992 年, II 期: 1993~1998 年, III 期: 1999~2004 年), その経年的動向について調査したところ、第 I 期においては、SCCmec type IV/agr type III が高頻度で分離されていたが、第 II 期以降では、分離される菌株の主要な遺伝子型は、SCCmec type II/agr type II であった。また、Rep-PCR 法および PFGE 法により MRSA の遺伝的近縁性を検討したところ、多数のクローンが確認されたが、その中でも分離頻度の高い主要なクローンの存在が明らかになった。最も分離頻度の高かったクローンは全体の約 20% を占めており、現在の日本における院内感染型 MRSA (hospital-acquired MRSA: HA-MRSA) の細菌学的特徴でもある SCCmec type II/agr type II であり、病原遺伝子 sec および tst を保有していた。また、同クローンは MLST 解析において ST5 を示し、日本の病院内で最も流行しているクローンである New York/Japan clone (ST5) と同じクローンであることが判明した。これらの分子疫学的解析により、当院における MRSA 臨床血液分離株の遺伝型が、日本で多数報告されている遺伝型と一致していることが明らかとなった。

2. MRSA による菌血症や心内膜炎などの血流感染症の治療には抗菌薬の殺菌力および初期治療が重要であることが知られている。分子疫学的解析を行った 137 株の MRSAのうち、菌血症に対する初期治療としてグリコペプチド系抗菌薬 (VCM およびテイコプラニ



菌薬を投与された患者に焦点を絞り、hVISA および BIVR の phenotype の組み合わせも考慮し、その臨床的意義について検討した。1987 年から 2007 年までの 21 年間の調査期間において、162 例の MRSA 菌血症患者のうち 93 例に初期治療としてグリコペプチド系抗菌薬が投与されていた。患者の臨床的背景（年齢、性別、基礎疾患、共存疾患、中心静脈カテーテル挿入の有無、集中治療室への搬入の有無、APACHE II スコア、ショックの有無、菌血症の侵入門戸、グリコペプチド系治療時の TDM 施行の有無）と細菌学的特徴（SCCmec type, agr type, VCM MIC, TEIC MIC, hVISA, BIVR）を用いて、30-day mortality と関連する因子について多変量ロジスティック回帰分析を行った。その結果、高 APACHE II スコア ( $p = 0.003$ )、菌血症時のショック ( $p = 0.016$ )、hVISA および BIVR の両 phenotype 陽性 (hVISA (+) /BIVR (+)) ( $p = 0.025$ ) の 3 つが独立した生命予後不良因子であった。また、hVISA (+) /BIVR (+) 株について Rep-PCR 法により遺伝型を検討したところ、クローンは多岐にわたっていた。すなわち、患者生命予後不良である原因は、ある特定のクローンによるものではなく、hVISA/BIVR の phenotype そのものが生命予後不良のリスク因子となっていることが示唆される。

## 総括

MRSA は、世界で初めて報告されてから 50 年以上経過した現在でも臨床現場で大きな問題である。MRSA は新規抗菌薬の開発のたびに、より巧妙な機序を獲得し、耐性菌へと進化を遂げてきた。また、1990 年代以降出現してきた市中感染型 MRSA も、現在では米国では深刻な問題であり、日本においても増加が危惧されている。日本では、すでに多様なクローンの MRSA が広く蔓延しており、その制御は極めて困難である。このような状況において、耐性メカニズムや病原性の解明、薬剤感受性サーベイランス、疫学調査などの基礎的研究から、診断・治療および予防・制御といった臨床的アプローチが求められている。本研究の成果によって、臨床現場における菌血症などの重篤な MRSA 感染症に対する、適切かつ有効な治療の実施に貢献できることが期待される。

メ	チ	シ	リ	ン	耐	性	黄	色	ブ	ド	ウ	球	菌	(	M	R	S	A	)				
は	,	未	だ	施	設	内	で	の	分	離	率	お	よ	び	耐	性	率	が	高				
く	,	主	な	院	内	感	染	原	因	菌	で	あ	る	。	標	準	的	治	療				
薬	と	し	て	バ	ン	コ	マ	イ	シ	ン	(	V	C	M	)	が	世	界	中	で			
使	用	さ	れ	て	い	る	が	,	V	C	M	低	感	受	性	株	の	出	現				
や	殺	菌	作	用	の	発	現	が	遅	い	こ	と	で	,	そ	の	臨	床	的				
な	有	効	性	に	疑	問	が	生	じ	始	め	て	い	る	。	M	R	S	A	感			
染	症	の	中	で	も	,	菌	血	症	や	心	内	膜	炎	な	ど	の	血	流				
感	染	症	は	死	亡	率	2	0	%	以	上	と	も	報	告	さ	れ	て	お	り	,		
極	め	て	重	篤	な	疾	患	で	あ	る	。	し	た	が	っ	て	,						
M	R	S	A	血	液	分	離	株	の	分	子	疫	学	的	解	析	や	,					
M	R	S	A	菌	血	症	患	者	に	お	け	る	臨	床	的	予	後	と	関	連			
す	る	因	子	に	つ	い	て	研	究	す	る	こ	と	は	,	M	R	S	A	菌			
血	症	治	療	を	行	う	上	で	非	常	に	重	要	で	あ	る	。	本	研				
究	は	,	以	下	の	3	つ	の	研	究	成	果	で	あ	る	。							
1	.	M	R	S	A	臨	床	血	液	分	離	株	の	遺	伝	子	多	型					
2	.	M	R	S	A	菌	血	症	に	お	け	る	V	C	M	殺	菌	活	性	と	生		
		命	予	後	と	の	関	連	性														
3	.	M	R	S	A	菌	血	症	に	お	け	る	V	C	M	低	感	受	性	株			
		(	h	V	I	S	A	お	よ	び	B	I	V	R	)	の	経	年	的	動	向	お	よ



お	け	る	院	内	感	染	型	M	R	S	A	の	細	菌	学	的	特	徴	で								
も	あ	る	S	C	C	<i>m</i>	<i>e</i>	<i>c</i>	<i>t</i>	<i>y</i>	<i>p</i>	<i>e</i>	I	I	/ <i>a</i>	<i>g</i>	<i>r</i>	<i>t</i>	<i>y</i>	<i>p</i>	<i>e</i>	I	I	で	あ	り	,
病	原	遺	伝	子	<i>s</i>	<i>e</i>	<i>c</i>	お	よ	び	<i>t</i>	<i>s</i>	<i>t</i>	を	保	有	し	て	い	た	。						
ま	た	,	同	ク	ロ	ー	ン	は	M	L	S	T	解	析	に	お	い	て	S	T	5						
を	示	し	,	日	本	の	病	院	内	で	最	も	流	行	し	て	い	る									
ク	ロ	ー	ン	で	あ	る	N	e	w	Y	o	r	k	/	J	a	p	a	n	c	l	o	n	e	と	同	
じ	ク	ロ	ー	ン	で	あ	る	こ	と	が	判	明	し	た	。	こ	れ	ら									
の	分	子	疫	学	的	解	析	に	よ	り	,	当	院	に	お	け	る										
M	R	S	A	臨	床	血	液	分	離	株	の	遺	伝	型	が	,	日	本	で	多							
数	報	告	さ	れ	て	い	る	遺	伝	型	と	一	致	し	て	い	る	こ									
と	が	明	ら	か	と	な	っ	た	。																		
2.	分	子	疫	学	的	解	析	を	行	っ	た	1	3	7	株	の	M	R	S	A							
の	う	ち	,	菌	血	症	に	対	す	る	初	期	治	療	と	し	て	グ									
リ	コ	ペ	プ	チ	ド	系	抗	菌	薬	(	V	C	M	お	よ	び	テ	イ	コ								
プ	ラ	ニ	ン	)	を	投	与	さ	れ	た	6	6	例	の	患	者	よ	り	分								
離	さ	れ	た	6	6	株	の	M	R	S	A	に	焦	点	を	絞	り	,	<i>i</i>	<i>n</i>							
<i>v</i>	<i>i</i>	<i>t</i>	<i>r</i>	<i>o</i>	に	お	け	る	V	C	M	殺	菌	活	性	を	測	定	し	,	患						
者	生	命	予	後	(	M	R	S	A	菌	血	症	発	症	後	3	0	日	に	お							
け	る	全	原	因	死	亡	率	:	3	0	-	d	a	y	m	o	r	t	a	l	i	t	y	)	と	の	
関	連	性	に	つ	い	て	調	べ	た	。	そ	の	結	果	,	<i>i</i>	<i>n</i>	<i>v</i>	<i>i</i>	<i>t</i>	<i>r</i>	<i>o</i>					



に	お	け	る	V	C	M	殺	菌	活	性	の	低	下	と	3	0	-	d	a	y				
m	o	r	t	a	l	i	t	y	と	の	間	に	有	意	な	相	関	関	係	が	あ	る	こ	
と	が	明	ら	か	と	な	っ	た	(	R <sup>2</sup>	=	0	.	9	8	3	)	。	こ	れ	ま			
で	に	,	M	R	S	A	菌	血	症	に	お	け	る	V	C	M	殺	菌	活	性				
と	臨	床	的	予	後	と	の	関	連	性	に	つ	い	て	は	,	i	n						
v	i	t	r	o	に	お	け	る	V	C	M	殺	菌	活	性	が	高	い	株	ほ	ど			
治	療	開	始	か	ら	菌	消	失	ま	で	に	要	す	る	時	間	が	短						
く	V	C	M	治	療	効	果	が	高	い	こ	と	は	知	ら	れ	て	い	る					
が	,	本	研	究	の	よ	う	に	生	命	予	後	と	の	有	意	な	相						
関	を	示	し	た	も	の	は	過	去	に	報	告	が	無	く	,	M	R	S	A				
菌	血	症	に	お	け	る	薬	剤	の	有	効	性	を	考	え	る	上	で						
極	め	て	重	要	な	所	見	で	あ	る	。													
3.	菌	血	症	に	対	す	る	初	期	治	療	と	し	て	グ	リ	コ	ペ						
プ	チ	ド	系	抗	菌	薬	を	投	与	さ	れ	た	患	者	に	焦	点	を						
絞	り	,	V	C	M	低	感	受	性	株	で	あ	る	h	V	I	S	A	お	よ	び			
B	I	V	R	の	p	h	e	n	o	t	y	p	e	の	組	み	合	わ	せ	も	考	慮	し	,
そ	の	臨	床	的	意	義	に	つ	い	て	検	討	し	た	。	1	9	8	7	年				
か	ら	2	0	0	7	年	ま	で	の	2	1	年	間	の	調	査	期	間	に	お				
い	て	,	1	6	2	例	の	M	R	S	A	菌	血	症	患	者	の	う	ち	9	3			
例	に	初	期	治	療	と	し	て	グ	リ	コ	ペ	プ	チ	ド	系	抗	菌						

薬が投与されていた。患者の臨床的背景（年齢，性別，基礎疾患，共存疾患，中心静脈カテーテル挿入の有無，集中治療室への搬入の有無，APACHE II スコア，ショックの有無，菌血症の侵入門戸，グリコペプチド系治療時の TDM 施行の有無）と細菌学的特徴（SCCmec type, agr type, VCM MIC, TEIC MIC, hVISA, BIVR）を用いて，30-day mortality と関連する因子について多変量ロジスティック回帰分析を行った。その結果，高 APACHE II スコア（ $p=0.003$ ），菌血症時のショック（ $p=0.016$ ），hVISA および BIVR の両 phenotype 陽性（hVISA（+）/BIVR（+））（ $p=0.025$ ）の3つが独立した生命予後不良因子であった。また，hVISA（+）/BIVR（+）株について Rep-PCR 法により遺伝型を検討したところ，クローンは多岐にわたっていた。すなわち，患者生命予後不良である原因は，ある特定のクローンによるものではなく，hVISA/BIVR の

