

我が国におけるアスペルギルス症原因菌の薬剤感受性と 薬剤耐性機構の実態調査

千葉大学真菌医学研究センター

准教授 渡邊 哲

(共同研究者)

千葉大学真菌医学研究センター 教授 亀井 克彦

千葉大学真菌医学研究センター 特任助教 萩原 大祐

はじめに

超高齢社会を迎えた現在、慢性閉塞性肺疾患（COPD）や肺結核後遺症・非結核性抗酸菌症等の慢性肺疾患患者数が増加している。これら慢性肺疾患では空洞や気管支拡張等の肺の既存構造の破壊像が見られ、局所的な防御能力が低下していることが指摘されている。真菌は自然界に遍在している微生物であり、空気中にも孢子等の形態で浮遊しているため、ヒトはそれらを呼吸により日常気道内に吸入している。健常人であれば気道局所の防御能力により真菌は気道外へ排除されるため通常真菌感染症に進展することはない。

しかし、慢性肺疾患の存在により既存構造の破壊像を有する患者では吸入された真菌が排除されず局所に定着し、ときに肺真菌症に進展する。原因菌としてはアスペルギルス属が最多であり、これら慢性肺疾患に合併する肺アスペルギルス症が現在呼吸器科領域で大きな問題となりつつある。その理由として、肺アスペルギルス症自体が難治性であり、長期生存率が極めて低いこと、また早期診断が困難であり、有効な抗真菌薬の種類は限られていることなどが挙げられる。アスペルギルス症の原因菌として最も多いのはアスペルギルス・フミガーツスであり、治療薬として最も多く使用されているのはアゾール系抗真菌薬である。

更に最近問題となっているのは、この限られた抗真菌薬に対して耐性を有するアスペルギルス株の検出がしばしば報告されるようになってきていることである。欧州ではアゾール系抗真菌薬に対し、耐性を有しているアスペルギルス・フミガーツス株の検出率についての報告が多くなされており、耐性率の高さが問題となっている。一方でアスペルギルス・フミガーツス臨床分離株の耐性率については我が国においては報告が少なく、またここ数年の耐性率についてのデータはない。

千葉大学真菌医学研究センター（MMRC; Medical Mycology Research Center, Chiba University）は我が国の真菌のレファレンスセンターとして機能しており、国内の多数の医療機関から臨床分離真菌株の寄託を受けセンター内バイオリソース室に保存されている。本研究ではこの保存菌株コレクションを用い、近年の我が国におけるアスペルギルス症原因の主要菌アスペルギルス・フミガーツスの薬剤感受性について検討を行い、さらに耐性機構に

についても解析を行うこととした。

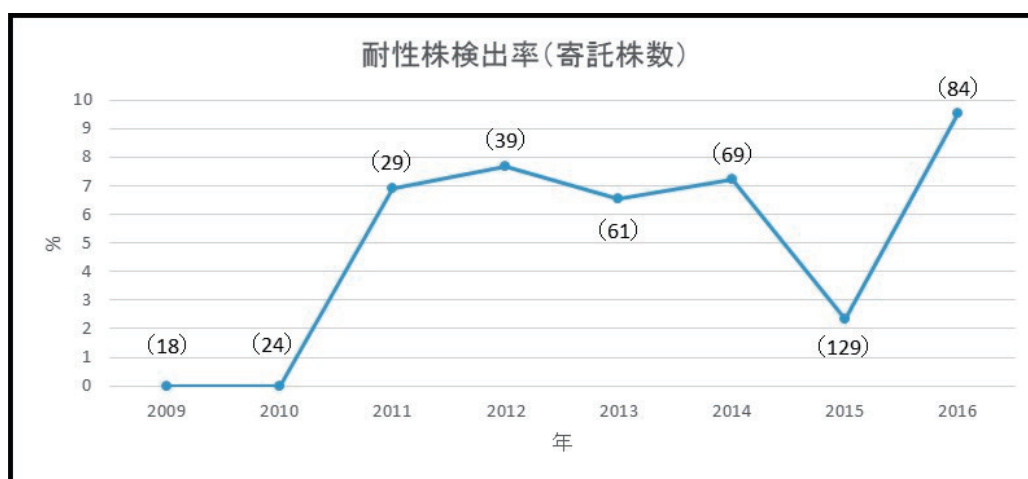
薬剤感受性測定は世界的な標準法であるCLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) による糸状真菌の微量液体希釈法による抗真菌薬感受性試験法 M38A2 に準拠して測定を行い、アゾール系抗真菌薬 (イトラコナゾール、ボリコナゾール) のMIC (最小発育濃度) $> 2 \mu\text{g/mL}$ を示すものを「耐性」と定義した。耐性機構に関してはアゾール系薬の標的部位であるCYP51Aタンパクをコードする遺伝子 (*cyp51A*) の配列解析を行い、変異の検出を行った。

結 果

MMRCバイオリソース室に保存されているアスペルギルス・フミガーツスのうち、2009年～2016年に患者検体より分離された453株を対象とした。

453株のうち、アゾール系抗真菌薬 (イトラコナゾール、ボリコナゾール) に対する耐性株は25株 (5.5%) であった。

図1



またCYP51Aの解析では2013年以前の検出株では見られなかった448番目のアミノ酸変異(グリシン→セリン) が2014年以降になってからみられるようになってきており (6株)、変異部位の年次的な推移の傾向が認められた。

表1

CPY51A 変異部位	株数	患者検体からの分離年(各年の株数)	耐性となる薬剤
54 番目のグリシン変異	3	2007(1) , 2011(1) , 2014(1)	ITCZ
220 番目のメチオニン変異	3	2012(1) , 2013(1) , 2016(1)	ITCZ, VRCZ
448 番目のグリシン変異	6	2014(3) , 2015(2) , 2016(1)	VRCZ(, ITCZ)

ITCZ: イトラコナゾール、VRCZ: ボリコナゾール

考 察

2014年にKikuchiらが報告した、MMRC保存の臨床分離アスペルギルス・フミガーツス171株（1987年～2008年分離）を対象とした検討では、MIC > 2 μ g/mLを示した株は1株のみであったが、今回の検討期間（2009年～2016年）では5.5%と上昇しており、明らかに耐性率の上昇が見られた。

また、2012年にTashiroらが報告した、長崎大学病院分離アスペルギルス・フミガーツス株196株を用いた検討ではCYP51Aのアミノ酸変異はすべて54番目のアミノ酸変異（グリシン→グルタミン酸、アルギニン、トリプトファン）であった。今回の検討においては、54番目のグリシン変異を有する株は2007、2011、2014年にそれぞれ1株ずつ分離されているが、448番目のグリシン変異は2014年以降になって初めて検出されるようになってきている。448番目のグリシン変異を有する株の臨床背景を確認したところ、6株すべてにおいてボリコナゾールの投与歴があることが明らかとなった。本変異とボリコナゾール投与歴との関連性は今後の検討が必要であるが、54番目のグリシン変異ではイトラコナゾールの耐性であるのに対し、448番目のグリシン変異ではボリコナゾール（一部でイトラコナゾールも）の耐性をきたすことが知られており、今後の治療戦略に影響を与えることが懸念される。

要 約

千葉大学真菌医学研究センターに寄託保存されているアスペルギルス・フミガーツス株を用い抗真菌薬感受性およびアゾール系薬耐性機構について解析を行った。2009年から2016年までの臨床分離株中のアゾール系薬耐性率は5.5%であり、2008年以前の保存株を用いた同様の調査結果と比較し明らかな耐性率の上昇が認められた。また、アゾール標的部位をコードする遺伝子の配列解析では変異部位の年次的な推移が存在することが推定され、抗真菌薬感受性プロフィールにも変化が起こっている可能性が示唆された。

文 献

1. Tashiro M, Izumikawa K, Minematsu A, et al. Antifungal Susceptibilities of *Aspergillus fumigatus* Clinical Isolates Obtained in Nagasaki, Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 56 : 584 – 587, 2012
2. Kikuchi K, Watanabe A, Ito J, et al. Antifungal susceptibility of *Aspergillus fumigatus* clinical isolates collected from various areas in Japan. *J Infect Chemother* 20 : 336 – 338, 2014
3. Belleste B, Raberin H, Morel J, et al. Acquired resistance to voriconazole and itraconazole in a patient with pulmonary aspergilloma. *Med Mycol* 48 : 197 – 200, 2010
4. Pelaez T, Gijon P, Bunsow E, et al. Resistance to Voriconazole Due to a G448S Substitution in *Aspergillus fumigatus* in a Patient with Cerebral Aspergillosis. *J Clin Microbiol* 50 : 2531 – 2534, 2012