



2017年3月15日放送

「小児腸管内大腸菌における ESBL 遺伝子と病原遺伝子の水平伝播」

鹿児島大学大学院 微生物学分野教授

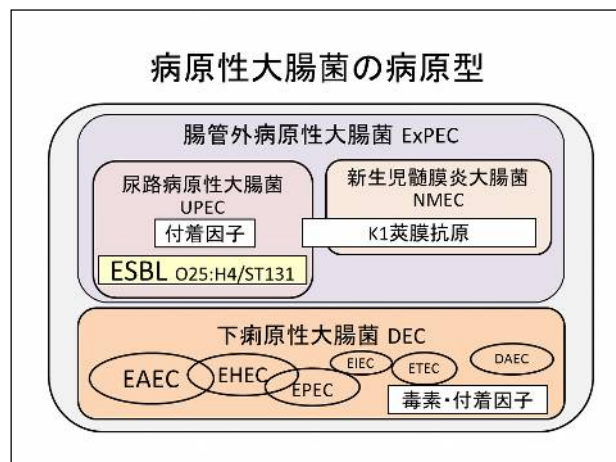
西 順一郎

はじめに

大腸菌はヒトの腸管内に常在菌として棲息し、ときに尿路感染症や菌血症などの異所性感染症を起こします。また食事や飲水によって外から一過性に侵入し、下痢を起こすこともあります。それぞれの株がさまざまな病原遺伝子を保有しており、遺伝学的に非常に多様性に富んだ細菌です。近ごろ、基質拡張型βラクマーゼ（ESBL）を産生する大腸菌が増え臨床で大きな問題になっています。本日は私たちの研究をもとに、小児の腸管由来大腸菌において、ESBL 遺伝子や病原遺伝子の水平伝播が進んでいるというお話しをさせていただきます。

大腸菌の病原型

病原性大腸菌は、尿路病原性大腸菌と新生児髄膜炎の原因となる大腸菌からなる腸管外病原性大腸菌と下痢を起こす下痢病原性大腸菌に分けられます。病原型ごとに異なる病原因子が存在し、下痢病原性大腸菌では毒素や付着因子、尿路病原性大腸菌では付着因子、髄膜炎の原因となる大腸菌では K1 莢膜抗原が知られています。基質拡張型βラクマーゼ（ESBL）を産生する大腸菌は尿路感染症でよく分離され、とくに O25:H4/ST131 というクローンが世界で蔓延しています。



腸管凝集性大腸菌と ESBL

私たちはこれまで鹿児島県の下痢症患児の便由来大腸菌における下痢原性大腸菌の病原遺伝子の検出頻度を調べてきました。この中には常在菌の大腸菌も含まれるため、すべてが下痢症の原因とは限りませんが、腸管凝集性大腸菌 EAEC が 4.4% ともっとも多く、ついで腸管病原性大腸菌 EPEC が 2.4% を占めました。

下痢症患児の便由来大腸菌における下痢原性大腸菌の病原遺伝子検出頻度

N=2,594

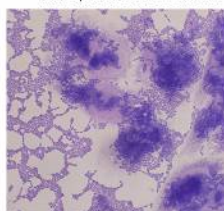
Pathotype		病原因子	頻度*
腸管病原性大腸菌	EPEC	付着 <i>eae</i>	2.4%
毒素原性大腸菌	ETEC	毒素 <i>st, lt</i>	0.04%
腸管侵入性大腸菌	EIEC	侵入 <i>ipaH</i>	0%
腸管出血性大腸菌	EHEC	毒素 <i>stx1, stx2</i>	0.4%
腸管凝集性大腸菌	EAEC	凝集付着、 <i>aggR</i>	4.4%*

*AggR陰性atypical EAECを含む

腸管凝集性大腸菌 Enteroaggregative *E. coli* (EAEC) は、特有の線毛を持ち、HEp2

細胞付着試験で細胞とガラス面に特徴的な凝集性付着を示す株と定義されています。線毛 AAF や転写調節因子 AggR の遺伝子を含む病原プラスミドを持つ typical EAEC とそれを持たない atypical EAEC がみられます。乳幼児下痢症の原因菌であり、腸管粘膜上でバイオフィルムを形成します。以前私たちは、鹿児島県の EAEC の 29% がセフトキシム耐性であることを報告し、ESBL 産生が示唆されました。

腸管凝集性大腸菌 Enteroaggregative *E. coli* EAEC



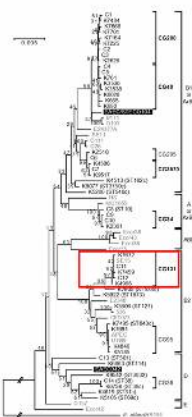
Typical EAEC

乳幼児下痢症の原因菌
腸管粘膜上でバイオフィルム形成
セフトキシム耐性 (29%)

Tokuda K, et al. Microb Immunol 2010

その後、鹿児島と大阪で分離された typical EAEC 167 株の MLST (multi locus sequence type) による系統解析を行い、5つの主要なクローンが存在することを明らかにしました。その中でも古典的な EAEC とは異なる系統群である B2 に属する O25:H4/CG (クローナルグループ) 131 だけが、ESBL を産生していました。このクローンは、尿路病原性大腸菌 O25:H4/ST131

Typical EAECのMLSTによる系統解析



O126:H27/CG200 1992~2010年
鹿児島・大阪
167株

O111:H21/CG40

O111:HND/CG40

O86a:H27/CG3570 AggR+plasmid

OUT:H33/CG34

O25:H4/CG131

ESBL CTX-M-14

EAEC/UPECのハイブリッド株



Imuta N, Ooka T. J Clin Microbiol 2016

が ESBL CTX-M-14 遺伝子とともに EAEC の病原プラスミドを獲得してハイブリッド株として出現したものと考えられました。

基質拡張型βラクタマーゼ (ESBL)

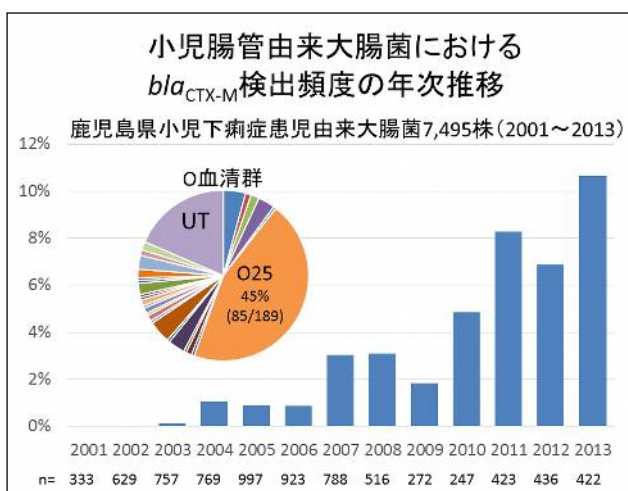
ESBL 基質拡張型βラクタマーゼは、ほとんどのセフェム系薬を分解し、遺伝子はプラスミドで伝播します。遺伝子型では CTX-M 型が多く、臨床で分離される大腸菌の 10~20% が ESBL を産生しています。尿路感染症に多くみられますが、髄膜炎や下痢症では比較的多く見られます。さきほども述べましたが、ESBL 産生尿路病原性大腸菌 O25:H4/ST131 の株がとくに広がっています。詳しくは、昨年 12 月 28 日版の感染症 TODAY 名古屋大学大学院 川村久美子先生のお話しをお聞きください。

ESBL (Extended-spectrum β-lactamase) 基質拡張型β-ラクタマーゼ

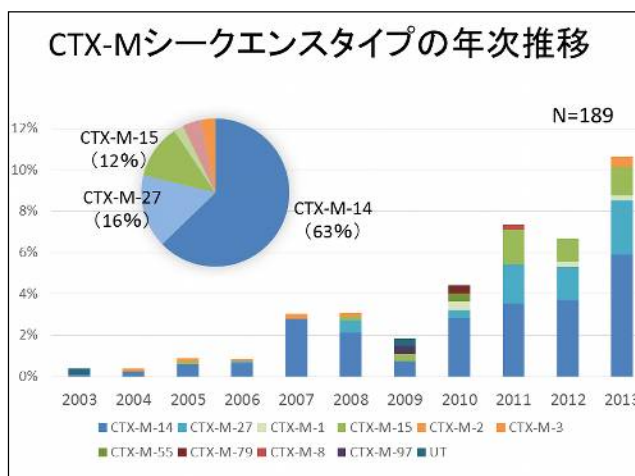
- ほとんどのセフェム系薬を分解
- 遺伝子はプラスミドで伝播
- 遺伝子型: TEM型、SHV型、**CTX-M型**
- 臨床分離大腸菌の10~20%が産生
- 尿路感染症に多く、髄膜炎・下痢症ではまれ
- ESBL産生UPEC O25:H4:ST131の世界的蔓延

下痢症患者由来大腸菌における ESBL (CTX-M) 産生菌の割合

私たちは、2001 年から 2013 年に鹿児島県の小児下痢症患者から分離された大腸菌 7,495 株を対象に、ESBL 遺伝子 *bla*_{CTX-M} の検出を PCR で行いました。*bla*_{CTX-M} 陽性株の検出率の年次推移を棒グラフで示します。*bla*_{CTX-M} 陽性株は 2003 年にはじめてみられ、その後増加傾向にあり、2013 年には 10.7% に達しました。これらの株の多くは常在菌と考えられるため、健康な小児のあいだで ESBL 産生菌が広がっていると考えられます。O 血清群の割合は、O25 が 45% (85/189) と多くみられました。



CTX-M のシーケンスタイプは、CTX-M14 が 63% を占めましたが、2011 年以降は CTX-M-27 やそれまで海外に多かった CTX-M-15 が増加してきています。

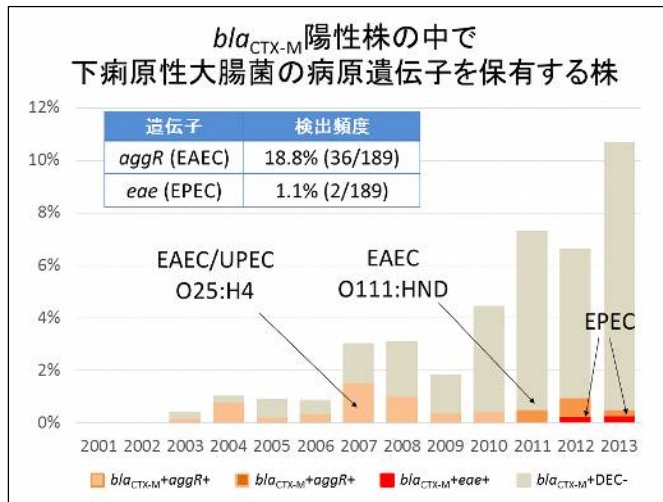


下痢病原性大腸菌の病原遺伝子をもつ

ESBL (CTX-M) 産生菌

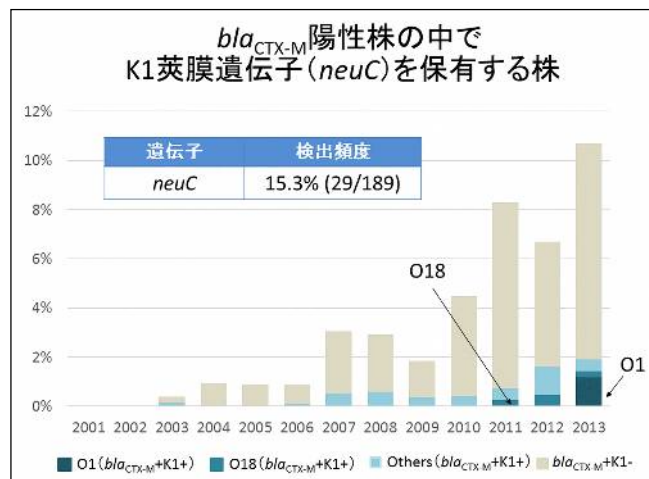
*bla*_{CTX-M} 陽性株の中で下痢病原性大腸菌の病原遺伝子の検出頻度は、腸管凝集性大腸菌

EAEC の *aggR* が 18.8%、腸管病原性大腸菌の *eae* が 1.1% でした。年次推移はオレンジが EAEC の *aggR* をもつ株ですが、2010 年までは先に述べた O25:H4 の尿路病原性大腸菌とのハイブリッド株がほとんどでしたが、2011 年以降本来の EAEC である O111 が *bla*_{CTX-M} を獲得してきています。また、2012 年以降、赤で示す *bla*_{CTX-M} 陽性腸管病原性大腸菌 EPEC にも CTX-M 遺伝子を保有する株がみられています。これ以外にも ESBL を産生する腸管出血性大腸菌の報告がみられています(第 20 回腸管出血性大腸菌感染症研究会)。



髄膜炎と関連する K1 莢膜遺伝子をもつ ESBL (CTX-M) 産生菌

また、*bla*_{CTX-M} 陽性株の中で髄膜炎と関連する K1 莢膜遺伝子 (*neuC*) を保有する株の割合は 15.3% でした。年次推移をブルー系で示しますが、髄膜炎の原因菌に多くみられる O1 や O18 の株が 2011 年以降出現しています。



このようなオレンジで示した *bla*_{CTX-M} 陽性の O1・O18 の株の由来を確認するために、緑で示します便由来で *bla*_{CTX-M} 陰性の O1・O18 の株と比較しました。いずれの群も系統群は B2 で、MLST は ST95 が共通して見られました。したがって、K1 陽性の ST95 などのクローンが新たに *bla*_{CTX-M} を獲得しつつあると思われます。

K1 陽性 O1・O18 株の MLST

材料	番号	O	H	ESBL	系統群	MLST
便	K9158	1	5	CTX-M-14	B2	ST1193
便	K9204	1	6	CTX-M-14	B2	ST141
便	K9202	1	31	CTX-M-14	B2	ST420
便	K9097	1	7	CTX-M-14	B2	ST95
便	K8420	18	7	CTX-M-15	B2	ST95
便	K8693	18	7	CTX-M-14	B2	ST95
便	K8709	18	7	CTX-M-14	B2	ST95
便	K9189	1	1	-	B2	ST95
便	K9569	1	1	-	B2	ST95
便	K9093	1	7	-	B2	ST95
便	K9270	1	7	-	B2	ST95
便	K9360	1	7	-	B2	ST95
便	K9111	18	7	-	B2	ST95
便	K9195	18	4	-	B2	ST357
血液	K10668	1	5	-	B2	ST1193
血液	K2015-0041	1	1	-	B2	ST95
髄液	K9410	1	7	-	B2	ST95
髄液	K8377	18	7	-	B2	ST95

また、青で示します血液や髄液由来 *bla*_{CTX-M} 陰性の O1・O18 の株にも同じシークエンスタイプがみられており、K1 陽性で

髄膜炎を起こしうる系統の株が CTX-M 遺伝子を獲得しつつあることがわかりました。ESBL 産生大腸菌による髄膜炎の報告はまだまれですが、今後注意が必要です。

おわりに

まとめを示します。小児腸管由来大腸菌において、ESBL 遺伝子と病原遺伝子の水平伝播が活発に起こっており、病原性の強い薬剤耐性菌の出現が懸念されます。今後、大腸菌の病原遺伝子と薬剤耐性遺伝子の両方のサーベイランスが重要です。また、経口抗菌薬が投与されやすい小児ではとくに抗菌薬の適正使用が求められます。

まとめ

- 小児腸管由来大腸菌において、ESBL 遺伝子と病原遺伝子の水平伝播が活発に起こっており、病原性の強い薬剤耐性菌の出現が懸念される
- 大腸菌の病原遺伝子と薬剤耐性遺伝子の両方のサーベイランスが重要
- 経口抗菌薬が投与されやすい小児ではとくに抗菌薬の適正使用が求められる

