

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462442

研究課題名(和文) 淋菌咽頭感染の効果的な治療法の確立

研究課題名(英文) Establishment of the effective treatment for gonococcal pharyngeal infection

研究代表者

安田 満 (YASUDA, Mitsuru)

岐阜大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90311703

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：咽頭株 94株、尿道株 2,608株、子宮頸管株 85株の計2,787株について薬剤感受性を検討した。セフトリアキソンおよびスペクチノマイシンのみが良好な抗菌力であった。アジスロマイシンは仙台市での検討において急激な有効性の低下を認めており推奨できない。またスペクチノマイシンは咽頭への移行が悪く使用できない。これらの結果より淋菌咽頭感染にはセフトリアキソンが有用であることが推測された。実際淋菌感染症に対しわが国で推奨されているセフトリアキソン 1g 単回投与のTherapeutic timeは51.48時間と咽頭感染において有効率95%が期待される30時間を超えており、有効であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We examined antimicrobial susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* (total 2,787 clinical strains: 94 strains isolated from pharynx, 2,608 strains from urethra and 85 strains from cervix). Only ceftriaxone and spectinomycin have high antimicrobial activities against *N. gonorrhoeae*. Azithromycin is not recommended for treatment against gonococcal infections because the efficacy of azithromycin for gonococcal urethritis was decreased in Sendai. Moreover spectinomycin is not used to treat pharyngeal infection because of low tissue penetration. Therefore it is thought that ceftriaxone is effective to treat gonococcal pharyngeal infection from these results. In fact, ceftriaxone 1g single dose that is recommended in Japanese guideline have 51.48 hours of "Therapeutic time". It is thought that ceftriaxone 1g single dose is effective to treat gonococcal pharyngeal infection because therapeutic time of this dose is over 30 hours that is >95% expected cure rate in pharyngeal infection.

研究分野：尿路性器感染症

キーワード：淋菌咽頭感染 薬剤耐性淋菌 セフトリアキソン耐性 アジスロマイシン耐性

## 1. 研究開始当初の背景

*Neisseria gonorrhoeae* (淋菌) は男性では尿道炎、女性では子宮頸管炎を引き起こす性感染症病原菌の一つである。淋菌は多剤耐性が急速に進んでおり、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、多剤耐性緑膿菌(MDRP)、基質拡張型ラクタマーゼ(ESBL)産生菌や多剤耐性アシネトバクターなどと並び今後問題となってくる薬剤耐性菌の一つとされている。そのため現在わが国で淋菌感染症に対する推奨治療薬は Ceftriaxon (CTRX) と Spectinomycin (SPCM) の 2 注射剤のみである。

現在淋菌感染症を含む尿道炎で問題となっているのは咽頭感染である。咽頭感染は症状がほとんど無くそれ故感染源となり得るため問題とされている。咽頭感染は感染源の他、薬剤耐性を獲得する場所とも考えられている。淋菌がセフェム系抗菌薬耐性を獲得する主なメカニズムとしては、セフェム系薬のターゲットである PBP-2 のモザイク状変化がある。これは他の *Neisseria* 属の遺伝子がモザイク状に挿入された状態であり、これら *Neisseria* 属は口腔内常在菌である。そのため淋菌咽頭感染が抗菌薬耐性獲得に重要な役割を担っていることが推測される。しかし、実際には淋菌咽頭分離株の検討を行った報告はほとんど無い。これらのことより今後薬剤耐性淋菌の蔓延防止や薬剤耐性獲得を防止するために淋菌咽頭感染に対する効果的な治療法の開発が急務である。

## 2. 研究の目的

現在、欧米でのニューキノロン耐性淋菌の頻度は数%であるのに対して、日本においては 90% 以上になっている。同様に欧米では経口セフェム耐性淋菌の出現は極めてまれであるのに対して日本では約 20% である。このようにわが国は諸外国と比べ淋菌の薬剤耐性化が進んでおり、わが国独自で咽頭感染の実態や効果的な治療法を検討する必要がある。そこで今回の研究では、協力医療機関より咽頭、性器からの淋菌臨床分離株を収集し、各種薬剤感受性測定を行い、さらに分子生物学的手法を用いて淋菌臨床分離株の薬剤耐性状況を解析する。その結果を基に有望とされる抗菌薬を選定し淋菌咽頭感染に対する効果的な治療法の開発することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 淋菌臨床分離株の収集

本研究協力施設より咽頭および性器からの淋菌を収集した。協力施設を受診し同意が得られた淋菌咽頭感染患者および淋菌咽頭感染 high risk 患者(尿道炎、子宮頸管炎あるいは他の STI 患者や CSW) よりシードスワブ 2 号を用いて咽頭スワブ、尿道分泌物、子宮頸管スワブを採取し岐阜大学泌尿器科に送付した。分離培養された淋菌は保存培地に懸濁後冷凍し岐阜大学大学院医学系研究科泌

尿器科学分野の研究室の -70°C フリーザー内で保存した。

### (2) 淋菌臨床分離菌株に対する抗菌薬感受性試験

保存されていた淋菌臨床分離菌株に対する各種抗菌薬の最小発育阻止濃度を Clinical Laboratory Standards Institute の方法に準じて測定した。

### (3) キノロン耐性機序の解析

キノロン耐性淋菌については、キノロン剤の標的酵素である *gyrA*, *gyrB*, *parC* および *parE* 遺伝子の変異を検索した。

### (4) セフェム耐性機序の解析

Cefexime 低感受性淋菌については、penicillin-binding protein 2 をコードする *penA* 遺伝子のモザイク様変異の有無を検索した。さらに、porin の遺伝子と関連し抗菌剤の膜透過性に関与する *penB* 遺伝子および  $\beta$ -lactam による acylation の低下に関与する *ponA1* 遺伝子の変異を検索した。

### (5) Azithromycin 耐性機序の解析

マクロライド耐性株については 23S rRNA methylases の有無、23S rRNA の domain V における peptidyltransferase loop の変化、efflux pump の overexpression を引き起こすと考えられている *mtrR* 遺伝子の変異を検索する。それぞれの遺伝子を PCR 法により増幅し塩基配列を決定した。

### (6) 耐性菌の clonality の解析

耐性菌については、国際的な比較が可能な *por* 遺伝子と *tbpB* 遺伝子の変化に基づく *N. gonorrhoeae* multiantigen sequence typing (NG-MAST) を実施した。

### (7) 臨床効果の検討

抗菌薬感受性試験および薬剤耐性機序の解析により有効と考えられる薬剤を選定し、淋菌咽頭感染患者および淋菌咽頭感染 high risk 患者の治療を行い臨床効果について検討する。

## 4. 研究成果

### (1) 淋菌臨床分離株の収集

全国各地の研究協力施設より淋菌臨床分離株を収集した。淋菌咽頭分離株の収集は困難であるため、本研究開始前の淋菌臨床分離保存株も使用した。また尿道炎および子宮頸管炎からの淋菌臨床分離株も同時に比較検討をおこなった。

研究期間中に淋菌咽頭分離株は 44 株、尿道分離株は 703 株、子宮頸管分離株は 33 株、計 780 株が収集された。これまで収集保存された咽頭分離株 50 株、尿道分離株 1,905 株、子宮頸管分離株 52 株とを合わせて、咽頭分離株 94 株、尿道分離株 2,608 株、子

宮頸管分離株 85株の計2,787株について検討を行った。

表1 検討菌株数

	尿道	咽頭	女性	計
2000	57			57
2001	120			120
2002	219			219
2003	172		7	179
2004	164			164
2005	93			93
2006	66		4	70
2007	34		1	35
2008	71			71
2009	80		3	83
2010	173		5	178
2011	218	6		224
2012	222	31	20	273
2013	216	13	12	241
2014	174	9	9	192
2015	238	20	14	272
2016	291	15	10	316
計	2,608	94	85	2,787

(2) 淋菌臨床分離菌株に対する抗菌薬感受性試験

保存されていた淋菌臨床分離菌株に対する各種抗菌薬の最小発育阻止濃度を Clinical Laboratory Standards Institute の方法に準じて測定した。

図1 Penicillin G 非感受性率(%)

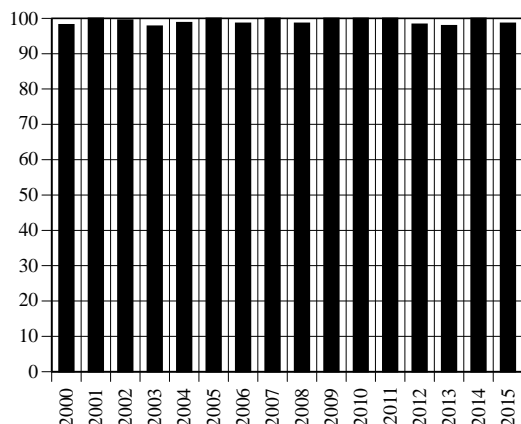


図2 Cefixime 非感受性率(%)

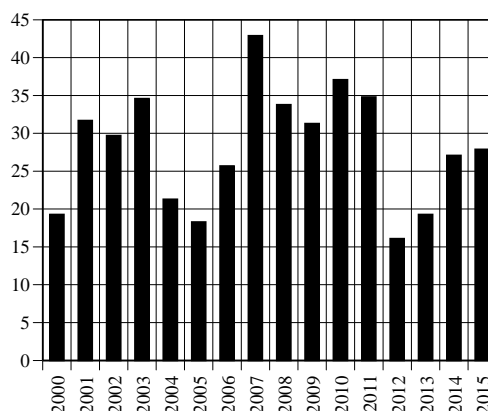


図3 Tetracycline 非感受性率(%)

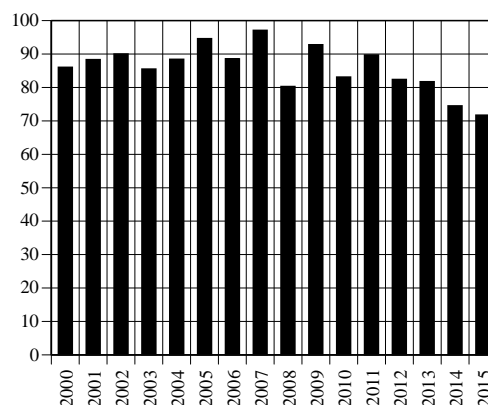


図4 Levofloxacin 非感受性率(%)

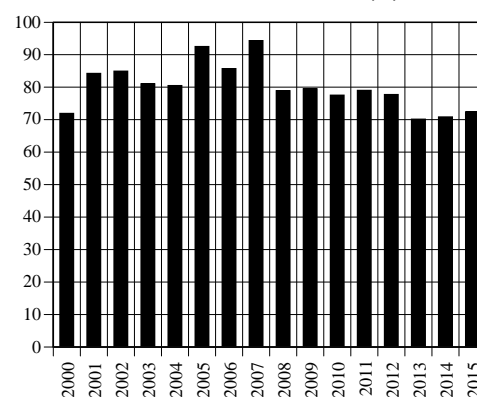


図5 Azithromycin 非感受性率(%)

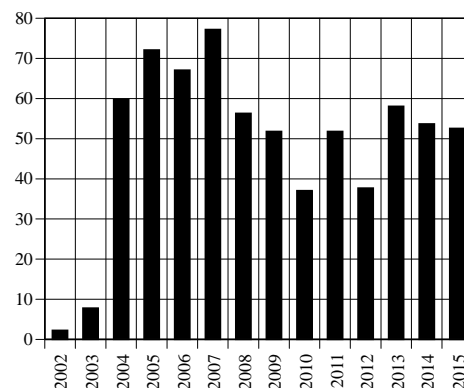


図 6 Spectinomycin 非感受性率(%)

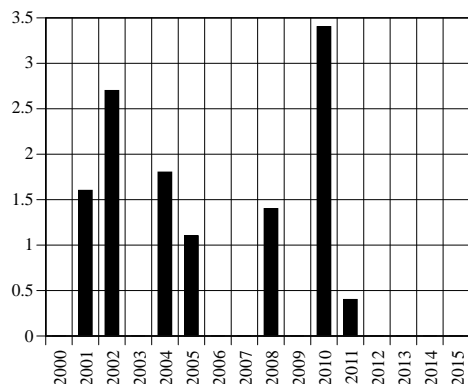
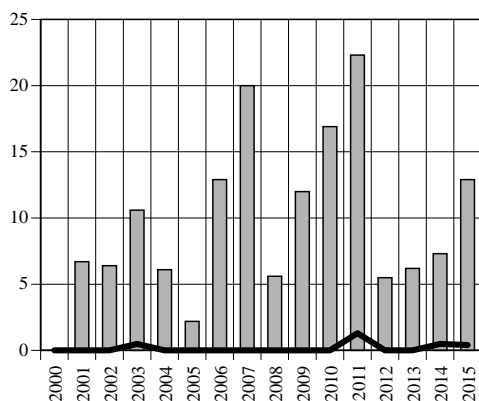


図 7 Ceftriaxon 非感受性率(%)



線 : CLSI break point  
棒 : EUCAST break point

これらの結果より現時点で淋菌感染症に有効な薬剤は SPCM と CTRX であることが判明した。  
さらに咽頭分離株と尿道分離株および子宮頸管分離株の耐性率を比較したところ差はないことが判明した。

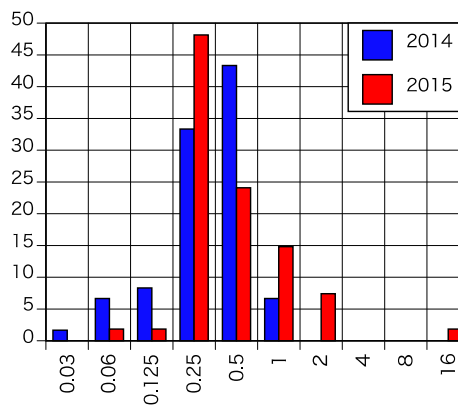
表 2 部位別の耐性率

抗菌薬	部位	%
CTR (EUCAST)	尿道	7.8
	咽頭	9.6
	子宮	10.9
CTR (CLSI)	尿道	0.2
	咽頭	0.0
	子宮	0.0
AZM	尿道	50.7
	咽頭	46.6
	子宮	43.6
LVFX	尿道	73.4
	咽頭	68.5
	子宮	72.7

しかし SPCM は咽頭への移行が悪いことより、現時点で淋菌咽頭感染には CTRX のみが有効であることが推察された。

(3) 仙台市における AZM 耐性淋菌の増加  
仙台市では 2014 年から 2015 年にかけて AZM の耐性菌が有意に増加していた。

図 8 仙台市における AZM の MIC 分布



そこで AZM の男子尿道炎に対する治療効果について検討したところ、有効率が著明に低下していることがわかった。

図 9 仙台市における AZM の治療効果

MIC	菌株数			
	2014		2015	
	有効	無効	有効	無効
0.03	1	0	0	0
0.06	3	0	1	0
0.125	4	0	0	0
0.25	9	0	12	0
0.5	10	2	5	3
1	0	0	2	1
2	0	0	0	2
不明	3	0	3	0
計	30 (93.8%)	2	23 (79.3%)	6

この結果からも AZM は淋菌咽頭感染の治療には用いることが出来ないと考えられた。

(4) CTRX 耐性菌  
検討菌株中 CTRX の MIC が 0.5mg/L を示す株が 8 株存在した。これらのうち 2015 年までの 6 株について耐性機構について検討を行ったところ全ての株で PBP2 のモザイク様変化が認められた。

## (5) 淋菌咽頭感染に有効な抗菌薬治療の検討

(1) ~ (4)までの結果より現時点では淋菌感染症に対しては CTRX のみが有効な抗菌力を有していると考えられた。

淋菌感染症において抗菌薬の有効性を推測する手段として Therapeutic time がある。尿道炎の場合この時間が 10 時間以上、咽頭感染の場合は 30 時間以上あれば 95%以上の有効率が期待される。今回の検討では CTRX の MIC が最も高かったのは 0.5mg/L であるが、この場合日本で推奨されている CTRX1g 単回投与の Therapeutic time は 44.4 時間であった。このことより CTRX 1g 単回投与は淋菌咽頭感染の治療に有効であることが推察された。

現在淋菌咽頭感染に対し CTRX 1g 単回投与の検討を行っている。30 例中治療後に核酸増幅法で陽性が 3 例、培養陽性が 1 例であった。しかしこの治療効果判定に関してはいくつか問題があることが判明した。治療効果の判定には培養や核酸増幅法を使用するが、培養法は口腔内の細菌が多量に採取されるため分離培養が難しく、偽陰性の可能性が否定できない。一方核酸増幅法は治療効果があっても核酸が存在する限り陽性となること、さらに口腔内常在菌である他の *Neisseria* 属がクロスし陽性となる可能性がある、つまり偽陽性の可能性が否定できない。従って今後淋菌咽頭感染の治療効果を正しく判定する方法の開発が望まれる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 9 件)

Yasuda M, Hatazaki K, Ito S, Kitanohara M, Yoh M, Kijima M, Narita H, Kido A, Miyata K, Deguchi T: Antimicrobial Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* in Japan from 2000 to 2015. Sex Transm Dis. 44, 149-153, 2017. 査読有り

Yasuda M, Ito S, Hatazaki K, Deguchi T. Remarkable increase of *Neisseria gonorrhoeae* with decreased susceptibility of azithromycin and increase in the failure of azithromycin therapy in male gonococcal urethritis in Sendai in 2015. J Infect Chemother. 2016;22:841-843. 査読有り

Ito S, Yasuda M, Hatazaki K, Mizutani K, Tsuchiya T, Yokoi S, Nakano M, Deguchi T. Microbiological efficacy and tolerability of a single-dose regimen of 1 g of ceftriaxone in men with gonococcal urethritis. J Antimicrob Chemother. 2016;71:2559-2562. 査読有り

Seike K, Yasuda M, Hatazaki K, Mizutani K, Yuhara K, Ito Y, Fujimoto Y, Ito S, Tsuchiya T, Yokoi S, Nakano M, Deguchi T. Novel *penA* mutations identified in *Neisseria gonorrhoeae* with decreased susceptibility to ceftriaxone isolated between 2000 and 2014 in Japan. J Antimicrob Chemother. 2016;71:2466-2470. 査読有り

Deguchi T, Yasuda M, Hatazaki K, Kameyama K, Horie K, Kato T, Mizutani K, Seike K, Tsuchiya T, Yokoi S, Nakano M, Yoh M. New Clinical Strain of *Neisseria gonorrhoeae* with Decreased Susceptibility to Ceftriaxone, Japan. Emerg Infect Dis. 2016;22:142-144. 査読有り

Yasuda M, Muratani T, Ishikawa K, Kiyota H, Sakata H, Shigemura K, Takahashi S, Hamasuna R, Hayami H, Mikano H, Yamamoto S, Watanabe T, Arakawa S. Japanese guideline for clinical research of antimicrobial agents on urogenital infections: second edition. J Infect Chemother. 2016;22:651-661. 査読有り

伊藤 晋, 伊藤貴子, 簗崎恭子, 安田 満, 高橋 聡, 出口 隆. 男子尿道炎診療における口腔・咽頭の重要性と問題点, 日本性感染症学会誌 2016 年; 27 巻: 29 - 41. 査読有り

Yasuda M, Ito S, Kido A, Hamano K, Uchijima Y, Uwatoko N, Kusuyama H, Watanabe A, Miyamura R, Miyata K, Deguchi T. A single 2 g oral dose of extended-release azithromycin for treatment of gonococcal urethritis. J Antimicrob Chemother. 2014;69:3116-3118. 査読有り

Deguchi T, Yasuda M, Tsuchiya T, Yokoi S, Ito S. Decreased susceptibility to cephalosporins among gonococci? Lancet Infect Dis. 2014;14:185-186. 査読有り

〔学会発表〕(計 13 件)

安田 満、尿道炎原因菌に対する抗菌活性; 淋菌に対する抗菌活性、日本性感染症学会第 29 回学術大会、2016 年 12 月 4 日、岡山市

Yasuda M, Clinical trials for Gonococcal Urethritis by Azithromycin 2g Single Dose, 19<sup>th</sup> IUSTI Asia-Pacific conference, 2016 年 12 月 1 日、岡山市

安田 満、尿路性器感染症に関する臨床試験実施のためのガイドライン 第 2 版、第 64

回日本化学療法学会総会、2016年6月11日、  
神戸市

安田 満、岐阜県における性感染症教育の  
取り組み～岐阜県性感染症教育研究会の活  
動について～、第12回思春期性教育・性感  
染症研究会、2016年4月24日、仙台市

安田 満、性感染症ガイドライン、第104  
回日本泌尿器科学会総会、2016年4月23日、  
仙台市

安田 満、三学会合同抗菌薬感受性サーベ  
イランス報告 尿道炎、第90回日本感染症  
学会総会、2016年4月16日、仙台市

安田 満、岐阜県における尿道炎・子宮頸  
管炎 関すガイドライン、診断・治療に関す  
るアンケート調査、第85回日本感染症学会  
西日本地方会学術集会、第58回日本感染症  
学会中日本地方会学術集会、第63回日本化  
学療法学会西日本支部総会、2015年10月17  
日、奈良市

安田 満、尿路性器感染症に関する臨床試  
験実施のためのガイドライン改訂委員会報  
告、第85回日本感染症学会西日本地方会学  
術集会、第58回日本感染症学会中日本地  
方会学術集会、第63回日本化学療法学会西  
日本支部総会、2015年10月16日、奈良市

安田 満、性感染症ガイドラインの正しい  
読み方、第80回日本泌尿器科学会東部総会、  
2015年9月26日、東京

安田 満、岐阜県における尿道炎・子宮頸  
管炎の診断・治療に関するアンケート調査、  
日本性感染症学会第27回学術大会、2014年  
12月7日、神戸市

安田 満、淋菌感染症治療の標準化に向け  
て、日本性感染症学会第27回学術大会、2014  
年12月7日、神戸市

安田 満、2013年に男子淋菌性尿道炎患者  
より分離された淋菌の薬剤感受性報告、日本  
性感染症学会第27回学術大会、2014年12月  
6日、神戸市

安田 満、泌尿器感染症、第62回日本化  
学療法学会西日本支部総会、第57回日本感  
染症学会中日本地方会学術集会、第84回日  
本感染症学会西日本地方会学術集会、2014年  
10月24日、岡山市

〔図書〕(計2件)

安田 満 .性感染症:門脇 隆,小室一成,  
宮地良樹監修. 日常診療に活かす診療ガイド  
ライン UP TO DATE 2016-2017, 東京:メデ  
ィカルレビュー社; 2016年: 35 - 43. 査読な

し

安田 満. 性感染症(男子):水口 雅, 市  
橋 光, 崎山 弘総編集. 今日の小児治療  
指針 第16版, 東京:医学書院; 2015年:  
738 - 739. 査読なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

安田 満 (YASUDA, Mitsuru)  
岐阜大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号: 90311703

(2)研究分担者

出口 隆 (DEGUCHI Takashi)  
岐阜大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号: 40163935