

真菌の薬剤耐性化の現状は？ そして今後は？

Epidemiology of antifungal resistance : current status and future perspective

やま ぐち ひで よ
山 口 英 世
Hideyo YAMAGUCHI

はじめに

真菌感染症対策は、予防、診断、治療のいずれの面でもこの20年の間に随分と進歩しました。それにもかかわらず、侵襲性のカンジダ症やアスペルギルス症をはじめとする重篤な真菌感染症が、依然として高い頻度で発生し、死因に大きくかかわっていることは、剖検データの解析結果から明らかです¹⁾。特に免疫不全患者においては病態や予後を悪化させる重大な脅威であり続けています。真菌感染症対策の鍵を握っているのはいうまでもなく抗真菌薬ですが、質(有用性)・量(種類・クラスの数)ともにまだまだ十分といえるところまでは来ていません。この状況を端的に示しているのが、カンジダ症40%、アスペルギルス症60%、接合菌症40~90%という

高い死亡率です^{1~4)}。

表1に示すように、現在わが国で臨床導入されている抗真菌薬は、成分としてはミコナゾール(MCZ)、フルコナゾール(FLCZ)、イトラコナゾール(ITCZ)、ボリコナゾール(VRCZ)、フルシトシン(5-FC)、アムホテリシン(AMPH)、およびミカファンギン(MCFG)の7種類にとどまっています。さらにクラスとなると、アゾール系(イミダゾール系+トリアゾール系)、フロロピリミジン系、ポリエン系、キャンディン系のたった4つを数えるに過ぎません。それだけに、1つでも主要な抗真菌薬に薬剤耐性の問題が生じたとしたら、真菌感染症の治療にどれほど深刻な影響を与えるかは、抗菌薬に耐性となった細菌による感染症がどんな事態をひき起こしたかを考えれば明白です。その代表的な例は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)による菌血症であり、死亡リスク

表1 わが国で臨床導入されている抗真菌薬の *Candida* spp. などにおける標的分子、主な作用メカニズムおよび耐性メカニズム

クラス	抗真菌薬(成分として)	標的分子	主な作用メカニズム	主な耐性メカニズム
アゾール系 (イミダゾール系)	ミコナゾール(MCZ)	シトクロム P450 ステロール 14 α -デメチラーゼ(CYP51) ^{c)}	エルゴステロール合成 阻害(→細胞膜障害)	・薬剤の細胞外排出促進 (排出ポンプ ^{d)} の機能亢進) ・CYP51の増加 ・CYP51の構造変化
アゾール系 (トリアゾール系)	フルコナゾール(FLCZ) ^{a)}			
	イトラコナゾール(ITCZ)			
	ボリコナゾール(VRCZ)			
フロロピリミジン系	フルシトシン(5-FC)	チミジン酸合成酵素	DNA合成阻害	ウラシル ホスホリボシル トランスフェラーゼの欠損 または活性低下による活 性代謝物の不生成
ポリエン系	アムホテリシン B(AMPH) ^{b)}	細胞膜エルゴステロール	細胞膜障害	ステロール合成系の変化 によるポリエン低親和性 ステロールの生成
キャンディン系	ミカファンギン(MCFG)	(1,3) β -D-グルカン合成酵素	(1,3) β -D-グルカン合成 阻害(→細胞壁形成障害)	(1,3) β -D-グルカン合成 酵素の構造変化

a) ホスフルコナゾール(FLCZのプロドラッグ)を含む。

b) アムビゾーム(リボソーム化AMPH)を含む。

c) シトクロム P450 アイソザイムの1つ、P450_{14DM}とも表記される。

d) 主要な薬剤排出ポンプとして働く分子は、ATP-binding cassette(ABC)に属するCDR群、特にCDR1とCDR2、とよばれる糖タンパク質。

は通常の黄色ブドウ球菌の場合にくらべて倍増したというメタアナリシスの結果が報告されています⁵⁾。これに同じクラスの薬剤間での交叉耐性の問題が加わるとなれば、ことはより一層深刻です。

薬剤耐性は、抗菌薬や抗真菌薬に限らず、抗ウイルス薬、抗原虫薬、さらには抗がん剤も含めてあらゆるジャンルの化学療法薬に共通してみられるいわば宿命的ともいえる避けては通れない化学療法上の大問題です。ここでは本題の主旨に沿って、国内外における抗真菌薬耐性の疫学的状況を、これまで発表されたさまざまな感受性サーベイランスのデータに基づいて考察していきたいと思えます。それに先立って、抗真菌薬耐性の特徴を理解して頂くために、関連する幾つかの事項について解説と私見を述べることにいたします。重要なテーマだけに、これまで抗真菌薬耐性の疫学に触れた総説は少なくありませんが、そのなかで私が特に参考にしたものを幾つかあげておきます^{6~11)}。

I. 薬剤耐性とは

一般的に言えば、微生物の薬剤耐性 (drug resistance) は、その微生物に対するある抗微生物薬の最小発育阻止濃度 (MIC) が、耐性と解釈されるブレイクポイントを上回っていることと定義されます。この微生物が真菌であれば真菌の抗真菌薬耐性 (antifungal resistance) ということになり、細菌ならば細菌の抗菌薬耐性 (antibacterial resistance) と表現されます。

さらに薬剤耐性は、一次耐性 (または自然耐性) と二次耐性 (または獲得耐性) とに分けられます。一次耐性は特定の微生物にもともと備わった遺伝的な特性なので、菌種によってどんな薬剤に一次耐性を示すかが決まっています。真菌の例としては、FLCZ に対する *Aspergillus* spp. や MCFG に対する *Cryptococcus neoformans* などがあげられますし、また同一菌種でも一次耐性を示す菌株とそうでない菌株がある場合 (例、5-FC に対する *Candida albicans*) も知られています。したがって、一次耐性に関しては、治療薬の選択には原因菌として分離された菌株の菌種同定がまず必要になるわけです。

一方、二次耐性は、それまで感性だった (つまり一次耐性でなかった) 微生物が薬剤に曝露された後

にはじめて生じる耐性のことであり、多くの場合、薬剤感受性にかかわる遺伝子の変異と発現に起因します。その好例は後で述べる *C. albicans* の FLCZ 耐性¹²⁾ や *Aspergillus fumigatus* の ITCZ 耐性¹³⁾ などであり、臨床的に問題となる抗真菌薬耐性の多くはこのタイプに属します。遺伝子の変異によって耐性化したクローンはその微生物株の細胞集団のなかではごく少数派に過ぎませんから、自然の状態ならば集団としては感性のままです。しかし治療や予防のために投与された抗真菌薬への曝露という選択圧が働くことによって集団内の感性菌が排除され、残った耐性菌がそれと入れ換わる結果、集団全体すなわち菌株のレベルで耐性が変わるわけです。つまり変異と選択が二次耐性の基本的な仕組みということになります。二次耐性の臨床的インパクトをさらに大きくしているのは交叉耐性の成立です。異なるアゾール系薬の間での交叉耐性が *Candida* spp. や *Aspergillus* spp. の多くの二次耐性株で認められており、有用な薬剤メンバーを幾つも擁しているこのクラスの抗真菌薬にとっては、とりわけ重大な問題です^{9,14)}。一般に、二次耐性は 5-FC やアゾール系薬に対して起こりやすく、一方、AMPH についてはほとんど起こらないとされてきました。しかしまれではありますが、特定の *Candida* spp. (*C. glabrata*, *C. krusei*, および *C. albicans*) による播種性カンジダ症の治療中に AMPH に対する耐性化が起こったという事例が報告されています⁶⁾。

気を付けなければならないのは、二次耐性と紛らわしい一次耐性があることです。抗真菌スペクトルのうへでは感性として扱われている菌種でも、耐性を示す菌株を含む場合が少なからずあるからです。かつて *Candida* spp. 臨床分離株の約 10% は 5-FC に対して一次耐性だといわれましたし、またポリエン系薬 (AMPH など) に対する一次耐性が *C. lusitaniae* ではしばしば、*C. guilliermondii* でも時に見出されることが知られています⁸⁾。感性とされている菌種の分離株であっても、抗真菌薬感受性試験を行って薬剤感受性を確認する必要があるのはそのためです。さらに重要な点は、抗真菌薬の予防投与や治療が選択圧として働くのは、何も二次耐性の場合に限ったことではなく、一次耐性菌または低感受性菌に対しても発育を優勢にし、そうした菌による新たな感染 (ブレイクスルー感染とよべれます) をひき

起こす場合もあることです。その典型的な例としては、FLCZを用いて予防投与や経験的治療を行っている最中に、*C. krusei*や*C. glabrata*をはじめとするFLCZ耐性または低感受性のnon-*albicans Candida*の感染が起こりやすいこと¹⁵⁾、VRCZおよびMCFGによる治療がそれぞれ当該抗真菌薬に対して一次耐性である接合菌および*Trichosporon spp.*の感染を続発させること^{16,17)}、などがあげられます。

ここでもう1つ触れておきたいのは、臨床的耐性(clinical resistance)という概念です。これは抗微生物スペクトルからみて一次耐性でないと判断される(したがって有効性が期待できる)抗微生物薬による治療を行ったにもかかわらず、感染が持続または進行する、つまり治療が奏効しないことをいいます。その原因の1つは、いうまでもなく原因微生物の耐性化ですが、そればかりではありません。さまざまな微生物側因子、薬剤側因子、そして生体側因子も関与します。主な微生物側因子としては感染菌の菌量が大いことや毒力が強いこと、薬剤側因子としては静菌的にしか働かない作用様式、不適切な投与方法(用量、回数、期間)、好ましくない薬剤特性(薬物動態、薬物間相互作用、忍容性・毒性)などがあります。また生体側因子としては、重度の免疫不全、重篤な病態、異物(例、カテーテル、人工心臓弁)の体内留置とバイオフィーム形成、薬剤が到達しにくい病巣(例、膿瘍、空洞)の形成などがあげられます⁶⁾。しかも各々の因子は、感染菌を生体内に長期間生残させて、薬剤耐性化をさらに促進させる方向に働く点も忘れてはなりません。このように薬剤耐性と臨床的耐性とは、本来似て非なる概念ですが、互いに密接に関連していることは疑いない事実です。

II. 抗真菌薬耐性の判定と現行の感受性試験法の限界

前の項で述べたように、分離された菌株が何らかの薬剤に対して耐性か否かを判断するためには、①標準化された薬剤感受性試験法によるMICの測定が可能なこと、②得られたMICの値が感性与耐性のどちらを意味するのかを判定するためのブレイクポイントが確立されていること、がいずれも必要条件となります。したがって薬剤感受性試験は、臨床的に重要な菌種と薬剤を網羅していることに加え

て、できるだけ多くの菌種-薬剤の組み合わせについてブレイクポイントが設定されていることが望ましいわけです。この2つの条件は、主な抗菌薬についてはほぼ完全にクリアされているとあってよいのですが、肝腎の真菌感染症原因菌と抗真菌薬の組み合わせについてはどうなのでしょう。

真菌の抗真菌薬感受性試験法の標準化はかなり難航しましたが、CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) 法に代表されるグローバルレベルの標準法が1990年代から2000年代にかけてようやく確立に漕ぎつきました。酵母を対象とするM27-A(最新の改訂版はM27-A3¹⁸⁾)の方法と糸状菌を対象とするM38-A(最新改訂版はM38-A2¹⁹⁾)の方法がそれです。いずれも液体希釈法をベースにした試験法ですが、そのほかにディスク拡散法に基づくM44-A(最新改訂版はM44-A2²⁰⁾)の方法もあります(詳細については前回の「臨床検査ひとくちメモ」²¹⁾を参照してください)。このように抗真菌薬感受性試験法の標準化については長年の願が一応かなったわけですが、ブレイクポイント設定の問題のほうは大半が検討中の段階にあります。*In vitro* 活性(MIC)と*in vivo* (特にヒトでの)治療効果との相関性や、MICとPK/PDパラメータ関係などから、ブレイクポイントが何とか設定されているのは、*Candida spp.*とトリアゾール系薬(FLCZ, ITCZ, VRCZ)、5-FC、それに予備的ながらキャンディン系薬(MCFGなど)との組み合わせだけです^{22,23)}(表2)。したがって、これ以外のさまざまな真菌-抗真菌薬の組み合わせについては、今のところすべての研究者が納得するようなブレイクポイントつまり耐性の判定基準が定められていないので、厳密に言えば耐性かそうでないかは誰も判定できないということになります。

しかしそれでは抗真菌薬感受性についての疫学的研究や耐性菌のサーベイランスなどに大きな支障を来すこととなります。そのために、たとえ*in vitro/in vivo* 相関性が明確でなくとも、一定の根拠があれば、MICがある濃度以上に達した菌株を耐性菌と見なすということが実際には行われています。耐性菌と見なす根拠としてふつう用いられる基準は、①大多数の菌株のMIC分布範囲を上回る高いMIC値を示し、しかも分離頻度が低いこと、そして②臨床的耐性(治療不成功)の患者から分離されることです。このやり方で、酵母に関しては*Cr. neoformans*のFLCZ

表2 *Candida* spp. に対する各種抗真菌薬の MIC を解釈するための CLSI M27 ガイドライン (CLSI M27-S3²²⁾ の記載を一部改変)

クラス	抗真菌薬 ^{a)}	感受性カテゴリーとブレイクポイント、MIC (μg/ml)				
		感性 (S)	用量依存的感性 (S-DD)	中等度耐性 (I)	耐性 (R)	不感性 ^{b)} (NS)
アゾール系	FLCZ	≤ 8	16 ~ 32	—	≥ 64	—
	ITCZ	≤ 0.125	0.25 ~ 0.5	—	≥ 1	—
	VRCZ	≤ 1	—	—	≥ 4	—
フロロピリミジン系	5-FC	≤ 4	—	8 ~ 16	≥ 32	—
キャンディン系	MCFG	≤ 2	—	—	—	> 2

- a) もとのガイドラインには、ほかにアゾール系薬として posaconazole、キャンディン系薬として caspofungin と anidulafungin が含まれているが、いずれもわが国では未承認の抗真菌薬なので割愛した。
 b) 明らかな耐性を示す臨床分離株についての解析がなされていないことから「感性 (S)」とは判定できない菌株という意味で「不感性 (NS)」と表現されているが、事実上の「耐性 (R)」に相当するものと考えられる。

耐性^{24, 25)} (ブレイクポイントは未設定) や *Candida* spp. の AMPH 耐性 (MIC, > 1μg/ml)¹⁸⁾ が推定されてきました。一方、糸状菌については、CLSI M38-A2 ガイドライン¹⁹⁾ には、あいまいな表現ながら、主要な抗真菌薬に対する *Aspergillus* spp. の耐性を判定するためのブレイクポイントとして、AMPH については > 2μg/ml, ITCZ, VRCZ その他の広域トリアゾール系薬については ≥ 4μg/ml、が各々提示されています。しかし主としてヨーロッパの専門家の間では、*A. fumigatus* に対する ITCZ の MIC については 8μg/ml 以上を耐性とするのが妥当との意見があり^{13, 26)}、そうした場合に *in vitro* 耐性と *in vivo* 耐性が相関するといっています^{27, 28)}。

以上述べたのが CLSI の耐性ブレイクポイントについてですが、ヨーロッパの抗真菌薬感受性試験標準化委員会 (Antifungal Susceptibility Testing Subcommittee of EUCAST ; 略称 EUCAST-AFST) は、これとは別のブレイクポイントを提案しています²⁹⁾。それは両者の試験法が、接種菌量、培地、MIC 判定法などの点でことなるためですので、決して両者を混同しないように注意する必要があります。このように抗真菌薬耐性の判定基準をめぐっては、多くの課題を今後に残しているのが現状です。

Ⅲ. 抗真菌薬耐性と抗菌薬耐性の比較

同じ薬剤耐性と呼ばれてはいても、日頃からなじみの深い抗菌薬耐性と抗真菌薬耐性との間にはさまざまな違いがあります。その違いを知ることによって、抗真菌薬耐性の特徴が一層よく理解できると思えます。

(i) 標的微生物の細胞構造³⁰⁾ 細胞壁と細胞膜は、真菌と細菌に共通して存在する細胞表面の構造体ですが、その構成成分には特徴的な違いがあります。真菌の細胞壁の骨格となる成分は β-グルカンおよびキチンという 2 つのタイプの多糖です。それに対して、細菌の細胞壁ではペプチドグリカンが骨格の役割を担っています。細胞膜を見ると、真菌では必須脂質成分としてエルゴステロールが含まれていますが、細菌にはどんな種類のステロールも存在しません。またリボソームについても、真菌では 80S タイプ (60S+40S サブユニット)、細菌では 70S タイプ (50S+30S サブユニット)、とサイズも別々なら、構成する RNA やタンパク質の種類も各々異なります。両微生物群の間にみられるこうした細胞構造の特徴は、次に述べるように抗微生物薬の作用標的分子、したがって作用メカニズムや耐性メカニズムの違いにも大きく反映されます。

(ii) 作用標的分子 表 1 に示すように、抗真菌薬の主な標的分子は次のように薬剤のクラスによってさまざまです^{6~11, 31, 32)}。①エルゴステロール合成経路上の必須酵素であるシトクロム P450 ステロール 14α-デメチラーゼ (アゾール系薬)、②細胞膜エルゴステロール分子 (AMPH)、③チミジン酸合成酵素 (5-FC)、④ (1 → 3) β-D-グルカン合成酵素 (キャンディン系薬)。DNA 合成を阻害する 5-FC の場合を別にすれば、いずれも細胞膜または細胞壁の構造・機能にかかわる分子です。これに対して、主要な抗菌薬の作用標的分子としては、①ペプチドグリカン形成過程の最終段階である架橋反応を触媒するトランスペプチダーゼ (β-ラクタム系薬)、②メッセンジャー RNA のタンパク質への翻訳、すなわち

タンパク合成の場となる70Sリボソーム(アミノグリコシド系薬、マクロライド系薬、テトラサイクリン系薬)、③トポイソメラーゼ(キノロン系薬)、などがあげられます⁷⁾。このように抗真菌薬と抗菌薬の間には、共通する作用標的分子(したがって作用メカニズム)がまったくみられません。ヌクレオシドアナログである5-FCの作用メカニズムに至っては、むしろ抗ウイルス薬のアシクロビルや抗がん剤の5-フルロウラシルにそっくりです。

(iii) 耐性メカニズム 抗菌薬に多くみられる耐性メカニズムは、①薬剤分子の修飾、②標的分子の修飾、③標的分子へのアクセスの低下、などです^{7,11,33)}。なかでも①は、 β -ラクタム系薬やアミノグリコシド系薬の耐性化にかかわる最も重要なメカニズムとして知られています。これに対して、抗真菌薬では、①の耐性メカニズムはどのクラスの薬剤抗真菌薬にもみられず、②と③に限られます(表1)^{6~11,31)}。

(iv) 遺伝子(耐性遺伝子を含む)伝達システム

細菌は、プラスミド、トランスポゾン、さらにはバクテリオファージなどさまざまな伝達手段を使って同一菌種内だけではなく、他の菌種との間でも容易に耐性遺伝子を交換することができます^{11,34,35)}。その結果、先にあげたMRSAや基質特異拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)産生グラム陰性桿菌にみられるように、特定の抗菌薬による選択圧がなくとも、耐性を速やかに発現させ、しかも広く伝播させることとなります³⁵⁾。これこそが抗菌薬耐性の最大の問題点です。一方、真菌はというと、細胞壁が無傷であれば(人為的にプロトプラスト化でもない限り)外来性のDNAを細胞内にとり込むことができません。また大多数の病原真菌には有性生殖能がなく、またその能力をもつ真菌も生体内では無性的にしか増殖しません。したがって、たとえ変異が起こって耐性になったとしても、その性質が遺伝的組みかえによって垂直伝播される可能性は著しく低いと考えられます³⁶⁾。さらに*C. albicans*をはじめ大半の病原真菌が2倍体(細菌はふつう1倍体)であることも耐性などの変異の発現を妨げています。一方の染色体にそうした変異が起こったとしても、もう片方の正常な対立遺伝子がそれを発現させないように補うからです。具体的な例としては、2倍体菌種である*C. albicans*のCDR排出ポンプの調節遺伝子の点変異が知られています³⁷⁾。しかも細菌と違っ

て真菌の場合には、直接伝染も間接伝染もごく特殊な例外を除いて、ほとんど認められません。それが耐性株であっても勿論同様です。こうした幾つもの理由から、真菌では、はからずも耐性の出現も伝播もきわめて起こりにくい仕組みになっており、私達にとって幸運というほかありません。

IV. *Candida* spp.についての各種抗真菌薬に対する世界規模の感受性サーベイランスと耐性の状況

前置きが長大長くなりましたが、そろそろ本論に入りたいと思います。抗真菌薬に対する感受性または耐性のサーベイランスを目的とする疫学的調査・研究は、FLCZをはじめとするアゾール系薬に対する*Candida* spp.の耐性に関して最も多く行われてきました。こうした耐性サーベイランスの実施を可能にしたのは、いうまでもなく抗真菌薬感受性試験法の標準化です。さらにそれを後押ししたのは、FLCZが臨床導入されて間もない1990年代初期の頃、口腔咽頭カンジダ症を発症してFLCZ療法を受けたAIDS患者の口腔内から、FLCZに耐性化した*C. albicans*が高頻度に(ある調査研究³⁸⁾では全体の1/3にもものぼる患者から)分離されたという出来事でした。これがきっかけとなって、その後、カンジダ血症などの侵襲性カンジダ症からの分離株についても、FLCZその他の抗真菌薬に対する感受性についての疫学的研究が活発に行われるようになったのです。

抗真菌薬耐性に関する最も有名なサーベイランスプログラムは、米国のSENTRY Antimicrobial Resistance Surveillance Program (SENTRY Program)です。これは、地理的な位置と施設の規模に基づいて世界各地から選ばれた定点病院の広いネットワークを介して、院内感染症ならびに市中感染症の主要な原因微生物と抗微生物薬耐性パターンを監視することを目的として、1997年に創設されたプログラムです。参加施設は、米国、カナダ、ラテンアメリカ、ヨーロッパを合わせて200以上にも及びます。監視の対象となる感染症には、菌血症と真菌血症(objective A)、外来患者と入院患者の呼吸器感染症(それぞれobjective B, C)、および入院患者の創傷感染症(objective D)と尿路感染症(objective E)

が各々含まれています。真菌感染症として該当するのは真菌血症、とくにカンジダ血症をはじめとする侵襲性カンジダ症ですが、最近では侵襲性の糸状菌感染症とくに侵襲性アスペルギルス症も調査対象に加えられるようになりました。表3は、1997年期から2006～2007年期まで逐年的に収集された *Candida* spp. 臨床分離株（大半は血液その他の体液検体由来）の各種抗真菌薬に対する耐性頻度を、主要菌種ごとにまとめたものの一覧です。ここには全部で6つの報告³⁸⁻⁴³⁾の解析結果が示されています。同じプログラムに基づくサーベイランスとはいっても、実施年によって調査内容に特徴がみられます。当初の対象抗真菌薬は FLCZ と ITCZ に限られていましたが、やがて VRCZ やキャンディン系のカスポファンギン (caspofungin ; CAS) なども加えられるようになりました。また1997年から2000年までの4年間の収集菌株をまとめた調査研究⁴¹⁾では、4つの年齢層に分けた集計・解析がなされています。

SENTRY Program と並んで規模の大きいグローバルレベルの抗真菌薬耐性サーベイランスのプログラムがもう1つあります。ARTEMIS Global Antifun-

gal Susceptibility Program (ARTEMIS Program) がそれです。このプログラムは、侵襲性の感染を引き起こす *Candida* spp. における FLCZ と VRCZ に対する耐性の動向に焦点を合わせて長期的なサーベイランスを行うこと、ならびにさまざまな液体希釈法およびディスク拡散法をベースとする抗真菌薬感受性試験システムの開発と評価を継続的にを行うことを目的として2001年に開始されました。この国際ネットワークへの参加施設の数には39カ国合せて127施設にのぼり、地域としては北米、ラテンアメリカ、ヨーロッパのほか、アフリカやアジアも含まれています。表4は、ARTEMIS Program のもとで実施された2001年期⁴⁴⁾、2001～2002年期⁴⁵⁾ および1997～2005年期⁴⁶⁾の各成績、ならびにそれとは別にキャンディン系薬を主な対象薬としたグローバルレベルの3つの感受性サーベイランス⁴⁷⁻⁴⁹⁾の結果を併せて示したものです。

表3と表4にまとめた1997年から2007年までの10年間に実施されたアゾール系薬を中心とする11件のグローバルサーベイランスの報告の全体を通して眺めてみると、同じ菌種-抗真菌薬の組み合わせ

表3 SENTRY Program によるサーベイランスの逐年的報告にみられる *Candida* 主要菌種の各種抗真菌薬に対する耐性頻度

菌株収集年	解析菌株総数	抗真菌薬	主要菌種*の耐性頻度(%) ^{a)}						報 告
			<i>C. a.</i>	<i>C. gl.</i>	<i>C. p.</i>	<i>C. t.</i>	<i>C. k.</i>	<i>C. l.</i>	
1997	306	FLCZ	0.6	8.7	0	0	100	Pfaller et al (1998) ³⁸⁾	
		ITCZ	0.6	36.9	0	4.2	66.6		
1998	328	FLCZ	1.1	5.2	0	0	100	Pfaller et al (2000) ³⁹⁾	
		ITCZ	2.2	32.8	0	3.6	0		
1997	1,175 (3年間合計)	FLCZ	1	52	0	0	100	b) Pfaller et al (2001) ⁴⁰⁾	
		VRCZ	2	9	0	0	0		
1998		FLCZ	2	37	2	0	100		
		VRCZ	1	5	0	0	0		
1999		FLCZ	0	17	0	3	100		
		VRCZ	0	4	0	3	0		
1997～2000	2,047 (4年間合計)	FLCZ	0～2	27～30	0	0	80～91	b) c) Pfaller et al (2002) ⁴¹⁾	
		ITCZ	3～5	92～94	36～37	30～38	60～100		
		VRCZ	0～2	5～10	0	0	0		
2003	1,397	FLCZ	0.4	12.1	0.4	1.3	74.1	d) Messer et al (2006) ⁴²⁾	
		ITCZ	0.3	73.7	1.7	3.3	59.3		
		5-FC	1.8	0	0	9.2	55.6		
2006～2007	1,448	FLCZ	0	10.4	0	0	17.2	e) Messer et al (2009) ⁴³⁾	
		ITCZ	0.3	69.8	2.1	3.8	20.7		
		5-FC	2.0	0	1.3	4.5	3.4		
		AMPH	0	0	0.4	1.9	6.9		
		CAS	0	0	0.4	0	3.4		

* *C. a.* = *C. albicans*; *C. gl.* = *C. glabrata*; *C. p.* = *C. parapsilosis*; *C. t.* = *C. tropicalis*; *C. k.* = *C. krusei*; *C. l.* = *C. lusitaniae*

a) ミクロ液体希釈法 (CLSI M27-A) による測定結果に基づく。

b) 感性頻度のデータから耐性頻度を算出したため、用量依存性の感性株が耐性株としてカウントされている可能性がある。

c) 4つの年齢層 (1歳以下、2～15歳、16～64歳、65歳以上) に分けて集計されている。

d) VRCZ, AMPH についても MIC 測定がなされているが耐性頻度は示されていない。

e) AMPH については MIC > 1μg/ml を耐性と判定。

せなのに、一部の報告ではその耐性頻度にかげ離れた数値が見受けられます。しかし関連する文献などと合わせて考察しますと、各主要抗真菌薬に対する耐性のデータは、およそ次のように解釈することができるかと思えます。

1. アゾール系薬耐性

FLCZ 7つのサーベイランス報告にみられる *C. albicans*, *C. parapsilosis* および *C. tropicalis* の3菌種における全般的な耐性頻度は、それぞれ0～2%、1～3.6%、0～4.4%と低いレベルにあります。これに比べて、*C. glabrata* の耐性頻度は5.2～15.8%と増大し、*C. krusei* に至っては17.2～100%と最も高く、しかも最も幅広くバラついた耐性頻度を示しています。*C. krusei* は、FLCZに対して一次耐性を示す菌株を多数含む菌種（そのためにFLCZ耐性菌種とみなされている）です。しかもこれにFLCZの予防投与や治療といった選択圧が加わった結果、耐性株の出現頻度がさらに高くなったと推測されます。*C. glabrata* は *C. krusei* に次いでFLCZ感受性の低い菌種ですが、一次耐性株はそれほど多くありません。ところが頻般にFLCZの選択圧に曝された結果、急速に耐性化が進んだと考えられます。*C. glabrata* のFLCZ耐性はCDRとよばれる薬剤排出ポンプ分子の発現量増加によることが明らかにされており⁵⁰⁾、この菌種が病原真菌としては珍しく1倍体であることが変異した遺伝子の発現を容易にしている可能性

があります。*C. glabrata* のFLCZ耐性株の問題点は、ITCZやVRCZといった他のアゾール系薬に対しても、耐性とまではゆかないにしても、感受性が低下することです⁹⁾。一方、*C. krusei* の一次耐性株は、ITCZ、VRCZなどに対して交叉耐性を示すことはありません。これらの点については、後ほどもう少し詳しく述べたいと思います。

抗真菌薬の選択圧が真菌の耐性化を促す一方、その選択圧がゆるむと耐性が消失してしまう場合があることも事実のようです⁵¹⁻⁵³⁾。このタイプの一過性耐性の例は、FLCZ耐性 *C. albicans* による播種性カンジダ症を発症した骨髄移植患者で観察されています⁵¹⁾。

いずれにしても、サーベイランスのデータからは、どの菌種についてもFLCZ耐性頻度が経年的に上昇しているといった傾向は特にはないようです。したがって、*C. glabrata* や *C. krusei* にみられる耐性頻度の高さや幅の大きさは、おそらく施設間における収容患者の発症リスクやそれに対する予防・治療法の違いなどによる可能性が大きいことを思わせます。

ITCZ アゾール系薬の中では、最も解釈が困難な耐性パターンを示す結果が得られています。*C. albicans*, *C. parapsilosis* および *C. tropicalis* における平均的耐性頻度がそれぞれ0.6～1%、0～2.1%、3.3～4.2%と低い点は、FLCZの場合と同様です。しかし、*C. glabrata* における耐性頻度が32.8～69.8%と

表4 ARTEMIS Program その他の SENTRY Program 以外のグローバルサーベイランスの報告にみられる *Candida* 主要菌種の各種抗真菌薬に対する耐性頻度

菌株収集年	解析菌株総数	抗真菌薬	主要菌種*の耐性頻度 (%)							報告
			<i>C. a.</i>	<i>C. gl.</i>	<i>C. p.</i>	<i>C. t.</i>	<i>C. k.</i>	<i>C. gu.</i>	<i>C. l.</i>	
2001	1,586	FLCZ	1/1 ^{b)}	7/14	0/0	1/0	44/63	—	4/4	Pfaller et al (2003) ⁴⁴⁾ [ARTEMIS Program]
		VRCZ	1/1	3/5	0/0	0/0	0/0	—	0/0	
2001～2002	3,932	FLCZ	1 ^{b)}	9	1	1	31	—	2	Pfaller et al (2004) ⁴⁵⁾ [ARTEMIS Program]
		VRCZ	1	4	1	1	0	—	0	
1997～2005	205,329	FLCZ	1.5 ^{b)}	15.8	3.6	4.4	77.8	10.7	4.7	Pfaller et al (2007) ⁴⁶⁾ [ARTEMIS Program]
		VRCZ	1.2	10.1	1.9	5.8	7.7	5.2	2.1	
記載なし	3,959	CAS ^{a)}	1 ^{b)}	1	13	2	0	93	0	Pfaller et al (2003) ⁴⁷⁾
		ITCZ	2	54	1	4	43	52	2	
2001～2004	8,197	CAS ^{a)}	1 ^{c)}	1	1	1	0	4	1	Pfaller et al (2006) ⁴⁸⁾
2004～2005	2,656	MCFG ^{a)}	0 ^{b)}	0	0	0	0	0	0	Pfaller et al (2006) ⁴⁹⁾
		CAS	0	<1	<1	<1	0	7	0	

* *C. a.* = *C. albicans*; *C. gl.* = *C. glabrata*; *C. p.* = *C. parapsilosis*; *C. t.* = *C. tropicalis*; *C. k.* = *C. krusei*; *C. gu.* = *C. guilliermondii*; *C. l.* = *C. lusitanae*

a) MIC > 2μg/ml を耐性と判定。

b) 分子と分母の値はそれぞれマイクロ液体希釈法 (CLSI M27-A) および Etest による測定結果に基づく。

c) ミクロ液体希釈法 (CLSI M27-A) による測定結果に基づく。

極端に高いこと、また FLCZ の場合に比べて耐性頻度が低いとされる *C. krusei* において、0%とする1つのサーベイランスを除いて、20%以上（多くは40%以上）の耐性頻度が示されていることは、いずれも説明が付きにくい結果です。この問題については後ほどあらためて触れたいと思います。

VRCZ FLCZ や ITCZ よりも全般的な耐性頻度はさらに低く、*C. albicans*, *C. parapsilosis* および *C. tropicalis* ではそれぞれ1~1.2%、0~1.9%、0~5.8%という低レベルですし、*C. krusei* ですら0~7.7%に過ぎません。最も耐性頻度が高い菌種は *C. glabrata* ですが、それでも3~10%の範囲にとどまっています。

一般に、耐性頻度の年次的動向を知るためには、以上述べたような調査年期の異なる単一年次の個々のサーベイランスのデータを突き合わせるよりも、直接比較が可能な長期研究 (longitudinal study) のデータに基づくほうがはるかに信頼できます。ARTEMIS Program の感受性サーベイランスのなかにそうした目的で解析を行った報告⁴⁶⁾がありますので、そのなかの耐性頻度に関する部分のデータを表5にまとめてみました（なおこの表にはわが国の JAS Program によるサーベイランス^{54~56)}のデータも並記されていますが、これについては後ほど説明します）。結論的にいいますと、*Candida* spp. のどの菌種においても FLCZ および VRCZ に対する耐性頻度は調査され

表5 ARTEMIS Program によるグローバルサーベイランス⁴⁶⁾ および JAS Program による日本国内サーベイランス^{54~56)} が示す 2000 年代前半における *Candida* 主要菌種の各種抗真菌薬に対する耐性頻度の動向

<i>Candida</i> 菌種	サーベイランスプログラム	抗真菌薬	菌株収集年別の耐性頻度 (%)					
			1997~2000年	2001年	2002年	2003年	2004年	2005年
<i>C. albicans</i>	ARTEMIS Program	FLCZ VRCZ	0.9	1.0 0.8	1.5 1.1	1.4 1.1	1.6 1.5	1.6 1.5
	JAS Program	FLCZ ITCZ VRCZ		0.6 0.6 0.6		0 0 0		0 0 0
<i>C. glabrata</i>	ARTEMIS Program	FLCZ VRCZ	19.2	18.3 9.8	14.7 8.5	16.9 11.5	14.3 10.4	15.2 9.6
	JAS Program	FLCZ ITCZ VRCZ		3.8 2.3 3.1		2.2 1.1 1.1		7.5 9.3 1.9
<i>C. parapsilosis</i>	ARTEMIS Program	FLCZ VRCZ	2.5	4.2 1.9	2.9 2.3	3.1 1.5	3.3 1.9	4.2 1.9
	JAS Program	FLCZ ITCZ VRCZ		0 0 0		0 0 0		0 0 0
<i>C. tropicalis</i>	ARTEMIS Program	FLCZ VRCZ	3.6	3.0 4.7	6.6 8.1	5.0 6.7	3.5 4.9	3.8 4.5
	JAS Program	FLCZ ITCZ VRCZ		1.8 3.5 1.8		0 3.5 0		4.3 2.2 2.2
<i>C. krusei</i>	ARTEMIS Program	FLCZ VRCZ	65.8	70.4 8.0	78.9 6.1	80.2 8.1	78.1 8.3	79.2 7.9
	JAS Program	FLCZ ITCZ VRCZ		0 0 0		57 0 0		93 14 14
<i>C. guilliermondii</i>	ARTEMIS Program	FLCZ VRCZ	12.5	11.7 4.2	10.5 5.5	8.0 4.6	10.1 5.1	14.5 6.5
	JAS Program	FLCZ ITCZ VRCZ		0 0 0		0 0 0		0 0 0
<i>C. lusitaniae</i>	ARTEMIS Program	FLCZ VRCZ	2.9	6.6 2.8	4.6 1.6	2.4 1.9	4.8 1.4	6.2 3.1
	JAS Program	FLCZ ITCZ VRCZ		16.7 0 0		0 0 0		0 0 0

解析菌株総数：ARTEMIS Program、205,441 株；JAS Program、1,486 株

た1997～2005年の約8.5年の間にほとんど変わっていない、つまり耐性化は進んでいない、と判断されます。

同じアゾール系薬といっても、抗真菌スペクトルが比較的狭いFLCZと、より広域のITCZ, VRCZなどでは、臨床的な位置づけがかなり異なります。前者がカンジダ症やクリプトコックス症などの酵母による感染症の治療・予防にしか使用されないのに対して、後者はさらにアスペルギルス症その他の糸状菌感染へも広く適応される（そのために広域アゾール系薬とも呼ばれる）からです。しかしどうかそれとも当然というべきか、両者間には多少とも交叉耐性が成立することが知られています⁵⁷⁾。ただしこの関係は菌種によって一様ではなく、先ほども触れたように*C. glabrata*のFLCZ耐性株は高い頻度でVRCZにも交叉耐性を示すことが、*in vitro*だけではなく、実際の症例でも確認されています^{58～60)}。それに比べて、大半の分離株がFLCZ耐性である*C. krusei*においては、VRCZとの*in vitro*交叉耐性は明らかに少なく⁵⁷⁾、実際にVRCZ療法が奏効した*C. krusei*感染症の事例が幾つも報告されています^{61～63)}。*C. krusei*のFLCZ耐性株にVRCZとの交叉耐性が起こりにくい理由は、アゾール系薬共通の作用標的であるCYP51に対するVRCZの結合親和性がFLCZよりもはるかに高いことにあると考えられます^{64, 65)}。これらの成績は、VRCZなどの広域アゾール系薬に対する耐性としては、*C. krusei*よりも*C. glabrata*での問題のほうが大きいことを示唆するものです。

2. 5-FC耐性

SENTRY Programのサーベイランス研究のなかで5-FCを対象薬に入れたものは2つしかありません(表3)。その結果では、耐性頻度が比較的高い菌種は*C. krusei*と*C. tropicalis*であり、1つのサーベイランスでは例外的に*C. krusei*が55.6%と高い値を示していますが、それを別にすれば、すべて10%以下の頻度です。5-FC耐性を歴史的にふり返ってみますと、本薬が欧米で臨床導入された1970年代初めから、*Candida* spp. (特に*C. albicans*)や*Cr. neoformans*における一次耐性および二次耐性に関する報告が多数ありました⁶⁶⁾。しかもこれらの報告には*C. albicans*の耐性頻度が10～15%と高いことが記されていたのです。しかしCLSI標準法による試

験が行われるようになると、実はそれが誤りであり、*Candida* spp.分離株の一次耐性の頻度は1～2%⁶⁷⁾、*Cr. neoformans*のそれは2%以下⁶⁸⁾といずれも低いこと、耐性株の多くは5-FC単独療法中に生じた二次耐性によること^{69, 70)}などが明らかにされました。したがって、先ほど述べた*C. krusei*の50%を越す高い耐性頻度は、もしかすると5-FCの不適切な使用が原因となって耐性化が進んだ施設が多数含まれていたことによるのかも知れません。こうしたことから、現在では5-FCは単独で使用すべきではないとされており、特にクリプトコックス髄膜炎に対してはAMPHなどの抗真菌薬との併用がもっぱら行われるようになりました^{71, 72)}。

3. AMPH耐性

Candida spp.のAMPH耐性に関する世界規模のサーベイランスとしては、2006～2007年のSENTRY Programの報告⁴³⁾があるだけです(表3)。それによれば、*C. albicans*をはじめほとんどすべての*Candida* spp.についてはAMPH耐性株は分離されていません。もっとも、*C. krusei*だけは分離株の耐性頻度が6.9%と幾分高いようです。これまで*Trichosporon* spp.とともにAMPH一次耐性株が多いといわれてきたのは*C. lusitaniae*でした^{73, 75)}。しかし意外なことに、このサーベイランスでは、*C. lusitaniae*の耐性株がまったく検出されていません。ただし、これらのデータはAMPH感性和耐性との識別能が低い⁷⁶⁾ミクロ液体希釈法(CLSI M27法など)を用いて得られたものであることに留意する必要があります。AMPH耐性株の検出にはディスク拡散法(CLSI M44法、Etestなど)のほうがすぐれているとされています⁷⁷⁾、今後はこの試験法によるAMPH耐性サーベイランスが、上記の*C. krusei*や*C. lusitaniae*、さらに耐性株が感染患者からしばしば分離されている*C. glabrata*⁷⁸⁾について、特に重要になるものと思われます。

4. キャンディン系薬(MCFG, CAS)耐性

現在、欧米ではキャンディン系抗真菌薬としてはCAS, MCFGおよびアニドラファンギン(anidulafungin)の3種類が臨床導入されています。これらの3つのキャンディン系薬に対する各*Candida* spp.の感受性が互いに良好に相関することは、幾つもの感受

性サーベイランス^{48, 49, 79, 80)}や統計解析⁹⁾の結果、さらには低感受性株または耐性株が感染した症例の研究^{81~83)}から明らかです。したがって、ある1つのキャンディン系薬について得られた感受性データはそのままそっくり他のキャンディン系薬に当てはめることができるというわけです。またすべての感受性サーベイランスの結果は、キャンディン系薬に対する感受性が *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae* などでは高く、*C. parapsilosis* と *C. guilliermondii* で低いことを示しています。これはキャンディン系薬が大多数の *Candida* spp. に対して濃度依存的な殺菌作用を示すもの^{84, 85)}、後者の低感受性の2菌種では静菌的にしか働かないことと関係があるようです⁸⁶⁾。

一般に、キャンディン系薬耐性株の分離頻度はきわめて低いとされていますが、これまで実施された世界規模の感受性サーベイランスの報告^{43, 47~49)}(表3、4)だけでは明確な答えを引き出すには時期尚早と考えられます。各報告の間で結果が一致しないからですが、*C. guilliermondii* の耐性頻度が最も高いことだけは確かです。この菌種と *C. parapsilosis* の耐性はおそらく一次耐性と思われそうですが、その一方、治療中に耐性を獲得した(すなわち二次耐性となった) *Candida* spp. としては、これらの菌種よりも *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* などの感染例のほうがむしろ目立ちます^{78, 82, 83, 87~90)}。

キャンディン系薬の感受性試験法は2008年に標準化されたばかりですし、*in vitro/in vivo* 相関性も確立されていなければ、ブレイクポイントも不確かです。また、このクラスの薬剤に対する感染菌の耐性化が原因となって治療が奏効しなかったという事例の報告もまだ少数にとどまっています⁹¹⁾。キャンディン系薬の使用が国内外で急拡大しているだけに、今後これらのすべての面について早急に検討を進めることが必要です。

5. 抗真菌薬耐性株の頻度は地域によって異なるか?

SENTRY Program の3報告^{38, 40, 42)}と ARTEMIS Program の1報告⁴⁸⁾では、感受性サーベイランスの対象とした各抗真菌薬についての菌種別耐性頻度を世界の地域ごとに集計・解析しています。SENTRY Program の地域区分は北米(または米国とカナダを個々に)、ラテンアメリカ、およびヨーロッパ、また

ARTEMIS Program ではそのほかにアフリカ・中近東とアジア・太平洋の2地域が加えられています。以上の4つの報告の結果をまとめたのが表6です。FLCZやITCZについては北米における耐性頻度が他の地域(アジア・太平洋地域を含む)をやや上回る傾向がありますが、その他の抗真菌薬についてはほとんど差がみられません。

ARTEMIS Program に参加しているアジア・太平洋地域の施設は5つあります。国別では台湾が2施設、インド、マレーシア、韓国が各1施設で、残念ながら日本からの参加はありません。このなかでサーベイランス活動に最も熱心な国は台湾であり、同国では全土の24施設からなる Taiwan Surveillance of Antimicrobial Resistance of Yeasts (TSARY) が組織され、疫学研究の結果を経年的に報告しています^{92, 93)}。一方、アジア・太平洋地域を代表する国でありながら、日本には抗真菌薬感受性を継続的に監視する組織やプログラムがまったく存在しないのはいかにも残念です。関連学会などを中心にその設置をぜひ考えて欲しいと願っています。

V. わが国における *Candida* spp. の各種抗真菌薬に対する耐性の状況

これまでわが国で臨床導入されてきた各種の抗真菌薬(表1)に対する *Candida* spp. 臨床分離株の耐性頻度がどの程度なのかを知りたくて、耐性サーベイランスに関する国内からの報告を検索してみました。そのなかで耐性頻度の記載があるか、または算出可能な11の報告の結果^{54~56, 94~103)}をまとめたのが表7です。その多くは国内の限局された地域における単独、または数カ所の施設で収集された比較的少数の臨床分離株についてのデータですが、全国規模で行われた調査研究も2つ含まれています。1つは高倉俊二博士を中心とする深在性真菌症サーベイランス研究会(Japan Invasive Mycosis Surveillance [JIMS] study group)によるサーベイランス⁹⁹⁾です。これは全国156の参加施設において、2001~2002年の1年間に収集されたカンジダ血流感染患者由来の *Candida* spp. 分離株535株を対象として、国内上市の6種の抗真菌薬(FLCZ, ITCZ, VRCZ, 5-FC, AMPH, MCFG)に対する感受性のサーベイランスを目的として行われました。もう1つの調査研究は

私が代表となって実施した Japan Antifungal Surveillance (JAS) Program に基づくものです⁵⁴⁻⁵⁶⁾。こちらの感受性サーベイランスは、2001年から2005年までの隔年3回にわたって毎回全国11施設で収集された酵母および糸状菌の臨床分離株総計1,561株について、アゾール系薬を中心とする各種抗真菌薬に対する感受性を調べた長期的研究です。そのなかに含まれていた *Candida* spp. 臨床株 1,486 株についての解析データを表7に示しました。

まず2つの大規模サーベイランス、JIMSとJAS Programにおける、FLCZならびにVRCZについての結果を比較しますと、アゾール系薬高感受性菌種とされる *C. albicans*, *C. parapsilosis* および *C. tropicalis* における FLCZ 耐性頻度 (それぞれ 1.8, 0.8, 3.2% vs. 0.2, 4.6, 0%)、VRCZ 耐性頻度 (それぞれ 1.4, 0.8, 4.8% vs. 0.2, 0, 1.5%) となります。いずれの薬剤、いずれの菌種についても両サーベイランスにおける耐性頻度に大きな違いはなく、最大でも

表6 幾つかのグローバルサーベイランスにおける *Candida* 主要菌種の各種抗真菌薬耐性頻度の世界地域別比較

菌株収集年 (解析菌株総数)	抗真菌薬	<i>Candida</i> 菌種	地域別の耐性頻度 (%)					報 告	
			北米		ラテンアメリカ	ヨーロッパ	アフリカ・ 中近東		アジア・ 太平洋
			米国	カナダ					
1997年 (306株)	FLCZ	<i>Candida</i> spp. 全体	2.5	1.6	2.4			Pfaller et al (1998) ³⁸⁾ [ARTEMIS Program]	
	ITCZ		11.3	3.3	2.4				
1997～1999年 (1,175株)	FLCZ	<i>Candida</i> spp. 全体	< 10	< 4	< 2	< 10		Pfaller et al (2001) ⁴⁰⁾ [ARTEMIS Program]	
	VRCZ		< 2	< 1	< 1	< 1			
2006～2007年 (1,448株)	CAS	<i>Candida</i> spp. 全体	0.3		0.4	0		Messer et al (2009) ⁴⁵⁾ [SENTRY Program]	
		<i>C. albicans</i>	0		0	0			
		<i>C. glabrata</i>	0		0	0			
		<i>C. parapsilosis</i>	0.8		0	0			
		<i>C. tropicalis</i>	0		0	0			
	AMPH	<i>Candida</i> spp. 全体	0.1		1	0.5			
		<i>C. albicans</i>	0.8		0	0			
		<i>C. glabrata</i>	0		0	0			
		<i>C. parapsilosis</i>	0		3.3	0			
		<i>C. tropicalis</i>	0		4.8	0			
	5-FC	<i>Candida</i> spp. 全体	4.3		2.9	4.7			
		<i>C. albicans</i>	3.2		0.8	1.2			
		<i>C. glabrata</i>	0		0	0			
		<i>C. parapsilosis</i>	0.8		3.3	0			
		<i>C. tropicalis</i>	3.8		4.8	8.3			
	FLCZ	<i>Candida</i> spp. 全体	8.7		2.9	5.6			
		<i>C. albicans</i>	0.5		0	0			
		<i>C. glabrata</i>	28.6		18.2	21.1			
		<i>C. parapsilosis</i>	4.1		5.0	0			
		<i>C. tropicalis</i>	0		0	2.8			
	ITCZ	<i>Candida</i> spp. 全体	35.1		31.4	27.7			
		<i>C. albicans</i>	2.7		2.4	1.9			
		<i>C. glabrata</i>	97.7		90.9	94.7			
		<i>C. parapsilosis</i>	56.6		70.0	56.6			
<i>C. tropicalis</i>		37.7		33.9	27.8				
VRCZ	<i>Candida</i> spp. 全体	2.1		0.7	1.6				
	<i>C. albicans</i>	0		1	0				
	<i>C. glabrata</i>	11.3		9.1	7.0				
	<i>C. parapsilosis</i>	0		1.7	0				
	<i>C. tropicalis</i>	0		0	0				
1997～2005年 (205,329株)	FLCZ	<i>C. albicans</i>	2.4		2.4	1.2	0.6	Pfaller et al (2007) ⁴⁶⁾ [ARTEMIS Program]	
		<i>C. glabrata</i>	14.0		14.0	16.0	19.1		
		<i>C. tropicalis</i>	3.0		3.0	2.6	2.9		
	VRCZ	<i>C. albicans</i>	1.9		1.9	1.1	0.3		
		<i>C. glabrata</i>	9.6		9.6	9.9	9.1		
		<i>C. tropicalis</i>	4.4		4.4	3.5	2.6		

表7 わが国のサーベイランス報告にみられる *Candida* 主要菌種の各種抗真菌薬に対する耐性頻度

菌株収集年	地域 (施設数)	解析菌株 総数	抗真菌薬	主要菌種*の耐性頻度 (%)						報 告	
				<i>C. a.</i>	<i>C. gl.</i>	<i>C. p.</i>	<i>C. t.</i>	<i>C. k.</i>	<i>C. gu.</i>		<i>C. l.</i>
1991～1995	関東 (2)	74	FLCZ ITCZ AMPH 5-FC	3.0 0 0 0		0 0 0 0	1.5 0 0 0	0 0 0 0		須藤ほか (1997) ⁹⁴⁾	
1995～1996	近畿 (1)	285	FLCZ ITCZ AMPH 5-FC	0.4 1.3 0 0.9						山住ほか (1998) ⁹⁵⁾	
1998	関東 (1)	197	FLCZ ITCZ AMPH 5-FC	0 0 0 0.8	0 40 0 0	0 0 0 0				渋谷ほか (2000) ⁹⁶⁾	
1994～2000	関東 (1)	約 100	FLCZ ITCZ AMPH 5-FC MCFG	13.5 13.5 0 0 0	0 85 0 0 0	0 0 0 5.3 0	0 0 0 0 0			小栗ほか (2006) ⁹⁷⁾	
1996～2001	中国 (1)	38	FLCZ ITCZ AMPH MCFG	56 67 0 0	25 75 0 0		75 50 0 0	100 73 0 0		明見ほか (2003) ⁹⁸⁾	
2001～2002	全国 (156)	535	FLCZ ITCZ VRCZ AMPH 5-FC MCFG	0 0 0 0 0.9 0	1.0 1.0 0 0 0 0	0 0 0 0 2.4 0	3.2 8.1 4.8 0 8.1 0	0 0 0 0 7.7 0		a) Takakura et al (2004) ⁹⁹⁾ [Japan Invasive Mycosis Surveillance (JIMS)]	
2002～2003	近畿 (1)	92	FLCZ ITCZ AMPH 5-FC MCFG	5 12 0 0 0	0 44 0 11 0	0 0 0 0 0	0 23 0 0 0	20 0 0 0 0		小松ほか (2003) ¹⁰⁰⁾	
2003～2004	甲信 (6)	665	FLCZ ITCZ AMPH 5-FC MCFG	0 0 0 0 0	0.8 8.6 0 0 0	0 0 0 0 0	0 13.8 0 0 0	40 0 0 0 0		内田ほか (2006) ¹⁰¹⁾	
2002～2004	北九州 (2)	41	FLCZ ITCZ AMPH 5-FC MCFG	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 100 0		力丸ほか (2005) ¹⁰²⁾	
1999～2005	北陸 (1)	57	FLCZ ITCZ VRCZ AMPH 5-FC MCFG	7 7 7 0 0 0	7 7 7 0 0 7	0 0 0 0 0 0	9 9 9 0 0 0	0 0 0 0 0 0		藤田 (2007) ¹⁰³⁾	
2001～2005	全国 (11)	1,486	FLCZ ITCZ VRCZ 5-FC	0.2 0.2 0.2 0.6	4.6 4.3 2.1 0.6	0 0 0 0	2.3 3.0 1.5 2.3	59 6.9 6.9 0	0 0 0 0	7.0 0 0 0	b) 山口ほか (2004) ⁵⁴⁾ 〃 (2006) ⁵⁵⁾ 〃 (2006) ⁵⁶⁾ [Japan Antifungal Surveillance (JAS) Program]

* *C. a.* = *C. albicans*; *C. gl.* = *C. glabrata*; *C. p.* = *C. parapsilosis*; *C. t.* = *C. tropicalis*; *C. k.* = *C. krusei*; *C. gu.* = *C. guilliermondii*; *C. l.* = *C. lusitanae*

a) 原著にはすべての抗真菌薬について24時間後と48時間後のMICが並記されているが、CLSI M27-A3に従ってアゾール系薬についてはトレーリング発育株の存在を考慮して24時間値、AMPHと5-FCについては48時間値、MCFGについては24時間値を各々記載した。

b) 3つの年期のデータ^{54)～56)}を集計したものを記載した。

5%以下という低いレベルです。また、それぞれのサーベイランスでの FLCZ 低感受性菌種 *C. glabrata* における FLCZ 耐性頻度 (5.2 vs. 4.6%) と VRCZ 耐性頻度 (4.2 vs. 2.1%)、最も FLCZ 感受性の低い *C. krusei* における FLCZ 耐性頻度 (53.8 vs. 59%) と VRCZ 耐性頻度 (0 vs. 6.9%)、のいずれについても、ほぼ一致した結果が得られています。この2つの国内サーベイランスのデータは、先に述べたグローバルサーベイランス、特に ARTEMIS Program のそれにおおむね対応しているといっておよいかと思いますが、*C. glabrata* の FLCZ 耐性頻度だけは、国内のほうが低いようです (ARTEMIS Program では 15% 前後)。これを別にすれば、FLCZ と VRCZ に対する *Candida* spp. の感受性パターンは世界的にはほぼ共通していることがうかがわれます。またそれと大差のない結果 (ただし *C. krusei* については菌株数が少ないために除きます) は、すべての国内施設報告にも示されています。唯一の例外は、FLCZ 耐性が 50% を超す高い頻度で *C. albicans* と *C. tropicalis* にみられたとする中国地方の 1 施設からの報告です⁹⁸⁾。確かな理由はわかりませんが、何らかの特殊な状況 (施設内外の環境因子、基礎疾患・免疫状態といった患者背景、真菌感染症のタイプ、予防投与・治療法などの患者マネジメント戦略など) が影響したものと推測されます。

FLCZ や VRCZ とは対照的に、最も解釈に苦しむ結果が得られているのは、ITCZ に対する各菌種の耐性頻度です。JIMS と JAS Program における耐性頻度を比較すると、アゾール系薬高感受性の 3 菌種、*C. albicans* (1.4 vs. 0.2%)、*C. parapsilosis* (0.8 vs. 0%)、および *C. tropicalis* (4.8 vs. 1.5%)、についてはさほどの違いがないのですが、低感受性 2 菌種、*C. glabrata* (56.3 vs. 4.3%) と *C. krusei* (38.5 vs. 6.9%)、に関しては、前者のサーベイランスが圧倒的に高い数値を示しています。他の国内報告でも両菌種に対する耐性頻度は、高頻度の JIMS タイプと低頻度の JAS Program タイプとに真二つに分かれます (表 7)。またグローバルサーベイランスの結果は、高頻度タイプにはほぼ合致します (表 3)。なぜ異なったサーベイランスの間で、それどころか同じ日本国内の施設間ですら、ITCZ 感受性パターンにこれほどの差が生じているのでしょうか。大きな疑問であると同時に、治療薬の選択にたずさわる特に臨床医にとって

はとりわけ大問題です。こうしたサーベイランス間や施設間での極端な ITCZ 感受性の二極分化と併せて、同じアゾール系薬の FLCZ や VRCZ に対する感受性にそうした違いがみられないことを考慮に入れて推測しますと、その原因はどうか感受性試験の実施手技にありそうです。私達も経験したことですが、ITCZ は著しく水に難溶性な化合物ですので、濃度を上げれば上げるほど容易に析出して、実効濃度が名目上の濃度を下回るようになります。これは自家製の感受性測定用プレートに限らず、市販のキットでも起こりうることで、こうした試薬調製のやり方に主な原因があるのではないかと疑っているところではあります。いずれにしても *C. glabrata* や *C. krusei* に対する ITCZ 感受性の測定結果については、慎重に解釈する必要があります。

5-FC, AMPH および MCFG の 3 クラス、3 種の抗真菌薬に関しては、国内のほとんどの結果は、一致していずれの菌種においても各薬剤に対する耐性頻度が低いことを示しています。JIMS では最大 8% 程度の 5-FC 耐性頻度が *C. tropicalis* において得られていますが、単独または少数の施設でのサーベイランスではまったく耐性株が検出されていません。AMPH と MCFG については、すべての報告が菌種を問わず各薬剤に対する耐性株が検出されなかったとしています。こうした国内報告の結果は、グローバルサーベイランスの結果と基本的には一致しているといえそうです。

JAS Program による長期サーベイランスの報告^{54~56)}には、各菌種における 3 種のアゾール系薬 (FLCZ, ITCZ, VRCZ) に対する耐性頻度の経年的動向に関するデータが含まれています。それを前述の ARTEMIS Program によるグローバルサーベイランスのデータと並べて表 5 に示しました。問題とされてきたアゾール系薬低感受性 2 菌種のうち、*C. glabrata* の FLCZ 耐性頻度は 3.8% (2001/2002 年) → 2.2% (2003 年) → 7.5% (2005 年) と上昇し、*C. krusei* においてはより一層顕著な上昇傾向 (0% → 57% → 93%) を示しています。一方、グローバルサーベイランスでは、いずれの耐性頻度も初めから高いものの、それ以上の上昇は起こっていないようです。このことから、わが国では海外諸国に遅れて耐性化が進んでいる可能性があると考えられます。

VI. *Aspergillus* spp.の抗真菌薬耐性に関するグローバルサーベイランスおよび日本を含む幾つかの国における国内サーベイランスの結果

近年、アスペルギルス症、とりわけ予後の不良な侵襲性アスペルギルス症、の発生頻度が免疫不全患者などで高まっています。そのために、治療に用いられる AMPH や広域アゾール系薬 (ITCZ, VRCZ など) に対する *Aspergillus* spp.の耐性に多くの関心が集まっています。一般に糸状菌のポリエン系薬感受性は *Candida* spp.その他の酵母にくらべて低い傾向にあります。糸状菌のなかでは、*Scedosporium apiospermum* (スケドスポリウム症原因菌) とならんで *Aspergillus terreus* の AMPH 感受性が特に低いといわれています¹⁰⁴⁾。オーストリアにおける過去 10 年間 (1996 ~ 2006 年) に集められた *A. terreus* の臨床分離株 (48 株) および環境分離株 (31 株) についての感受性試験の成績からは、この真菌が全体的には AMPH に対して一次耐性であることが示されています¹⁰⁵⁾。一方、*A. fumigatus* をはじめ *A. flavus* など AMPH 高感受性菌といわれてきた *Aspergillus* spp. においても耐性化が目立つようになりました。なかでも注目されるのは、アゾール系薬を含む多剤に耐性を示す *A. fumigatus* の様々な変種であり、孢子形成のパターンやミトコンドリアのシトクロム b 塩基配列に特徴がみられます^{106, 107)}。系統樹の分子生物学的解析の結果、この *A. fumigatus* 変種とされた分離株の大多数は、*Aspergillus* 属の新菌種 *A. lentulus* と同定されました¹⁰⁶⁾。多剤耐性 *Aspergillus* として今後とくに注意を要する真菌の 1 つです。

アゾール系薬に関しては、*in vitro* で ITCZ 耐性を示す *A. fumigatus* 臨床分離株の存在が以前から知られていました^{13, 108, 109)}。耐性株の分離頻度は 2%¹¹⁰⁾ または 5%¹¹¹⁾ と報告され、一部の ITCZ 耐性株は VRCZ など他のアゾール系薬に対しても耐性であること (交叉耐性) が示されています^{112, 113)}。さらに最近、VRCZ 療法が奏効せずに死亡した中枢神経系アスペルギルス症患者 3 例の剖検検体から VRCZ と ITCZ に耐性を示す *A. fumigatus* が分離され、その結果、*in vitro/in vivo* 相関も明らかになりました¹¹⁴⁾。さらに ITCZ や VRCZ のみならず、現在わが国では

まだ臨床導入されていない posaconazole、それに欧米で開発段階にある ravuconazole や isavuconazole に対しても広く耐性を示す *A. fumigatus* 臨床分離株の報告も増えています²⁶⁾。

このように抗真菌薬耐性問題がますます大きくクローズアップされている状況にあるわけですが、*Candida* spp.の場合に比べると *Aspergillus* spp.、特に最主要菌種の *A. fumigatus*、を対象としたグローバルレベルまたは国内レベルの耐性サーベイランスはまだその数も規模も限られています^{43, 54 ~ 56, 115 ~ 117)}。それらのサーベイランスの結果を表 8 にまとめました。771 株という *Aspergillus* spp.としては最大規模の菌株を対象としたグローバルサーベイランス⁴⁵⁾では、一部の non-*fumigatus* *Aspergillus* spp.分離株が高い ITCZ 耐性頻度 (*A. niger* 24%, *A. versicolor* 4%) を示したものの、*A. fumigatus* 553 株中に ITCZ 耐性株は 1 株もありませんでした。さらに、VRCZ 耐性株に至ってはどの菌種においてもほとんど見つからず、交叉耐性を示す菌株はなかったということになります。また SENTRY Program のサーベイランスの結果⁴³⁾でも、*A. fumigatus* 49 株中に ITCZ または VRCZ 耐性株は皆無でした。またフランス、イタリアの 3 施設で収集された *A. fumigatus* 200 株中にも ITCZ または VRCZ に耐性を示す菌株はみられなかったのですが、オランダの 21 施設からの 170 株中に 3 株の ITCZ 耐性 (ただし VRCZ には感性) の菌株が検出されました。一方、わが国の JAS Program の全国サーベイランス^{54 ~ 56)}からは、*A. fumigatus* 26 株中に 1 株だけですが ITCZ 耐性・VRCZ 感性の菌株が見つかっています。

このように *A. fumigatus* 臨床分離株中の ITCZ 耐性頻度は予想外に低く、しかも VRCZ に単独耐性または交叉耐性を示す菌株が検出されていないこと、また AMPH に対して一次耐性とされる *A. terreus* のすべての臨床分離株が ITCZ や VRCZ に対して感性であったことはいずれも幸いな結果です。しかし頻度は低いといっても、わが国にも ITCZ 耐性の *A. fumigatus* が存在することが確実になったわけですが、今後 ITCZ や VRCZ の使用、特に予防投与による二次耐性菌の出現増加は避けられませんから、*Aspergillus* spp.の感受性サーベイランスもまた *Candida* spp.のそれと同様に重要視する必要があることは明白です。一方、*A. fumigatus* の AMPH 耐

表8 グローバルサーベイランスおよび日本その他の国の国内サーベイランスにおける *Aspergillus* spp. とくに *A. fumigatus* の各種抗真菌薬に対する耐性頻度

菌株収集年	地域・施設数	総菌株数	抗真菌薬	菌 種	耐性頻度 (%)	報 告
2006～2007年	グローバル	771	ITCZ	<i>A. fumigatus</i>	0	Pfaller et al (2008) ¹¹⁵⁾
				<i>A. flavus</i>	0	
<i>A. niger</i>	24					
<i>A. terreus</i>	0					
<i>A. versicolor</i>	4					
<i>Aspergillus</i> spp. 全体	2					
VRCZ	<i>A. fumigatus</i>	< 1				
	<i>A. flavus</i>	0				
<i>A. niger</i>	0					
<i>A. terreus</i>	0					
<i>A. versicolor</i>	0					
<i>Aspergillus</i> spp. 全体	< 1					
2006～2007年	グローバル [SENTRY Program]	49	ITCZ	<i>A. fumigatus</i>	0	Messer et al (2009) ⁴³⁾
			VRCZ	〃	0	
			AMPH	〃	0	
1945～1998年	オランダ全国、21施設	170	ITCZ	<i>A. fumigatus</i>	1.8 (3/170)	Verweij et al (2002) ¹¹⁶⁾
			VRCZ	〃	0	
			AMPH	〃	0	
?	フランス・イタリー 3施設	200	ITCZ	<i>A. fumigatus</i>	0	Dannaoui et al (2004) ¹¹⁷⁾
			VRCZ	〃	0	
2001～2005年	日本全国、11施設	26	ITCZ	<i>A. fumigatus</i>	4 (1/26)	山口ほか (2004) ⁵⁴⁾ 〃 (2006) ⁵⁵⁾ 〃 (2009) ⁵⁶⁾ [JAS Program]
				VRCZ	〃	

性株はこれまでのところ分離されていません。AMPHが半世紀もの長い間使用されてきたことを考えますと、耐性化が起こる心配はこれから先もなさそうです。

おわりに

予定をはるかに超す長い解説になってしまいましたが、グローバルレベルの大規模な感受性サーベイランスの解析データ、ならびに小規模ではあっても国内のさまざまな研究グループや施設から報告されているデータを、紙幅のゆるす限り詳しくご紹介しました。その結果から、真菌感染症原因菌とくに *Candida* spp. と *Aspergillus* spp. の薬剤耐性について、その現状と動向がかなりみえてきたのではないのでしょうか。お分かりのように、抗真菌薬耐性の判定に関してはまだ数多くの問題が残されていますが、その解決に向けて一歩ずつでも前進することを期待しているところです。稿を結ぶにあたって、幾つかの点をとくに強調したいと思います。

第1は、わが国の抗真菌薬耐性の現状を正しく知るためには、感受性（または耐性）についての継続的なサーベイランスが不可欠であり、それを実施するための常設的な研究組織を確立する必要があると

いう点です。

第2には、世界規模や全国規模の耐性サーベイランスの結果は、それぞれの平均的な状況や動向を反映するものです。それはそれで大変参考になる重要なデータなのですが、施設間の差がきわめて大きいことも事実です。これは各施設内でのサーベイランスが欠かせないことを強く示唆しています。

第3は、ある抗真菌薬に高感受性であるとみなされている菌種であっても、耐性化するやち二次耐性菌の出現が必ず起こるという点です。したがって、菌種名からは感性と考えられる場合でも、個々の分離株について可能な限りMICを測定した上で、感性かそれとも耐性かを判定すべきです。

第4は、これが最も重要な点ですが、いかにして耐性菌の出現を抑えるかという問題です。これまでの知見から、耐性菌の出現頻度は、感染した真菌が生体内に長期間生存し、抗真菌薬の選択圧に曝され続けるような場合に高まることが分かっています。このことは、予防投与を含めて感染菌を完全に排除し切れないような低用量の抗真菌薬による長期治療を避けることや、生体側の感染防御能を低下させるような病態の持続期間または医療処置の施行期間をできるだけ短縮することの重要性を示しています。HAART (high active antiretroviral therapy) の導入

によって HIV 感染患者の基礎病態が改善し、それほど発生頻度の高かった口腔咽頭カンジダ症が激減したばかりか、FLCZ 耐性 *C. albicans* の分離頻度も低下したこと^{118 ~ 120)}などはその良い手本です。一方、反面教師として私達に有益な教訓を与えてくれる貴重な先例は、細菌における抗菌薬耐性です。耐性細菌による感染が患者の病態悪化や死亡率上昇にとどまらず、医療費の増大といった面でも国民医療にどれほど大きなツケを拂わせたかは、今更いうまでもありません¹²¹⁾。これを他山の石として、抗真菌薬耐性の問題への適切な取り組みがすべての医療施設で行われることを切に願って筆をおきます。

文 献

- 1) 山口英世 : 真菌感染症. 臨床と微生物, **37** : 351-355, 2010
- 2) Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, et al : Candidemia in cancer patients : a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin Infect Dis*, **28** : 1071-1079, 1999
- 3) Lin SJ, Schranz J, Teusch SM : Aspergillosis case-fatality rate : systemic review of the literature. *Clin Infect Dis*, **32** : 358-366, 2001
- 4) Roden MM, Zaoutis TE, Buchanan WL, et al : Epidemiology and outcome of zygomycosis: a review of 929 reported cases. *Clin Infect Dis*, **41** : 634-653, 2005
- 5) Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, et al : Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia : a meta-analysis. *Clin Infect Dis*, **36** : 53-59, 2003
- 6) White TC, Marr KA, Bowden RA, et al : Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. *Clin Microbiol Rev*, **11** : 382-402, 1998
- 7) Ghannoum MA, Rice LB : Antifungal agents : mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clin Microbiol Rev*, **12** : 501-517, 1993
- 8) Perea S, Patterson TF : Antifungal resistance in pathogenic fungi. *Clin Infect Dis*, **35** : 1073-1080, 2002
- 9) Pfaller MA, Diekema DJ : Epidemiology of invasive candidiasis : a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev*, **20** : 133-163, 2007
- 10) Kanafani ZA, Perfect JR : Resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. *Clin Infect Dis*, **46** : 120-128, 2008
- 11) Hof H : Will resistance in fungi emerge on a scale similar to that seen in bacteria ? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **27** : 327-334, 2008
- 12) Marichal P, Koymans L, Willemsens S, et al : Contribution of mutations in the cytochrome P450 14 alpha-demethylase (Erg 11p, Cyp51p) to azole resistance in *Candida albicans*. *Microbiology*, **145** : 2701-2713, 1999
- 13) Denning DW, Venkateswarlu K, Oakley KL, et al : Itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother*, **41** : 1364-1368, 1997
- 14) Verweij PE, Mellado E, Melchers WJ : Multiple-triazole-resistant aspergillosis. *N Engl J Med*, **356** : 1481-1483, 2007
- 15) Nguyen MH, Peacock JE, Morris JA, et al : The changing face of candidemia-emergence of non-*Candida albicans* species and antifungal resistance. *Am J Med*, **100** : 617-623, 1996
- 16) Marty FM, Cosimi LA, Baden LR : Breakthrough zygomycosis after voriconazole treatment in recipients of hematopoietic stem-cell transplant. *N Engl J Med*, **350** : 950-952, 2004
- 17) Matsue K, Koseki M, Asada N, et al : Breakthrough trichosporonosis in patients with hematologic malignancies receiving micafungin. *Clin Infect Dis*, **42** : 753-757, 2006
- 18) Clinical and Laboratory Standards Institute : Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts ; Approved standard-third edition M27-A3. CLSI, Wayne, PA, USA, 2008
- 19) Clinical and Laboratory Standards Institute : Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi ; Approved standard-second edition M38-A2. CLSI, Wayne, PA, USA, 2008
- 20) Clinical and Laboratory Standards Institute : Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts ; Approved guideline-second edition M44-A2. CLSI, Wayne, PA, USA, 2009
- 21) 山口英世 : 臨床検査ひとくちメモ No.201 真菌の抗真菌薬感受性試験法について判定法を含めて教えてください。モダンメディア, **55** : 309-320, 2009
- 22) Clinical and Laboratory Standards Institute : Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts ; Third informational supplement M27-S3. CLSI, Wayne PA, USA, 2008
- 23) Pfaller M, Diekema DJ, Ostrosky-Zeichner L, et al : Correlation of MIC with outcome for *Candida* species tested against caspofungin, anidulafungin, and micafungin : analysis and proposal for interpretive MIC breakpoints. *J Clin Microbiol*, **46** : 2620-2629, 2008
- 24) Alves SH, Lopes JO, Costa JM, et al : Development of secondary resistance to fluconazole in *Cryptococcus neoformans* isolated from a patient with AIDS. *Rev Int Med Trop Sao Paulo*, **39** : 356-361, 1997
- 25) Casadevall A, Spitzer ED, Webb D, et al : Susceptibilities of several *Cryptococcus neoformans* isolates from patients with recurrent cryptococcal meningitis. *Antimicrob Agents Chemother*, **37** : 1383-1386, 1993
- 26) Howard S, Webster I, Moore BC, et al : Multi-azole resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Int J Antimicrob Agents*, **28** : 450-453, 2006
- 27) Denning DW, Radford SA, Oakley KL, et al : Correlation

- between in-vitro susceptibility testing to itraconazole and in-vivo outcome of *Aspergillus fumigatus* infection. J Antimicrob Chemother, **40** : 401-414, 1997
- 28) Gomez-Lopez A, Aberkane A, Petrikkou E, et al : Analysis of the influence of Tween concentration, inoculum size, assay medium, and reading time on susceptibility testing of *Aspergillus* spp.. J Clin Microbiol, **43** : 1251-1255, 2005
 - 29) Lass-Flörl C, Perkhofer S, Mayr A : *In vitro* susceptibility testing in fungi : a global perspective on a variety of methods. Mycoses, **53** : 1-11, 2010
 - 30) 山口英世 : II. 病原真菌の生物学、p.6-37, 病原真菌と真菌症 改訂4版、南山堂、東京、2007
 - 31) 山口英世 : 病原真菌における抗真菌耐性. 医学のあゆみ、**209** : 556-563, 2004
 - 32) 新見昌一 : 病原真菌カンジダの薬剤耐性に関わる分子機構. BMSA 会誌、**20** : 102-111, 2009
 - 33) Opal SM, Medeiros AA : Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. In : Mandell GL, Bennett JE, Dolin (eds) Mandell, Douglas, and Bennett's Principle and Practice of Infectious Diseases, p. 253-270, Churchill Livingstone, Philadelphia, 2006
 - 34) Hawkey PM, Jones AM : The changing epidemiology of resistance. J Antimicrob Chemother, **64** (Suppl. 1) : i3-i10, 2009
 - 35) Anderson JB : Evolution of antifungal-drug resistance : mechanisms and pathogen fitness. Nat Rev Microbiol, **3** : 547-556, 2005
 - 36) Cowen LE : Predicting the emergence of resistance to antifungal drugs. FEMS Microbiol Lett, **204** : 1-7, 2001
 - 37) Coste A, Turner V, Ischer F, et al : A mutation in Tac1p, a transcription factor regulating CDR1 and CDR2, is coupled with loss of heterozygosity at chromosome 5 to mediate antifungal resistance in *Candida albicans*. Genetics, **172** : 2139-2156, 2006
 - 38) Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, et al : International surveillance of blood stream infections due to *Candida* species : frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY Program. J Clin Microbiol, **36** : 1886-1889, 1998
 - 39) Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, et al : Blood stream infections due to *Candida* species : SENTRY Antimicrobial Surveillance Program in North America and Latin America, 1997-1998. Antimicrob Agents Chemother, **44** : 747-751, 2000
 - 40) Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, et al : International surveillance of blood stream infections due to *Candida* species : frequency of occurrence and *in vitro* susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. J Clin Microbiol, **39** : 3254-3259, 2001
 - 41) Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, et al : Trends in antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from pediatric and adult patients with blood stream infections : SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997 to 2000. J Clin Microbiol, **40** : 852-856, 2002
 - 42) Messer SA, Jones RN, Fritsche TR, et al : International surveillance of *Candida* spp. and *Aspergillus* spp.: reports from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. J Clin Microbiol, **44** : 1782-1787, 2006
 - 43) Messer SA, Moet GT, Kirby JT, et al : Activity of contemporary antifungal agents, including the novel echinocandin anidulafungin, tested against *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and *Aspergillus* spp.: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006 to 2007). J Clin Microbiol, **47** : 1942-1946, 2009
 - 44) Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, et al : Activities of fluconazole and voriconazole against 1,586 recent clinical isolates of *Candida* species determined by broth microdilution, disk diffusion, and Etest methods : report from the ARTEMIS Global Antifungal Susceptibility Program, 2001. J Clin Microbiol, **41** : 1440-1446, 2003
 - 45) Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, et al : *In vitro* activities of voriconazole, posaconazole, and fluconazole against 4,169 clinical isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* collected during 2001 and 2002 in the ARTEMIS Global Antifungal Surveillance Program. Diag Microbiol Infect Dis, **48** : 201-205, 2004
 - 46) Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, et al : Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997-2005 : an 8.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species and other yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. J Clin Microbiol, **45** : 1735-1745, 2007
 - 47) Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, et al : *In vitro* activities of caspofungin compared with those of fluconazole and itraconazole against 3,959 clinical isolates of *Candida* spp., including 157 fluconazole-resistant isolates. Antimicrob Agents Chemother, **47** : 1068-1071, 2003
 - 48) Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, et al : *In vitro* susceptibilities of *Candida* spp. to caspofungin : four years of global surveillance. J Clin Microbiol, **44** : 760-763, 2006
 - 49) Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, et al : Global surveillance of *in vitro* activity of micafungin against *Candida* : a comparison with caspofungin by CLSI-recommended methods. J Clin Microbiol, **44** : 3533-3538, 2006
 - 50) Bennett JE, Izumikawa K, Marr KA : Mechanisms of increased fluconazole resistance in *Candida glabrata* during prophylaxis. Antimicrob Agents Chemother, **48** : 1773-1777, 2004
 - 51) Marr KA, White TC, van Burik JA, et al : Development of fluconazole resistance in *Candida albicans* causing disseminated infection in a patient undergoing marrow transplantation. Clin Infect Dis, **25** : 908-910, 1997
 - 52) Marr KA, Lyons CN, Rustad TR, et al : Rapid, transient fluconazole resistance in *Candida albicans* is associated with increased mRNA levels of CDR. Antimicrob Agents Chemother, **42** : 2584-2589, 1998
 - 53) Martins MD, Lozano-Chiu M, Rex JH : Declining rates of

- oropharyngeal candidiasis and carriage of *Candida albicans* associated with trends towards reduced rates of carriage of fluconazole-resistant *C. albicans* in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin Infect Dis*, **27** : 1291-1294, 1998
- 54) 山口英世、内田勝久、奥住捷子、ほか：Japan Antifungal Surveillance Programによる真菌臨床分離株の抗真菌薬感受性に関する調査(1)：2001～2002年度報告. 日本臨床微生物学雑誌、**14** : 183-193, 2004
- 55) 山口英世、内田勝久、西山彌生、ほか：Japan Antifungal Surveillance Programによる真菌臨床分離株の抗真菌薬感受性に関する調査(2)：2003年度報告. 日本臨床微生物学雑誌、**16** : 13-22, 2006
- 56) 山口英世、内田勝久、西山彌生、ほか：Japan Antifungal Surveillance Programによる真菌臨床分離株の抗真菌薬感受性に関する調査(3)：2005年度報告. 日本臨床微生物学雑誌、**19** : 128-141, 2009
- 57) Pfaller MA, Diekema DJ, Sheehan DJ : Interpretive breakpoints for fluconazole and *Candida* revisited : a blueprint for the future of antifungal susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev*, **19** : 435-447, 2006
- 58) Ables AZ, Blumer NA, Valainis GT, et al : Fluconazole prophylaxis of severe *Candida* infections in trauma and postsurgical patients : a prospective, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Infect Dis Clin Pract*, **9** : 169-175, 2000
- 59) Magill SS, Shields C, Sears CL, et al : Triazole cross-resistance among *Candida* spp.: case report, occurrence among bloodstream isolates, and implications for antifungal therapy. *J Clin Microbiol*, **44** : 529-535, 2006
- 60) Panackal AA, Gribskov JL, Staab JF, et al : Clinical significance of azole antifungal drug cross-resistance in *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol*, **44** : 1740-1743, 2006
- 61) Ostrosky-Zeichner L, Oude Lashof AML, Kullberg BJ, et al : Voriconazole salvage treatment of invasive candidiasis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **22** : 651-655, 2003
- 62) Kullberg BJ, Sobel JD, Rhunke M, et al : Voriconazole versus a regimen of amphotericin B followed by fluconazole for candidemia in non-neutropenic patients : a randomized non-inferiority trial. *Lancet*, **366** : 1435-1442, 2005
- 63) Pfaller MA, Diekema DJ, Rex JH, et al : Correlation of MIC with outcome for *Candida* species tested against voriconazole : analysis and proposal for interpretive breakpoints. *J Clin Microbiol*, **44** : 819-826, 2006
- 64) Fukuoka T, Johnston DA, Winslow CA, et al : Genetic basis for differential activities of fluconazole and voriconazole against *Candida krusei*. *Antimicrob Agents Chemother*, **47** : 1213-1219, 2003
- 65) Spellberg BJ, Filler SG, Edwards, JE Jr : Current treatment strategies for disseminated candidiasis. *Clin Infect Dis*, **42** : 244-251, 2006
- 66) Schonebeck J, Anséhn S : 5-Fluorocytosine resistance in *Candida* spp. and *Torulopsis glabrata*. *Sabouraudia*, **11** : 10-20, 1973
- 67) Price MF, LaRocco MT, Gentry LO : Fluconazole susceptibilities of *Candida* species and distribution of species recovered from blood cultures over a 5-year period. *Antimicrob Agents Chemother*, **38** : 1422-1424, 1994
- 68) Brandt ME, Pfaller MA, Hajjeh RA, et al : Trends in antifungal drug susceptibility of *Cryptococcus neoformans* isolates in the United States : 1992 to 1994 and 1996 to 1998. *Antimicrob Agents Chemother*, **45** : 3065-3069, 2001
- 69) Francis P, Walsh TJ : Evolving role of flucytosine in immunocompromised patients : new insights into safety, pharmacokinetics, and antifungal therapy. *Clin Infect Dis*, **15** : 1003-1018, 1992
- 70) Vanden Bossche H, Warnock DW, Dupont B, et al : Mechanisms and clinical impact of antifungal drug resistance. *J Med Vet Mycol*, **32** : 189-202, 1994
- 71) Bennett JE, Dismukes WE, Duma RA, et al : A comparison of amphotericin B alone and combined with flucytosine in the treatment of cryptococcal meningitis. *N Engl J Med*, **301** : 126-131, 1979
- 72) Hospenthal DR, Bennett JE : Flucytosine monotherapy for cryptococcosis. *Clin Infect Dis*, **27** : 260-264, 1998
- 73) Powderly WG, Kobayashi GS, Herzig GP, et al : Amphotericin B-resistant yeast infection in severely immunocompromised patients. *Am J Med*, **84** : 826-832, 1988
- 74) Walsh TJ, Melcher GP, Rinaldi MG, et al : *Trichosporon beigelii*, an emerging pathogen resistant to amphotericin B. *J Clin Microbiol*, **28** : 1616-1622, 1990
- 75) Pfaller MA, Messer SA, Hollis RJ : Strain delineation and antifungal susceptibilities of epidemiologically related and unrelated isolates of *Candida lusitanae*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, **20** : 127-133, 1994
- 76) Rex JH, Cooper CR Jr, Merz WG, et al : Detection of amphotericin B-resistant *Candida* isolates in a broth-based system. *Antimicrob Agents Chemother*, **39** : 906-909, 1995
- 77) Wanger A, Mills K, Nelson PW, et al : Comparison of Etest and National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method for antifungal susceptibility testing : enhanced ability to detect amphotericin B-resistant *Candida* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*, **39** : 2520-2522, 1995
- 78) Krogh-Madsen M, Arendrup MC, Heslet L, et al : Amphotericin B and caspofungin resistance in *Candida glabrata* isolates recovered from a critically ill patient. *Clin Infect Dis*, **42** : 938-944, 2006
- 79) Ostrosky-Zeichner L, Rex JH, Pappas PG, et al : Antifungal susceptibility survey of 2,000 bloodstream *Candida* isolates in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*, **47** : 3149-3154, 2003
- 80) Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, et al : *In vitro* activities of anidulafungin against more than 2,500 clinical isolates of *Candida* spp., including 315 isolates resistant to fluconazole. *J Clin Microbiol*, **43** : 5425-5427, 2005
- 81) Moudgal V, Little T, Boikov D : Multiechinocandin-and multi-azole resistant *Candida parapsilosis* isolates serially obtained during therapy for prosthetic valve endocarditis.

- Antimicrob Agents Chemother, **49** : 767-769, 2005
- 82) Hakki M, Staab JF, Marr KA : Emergence of *Candida krusei* isolate with reduced susceptibility to caspofungin during therapy. Antimicrob Agents Chemother, **50** : 2522-2524, 2006
 - 83) Laverdiere M, Lalonde RG, Baril JG, et al : Progressive loss of echinocandin activity following prolonged use for treatment of *Candida albicans* oesophagitis. J Antimicrob Chemother, **57** : 705-708, 2006
 - 84) Green LJ, Marder P, Mann LL, et al : LY 303366 exhibits rapid and potent fungicidal activity in flow cytometric assays of yeast viability. Antimicrob Agents Chemother, **43** : 830-835, 1999
 - 85) Tawara S, Ikeda F, Maki K, et al : In vitro activities of a new lipopeptide antifungal agents, FK463, against a variety of clinically important fungi. Antimicrob Agents Chemother, **44** : 57-62, 2000
 - 86) Barchiesi F, Spreghini E, Tomassetti S, et al : Effects of caspofungin against *Candida guilliermondii* and *Candida parapsilosis*. Antimicrob Agents Chemother, **50** : 2719-2727, 2006
 - 87) Hernandez S, Lopez-Ribot JL, Najivar LK, et al : Caspofungin resistance in *Candida albicans* : correlating clinical outcome with laboratory susceptibility testing of three isogenic isolates serially obtained from a patient with progressive *Candida* esophagitis. Antimicrob Agents Chemother, **48** : 1382-1384, 2004
 - 88) Park S, Kelly R, Kahn JN, et al : Specific substitutions in the echinocandin target FKs1p accounts for reduced susceptibility of rare laboratory and clinical *Candida* sp. isolates. Antimicrob Agents Chemother, **49** : 3264-3273, 2005
 - 89) Miller CD, Lomaestro BW, Park S, et al : Progressive esophagitis caused by *Candida albicans* with reduced susceptibility to caspofungin. Pharmacotherapy, **26** : 877-880, 2006
 - 90) Katiyar S, Pfaller M, Edlind T : *Candida albicans* and *Candida glabrata* clinical isolates exhibiting reduced echinocandin susceptibility. Antimicrob Agents Chemother, **50** : 2892-2894, 2006
 - 91) Rogers TR, Johnson EM, Munro C : Echinocandin drug resistance. J Invasive Fungal Infect, **1** : 99-105, 2007
 - 92) Yang YL, Li SY, Chang HH, et al : Susceptibilities to amphotericin B and fluconazole of *Candida* species in TSARY. Diagn Microbiol Infect Dis, **51** : 179-183, 2005
 - 93) Yang YL, Cheng MF, Wang CW, et al : The distribution of species and susceptibility of amphotericin B and fluconazole of yeast pathogens isolated from sterile sites in Taiwan. Med Mycol, **48** : 328-334, 2010
 - 94) 須藤貴子、横村浩一、川田かおる、ほか : 微量液体希釈法による口腔・食道カンジダ症分離株の感受性試験 - 各種抗真菌薬の *in vitro* 活性と fluconazole の *in vitro/in vivo* 活性相関 - . 日本化学療法学会雑誌, **45** : 115-122, 1997
 - 95) 山住俊晃、黒田隆也、大畠恒子、ほか : 微量液体希釈法による臨床分離 *Candida albicans* の薬剤感受性成績の検討. 感染症学雑誌, **72** : 813-819, 1998
 - 96) 渋谷泰寛、羽石恵理子、木村由美子、ほか : 酵母様真菌感受性測定キットを用いた臨床分離株の感受性の検討. 日本臨床微生物学雑誌, **10** : 28-35, 2000
 - 97) 小栗豊子、三澤成毅、中村文子、ほか : 血液・血管カテーテルからの真菌分離状況と抗真菌薬に対する感受性について. 感染症学雑誌, **80** : 656-664, 2006
 - 98) 明見能成、許 泰一、麻奥英毅、ほか : キャンディン系抗真菌薬 micafungin (FK463) の *in vitro* 抗真菌活性 - 血液疾患患者の真菌血症より分離された *Candida* 株を対象として - . 新薬と臨床, **52** : 593-597, 2003
 - 99) Takakura S, Fujihara N, Saito T, et al : National surveillance of species distribution in blood isolates of *Candida* species in Japan and their susceptibility to six antifungal agents including voriconazole and micafungin. J Antimicrob Chemother, **53** : 283-289, 2004
 - 100) 小松 方、相原雅典、島川宏一、ほか : 天理病院で分離された酵母様真菌に対する抗真菌薬の抗菌力について - 特にキャンディン系抗真菌薬ミカファンギンの抗菌力 - . Jpn J Antibiotics, **56** : 705-711, 2003
 - 101) 内田 幹、深澤裕美、遠藤 武、ほか : 各種検査材料からのカンジダ属分離状況と抗真菌薬感受性について. 日本臨床微生物学雑誌, **16** : 74-80, 2006
 - 102) 力丸 徹、米光純子、嶋田亜希子、ほか : 真菌血症より分離された *Candida* に対する各種抗真菌薬の *in vitro* 抗真菌活性. 感染症学雑誌, **79** : 20-24, 2005
 - 103) 藤田信一 : 各種抗真菌薬の血液由来 *Candida* 属に対する抗真菌活性. 日本化学療法学会雑誌, **55** : 257-266, 2007
 - 104) Pfaller MA, Diekema DJ : Rare and emerging opportunistic fungal pathogens : concern for resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. J Clin Microbiol, **42** : 4419-4431, 2004
 - 105) Lass-Flörl C, Alastruey-Izquierdo A, Cuenca-Estrella M, et al : In vitro activities of various antifungal drugs against *Aspergillus terreus* : global assessment using the methodology of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrob Agents Chemother, **53** : 794-795, 2009
 - 106) Balajee S, Gribskov J, Hanley E, et al : *Aspergillus lentulus* sp. nov., a new sibling Species of *A. fumigatus*. Eukaryot Cell, **4** : 625-632, 2005
 - 107) Balajee S, Nickle D, Varga J, et al : Molecular studies reveal frequent misidentification of *Aspergillus fumigatus* by morphotyping. Eukaryot Cell, **5** : 1705-1712, 2006
 - 108) Chryssanthou E : *In vitro* susceptibility of respiratory isolates of *Aspergillus* species to itraconazole and amphotericin B. Acquired resistance to itraconazole. Scand J Infect Dis, **29** : 509-512, 1997
 - 109) Dannaoui E, Persat F, Monier MF, et al : *In-vitro* susceptibility of *Aspergillus* spp. isolates to amphotericin B and itraconazole. J Antimicrob Chemother, **44** : 553-555, 1997
 - 110) Moore CB, Sayers N, Mosquera J, et al : Antifungal drug resistance in *Aspergillus*. J Infect, **41** : 203-220, 2000

- 111) Gomez-Lopez A, Garcia-Effron G, Mellado E, et al : In vitro activities of three licensed antifungal agents against spanish clinical isolates of *Aspergillus* spp. Antimicrob Agents Chemother, **47** : 3085-3088, 2003
- 112) Mosquera J, Denning DW : Azole cross-resistance in *Aspergillus fumigatus*. Antimicrob Agents Chemother, **46** : 556-557, 2002
- 113) Pfaller MA, Diekema DJ, Ghannoum MA, et al : Wild-type MIC distribution and epidemiological cutoff values for *Aspergillus fumigatus* and three triazoles as determined by the Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution methods. J Clin Microbiol, **47** : 3142-3146, 2009
- 114) Van den Linden JWM, Jansen RR, Bresters D, et al : Azole-resistant central nervous system aspergillosis. Clin Infect Dis, **48** : 1111-1113, 2009
- 115) Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, et al : *In vitro* survey of triazole cross-resistance among more than 700 clinical isolates of *Aspergillus* species. J Clin Microbiol, **46** : 2568-2572, 2008
- 116) Verweij PE, TeDorsthorst DTA, Rijs AJMM, et al : Nationwide survey of *in vitro* activities of itraconazole and voriconazole against clinical *Aspergillus fumigatus* isolates cultured between 1945 and 1998. J Clin Microbiol, **40** : 2648-2650, 2002
- 117) Dannaoui E, Meletiadi J, Tortorano A-M, et al : Susceptibility testing of sequential isolates of *Aspergillus fumigatus* recovered from treated patients. J Med Microbiol, **53** : 129-134, 2004
- 118) Zingman BS : Resolution of refractory AIDS-related mucosal candidiasis after initiation of didanosine plus saquinavir. N Engl J Med, **334** : 1674-1675, 1996
- 119) Valdez H, Gripshoven BM, Salata RA, et al : Resolution of azole-resistant oropharyngeal candidiasis after initiation of potent combination antiretroviral therapy. AIDS, **12** : 538, 1998
- 120) Martins MD, Lozano-Chin M, Rex JH : Declining rates of oropharyngeal candidiasis and carriage of *Candida albicans* with trends toward reduced rates of carriage of fluconazole-resistant *C. albicans* in human immunodeficiency virus-infected patients. Clin Infect Dis, **27** : 1291-1294, 1998
- 121) Maragakis LL, Perencevich EN, Cosgrove SE : Clinical and economic burden of antimicrobial resistance. Expert Rev Anti Infect Ther, **6** : 751-763, 2008