



Master's Lectures – 18

基礎と臨床とをつなぐ研究(インターサイエンス)を目指した50年：研究生活を振り返って思うこと(2)

慶應義塾大学医学部総合診療教育センター 共同研究員
東京医科大学微生物学分野 客員研究員

うぶ かた きみ こ
生 方 公 子
Kimiko UBUKATA

はじめに

Master's Lectures (1)として50年間にわたる研究者を目指した経緯と、その中で初期に注力したMRSAと肺炎球菌について述べた(モダンメディア第62巻3月号)。しかし、それらの研究を通してさらに掘り下げたいと思いつながら研究環境が許さず発展させることができなかった研究テーマがいくつかあった。その後数年の雌伏の時を経た2002年、(故)井上松久先生(群馬大学医学部、北里大学医学部教授、北里大学副学長を歴任)のご推薦により、新設された北里大学大学院感染制御科学府・北里大学北里生命科学研究所の病原微生物分子疫学研究室を担当することになった。

教授適性年齢をはるかに超えての新設研究室の立ち上げであった。人材確保、研究費確保等どれをとっても一筋縄ではいかない状況ではあったが、修士課程第1期生として諸角美由紀さんと長谷川恵子さんを迎えたことは研究を遂行する上で極めて幸運なことであった。彼女達に触発され、その後社会人枠の大学院生として千葉穂子さんや砂押克彦さん、薬学部から輪島丈明さん(博士課程は筑波大学)や吉野美保さんなど、毎年優秀でactivityの高い学生が次々と大学院生として研究室に入ってこられた。在職期間は9年間と短かったが、修士課程11名と博士課程5名を指導したことになる。大学院は基礎研究を主体としているため卒業条件は大変厳しく、結果的にそのことが大学院生を切磋琢磨させ研究室

の優秀な業績へと繋がったのである。

もうひとつ幸いであったのは、外部から研究生として小児科医の中山栄一先生、長谷川真紀先生、岡田隆文先生を受け入れることができたことである。先生方は北里大学で医学博士の学位を取得なされたが、臨床の現場を知らない大学院生にとってさまざまな症例の臨床経過等をお聞きできたことで、常に臨床を念頭において研究することの重要性を認識できたと感じる。

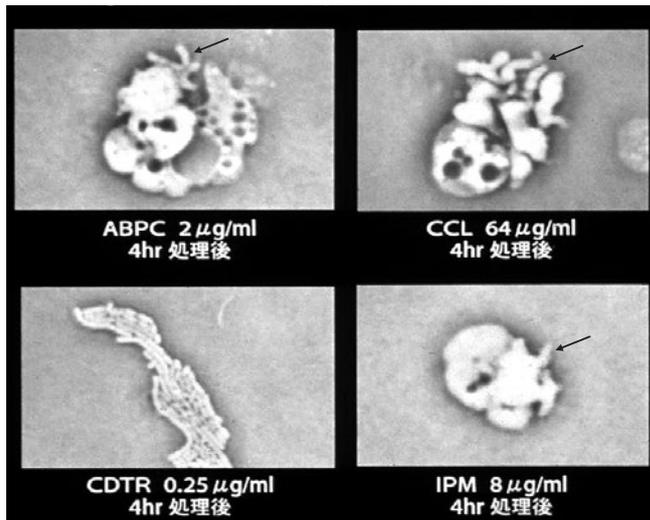
研究人生の後半において研究環境に恵まれた私がインターサイエンスとして本格的に何を目指したのか、前回書き残したことを記したい。

I. *Haemophilus influenzae* (インフルエンザ菌)

1. 肺炎球菌と同様に耐性化しているのではないか？

検査技師の方々を中心とした全国規模の「PRSP研究会」の終了後、経口抗菌薬に耐性化した肺炎球菌の臨床における実態を明らかにして治療法を確立するため、全国の小児科・耳鼻咽喉科の先生方を集めた「市中感染症研究会(代表 紺野昌俊; 1998～2000年)」が1997年に大規模に組織された。先生方から送付される検査材料を解析する中で、2つの疑問が私の頭の中に日々膨らんできていた。

一つは、上気道に棲息し肺炎球菌よりもさらに常在細菌としての一面を持ち、しかも殺菌され難いために薬剤が生体内から消失すると再び増殖すること



生方 公子 他, 日化療誌. 1978;26:666-675.(参照)

図1 インフルエンザ菌のβ-ラクタム系薬除去後にみられる再増殖

ができるインフルエンザ菌(図1)¹⁾が、「β-ラクタム系薬に耐性化していないのであろうか?」という疑問である。もう一つは、「検査依頼用紙」に記載された血液検査値のWBCとCRP値をみると、細菌感染を疑わせる値ではない場合が散見され、報告用紙に細菌名を記載して返却することに躊躇することが多かったのである。正確に起炎菌を判断するためには、それ以外のマイコプラズマ菌やウイルスを含む微生物を網羅的に検索する必要があると感じていた。後述するように、この疑問に対する解決方法こそが網羅的迅速診断法の確立へと繋がっている。

さて、インフルエンザ菌であるが、保育園児の気道の保菌検査を行うと、大半の児から濃厚にインフルエンザ菌が分離される。

欧米では、小児化膿性髄膜炎の60%を占めた莢膜b型インフルエンザ菌(Hib)感染症が1976年のHibワクチンの登場によって制圧されて以来²⁾、無莢膜型インフルエンザ菌は、無菌検査材料から分離された場合、あるいはb型以外の莢膜保持株であるなど、よほど明確な根拠がない限りこれを原因菌と見なさないのである。

そして、研究会で集められたインフルエンザ菌の薬剤感受性を測定すると、経口・注射用β-ラクタム系薬に対し、試験管で2-3本程度感受性の劣る株が見いだされた。ABPCはもともとインフルエンザ菌に対する抗菌力が優れておらず、感性菌のMIC

特徴

- 溶菌から逃れた菌は元の桿菌へと戻る。
- このしなやかさが遺伝子変異が生じた菌を拾い出す。
- 耐性遺伝子のみならず、ゲノム上に多くの変異を挿入する。
- MLST解析を行うとSTは著しい多様性を示している。

注: 矢印部位から元の桿菌へと戻る

は0.25µg/mL程度であるのに対し、収集株のなかに1-2µg/mLのMICを示す株が見いだされた。それまでインフルエンザ菌のβ-ラクタム系薬耐性は、グラム陰性桿菌と同じTEM-1型β-ラクタマーゼの産生が主で、その他にROB-1型β-ラクタマーゼも知られていた。しかし、ABPC感受性の低下株ではラクタマーゼ産生はみられなかった。

図2には判りやすいDisc法の成績を示すが、薬剤含有濃度と感受性の優劣によってABPC感性菌(BLNAS)とABPC耐性菌(BLNAR)の阻止円は微妙に異なっていた³⁾。経口薬で得られる血中濃度から勘案すると、これらのDisc含有濃度は高濃度すぎて適切とは言い難いが、CCL、CFDN、CPDXのセフェム系薬で阻止円がみられなくなり、この微妙な違いからセフェム系薬の主たる標的である隔壁合成酵素、すなわちPenicillin-Binding Protein (PBP)をコードしている遺伝子に変異が生じているのではないかと推定した。

2. インフルエンザ菌のβ-ラクタム系薬耐性化の本質

ちょうどその頃、Fleischmannらのグループが『Science』(1995; 269: 496-512)にインフルエンザ菌Rd株の全ゲノム解析結果を発表した。この論文のお陰でいくつかのPBP遺伝子データを参考にすることができ、β-ラクタム系薬感性および耐性と推定される株の遺伝子解析を比較的短期間で実行できたの

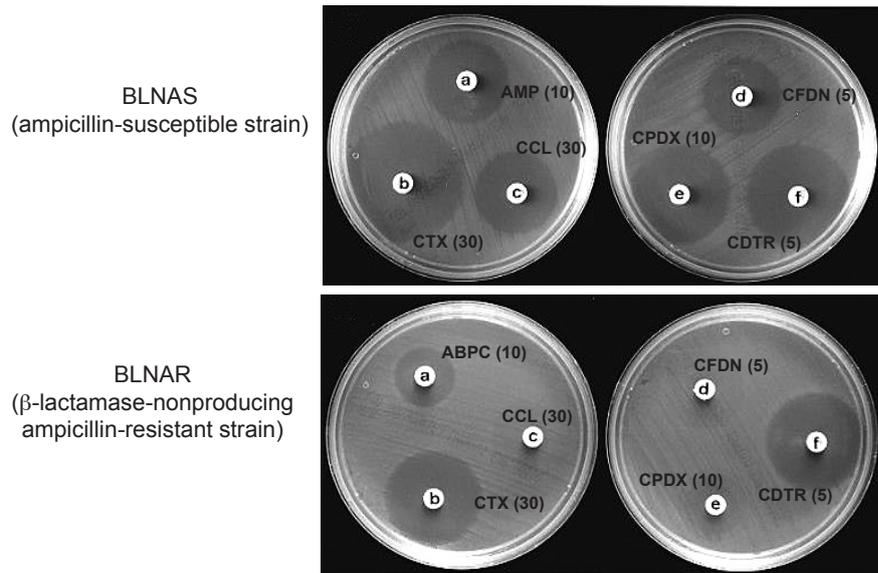
Ubukata K, et al., *J Infect Chemother.* 2002;8:50-58.

図2 Disc法によるインフルエンザ菌感受性測定時にみられる阻止円の微妙な違い

AMP、CTX、CCLのDisc含有濃度は高いため、BLNARで阻止円がみられなくなるのはCCLのみである。CFDN、CPDX、CDTRの薬剤濃度は5-10 μ gとなっていたため、感受性の劣るCFDNとCPDXのみで阻止円がみられなくなっている。

この阻止円形成の微妙な違いからセフェム系薬の主たる標的である隔壁合成酵素に変化が生じていると推定した。

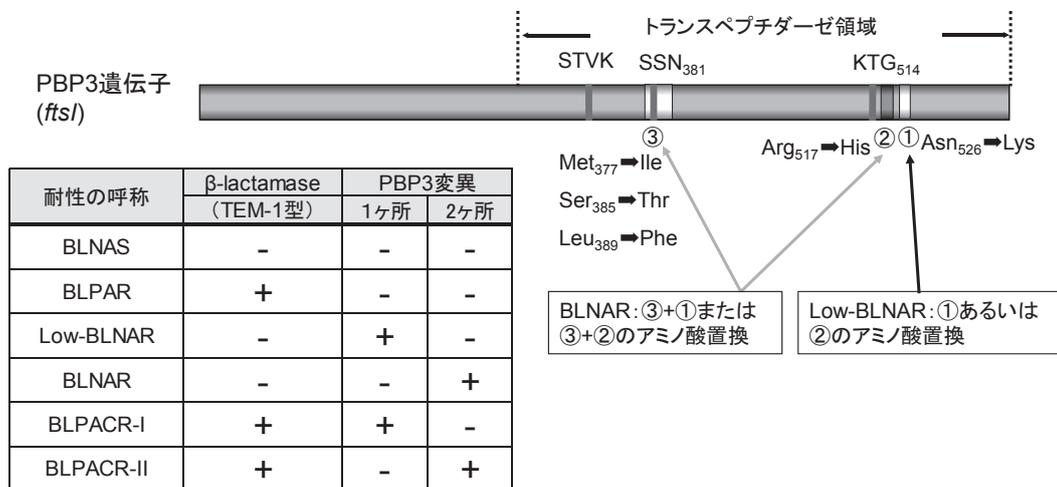
Ubukata K, et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:1693-1699.

図3 インフルエンザ菌の細胞壁合成酵素(PBP3)をコードするftsI遺伝子変異によるβ-ラクタム系薬耐性メカニズム

(図3は巻末にカラーで掲載しています)

である。

図3に示すように、この耐性メカニズムは隔壁合成に関わるPBP3をコードするftsI遺伝子上の変異による保存性アミノ酸配列(STVK、SSN、KTG)近位のアミノ酸置換であり、軽度耐性(Low-BLNAR)

の場合はKTG近位のアルギニン₅₁₇のヒスチジンへの置換、あるいはアスパラギン₅₂₆のリジンへの置換、そしてBLNARではそれらのいずれかとSSN近位のセリン₃₈₅のスレオニンへの置換の両方を保持していることを世界で初めて明らかにした⁴⁾。

この報告以前にも、PBPの親和性が低下したABPC耐性株があるという論文はみられたが、遺伝子レベルで明確な解析がなされていなかった。①PBPのβ-ラクタム系薬親和性の低下、②遺伝子解析、そして③*ftsI* 遺伝子の形質転換の3条件を明らかにしたことによってはじめて「PBP3の変化がBLNARにおける耐性メカニズムの本質である」とする必要十分条件を満たしたことになった。

3. 髄膜炎由来インフルエンザ菌 (Hib) に BLNAR の出現

インフルエンザ菌による感染症で最も重要なのはHibによる髄膜炎である。当時、わが国では年間600例前後の発症が推定されていたが、後遺症を残す例が多く見受けられた。一方、米国では1987年にHibワクチンが導入され、4年後にはHibによる髄膜炎はほぼ制圧されて極めてまれな疾患となっていた²⁾。残念ながら日本ではHibワクチンが導入される気配もなく、HibにBLNARが出現すると治療はさらに難しくなるであろうと危惧していた。1998年、精査を依頼された髄膜炎由来のHibがBLNARであり、治療に難渋した例を経験し危惧したことが現実問題となったのである。

翌1999年の秋、カナダのトロントで開催された第37回ICAAC (Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy) にて髄膜炎由来Hib株のBLNARについて発表した⁵⁾。この発表に対し、米国・小児科医のレスポンスは、「予防効果の明らかなHibワクチンがあるのにどうして接種できないのか?」という研究内容よりも医療行政に対する疑問であった。指摘の通りであると強く感じて帰国し、医療行政の複雑なシステムを良く理解できていなかった私は、無謀にもすぐに厚生省の担当部局へ手紙を認めた。ほどなく直接電話がかかってきた。言葉は丁寧であったが、Hibワクチンを必要とする髄膜炎のevidenceがない、製薬企業からも申請がないということであった。冷静に考えれば至極もっともなご意見であると理解できた。

やや横道に逸れるが、Hib髄膜炎に限らずCOVID-19の一件でもそうであるが、日本の研究者はなぜ連携して正確なデータを収集し、多面的な解析を

行い、流行終息までのマイルストーンを提示できないのであろうか?すでにCOVID-19の流行から1年以上が経過しているが、症例背景の多変量解析によるリスク因子の順位付けはできているのであろうか?と疑問に思うのである。

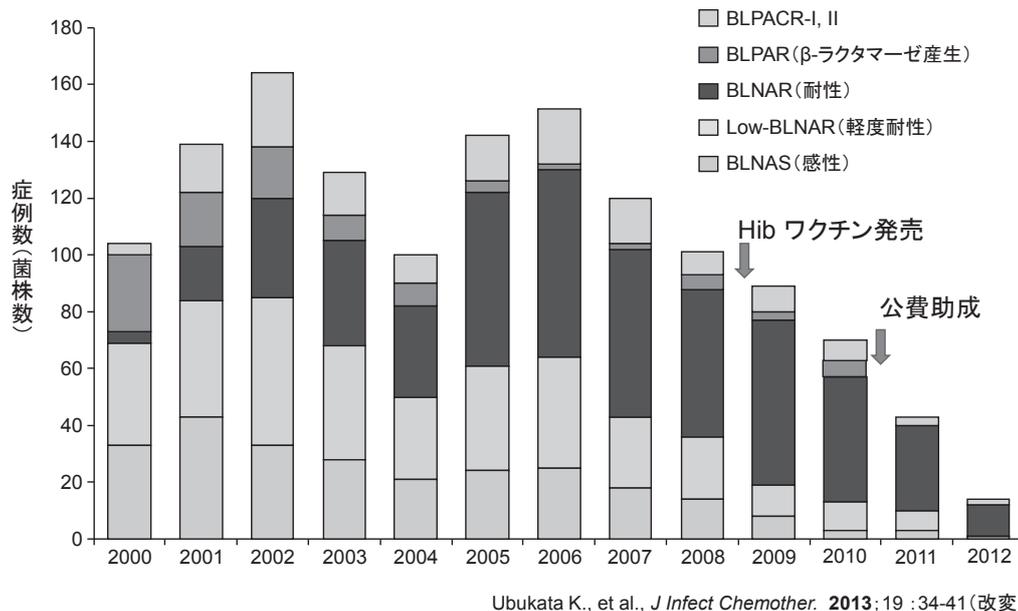
話を戻すが、わが国では当時、Hibや肺炎球菌による髄膜炎であっても、小児10万人あたりの正確(起炎菌が特定されていなければならない)な発症率と死亡率の算出、そして正確な感性/耐性の識別がなされていなかった。

このHibの一件がきっかけとなり、私は2000年に「化膿性髄膜炎全国サーベイランス研究会」を立ち上げ、全国の検査技師の方々を通じて菌株と入院時の検査値等を収集することを始めた。念願のHibワクチンとPCV7とが公費助成を受けて本格的に導入されたのは2010年末である。この間、実に10年という歳月が経過している。その間に「ワクチンギャップ」なるありがたくない言葉まで生まれているのである。

4. Hib ワクチン効果から考えること

さて、2000年に立ち上げた「化膿性髄膜炎全国サーベイランス研究会」であるが、その収集菌株数と耐性化の状況は図4に示す。Hib髄膜炎は公費助成開始2年後の2012年にはわずか14例まで激減した⁶⁾。翌年は2例のみの依頼であった。ワクチンの予防効果を明らかにできたことにより、当該研究はその役割を果たしたと判断し2016年に終了した。足かけ17年という長い間、ご協力いただいた検査技師の方々とアンケートにご回答いただいた先生方には感謝の気持ちでいっぱいである。

ここで長期間にわたる解析を通じて感じたサーベイランス実行上のさまざまな壁を記しておきたい。第一に、ワクチン申請当事者の製薬企業、検査を行う検査技師の多い学会、そして臨床側の小児感染症学会等が強力なタッグを組んで疫学データと臨床解析を実施すれば、速やかにワクチンが導入できたのではないかということである。近年、ますます個人情報保護法により疫学研究が難しくなっている。どのようにしたら個人情報を守りつつ、社会に役立つサイエンスとしての大規模疫学研究が可能なのか知



Ubukata K., et al., *J Infect Chemother.* 2013; 19 :34-41 (改変)

図4 化膿性髄膜炎全国サーベイランスによって収集された莢膜b型インフルエンザ菌 (Hib) の耐性化の変遷とHibワクチン導入効果

ワクチン導入前には年間平均120例近くの送付を受けたが、わが国の年間発症数の20-25%を解析していたと推定される。

(図4は巻末にカラーで掲載しています)

恵を絞るべきと強く感じる。

私見であるが、疫学を含めた大規模サーベイランスに関する審査会を学会の中に設けて承認するのが最も負担の少ない効率的な方法と考える。各々の施設で多大な労力と時間をかけてレベルにばらつきのある倫理審査委員会に諮ることは、労多くして功少なしである。このため大多数の先生方がサーベイランス参加にhesitateしている。このような状況の放置は、国民のためにもまた学問の進歩のためにも極めて残念なことである。

5. 無莢膜型インフルエンザ菌の臨床における意味

インフルエンザ菌のほとんどを占める無莢膜型インフルエンザ菌はどのような疾患で問題なのであろうか。一つは、小児の急性中耳炎 (AOM) の起炎菌としての割合が高まっていることである⁷⁾。しかし、肺炎球菌によるAOMに較べると、症状は軽症である⁸⁾。

もう一つは、成人における喘息やCOPDの慢性呼吸器疾患の病態悪化時に寄与していることである⁹⁾。成人でまれに無莢膜型菌が血液培養から分離される

こともあるが、それがどの程度病態悪化に関わっているのか明確にすることが今後の研究課題であろう。

II. *Mycoplasma pneumoniae* (マイコプラズマ菌)

1. 呼吸器感染症におけるマイコプラズマ菌

先述したように、機会があったらマイコプラズマ菌を研究対象にしたいと考えていた。北里大学大学院の1期生として入学された諸角さんに呼吸器感染症の主要な細菌を提示し、研究テーマに選びたい対象菌を自ら選択させた。彼女は身近な経験から「私はマイコプラズマ菌を研究したいと思います」と申し出たのであった。

実は、私が帝京大学(医)に勤務していた当時、小児髄膜炎例の髄液から *Mycoplasma hominis* を分離したことがあり(図5)、PPLO培地の作製が分離率に大きく影響することを知っていた。ドライイースト菌からイーストエキスを抽出する際、丁寧な温度管理を行わないと良い培地は作れないのである。

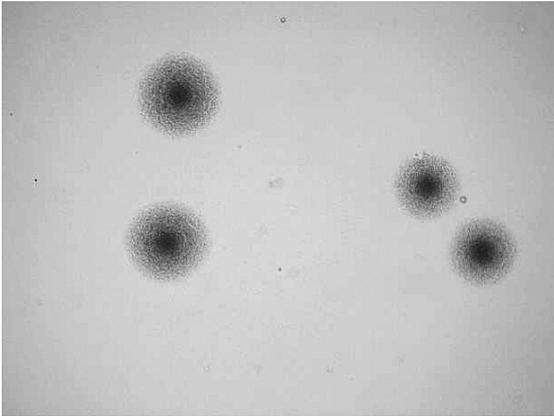


図5 小児髄膜炎の髄液より分離したPPLO寒天培地上の*Mycoplasma hominis*のコロニー

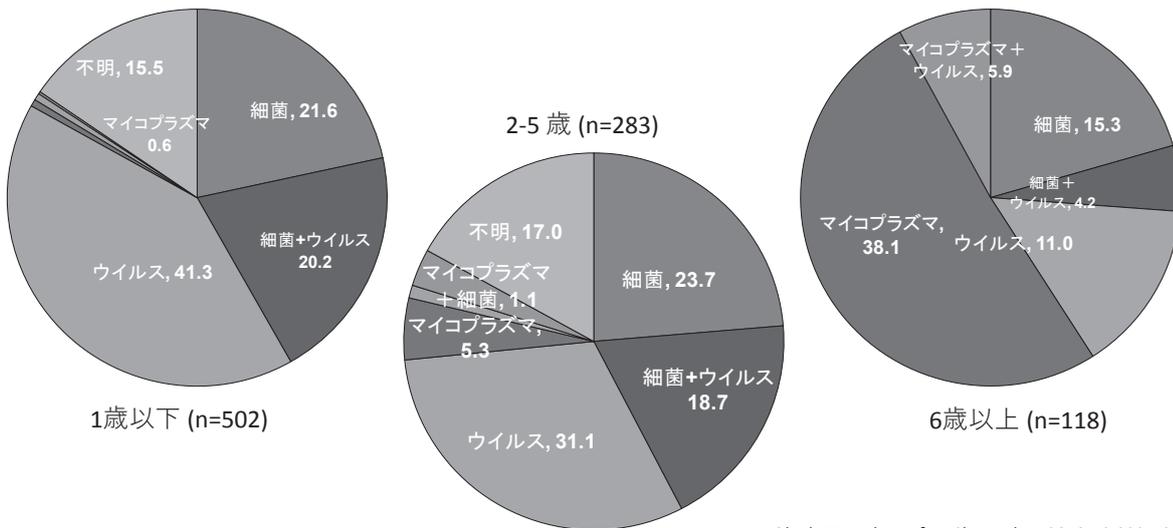
当時、検査技師でマイコプラズマ菌を地道に分離していたのは、私の知る限り倉敷中央病院の本郷俊治さんと昭和大学藤が丘病院の田澤節子さんのみであった。

マイコプラズマ菌は細胞壁をもたず、培地で発育可能な最小の菌である。本菌による肺炎は、乾性咳嗽が長く続くことを主訴とするが、WBCやCRPは正常値よりもやや高値を示すのみで、胸部レ線像にも特徴がある。症状は軽症例が多い。このため、「歩

く肺炎：walking pneumonia」とも言われていた。さらに、4年前後の周期で流行が繰り返されるという特徴もあり、研究が流行時期を外れると徒労に終わることを危惧した。そして何よりも本菌の培養には最低でも数週間を要し、PCRによる迅速診断法を同時に確立しないと臨床には役立たないであろうと説明した。

2. real-time PCR 法でのマイコプラズマ感染症診断

彼女は私の意図することをよく理解し、その頃小児科医を中心に新規に立ち上げた「Acute Respiratory Diseases (ARD) 研究会 (代表 岩田 敏先生)」の検査材料を用いて、PCR法による迅速診断法を確立することを目指した。半年という短期間ですべての技術を習得して培養も同時に実施、さらに先生方が測定してくださった抗体価との関連も検討し、マイコプラズマ感染症の診断にはPCR法が明らかに優れていることを証明した^{10,11)}。その結果、小児科医が胸部レ線像から肺炎と診断した18%がPCR法でマイコプラズマ陽性、培養でも15%からマイコプラズマ菌を分離している(図6)¹²⁾。PPLO培地の作製や検査材料の前処理が適切であったことに加



Okada T, et al., J Infect Chemother. 2012;18:832-40.

図6 小児肺炎例の起炎微生物の内訳 (n=903)

年齢で原因微生物が明らかに異なり、ウイルスによる発症例が半数を占める。細菌関与例は48.6%、そのうちの45%は肺炎球菌である。マイコプラズマによる肺炎は大多数が学童期に発症している。

ウイルス単独感染はRSVが最も多く、次いでパラインフルエンザウイルスとヒューマン・メタニューモウイルスである。ライノウイルスやヒューマンボカウイルスは細菌との混合感染が多い。円グラフ内の数値は%である。

(図6は巻末にカラーで掲載しています)

え、研究会に参加して下さった若い先生方の診断能力の高さのお陰である。

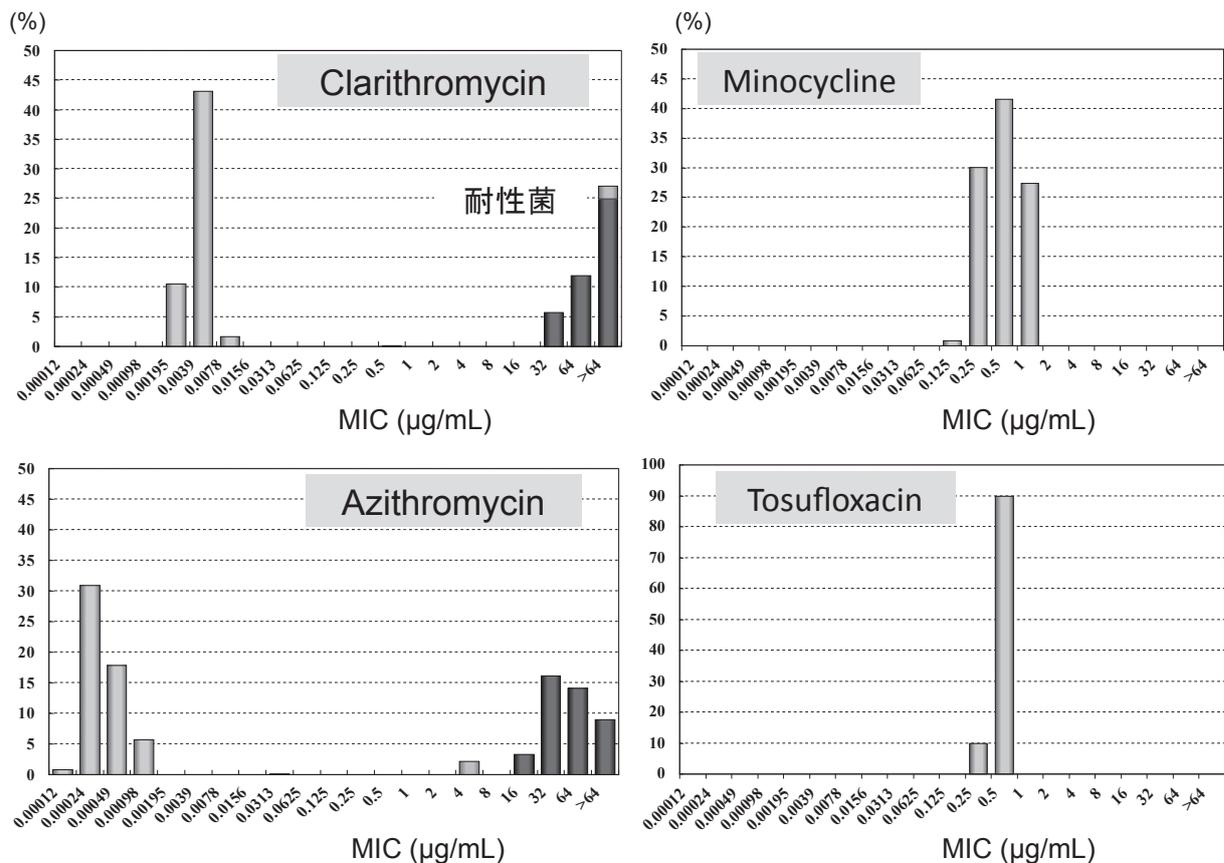
基礎分野、あるいは臨床分野を問わず、後進は日々指導者の背中をみている。「上司は部下を理解するのに1か月かかり、部下は上司を1週間で品定めできる」といわれるがその通りである。若いほど何事も吸収力は早いことは当然である。立場が上の者は、常に学問に対する前向きで真摯な姿勢を示すことこそが大事であることを肝に銘ずべきであろう。取り繕っても所詮そのようなことはすぐに見透される。

3. マクロライド系薬 (ML) 耐性マイコプラズマ菌の出現

マイコプラズマ菌の研究を始めた同時期、国立感染症研究所の岡崎氏らが2001年にML耐性マイコプラズマ菌の報告をしていることが注目された。当

時、臨床において一部のMLの微量投与が盛んに宣伝され、その使用量が急速に増加していた時期でもあった。短時間殺菌性の劣る薬剤ではその使用量がある一定量を超えると、耐性菌が出現すると考えられている。投与されたMLの肺胞内濃度は高くなるとしても、マイコプラズマ菌が棲息する気道部位の濃度が高くなるという証拠はないのである。

このような疑問から、諸角さんにはマイコプラズマ菌の迅速診断と同時に、ML耐性も検出できる primer の設計を指示した。彼女は耐性に関わる 23S rRNA 遺伝子上に primer を設計し、感受性を測定しなくとも検査材料に直接的 PCR を実施することによって ML 耐性 / 感性を識別できることを証明した (図7)^{13, 14)}。PCR によるマイコプラズマ感染症診断と耐性 / 感性菌の識別法は世界的にも参考にされ¹⁵⁾、論文の引用数では群を抜いている。16年と長期に



Morozumi M, et al., *J Infect Chemother.* 2010;16:78-86.

図7 マイコプラズマ菌の薬剤感受性と23S rRNA遺伝子変異との関係 (n=792)

赤で示すML耐性菌は Adenine2063 の Guanine への変異、緑は Adenine2064 の Guanine への変異株である。

(図7は巻末にカラーで掲載しています)

わたくし ML 耐性菌の動向を調べた疫学データは著者らのグループしかなく、彼女が地道に大変な労力を注いだ賜物といえる (図 8)^{16,17)}。

一方、臨床的に最もインパクトがあり注目されたのは、共同研究者の岡田隆文先生を筆頭としてまとめた ML 耐性菌感染症に対して MINO、DOXY、TFLX を投与した際の臨床経過と菌の推移を明らかにした研究である (図 9)¹⁸⁾。基礎と臨床の連携研究として独創性の非常に高いことが評価された。この研究を通じ、耐性菌が臨床に何をもちたのかという本質を明らかにしない限り、これからの耐性菌研究は originality の高い研究とはならないというのが私の持論となった。特に常在細菌ともいえるインフルエンザ菌などはさしずめその典型である。

4. マクロライド系薬耐性マイコプラズマの現状

さて、2011 年には実に分離株の 80% が ML 耐性菌であったが、その後、耐性率はどうなったのだろうか。耐性菌流行後には次第に感性菌の割合が増え、2018 年には ML 耐性菌は 20% 以下になっている (図 8)。ML 感性菌が増えた理由について、今までの収集した菌株の Multilocus Sequence Typing (MLST) を行うと、異なったタイプ (ST) のマイコプラズマ菌に置き換わっていることが明らかにされた¹⁷⁾。ML 耐性菌では ST3 が圧倒的に多かったの

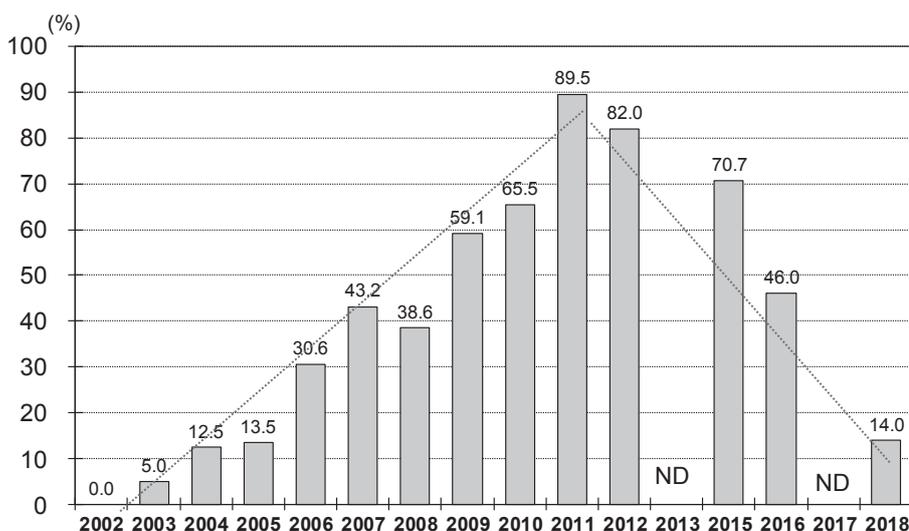
であるが、感性菌では ST7 型と ST33 型なのである (図 10)。

流行タイプは人々の間で流行し、ほとんどのヒトがそのタイプに対する抗体を獲得すると、新たに侵入してきたタイプの異なるマイコプラズマ菌へと置き換わっていくことが示されている。

Ⅲ. PCR 法の迅速診断への応用とその限界

最後に、臨床に役立つ微生物検査とは、即日結果が判明する必要があると考えていたことをどのように道筋をつけたのか記しておきたい。この件に関しては、確固たる信念ともいべき持論をもっていた。それは、髄膜炎を含む重症感染症に対しては、第 1 回の抗菌薬投与は empiric であったとしても、2 回目投与時には evidence に基づいた適正な抗菌薬へ変更すべきであるという考えである。耐性菌を問題視するならば、いつかは耐性菌が出現するとしても、それを生じさせない英知が求められる。

この考えに基づいて構築したのが PCR 法による i) 呼吸器感染症起炎菌 6 種の網羅的検索 (2006 年)¹⁹⁾、ii) 呼吸器ウイルスの網羅的検索 (2008 年)²⁰⁾、そして髄膜炎の起炎菌となる 8 菌種検索 (2009 年)²¹⁾ 用の real-time PCR 法である。細菌は肺炎球菌、イン

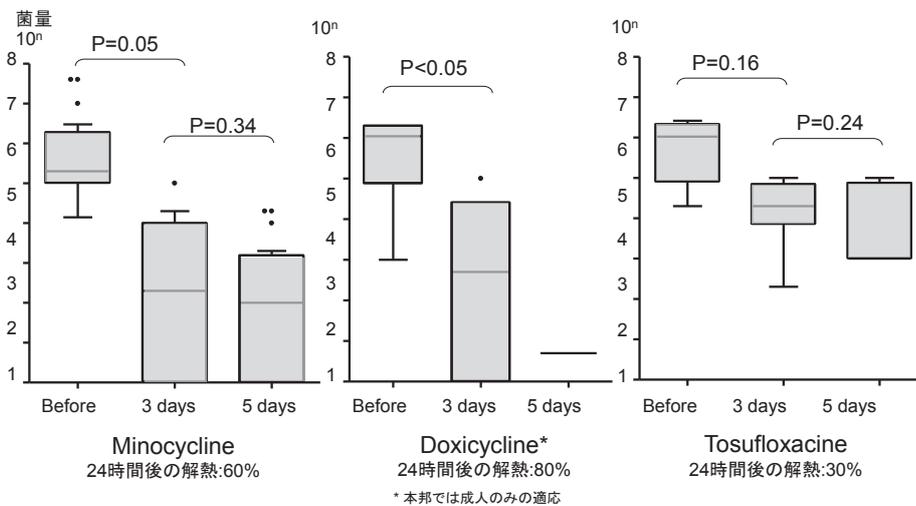


Morozumi M., et al., *Emerg Infect Dis.* 2020;26:2210-2213. (改変)

図 8 マクロライド耐性菌 (MRMP) の経年的推移：小児由来株 (n=1,184)
2007 年から成人におけるマイコプラズマ肺炎例からも耐性菌を分離している。

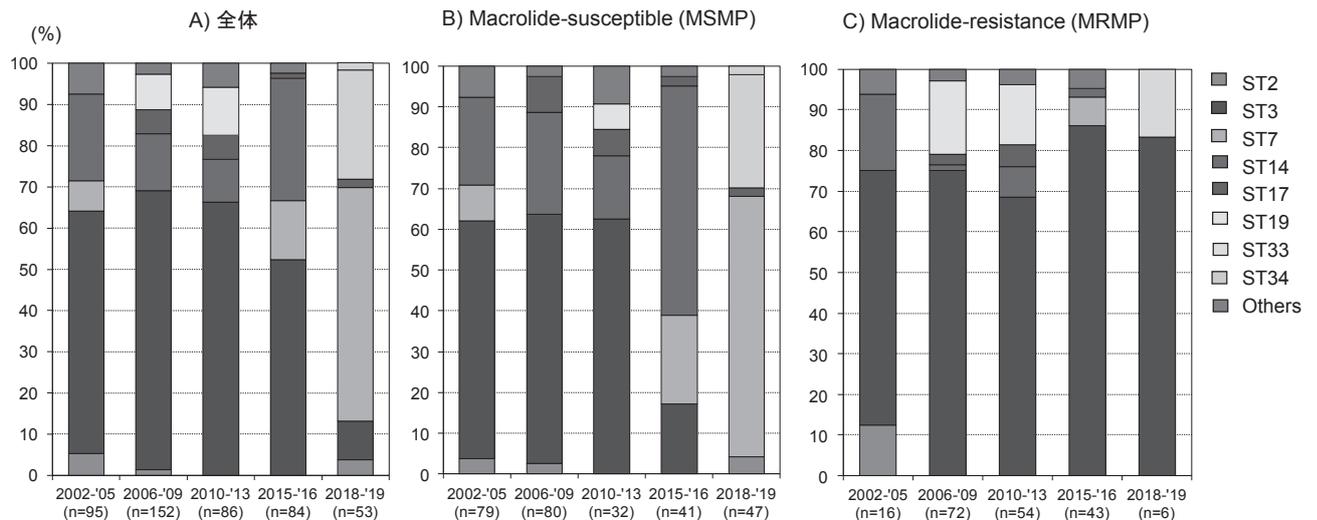
フルエンザ菌、マイコプラズマ菌、レンサ球菌 (GAS と SDSE)、レジオネラ菌、そしてクラミドフィラニューモニエ菌である。ウイルスは RS ウイルスサブグループ A と B、インフルエンザウイルスの A と B、パラインフルエンザウイルス (-1, -2, -3)、アデノウイルス、ライノウイルス、エンテロウイルス、一部のコロナウイルス、ヒューマンメタニューモウイルス、ヒューマンボカウイルスを網羅した。髄膜

炎用には肺炎球菌、インフルエンザ菌、B 群溶血性レンサ球菌、大腸菌、髄膜炎菌、リステリア菌、マイコプラズマ菌、黄色ブドウ球菌を検索の対象としている。これらの方法は診断の上ではるかに優れていたにも関わらず、残念ながらこの新規性の高い診断方法に国内企業は触手を伸ばさなかった。唯一、某企業のみが研究用試薬であればという条件で、試薬として市販することになった。国民皆保



Okada T., et al., *Clin Infect Dis.* 2012;55:1642-1649.

図 9 ML耐性マイコプラズマ (MRMP) 感染症に対する治療効果と菌数変化



Morozumi M., et al., *Emerg Infect Dis.* 2020;26:2210-2213.

図 10 ML耐性マイコプラズマ (MRMP) 感染症に対する治療効果と菌数変化

保存株の中から無作為に抽出したマイコプラズマ菌に対して MLST 解析を実施。

(図 10 は巻末にカラーで掲載しています)

険制度下のわが国では採算が合わないということと、その普及に確信が持てないというのが最大の理由であった。

そして、このデータに注目したのは、残念ながら日本ではなく米国の MUSC (Medical University of South Carolina) の Frederick SN 教授 (臨床病理、臨床検査部) らであった。2008 年 1 月、FDA によって呼吸器感染症の 12 種のウイルスを検索する Luminox/TmBioscience RVP パネルが承認されている。若ければ個人的にはさしずめベンチャー企業を考えるとこころである。外国からのものはすべて素晴らしいという日本の受身的な発想はそろそろ止めた方がよいと心底思うのである。

おわりに

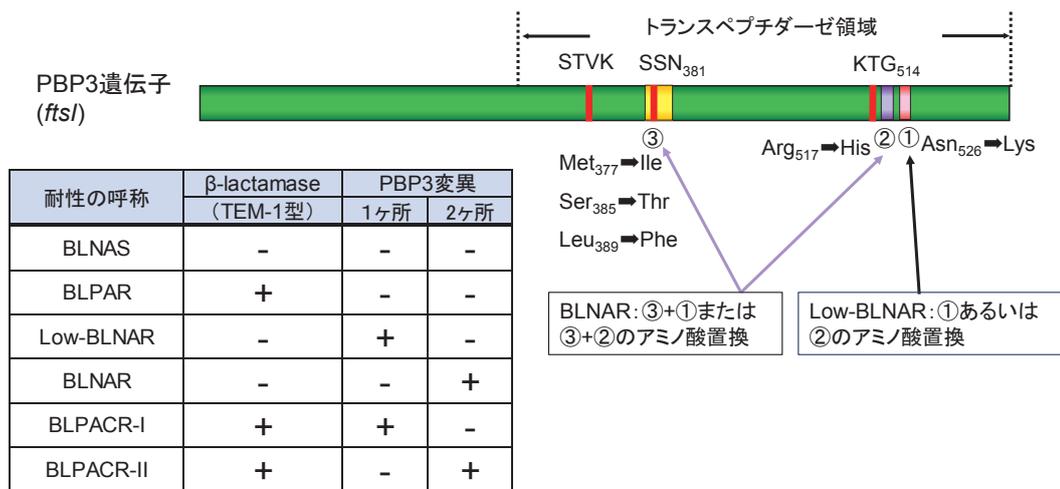
2 回にわたって、私の 50 年近い研究生活の中でのようなことを考え研究を進展させてきたのか、誌面の関係でその要点のみを記したが、その一端を理解していただければ幸いである。溶血性レンサ球菌やウイルスについては述べることはできなかった。

最後にぜひとも記しておきたいことがある。わが国の国民皆保険制度は誰もが等しく医療を享受できる素晴らしい制度であることは論を待たない。しかし、かつての英国がそうであったように、超高齢社会を迎えたわが国において、国家予算の半分が医療費という異常な現実には未来永劫維持できるわけではない。教育、環境問題等の重要な課題も山積している。医療において重点を置くべきは、さまざまな疾患に対する予防対策である。

文 献

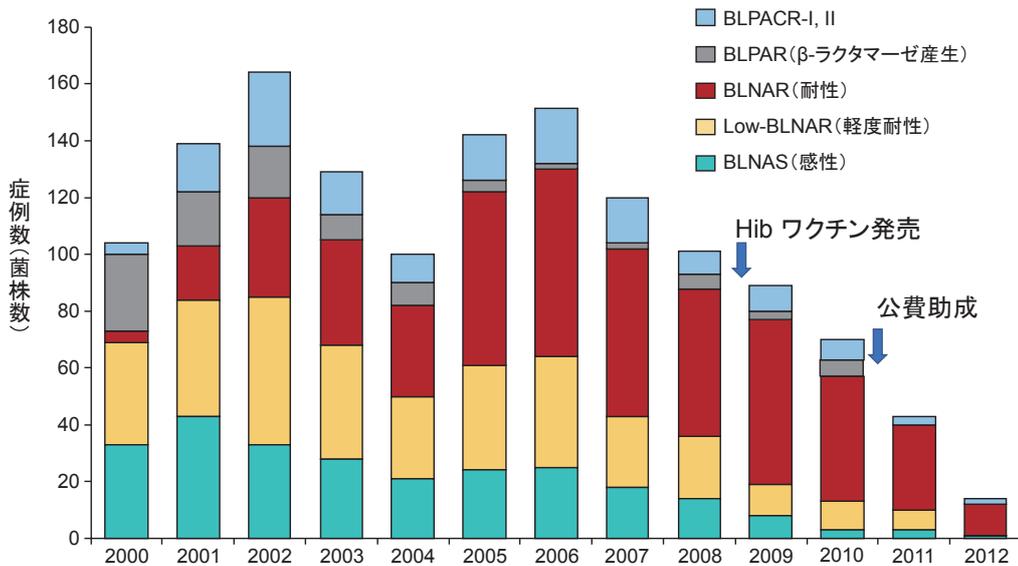
- 1) 生方公子, 高橋洋子, 紺野昌俊: *Haemophilus influenzae* 感染症治療におけるペニシリン系抗生物質の意義について。第4篇 Ampicillin により誘導された *Haemophilus influenzae* のスフェロプラストからの再増殖について。 *Chemotherapy* 1978; **26**: 666-675.
- 2) Schoendorf KC, Adams WG, Kiely JL, Wenger JD. National trends in *Haemophilus influenzae* meningitis mortality and hospitalization among children, 1980 through 1991. *Pediatrics*. 1994; **93**: 663-668.
- 3) Ubukata K, Chiba N, Hasegawa K, et al.: Differentiation of β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* from other *H. influenzae* strains by a disc method. *J Infect Chemother* 2002; **8**: 50-58.
- 4) Ubukata K, Shibasaki Y, Yamamoto K, Chiba N, Hasegawa K, et al. Association of amino acid substitutions in penicillin-binding protein 3 with β -lactam resistance in β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001; **45**: 1693-1699.
- 5) Hasegawa K, Chiba N, Kobayashi R, Murayama SY, Iwata S, et al. Rapidly increasing prevalence of beta-lactamase-nonproducing, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* type b in patients with meningitis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; **48**: 1509-1514.
- 6) Ubukata K, Chiba N, Morozumi M, Iwata S, Sunakawa K, et al. Longitudinal surveillance of *Haemophilus influenzae* isolates from pediatric patients with meningitis throughout Japan, 2000-2011. *J Infect Chemother* 2013; **19**: 34-41.
- 7) Ubukata K, Morozumi M, Sakuma M, Adachi Y, Mokuno E, Tajima T, Iwata S. Genetic characteristics and antibiotic resistance of *Haemophilus influenzae* isolates from pediatric patients with acute otitis media after introduction of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in Japan. *J Infect Chemother*. 2019; **25**: 720-726.
- 8) 李野恵理子, 他 日耳鼻, 2018; **121**: 887-898
- 9) Shimizu K, Yoshii Y, Morozumi M, Chiba N, Ubukata K, et al. Pathogens in COPD exacerbations identified by comprehensive real-time PCR plus older methods. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2015; **23**: 2009-2016.
- 10) Morozumi M, Hasegawa K, Chiba N, Iwata S, Kawamura N, Kuroki H, Tajima T, Ubukata K. Application of PCR for *Mycoplasma pneumoniae* detection in children with community-acquired pneumonia. *J Infect Chemother*. 2004. **10**: 274-279.
- 11) Morozumi M, Ito A, Murayama SY, Hasegawa K, Kobayashi R, Iwata S, Kawamura N, Kuroki H, Nakayama E, Tajima T, Ubukata K. Assessment of real-time PCR for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in pediatric patients. *Can J Microbiol*. 2006. **52**: 125-129.
- 12) Okada T, Morozumi M, Sakata H, et al. A practical approach estimating etiologic agents using real-time PCR in pediatric inpatients with community-acquired pneumonia. *J Infect Chemother*. 2012; **18**: 832-840.
- 13) Morozumi M, Hasegawa K, Kobayashi R, Inoue N, Iwata S, Kuroki H, Kawamura N, Nakayama E, Tajima T, Shimizu K, Ubukata K. Emergence of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* with a 23S rRNA gene mutation. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005. **49**: 2302-2306.
- 14) Morozumi M, Iwata S, Hasegawa K, Chiba N, Takayanagi R, Matsubara K, Nakayama E, Sunakawa K, Ubukata K; Acute Respiratory Diseases Study Group. Increased macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in pediatric patients with community-acquired pneumonia. *Antimi-*

- crov Agents Chemother.* 2008. **52**: 348-350.
- 15) Peuchant O, Ménard A, Renaudin H, Morozumi M, Ubukata K, Bébéar CM, Pereyre S. Increased macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in France directly detected in clinical specimens by real-time PCR and melting curve analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2009. **64**: 52-58.
 - 16) Morozumi M, Takahashi T, Ubukata K. Macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*: characteristics of isolates and clinical aspects of community-acquired pneumonia. *J Infect Chemother* 2010; **16**: 78-86.
 - 17) Morozumi M, Tajima T, Sakuma M, et al. Sequence Type Changes Associated with Decreasing Macrolide-Resistant *Mycoplasma pneumoniae*, Japan. *Emerg Infect Dis.* 2020; **26**(9): 2210-2213.
 - 18) Okada T, Morozumi M, Tajima T, Hasegawa M, Sakata H, Ohnari S, Chiba N, Iwata S, Ubukata K. Rapid effectiveness of minocycline or doxycycline against macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* infection in a 2011 outbreak among Japanese children. *Clin Infect Dis.* 2012. **55**: 1642-1649.
 - 19) Morozumi M, Nakayama E, Iwata S, Aoki Y, Hasegawa K, Kobayashi R, Chiba N, Tajima T, Ubukata K. Simultaneous detection of pathogens in clinical samples from patients with community-acquired pneumonia by real-time PCR with pathogen-specific molecular beacon probes. *J Clin Microbiol.* 2006. **44**: 1440-1446.
 - 20) Hamano-Hasegawa K, Morozumi M, Nakayama E, Chiba N, Murayama SY, Takayanagi R, Iwata S, Sunakawa K, Ubukata K; Acute Respiratory Diseases Study Group. Comprehensive detection of causative pathogens using real-time PCR to diagnose pediatric community-acquired pneumonia. *J Infect Chemother.* 2008. **14**: 424-432.
 - 21) Chiba N, Murayama SY, Morozumi M, Nakayama E, Okada T, Iwata S, Sunakawa K, Ubukata K. Rapid detection of eight causative pathogens for the diagnosis of bacterial meningitis by real-time PCR. *J Infect Chemother.* 2009. **15**: 92-98.



Ubukata K, et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45: 1693-1699.

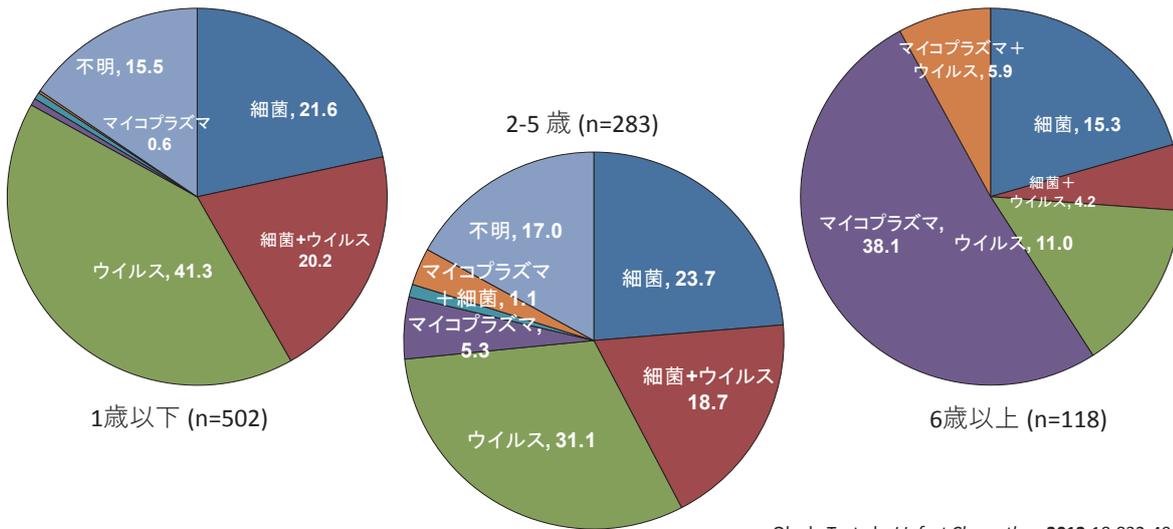
図3 インフルエンザ菌の細胞壁合成酵素 (PBP3) をコードする *ftsI* 遺伝子変異によるβ-ラクタム系薬耐性メカニズム



Ubukata K., et al., *J Infect Chemother.* 2013;19 :34-41 (改変)

図4 化膿性髄膜炎全国サーベイランスによって収集された莢膜b型インフルエンザ菌 (Hib) の耐性化の変遷とHibワクチン導入効果

ワクチン導入前には年間平均120例近くの送付を受けたが、わが国の年間発症数の20-25%を解析していたと推定される。

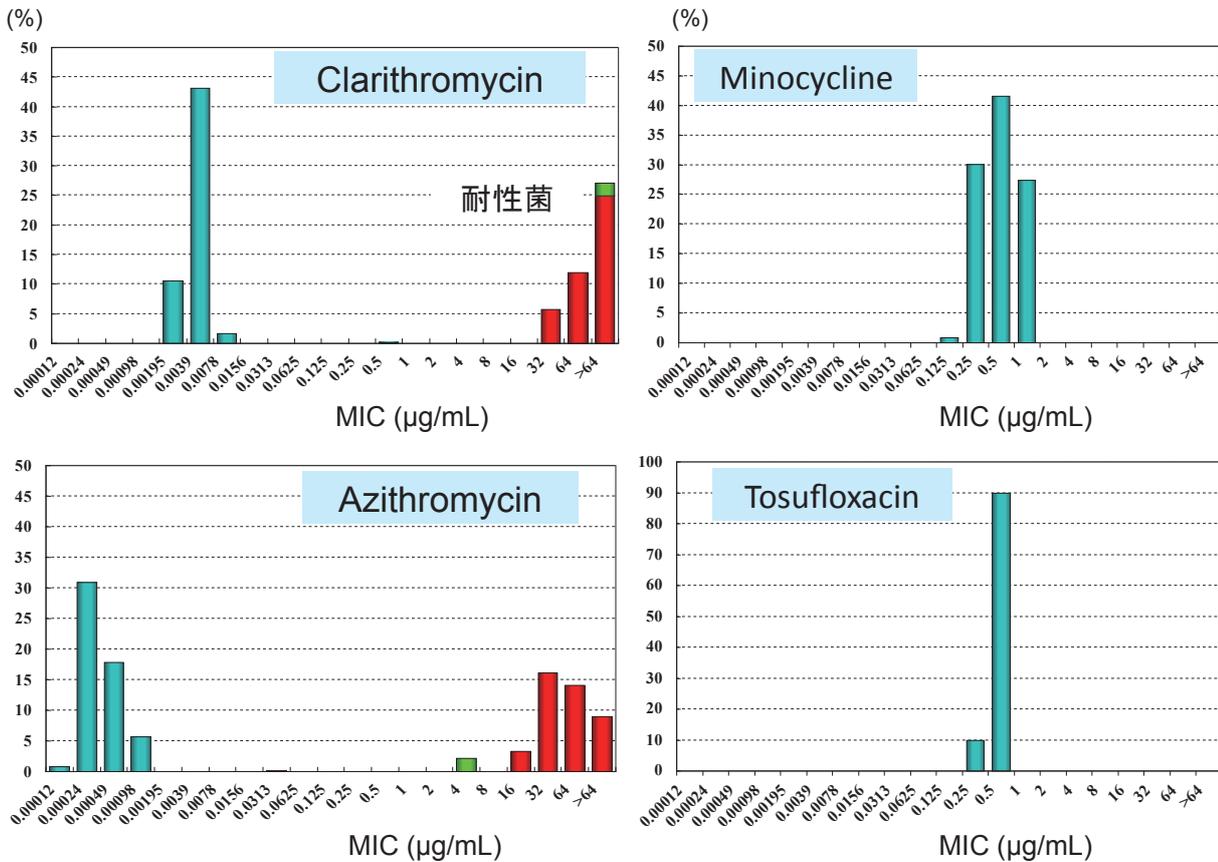


Okada T, et al., *J Infect Chemother.* 2012;18:832-40.

図6 小児肺炎例の起炎微生物の内訳 (n=903)

年齢で原因微生物が明らかに異なり、ウイルスによる発症例が半数を占める。細菌関与例は48.6%、そのうちの45%は肺炎球菌である。マイコプラズマによる肺炎は大多数が学童期に発症している。

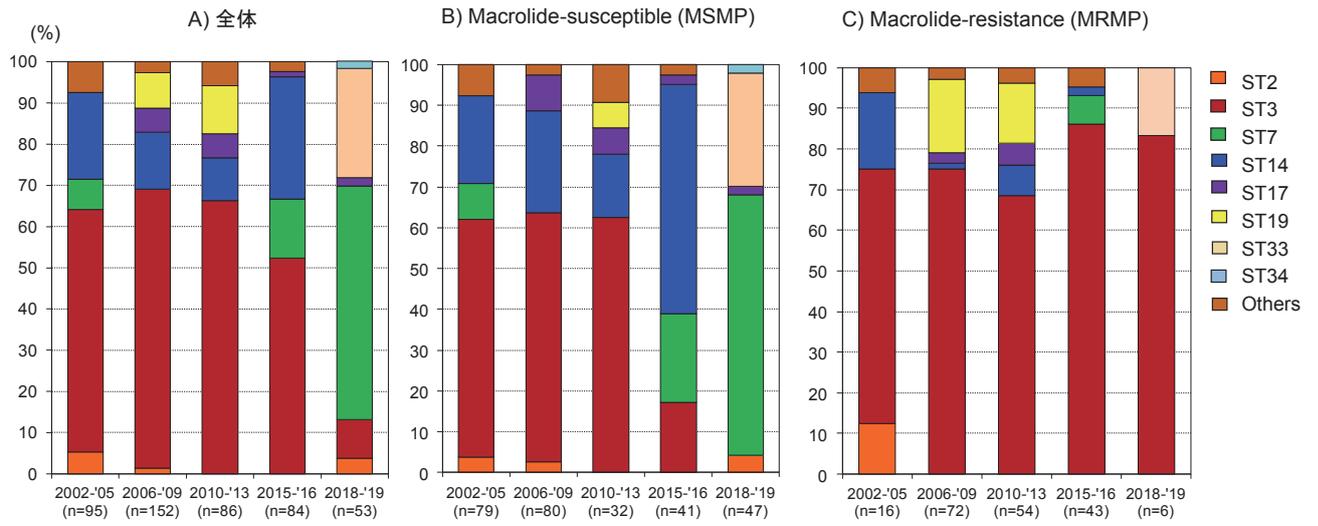
ウイルス単独感染はRSVが最も多く、次いでパラインフルエンザウイルスとヒューマン・メタニューモウイルスである。ライノウイルスやヒューマンボカウイルスは細菌との混合感染が多い。円グラフ内の数値は%である。



Morozumi M, et al., *J Infect Chemother.* 2010;16:78-86.

図7 マイコプラズマ菌の薬剤感受性と23S rRNA遺伝子変異との関係 (n=792)

赤で示すML耐性菌はAdenine2063のGuanineへの変異、緑はAdenine2064のGuanineへの変異株である。



Morozumi M., et al., *Emerg Infect Dis.* 2020;26:2210-2213.

図 10 ML耐性マイコプラズマ (MRMP) 感染症に対する治療効果と菌数変化
保存株の中から無作為に抽出したマイコプラズマ菌に対して MLST 解析を実施。