

## 論文内容要旨 (乙)

A molecular analysis of quinolone-resistant *Haemophilus influenzae*:  
Validation of the mutations in Quinolone Resistance-Determining  
Regions

Journal of Infection and Chemotherapy (Vol.20 No.4 P.250-5 2014 年)

微生物学講座 小司久志

### 【背景・目的】

呼吸器感染症領域においてインフルエンザ菌は重要な原因菌の一つであるが、これらを外来で治療する際に最も効果の期待できる薬剤としてキノロン系抗菌薬が挙げられる。しかし近年、キノロン薬に低感受性を示すインフルエンザ菌の報告が散見されるようになった。キノロン薬は II 型 Topoisomerase である DNA gyrase (GyrA, GyrB) と Topoisomerase IV (ParC, ParE) を阻害することで抗菌活性を示すが、これら標的酵素のアミノ酸変異、中でも Quinolone Resistance-Determining Regions (キノロン耐性決定領域: QRDRs) と呼ばれる部位の変異が耐性化に強く関与していることが報告されている。今回我々は本邦で分離されたインフルエンザ菌を用いて QRDRs のアミノ酸変異とキノロン薬に対する MIC との関係を解析した。

### 【方法】

菌株は 2006 年から 2010 年の全国サーベイランスで得られたインフルエンザ菌 853 株のうち、キノロン薬に耐性 (moxifloxacin: MFLX もしくは levofloxacin: LVFX に 2 µg/ml 以上) を示す 11 株と昭和大学病院で得られたキノロン感受性の 18 株を用いた。感受性試験は微量液体希釈法を用いて LVFX、MFLX、tosufloxacin: TFLX、garenoxacin、sitafloxacin: STFX の MIC を測定した。耐性株および感受性株の GyrA、GyrB、ParC、ParE それぞれの QRDRs の塩基配列を解析し、アミノ酸

変異と MFLX MIC との関連を調査した。また QRDRs にアミノ酸変異を有さなかった感受性株をキノロン薬 (TFLX) で耐性誘導し、耐性株と同様のアミノ酸変異が出現するか評価した。

### 【結果】

本邦のキノロン耐性インフルエンザ菌の分離頻度は 1.3% であり、年次推移に変化はなかった。GyrA の Ser84、Asp88 と ParC の Gly82、Ser84 および Glu88 にアミノ変異を有する株は高い MIC を示していた。これらの変異がなければ、MFLX MIC が 0.06  $\mu\text{g/ml}$  以下であり、変異が 1 つでは MFLX MIC は 0.125-1  $\mu\text{g/ml}$ 、2 つでは 2-4  $\mu\text{g/ml}$ 、3 つ以上では 8  $\mu\text{g/ml}$  以上であった。GyrB と ParE の変異と MFLX MIC に関連は認めなかった。STFX は全ての株に対して MIC が 0.5  $\mu\text{g/ml}$  以下であった。またキノロン負荷によって 3 株の耐性誘導株を得た。これら耐性誘導株でも同様に変異が 1 つの株では MFLX MIC は 0.5-1  $\mu\text{g/ml}$ 、2 つでは 2  $\mu\text{g/ml}$  であった。耐性誘導株と親株に対してパルスフィールドゲル電気泳動を実施したところ、同一パターンであった。

### 【考察】

従来の報告どおりキノロン耐性株では GyrA の Ser84、Asp88 と ParC の Gly82、Ser84 および Glu88 にアミノ変異を有していた。耐性誘導株でも耐性株と同様のアミノ変異を認めたことから、これらがキノロン耐性に密接に関係していることが示唆された。感受性株 18 株のうち、3 株 (16.7%) に 1 つのアミノ酸変異を認め、MFLX MIC が 0.125-0.5  $\mu\text{g/ml}$  と上昇していた。これらは耐性初期株と考えられる。現在はまだキノロン耐性株は低率であるが、 $\beta$ ラクタム薬同様にキノロン薬の使用量が増加すればキノロン耐性株を助長する可能性が示唆された。