薬 剤 耐 性 菌 の 遺 伝

三 橋 進

(Susumu MITSUHASHI)

群馬大学医学部

経験的に樹皮や、コカの葉などを使用していた医学は、Ehrlich^(1,2) の天才的な洞察によって、有機化学を背景とした実験的化学療法の時代をむかえた。細菌性疾患に有効な最初の薬剤は、Domagk (1935)⁽³⁾ によって発見され赤色プロントシルの名で世に送り出された。同年、パストゥール研究所の Tréfouel によって、プロントシルの有効な部分は、すでに既知のスルホンアミド (SA) にあることが明らかにされ、ここにスルホンアミド時代が誕生したのである。きわめて奇異なことには、医薬の革命とうたわれた抗生物質の発見は、プロントシルに先立つこと 6 年前の 1929 年のことであった。

世界の医学界が SA の有効さに驚嘆しているとき、英国研究者の一人は、あまり人にとりあげられていなかった Fleming⁽⁴⁾ の発見にかかるペニシリン (PC) を研究テーマとしてとりあげ、Fleming につづく PC の第 2 報を出したのは、1 報に遅れること 11 年目の 1940 年であった⁽⁵⁾。

以後、SA 製剤の改変と、抗生剤の次々の発見によって、医学界においては細菌感染症はほとんど問題とするに至らないものと考えられるようになってきた。ところが、細菌の示す急速な多剤耐性化は驚くべき勢いで進み、新薬剤の発見、改良がこれに追いつかないほどの状況を呈するに至った。

まず、医学の領域において問題とされている細菌の薬剤耐性と、その出現状況についてふれてみる。

1. 人の病巣由来の細菌の種類とその薬剤耐性

近年、医学領域における大きい進歩は、予防接種の普及と抗菌製剤の使用である。免疫学的手段によって防ぎうる細菌感染症は、衛生環境の進歩と相まって急速に減

少しつつある。ジフテリア、百日咳、チフス症、コレラなどの伝染病がこれである。

一方、このような免疫手段が十分な力を奏さない感染症がある。われわれの周辺に常在する細菌のグループは、薬剤耐性化によって生残し、跋扈しうるグループと、凋落してゆくグループとに分けられる。病巣由来菌のエコロジカルな変遷と申してよい。

前者に属する菌として、ブドウ球菌、大腸菌、変形菌、*Klebsiella-Aerobacter* 群、緑膿菌があげられる。結核菌はその多剤耐性化が注目されているが、患者の隔離という手段によって患者は減少しつつある。後者のグループとして、肺炎球菌などがあげられる。このような病巣菌の交代は、細菌学的に興味ある問題であるが、本論の趣旨からはずれるので、別の機会に述べることにする。

ここでは、現在、文明国において人の病巣から多く分離され、多剤耐性化している菌として注目されつつあるものをとりあげてみることにする。

2. 薬 剤 耐 性 菌

細菌も生物の一員であれば、当然変異をする。薬剤に対し耐性獲得の変異をしたものが耐性菌である。耐性菌の出現に対し、これまでに 2 つの考え方がある。すなわち、耐性菌の出現は変異によるものであって、薬剤の有無に無関係である、薬剤はただ出現した耐性菌を選択するに過ぎないとする考え方である (変異と選択)。これに対し、薬剤の存在することが耐性菌の出現になんらかの影響を及ぼすものであるとする考え方がある (変異の誘導)。現在、前者の考え方が支配的である。

耐性菌の中には、その耐性値が一定であるものと、その細菌が薬剤にふれることによって耐性値が誘導されて

上昇するものとの2つがある。後者の耐性は誘導型耐性と名づけられ、その性質はもちろん遺伝する。ブドウ球菌のPC耐性、マクロライド抗生物質 (Mac) 耐性に、この種のもが多くみられる。これについては後で述べる。

また、エビゾームやプラスミドのごとき細胞質遺伝因子がその菌に感染したために発現する耐性と、他の細菌の耐性がバクテリオファージによって導入された結果生じた導入株 (Transductant) の示す耐性もある。以上の区別を表1に示した。

薬剤耐性が細菌の変異によるものであれば、当然、各薬剤に対する変異菌の出現率があるはずである。A薬剤に対する変異菌の出現率を 10^{-a} 、B薬剤のそれを 10^{-b} 、C、D薬剤のそれをそれぞれ 10^{-c} 、 10^{-d} とする。 a, b, c, d はふつう5から8程度の値を示す。各変異がそれぞれ独立に起こるものとすれば、A、Bの薬剤に同時に耐性化する割合は $10^{-(a+b)}$ 、A、B、C、Dの4薬剤に同時に耐性化する割合は $10^{-(a+b+c+d)}$ となる。すなわち、理論的には多剤耐性菌はきわめて出現しにくいはずで、このことが臨床的に合剤を治療に使用する理由である。ところが、実際には病巣から分離される多くの細菌は多剤に耐性化しているのが実状である。これらの原因について、次に述べてみたい。

3. ブドウ球菌の薬剤耐性

われわれは1961年から全国各地の大学の付属病院、国立病院において、分離された病巣由来のブドウ球菌を集め、その薬剤耐性およびそのファージ型を測定してきた^(6,7)。その結果、薬剤感受性菌は非常に少なく、とくにSAに関してはわずかに数%が感受性であるに過ぎない。テトラサイクリン系薬剤 (TC)、ストレプトマイシン (SM)、ペニシリン G (PC)、およびSAの4剤に耐性の菌が多いことが注目された。

上記4剤の交叉耐性を図1に示した。

TC, SA, SM, PCの4剤に対し多剤耐性化していることが注目される。とくに、4剤 (TC, SA, SM, PC) あるいは3剤耐性化しているものが全体の40%近くに達している。ブ

表1 細菌の示す薬剤耐性の種類

ドウ球菌の疫学的研究を行なうために国際的に決められたファージを用いて、溶菌するか否かでファージ型を決めている。

上記の4剤耐性とSA1剤耐性菌のファージ型を図2に示した。

興味あることに、SA1剤耐性菌には各種のファージ型を示すものが混在している。これに反し、(TC, SA,

図1 TC, SM, SA, PC からみたブドウ球菌の薬剤耐性型

図2 ブドウ球菌の耐性型とファージ型との関係

表 2 ブドウ球菌の TC, SA, SM, PC 耐性と他の薬剤耐性との関係

TC, SA, SM, PC	薬 剤				
	Mac	CM	DMP	NB	KM
単剤 (31%) SA	9.6	11.8	11.8	37.0	8.3
SM. SA 2 剤 (30%) TC. SA PC. SA	21.2	2.74	31.0	22.3	24.9
TC. PC. SA 3 剤 および 4 剤 (38%) TC. SM. SA SM. PC. SA TC. SM. PC. SA	69.2	60.8	57.2	40.7	66.8

Mac: マクロライド抗生物質, CM: クロラムフェニコール, DMP: dimethoxyphenyl penicillin, NB: ノボジオシン, KM: カナマイシン.

() 内数字はその耐性型の菌の分離頻度.

SM. PC) の 4 剤耐性菌にはファージ型 1 群と型別不能のものが多く, 年々, 型別不能株が増加の傾向にある.

次に, 上記 4 薬剤 (TC, SA, SM, PC) 耐性と他の薬剤耐性との関係を, 1961 年から 1965 年の間に分離された約 3,000 株について調査した (表 2).

(TC, SA, SM, PC) の 3 剤または 4 剤耐性菌は, 他の薬剤に対し耐性を示すものが多い. すなわち, (TC, SA, SM, PC) に多剤耐性を示す菌は, 新薬が導入されると容易に耐性化され, いっそう多剤耐性化される傾向をもっている. したがって, 実際には, マクロライド抗生物質である EM (エリスロマイシン), OM (オレアンドマイシン), LM (ロイコマイシン), SP (スピラマイシン), JM (ジョサマイシン) のすべてとリンコマイシン (LCM) を含め, 10 剤, 15 剤耐性菌が分離される.

細菌を大別すると, グラム陽性菌と陰性菌に分けられる. 前者に属する細菌としてブドウ球菌, 肺炎球菌, 連鎖球菌がある. これらの球菌類の中で, 肺炎球菌はかつて大葉性肺炎の原因菌として老人, 小児の死亡率の大きい割合を占めていたが, 近年ではその割合は著しく減少し, しかもほとんどの菌は耐性を獲得していない. 連鎖球菌は依然分離される例数には著しい変化はみせていないが, その耐性はわずかに TC 1 剤耐性のものが圧倒的に多く, ブドウ球菌のようにとくに多剤耐性化する傾向はみられない. しかし, ブドウ球菌, 連鎖球菌, 肺炎球菌を培養し, 研究室内で薬剤加平板に塗抹し耐性菌の出現頻度をみると, 三者の間にとくに著しい差はみられない. このことから, ブドウ球菌のみが多剤耐性化し, 広範に病巣から分離されるためには, なんらかの原因がなくてはならないものと考えられる.

すなわち, 1) ブドウ球菌には多剤耐性化の傾向が強い, 2) 多剤耐性菌は特定のファージ型 (あるいは群) にかたよっている, 3) 多くのブドウ球菌は溶原化している, すなわちプロファージをもっている, ことが考えられる.

以上のような理由から, 筆者はブドウ球菌のプロファージによる耐性の導入によって薬剤耐性が伝播し, ファージ感染によってファージ型が一定の方向にかたよってゆくとの考えを提唱した^(7,8).

1) ブドウ球菌薬剤耐性のファージによる導入

疫学的な調査から明らかのように, ブドウ球菌の多剤耐性をみると, SA 耐性を必ず伴い, つぎに TC, SM, PC 耐性をもったものが多い. とくに TC 耐性は多剤耐性菌に必ず出現し, TC 耐性をもった菌の耐性値は高い値を示すことが多い. 以上のことから, TC 耐性をもつ多剤耐性ブドウ球菌を選び, その菌から誘発して出てくるプロファージによる TC 耐性の導入を試みた. TC 耐性の donor と recipient を種々組み合わせてみると, ほとんどの菌が TC 耐性を導入できることが明らかになった⁽⁸⁾. この際, TC 耐性ととも SM 耐性が同時に連関導入される. また, 導入に使用したファージの感染で recipient のファージ型が変化し, 多剤耐性菌に多い 80/81 型あるいは型別不能 (NT) に変わることが見いだされた.

2) 耐性の連関導入

その後の解析で, ブドウ球菌の耐性のかなり多くが容易に連関導入される (表 3).

これからみると, (TC. SA. SM), (TC. SA) を伴った耐性の多いことがよく理解される⁽⁹⁾. きわめて興味あることに, TC を伴う多剤耐性は必ず SA 耐性をもっている. この (TC. SA) 耐性は必ず連関導入される. しかし, 図 1 からわかるように, TC を伴わない SA 1 剤耐性菌もかなり分離される. このグループのファージ型は 2

表 3 ブドウ球菌における薬剤耐性の連関導入

薬 剤 耐 性	文 献
TC. SM	Mitsuhashi <i>et al.</i> (1965) ⁽⁸⁾
TC. SA. SM	Kasuga and Mitsuhashi (1967) ⁽⁹⁾
Mac. PC	Mitsuhashi <i>et al.</i> (1965) ⁽¹⁰⁾
Mac. PC. Hg	Novick and Richmond (1965) ⁽¹¹⁾
Mac. LCM. <i>i</i> locus	Hashimoto <i>et al.</i> (1967) ⁽¹²⁾
CM. TC	Inoue <i>et al.</i> (1967) ⁽¹³⁾

Hg: 水銀耐性, *i*: 誘導可能な Mac 耐性の調節遺伝子, LCM: リンコマイシン.

群菌が多く、おそらくその耐性機構は TC を伴うものと異なることが予想される。また、2 群菌に耐性の導入は困難なことが多く、SA 1 剤耐性菌が多剤耐性化しないで残っている原因も recipient になりにくいためかもしれない。後述するように、EM, OM, LM, SP, JM などを含む Mac 抗生物質耐性を支配する遺伝子と PC 耐性のそれとが、1 つのプラスミド上にあることが証明された。この (Mac. PC), あるいは (Mac. PC) と水銀耐性 (Hg) とが連関導入される。また、誘導可能な Mac 耐性があるが、その調節遺伝子 (i) と (Mac. LCM) 耐性が連関導入される。これらの事実から、ブドウ球菌の耐性を支配する遺伝子は cluster を形成して、ファージで連関導入できる近い位置に存在し、この連関導入の可能なことが多剤耐性化に一役かっているものと考えられる⁽²³⁾。

その後、米国においてマウスに薬剤感受性菌を感染させ、多剤耐性菌から誘発させたファージを注射することによって、マウス体内で感性菌を耐性化することに成功している。したがって、マウスの薬剤耐性化にプロファージによる導入が大きい役割を果たしているという考え方をいっそう支持する結果が得られたことになる。

3) ファージ感染によるファージ型の変化

ブドウ球菌が他のファージの感染、溶原化に伴われて、そのファージ型が変化する事実は、古くから知られていた⁽¹⁴⁻¹⁶⁾。われわれも TC 耐性の導入に際し、TC 耐性の導入とは別に、使用したファージの溶原化に伴われて、ファージ型が 80/81 あるいは型別不能 (NT) に変化することに気づいた^(8,17)。TC 耐性を獲得した transducent で、導入に使用したファージの溶原化をうけファージ型の変化した菌は、その TC 耐性をまた導入できる donor となりうる。ファージ感染によってファージ型の変化がおこる場合に、1) ファージの喪失、2) ファー

図 3 ファージ感染によるブドウ球菌のファージ型の変化

ジの置換え、3) ファージの溶原化 (図 3), の 3 つの可能性があげられる。

4) プラスミドと不安定な耐性

プラスミドとは細菌の細胞質内に存在し、接合によって他の菌に伝達できない遺伝因子である。われわれは、病巣由来の Mac 耐性のブドウ球菌をアクリジン系薬剤で処理することによって、Mac 耐性を不可逆的に除去できる事実を発見した^(18,19)。後で述べる R 因子のように接合による伝達性のないことから、Mac 耐性を支配する遺伝子はプラスミド上にあると結論した。その後、Novick は、ブドウ球菌のペニシリン分解酵素 (PCase) 生産性 (PC 耐性) を支配する遺伝子は種々の遺伝学的解析からプラスミド上にあるものと結論した。しかし、アクリジン系色素による除去が不成功であることが、この結論に反する 1 つの事実であると発表した⁽²⁰⁾。われわれの研究室では、PCase を支配する遺伝子が不可逆的に除去され、この菌株を用いると PCase, Mac を支配する遺伝子が同時に除去でき、導入実験からも両遺伝子は同一の遺伝因子 (プラスミド) 上になっているものであると結論した^(19,21)。したがって、現在は次の 3 つのプラスミドが知られている。

- 1) PCase 生産性を支配するもの^(11,12),
- 2) PCase と Mac 耐性を支配するもの^(18,19,21),
- 3) PCase と Hg 耐性を支配するもの⁽²²⁾。

その後、ブドウ球菌の耐性の不安定性が指摘され⁽²³⁾ (表 4), このうち、CM および TC 耐性もまたプラスミ

表 4 ブドウ球菌における不安定な耐性

耐 性	処 理	報 告 者
CM	Acridavine	Chabbert (1964) ⁽²⁴⁾
KM	Acridavine	Chabbert (1964) ⁽²⁴⁾
PC	Acridavine 高 温	Mitsubishi (1964) ⁽²¹⁾ Perret (1964) ⁽²⁵⁾
TC	高 温 高 温	Perret (1964) ⁽²⁵⁾ Asheshov (1966) ⁽²⁶⁾
Mac	Acridavine	Mitsubishi (1963) ⁽¹⁸⁾
SM	保 存	Mitsubishi (1963) ⁽²⁷⁾

ド上にあるという結論がなされた。TC 耐性の不安定な株を Perret から入手して解析した結果では、この不安定性は菌そのものの性状によるもので、Perret の使用した菌を donor としてその TC 耐性をわれわれの菌株に導入するとまったく安定な TC 耐性に、われわれの安定な TC 耐性を彼の菌株に導入すると不安定な TC 耐性

になる⁽²⁸⁾。したがって、耐性がアクリジン系色素や温度処理で除かれたからといって、プラスミド上にあるという結論はできない。たとえば、Chabbert の報告したプラスミド上にある CM 耐性遺伝子の場合も、われわれの実験では TC と関連導入される場合がある。TC 耐性遺伝子はおそらく染色体上にあると考えられていることからすると、一概に CM 耐性遺伝子を不安定さのためにプラスミド上にあるとは結論されない。不安定な耐性遺伝子のブドウ球菌細胞内におけるあり方についての遺伝学的、分子生物学的な解析は、今後の課題である。

5) 誘導型の耐性

病巣由来のブドウ球菌の示す PC 耐性のほとんどすべては、PCase 生産性による。この PCase 生産は誘導酵素で微量の PC によって誘導される。PC のない培地で培養すると PCase 生産能は低下する⁽²⁹⁾。このような菌は耐性を測定する平板の上でよく気づかれる。すなわち、37°C に incubate する時間を長くすると、菌はより高い薬剤濃度の平板にまで発育できるようになる。また、接種菌量の多少によって耐性値が著しく変動する。このような例をマクロライド耐性についても経験した⁽³⁰⁻³²⁾。Mac 耐性の inducer としては EM または OM が知られている。EM または OM の存在下で培養された菌は、短い時間で Mac 抗生物質のすべて (EM. OM. LM. SP. JM) と LCM に耐性となる。LCM は Mac と化学的に異なるにもかかわらず、Mac と交叉耐性をもつことは興味がある。薬剤のない培地で培養すると、耐性は低下する。病巣から、あるいは研究室で、Mac のすべてに安定な耐性を示す菌も得られる。われわれは、これを Mac 耐性の A 群と分類した。Mac 耐性が誘導されるグループを C 群と分類した⁽³³⁾。研究室では、EM, OM のほかに、LM, JM が inducer となりうる菌も得られている。したがって、Mac 耐性菌は今後、種々の Mac 抗生物質が inducer となりうる菌、換言すれば inducer の幅を広げるような方面への変異と、C 群から A 群に変異するものとの 2 種類が増えるものと思われる。事実、A 群は年々増加の傾向にある。

このほか、ブドウ球菌の耐性のうち、誘導型のものとして CM⁽³⁴⁾ および TC 耐性^(35,36) が知られている。これらのことから考えると、誘導されて耐性化する機構は、細菌が示す環境に対処するために、きわめてすぐれており、正常な代謝過程のごくわずかな変異によって、その薬剤に接触後その薬剤を不活化する機能 (PCase 生産、CM の acetyl 化) を獲得するものと思われる。

4. グラム陰性桿菌の薬剤耐性

先にも述べたように、肺炎球菌、連鎖球菌はブドウ球菌とともに病因の大きい割合を占めていた。近年、これらグラム陽性菌の病巣からの分離率は、ブドウ球菌を除いて減少の傾向にあり、これに代わってグラム陰性桿菌が次第に重要視される傾向にある。この方向の研究を目的として研究会が組織され、全国各地の病院で分離されるグラム陰性桿菌が筆者の研究室に送られ、その同定と薬剤耐性の測定が行なわれている⁽³⁷⁾。菌の分離頻度を図 4 に示した。

図 4 病巣由来グラム陰性桿菌の分離頻度
1966, 67 年分離された; 1,770 株の結果を示した。

われわれの体に常在する、病原性の比較的低い細菌が多いことが注目される。しかも、これらの細菌による感染は年々増加の傾向にあり、手術後の感染、慢性患者の入院中におけるこれらの菌による尿路疾患などが注目をあびている。このほか、わが国および東南アジアなどの未開国で問題となるのは赤痢菌である。赤痢も年々症状が軽く、かつての重症エキリのごときはほとんどみられない。分離される菌も、かつての症状の重かった頃の菌型から *S. sonnei* に移行しつつある。これらの菌がブドウ球菌などとともに跋扈する原因としては、1) 感染性、定着性が大、2) 宿主に充分の免疫が成立しないことなどのほか、多剤耐性が注目すべき問題である。

1) 赤痢菌の薬剤耐性

赤痢菌の約 90% は SA 耐性である。抗生剤耐性のほとんどは CM, TC, SM の 3 者で、この 3 薬剤に耐性赤痢菌の増加の割合を図 5 に示した。急速の増加と、多剤耐性菌の多いことが注目される。TC, CM, SM, SA の 4 薬剤についてその耐性型をみると、(TC, CM, SM, SA) の 4 剤耐性が著しく多く、全体の 75% を占め、そ

図 5 抗生剤耐性赤痢菌の分離頻度
抗生剤: CM, TC, SM ■: 多剤耐性菌分離頻度

図 6 赤痢菌の薬剤耐性型
1966 年分離した; 4,292 株の結果を示した。

他の耐性型は SA 1 剤耐性を除いてきわめて稀である (図 6)。この事実が、先に述べた多剤耐性菌の異常な増加として遺伝学的に注目された所以である。

後に述べるように、この多剤耐性の大部分が伝染性のある R 因子の感染による。赤痢菌においては上記 4 剤以外の薬剤耐性はきわめて少なく、nalidixic acid (NA) 耐性は 9,635 株調査中わずか 7%, aminobenzyl penicillin (AB-PC) 耐性が 0.9% に過ぎなかった。

2) 他のグラム陰性桿菌の耐性

緑膿菌 (*Pyocyanus*) は多くの薬剤に耐性で、有効な薬剤が少ない点で注目される菌である。これ以外の菌で

図 7 病巣由来グラム陰性桿菌の薬剤 (TC, CP, SM, SA) 耐性型
1966, 67 年分離の 1,770 株をもとにした結果を示した。

は、やはり (TC, CM, SM, SA) の 4 剤に多剤耐性の多いのが目立つ (図 7)。

その他の薬剤を中心としてみると、各菌種によって特殊な耐性型を示す。 *E. coli* と *Shigella* は似たタイプの耐性型を示し、異常に (TC, CM, SM, SA) 耐性が多く、他の薬剤耐性は比較的少ない。 *Klebsiella*, *Proteus*, *Pyocyanus* は、それぞれに特徴のある耐性型を示す。これについては別の機会に譲りたい。

5. R 因子

R 因子の発見は、わが国の細菌学界が戦後に出したきわめて興味ある大きいヒットで、遺伝学的にも疫学的にも重要な課題を含んでいる。R 因子の発見は、赤痢が流行するというきわめて特殊な事情に根ざしていたのも、苦肉なことであった。その詳細はこれまで出された総説^(38,42)を参考していただいて、発見までの主な筋道を記述してみたい。

先にも述べた SA の発見は、グラム陽性の細菌の治療ばかりでなく、赤痢を含めたグラム陰性細菌の治療にすぐれたものが開発された。1945 年の終戦時から 1950 年頃までは、SA は赤痢にきわめて有効であった。分離される赤痢菌の 90% 前後が SA 耐性化してきた 1950 年の終り頃から、わが国では SM, TC, CM の生産が始まり、これらの抗生剤は赤痢に著効を奏した。

1950~1955 年の間に、年々 10 万人ほどの患者の届け出のあった当時、抗生剤耐性菌はきわめて稀で、わずかに SM または TC の 1 剤耐性に SA が加わったものに過ぎず、1 例 1 例が学会報告に値するくらい稀であった。

1955 年、東京で 1 例の (TC. CM. SM. SA) 耐性赤痢菌の報告が北本 (東大医科研) によってなされ、われわれを驚かした。その後、東京、群馬、名古屋での報告が現われたが、それほど多いものではなかった。群馬におけるわれわれの経験で興味あることは、4 剤耐性赤痢菌患者から 4 剤耐性の大腸菌、*E. freundii* や、3 剤耐性赤痢菌と同じ耐性型の大腸菌が分離され、多剤耐性は赤痢菌だけのものではなく、大腸菌、*E. freundii* を含め広く腸内細菌科に関係ある問題で、細菌遺伝学的立場からみなおす機会が与えられた。1959 年 11 月、落合ら⁽⁴³⁾、秋葉ら⁽⁴⁴⁾によって、多剤耐性が赤痢菌と大腸菌の混合培養によって伝達される事実が発表された。その機構は多くの討議が行なわれたが、その学会の時点では不明であった。

1958 年は Jacob らによりエビリゾムの概念が発表された年で、1959 年 F プライム因子の報告もあって、F 因子やバクテリオファージで発見された細菌遺伝学的事実がそのまま応用された。われわれもすでに多剤耐性の遺伝学的研究をスタートしていたが、幸い筆者が留学した B. Davis は、F 因子の伝達が菌と菌の接合によることをフィルターを中央においた U 字型試験管で結論した事実を応用し、多剤耐性の伝達が、形質転換でもなく、ファージによる導入でもなく、まったく菌と菌との接触を必要とする接合によることを結論し、1960 年 1 月、伝研子研の研究会において発表した⁽⁴⁵⁾。同時に、多剤耐性が保存中に一挙に失われて感性菌に変わる事実気づき、アクリジン色素処理でも同じく耐性菌を感性化しうることをつきとめ⁽⁴⁶⁾、F 因子に近い性質をもつエビリゾムの一種との考えから R (resistance) の名称を与えた。1962 年、三島におけるこの種の研究者の集まりにおいての討議の結果、この名称を使用することに一致した。

1) R 因子の遺伝学的性状

R 因子の宿主域は広く、腸内細菌科から⁽⁴⁷⁾、*Vibrio*、ペスト菌にまで及ぶ。このことは、疫学的に非常に重要な問題を提供する。自己増殖性で、少量の R⁺ 菌を感受性菌と混ぜると、増殖、伝達をくり返し、周囲の菌を薬剤耐性化する。

R 因子の耐性型は、TC, CM, SM, SA のほかに KM をも含む 5 剤耐性 R 因子がドイツ⁽⁴⁸⁾で、上記 4 剤のほかに AB-PC 耐性をもつ R 因子が英国⁽⁴⁹⁾で報告され、遺伝因子の変化の進化論的な立場からも興味深い。R 因子は世界各国のヒトおよび家畜^(50,51)から分離され、

図 8 赤痢菌由来の R 因子の耐性型
1967 年分離の赤痢菌より得られた R 因子の結果を示した。

図 9 グラム陰性桿菌から分離された R 因子の耐性型

1966 年度の調査によって分離された R 因子をもとにした結果を示した。

疫学上世界的な問題となりつつある。赤痢菌、およびその他のグラム陰性桿菌 (大腸菌、*Proteus*、*Klebsiella*、*Aerobacter* など) から得られた R 因子の耐性型を図 8、9 に示した。(TC, CM, SM, SA) の 4 剤耐性をもつ R 因子が異常に多いことが特徴である。

2) R 因子上の諸形質

R 因子には、薬剤耐性を支配する遺伝子と、他のエビリゾムとしての諸性質を支配する遺伝因子とがある。これまで発表された主な性状を表 5 に示した。

種々の耐性遺伝子の point mutant、ないしは欠損変異株をつくって、2 つの R 因子を 1 つの細菌内に重複感染させて、得られる recombinant から求められた R 因子の遺伝学的構造は、図 10 に示すごとく環状を示すことが明らかにされた⁽⁵²⁾。大腸菌染色体も現在、環状を示すことが知られている。

耐性を支配する遺伝子部分と、エビリゾムとしての種

表 5 R 因子の遺伝学的性質

遺伝学的性状	遺伝学的マーカー	文 献
薬 剤 耐 性	<i>tet. chl. str. sul</i>	Ochiai <i>et al.</i> (1959)
	<i>tet. str. sul</i>	Akiba <i>et al.</i> (1961)
	<i>chl. str. sul</i>	Mitsunashi <i>et al.</i> (1961)
	<i>tet. chl</i>	
	<i>str. sul</i>	
	<i>tet</i>	
	<i>chl</i>	Omori <i>et al.</i> (1962)
	<i>sul</i>	Lebek (1963)
	<i>kan</i>	Datta (1965)
	<i>pen</i>	
接合による伝達	<i>tra</i>	Mitsunashi <i>et al.</i> (1960) Nakaya <i>et al.</i> (1962)
雄 性 の 賦 与 (R-mating)	<i>mat</i>	Sugino and Hirota (1962)
R 因子相互の干渉	<i>irs</i>	Harada <i>et al.</i> (1961)
R 因子による F 因子の機能抑制	<i>ifm</i>	Nakaya <i>et al.</i> (1960) Egawa and Hirota (1962) Watanabe <i>et al.</i> (1962)
R 因子によるフーヅ増殖の阻害	<i>spp</i>	Yoshikawa and Akiba (1962) Watanabe <i>et al.</i> (1964)
R 因子の細菌細胞内の安定性	<i>stb</i>	Hashimoto, Iyobe and Mitsunashi (1965)

tet: tetracycline, *chl*: chloramphenicol,
str: streptomycin, *sul*: sulfanilamide,
kan: kanamycin, *pen*: aminobenzyl penicillin.

種の機能に 関係する replication (*rep*), エピゾームの細胞内の 安定性 (stability, *stb*), 他 のエピゾームとの干渉性 (interference, *i*), 接合による 伝達性 (transferability, *tra*), R 因子による 宿主菌の染色体の移入 (mating, *mat*) などが知られている。これらの遺伝子は、エピゾームにとってきわめて重要な性状であるが、充分には研究されていない。紫外線照射などで、R (*rep*⁺, *tra*⁺)⁽⁵³⁾, R (*rep*⁺, *stb*⁺)⁽⁵⁴⁾, あるいは温度感受性 R 因子などが報告されている⁽⁵⁵⁾。

tra⁻ の R 因子は接合による伝達能を失っている。これまでのところ、*tra* と *mat* を遺伝学的に区分しうる変異株は得られていない。すなわち、*tra*⁻ であれば *mat*⁻ である。*tra*, *mat*, *rep* などを支配する遺伝子は、R 因子上比較的近くに存在し、AB-PC 耐性, TC 耐性を支配する耐性遺伝とも近接して存在している⁽⁵⁴⁾。たとえば、R 因子から deletion で *tet*⁻ 株をとると、*stb*⁻ の変異株がとれやすい。この方面の研究は今後の課題として残されている。

図 10 R 因子の環状構造
rep, *tra*, *mat*, *stb*; 表 5 参照。
rep, R 因子の自己増殖性に 関係する遺伝子。

3) R 因子の由来

上に述べたように、R 因子は耐性を支配する遺伝子部分と、エピゾームとしての機能を支配する遺伝子部分とに大きく大別される。われわれは野外から、あるいはフーヅの導入によって、R 因子の耐性遺伝子 (*r*-determinant) 部分、すなわち R 因子の piece と思われるものを得ることができた。*r* (*tet*)⁽⁵⁶⁾, *r* (*chl*)⁽⁵⁷⁾ 両者はともに非伝達性で、自己増殖能を欠き、宿主菌の染色体上にくみこまれている。

これらの *r*-determinant をもつ菌に F, F', あるいは R 因子を感染させると、容易に F-*tet*, F'-*tet*, R-*tet*, F-*chl* のとき新しいエピゾームが recombinant として得られる^(58,59)。また、PI フーヅが R 因子の *chl* 遺伝子部分を取りこんで、PI-*chl* が得られた⁽⁶⁰⁾。これらのことは、R 因子の耐性遺伝子部分が細菌染色体、種類のエピゾーム, PI, e フーヅなどと homology が高く、まず最初に出現した非伝達性の耐性遺伝子が、ある種のエピゾームにとりかこまれ (gene pick-up) て R 因子が形成されたことを示唆している。そこで、われわれはこのようなエピゾーム、すなわち T (transfer) 因子の細菌内における分布を調べたところ、病原由来細菌の約 40% が T 因子をもっていることが明らかになった^(61,62)。T 因子によって非伝達性の耐性遺伝子、*tet*, *chl*, *sul*, *str*, *kan* のすべてを取りこんで、T-*tet*, T-*tet*-*chl*, T-*tet*-*chl*-*sul*-*str*-*kan* のときエピゾームが研究室で得られている。この性状は R 因子にきわめて近く、R 因子の由来を知るのに大きい手がかりとなっている。

4) 耐性菌の薬剤耐性機構

ブドウ球菌, グラム陰性桿菌の PC 耐性は, 菌のもつ酵素作用によることが知られている. R 因子上の **Penicillins**;

Chloramphenicol;

Cephalosporins;

Kanamycin; (A and B)

Kanamycin;

図 11 薬剤耐性菌による薬剤の不活化

いる AB-PC 耐性も同様に PC の加水分解によっている. すなわち, ペニシリンのもつ β -lactam 環の酵素的加水による. CM 耐性をもつ R 因子によって CM が不活化されることは, 宮村らによって報告された⁽⁶³⁾. その後, 岡本ら^(64,65), Shaw⁽⁶⁶⁾ によって CM の不活化にはアセチル CoA を必要とし, 酵素的な不活化作用であることが明らかにされた. この酵素は病巣由来の CM 耐性ブドウ球菌⁽⁶⁷⁾や, 病巣由来の R 因子をもたないグラム陰性桿菌にも広く分布している. R 因子をもつ耐性菌によって, KM は, アセチル CoA の存在下でアセチル化を⁽⁶⁸⁾, またわれわれの分離した R 因子の場合 ATP の存在下でリン酸化⁽⁶⁹⁾ をすることによって不活化される.

また, R 因子による SM の不活化は, ATP あるいは ADP を co-factor とする SM の酵素的なアデニル化であることが報告されている⁽⁷⁰⁾. R 因子による SA, あるいは TC の耐性機構に関しては, 横田⁽⁷¹⁾, Izaki⁽⁷²⁾ らの報告があるが決定的ではない. わが国では, これまで緑膿菌からは R 因子を分離していないが, 緑膿菌は多くの薬剤に耐性であるため注目すべき菌である. KM 耐性の機構が ATP を co-factor とする酵素的リン酸化によることが報告されている⁽⁷³⁾. 耐性菌の耐性機構が薬剤の酵素的な不活化にあることはきわめて興味あることで, ことにアセチル CoA, ATP, ADP など正常の代謝過程で利用されている co-factor を利用し, リン酸化, アセチル化, アデニル化などによって薬剤を不活化することは, きわめて合理的な機構といえる. 主な薬剤の不活化された構造を図 11 に一括した.

む す び

化学療法剤, 抗生剤の進歩によって, 医療の面に画期的な変化がもたらされた. ところが, 近々 20 年の間に細菌の間に驚くべき変化が生じた. これを要約すると, 1) 病巣由来菌のエコロジカルな変化, 2) 急速な多剤耐性化である. 多剤耐性化の原因については, ブドウ球菌ではプロファージによる耐性の導入の考え方を提唱した. グラム陰性桿菌の中で注目される R 因子の出現, そのオリジン, 遺伝学的性状の概要についてふれた.

文 献

- 1) P. Ehrlich : *Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft.*, 42, 17 (1909).
- 2) *Idem* : *Lancet*, 2, 445 (1913).
- 3) G. Domagk : *Deutsche med. Wchnschr.*, 61, 250 (1935).
- 4) A. Fleming : *Brit. J. Exper. Path.*, 10, 226 (1929).
- 5) E. Chain *et al.* : *Lancet*, 2, 226 (1940).

- 6) 市川篤二ら: *Chemotherapy*, 14, 1 (1966); 14, 392 (1966); 14, 633 (1966); 15, 195 (1967).
- 7) S. Mitsuhashi: *Japan. J. Microbiol.*, 11, 49 (1967).
- 8) S. Mitsuhashi *et al.*: *J. Bacteriol.*, 89, 967 (1965).
- 9) T. Kasuga, H. Hashimoto and S. Mitsuhashi: *ibid.*, 95, 1764 (1968).
- 10) S. Mitsuhashi *et al.*: *ibid.*, 89, 988 (1965).
- 11) R. P. Novick and M. H. Richmond: *ibid.*, 90, 467 (1965).
- 12) 橋本一, 大島洋, 三橋進: 細菌誌, 22, 545 (1967).
- 13) 井上松久, 沢井哲夫, 春日徳彦, 橋本一, 三橋進, 山岸三郎: 第 22 回日本細菌学会関東支部会, 11 月, 東京, 1967.
- 14) H. W. Smith: *J. Hyg. Camb.*, 46, 82 (1948).
- 15) E. J. L. Lowbury and A. M. Hood: *J. gen. Microbiol.*, 9, 524 (1953).
- 16) P. M. Rountree: *ibid.*, 15, 266 (1956).
- 17) H. Oshima, U. Kawaharada, T. Kasuga and S. Mitsuhashi: *Japan. J. Microbiol.*, 11, 129 (1967).
- 18) S. Mitsuhashi *et al.*: *J. Bacteriol.*, 86, 162 (1963).
- 19) S. Mitsuhashi *et al.*: *ibid.*, 89, 988 (1965).
- 20) R. P. Novick: *J. gen. Microbiol.*, 33, 121 (1963).
- 21) H. Hashimoto, M. Kono and S. Mitsuhashi: *J. Bacteriol.*, 88, 261 (1964).
- 22) R. P. Novick: *Fed. Proc.*, 27, 29 (1967).
- 23) S. Mitsuhashi: *Jap. J. Med. Sci. & Biol.*, in press.
- 24) Y. A. Chabbert, J. G. Baudens and G. R. Gerbaud: *Ann. Inst. Pasteur*, 107, 678 (1964).
- 25) J. W. May, R. H. Houghton and C. J. Perret: *J. gen. Microbiol.*, 37, 157 (1964).
- 26) E. H. Asheshov: *ibid.*, 42, 403 (1966).
- 27) M. Morimura, T. Kasuga and S. Mitsuhashi: *Japan. J. Microbiol.*, in press.
- 28) T. Kasuga and S. Mitsuhashi: *J. Bacteriol.*, 73, 28 (1957).
- 29) L. H. Geronimus and S. Cohen: *ibid.*, 73, 28 (1957).
- 30) J. R. Weaver and P. A. Pattee: *ibid.*, 88, 574 (1964).
- 31) M. Kono, H. Hashimoto: Abstract of the 12 th Meeting of Japan Society of Chemotherapy, May, 1964, Sendai.
- 32) H. Hashimoto, H. Oshima and S. Mitsuhashi: *Japan. J. Microbiol.*, in press.
- 33) M. Kono, H. Hashimoto and S. Mitsuhashi: *ibid.*, 10, 59 (1966).
- 34) M. Kono, K. Ogawa and S. Mitsuhashi: *J. Bacteriol.*, 95, 886 (1968).
- 35) T. J. Franklin: *Biochem. J.*, 105, 371 (1967).
- 36) M. Inoue, H. Hashimoto and S. Mitsuhashi: in press.
- 37) 石山俊次ら: *Chemotherapy*, 15, 581 (1967).
- 38) 三橋進: 科学, 30, 628 (1960).
- 39) 三橋進: 蛋白質 核酸 酵素, 8, 218 (1963).
- 40) S. Mitsuhashi: *Gunma J. Med. Sci.*, 14, 245 (1965).
- 41) 三橋進: 蛋白質 核酸 酵素, 13, 566 (1968); 13, 643 (1968).
- 42) T. Watanabe: *Bact. Rev.*, 27, 87 (1963).
- 43) 落合国太郎ら: 日本医事新報, 1861, 34 (1959).
- 44) 秋葉朝一郎ら: 日本医事新報, 1866, 46 (1960).
- 45) S. Mitsuhashi *et al.*: *Jap. J. Exp. Med.*, 30, 179 (1960).
- 46) 三橋進ら: 東京医事新誌, 77, 462 (1960).
- 47) K. Harada *et al.*: *Jap. J. Exp. Med.*, 30, 289 (1960).
- 48) G. Lebek: *Zbb. Bakt. Abt. 1.*, 188, 494 (1963).
- 49) E. S. Anderson and N. Datta: *Lancet*, 1, 407 (1965).
- 50) E. S. Anderson and M. J. Lewis: *Nature*, 206, 579 (1965).
- 51) S. Mitsuhashi *et al.*: *J. Bact.*, 94, 1166 (1967).
- 52) H. Hashimoto and S. Mitsuhashi: *ibid.*, 92, 1351 (1966).
- 53) 中谷林太郎ら: 第 17 回日本医学会総会, II, 89 (1967).
- 54) H. Hashimoto, S. Iyobe and S. Mitsuhashi: *J. Bact.*, in press.
- 55) Y. Terawaki *et al.*: *ibid.*, 94, 687 (1967).
- 56) K. Harada *et al.*: *Jap. J. Microbiol.*, 11, 143 (1967).
- 57) 伊予部志津子, 橋本一, 三橋進: 細菌誌, 22, 215 (1967).
- 58) K. Harada, M. Kameda, M. Suzuki and S. Mitsuhashi: *J. Bact.*, 93, 1236 (1967).
- 59) E. Kondo and S. Mitsuhashi: *ibid.*, 91, 1787 (1966).
- 60) E. Kondo and S. Mitsuhashi: *ibid.*, 88, 1266 (1964).
- 61) 亀田光男ら: 細菌誌, 22, 545 (1967).
- 62) S. Mitsuhashi, M. Kameda, K. Harada and M. Suzuki: *J. Bact.*, in press.
- 63) 宮村定男: 細菌誌, 16, 115 (1961).
- 64) S. Okamoto and Y. Suzuki: *Nature*, 208, 130 (1965).
- 65) Y. Suzuki and S. Okamoto: *J. Biol. Chem.*, 242, 4722 (1967).
- 66) W. V. Shaw: *ibid.*, 242, 687 (1967).
- 67) Y. Suzuki, S. Okamoto and M. Kono: *J. Bact.*, 62, 798 (1966).
- 68) H. Umezawa *et al.*: *J. Antibiotics*, 20, 136 (1967).
- 69) H. Umezawa *et al.*: *ibid.*, 21, 14 (1968).
- 70) H. Umezawa *et al.*: *ibid.*, 21, 81 (1968).
- 71) 秋葉朝一郎, 横田健: 医学と生物学, 58, 161 (1961).
- 72) K. Izaki *et al.*: *J. Bact.*, 91, 628 (1966).
- 73) H. Umezawa *et al.*: *J. Antibiot.*, 21, 154 (1968).

..... 新 刊

Comparative Biochemistry and Biophysics of Photosynthesis

Ed. by K. Shibata, A. Takamiya
A. T. Jagendorf and R. C. Fuller

菊変判・3,200 円

Structure and Function of Cytochromes

Proceedings of the Symposium on Structural and Chemical Aspects of Cytochromes, August, 1967.

Ed. by K. Okunuki, M. D. Kamen and I. Sekuzu

菊判・5,800 円

Flavins and Flavoproteins

The Proceedings of the 2nd Conference on Flavins and Flavoproteins

Ed. by K. Yagi

B 5 変形・3,600 円

Cancer Cells in Culture

Proceedings of the International Conference on Tissue Culture in Cancer Research

Ed. by H. Katsuta

A 5 判・3,600 円

東京都文京区 振替東京 59964
本郷東大橋内 東京大学出版会 電話 811-8814