研究成果報告書

１．研究課題名：AmpC 産生に分類されながら非典型的な感受性を示す大腸菌の β-ラクタム耐性機序と伝播様式・治療薬に関する総合的検討

２．研究代表者氏名：長谷川　諒（秋田大学医学部附属病院　感染制御部）

３．研究発表（論文、著書、学会発表等があれば記載してください）

※ 本報告書作成時点で論文・著書の発表はない。以下の学会発表を予定しているほか、原著論文として投稿を予定している。

［演題登録予定］

第 101 回日本感染症学会総会・第 75 回日本化学療法学会総会 合同学会（2027 年）

演題「非典型的感受性を示す AmpC 産生 *Escherichia coli* の遺伝学的解析」

長谷川諒、菊池桂舟、嵯峨知生

４．研究実績（必要であれば図を用いても構いません）

【背景】

国内の臨床現場で遭遇する *Escherichia coli*（*E. coli*）の β-ラクタム薬耐性の多くは ESBL（基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ）産生によるが、AmpC 型 β-ラクタマーゼの産生も重要である。AmpC 型 β-ラクタマーゼ産生は、プラスミド性 *ampC* の獲得と染色体性 *ampC* の過剰産生に大別される。AmpC 産生菌はセフメタゾール（CMZ）耐性を示すのが典型であるが、当院では、検査室における阻害剤による判定で AmpC 産生と分類されるが CMZ 感性かつ第 3 世代セフェム耐性となる非典型的な感受性を示す株が AmpC 産生疑いの 7 割を占めていた。本研究はこの非典型株の耐性機序を明らかにし、正確な診断法と適切な抗菌薬選択に資することを目的として実施した。

【対象と方法】

2021～2025 年に当院で分離された *E. coli* 3,557 株（2,059 例）のうち、セフポドキシム非感性で関東化学の AmpC/ESBL 鑑別ディスクによって AmpC 産生疑いと分類され、ESBL 単独産生および CRE に非該当の 157 株（84 例）を調査対象とした。当院の微生物検査室の凍結保存株から患者重複を除外した 67 株について、プラスミド性 *ampC* の保有と染色体性 *ampC* の発現亢進に寄与しうる遺伝子変異を調べた。

プラスミド性 *ampC* は 6 群を対象としたマルチプレックス PCR（MultiNA で群別判定）で検出した。染色体性 *ampC* のプロモーター・アテニュエーター領域（転写開始点 −133～+100）、MLST 7 座および *fim*H は、Oxford Nanopore technologies 社の MinION（R10.4.1、SQK-NBD114-96）でアンプリコンシーケンスを行って決定した。感受性は BD Phoenix M50 による値を用い、CLSI M100 ED36 で判定した。年次推移の検定には Cochran−Armitage 傾向検定（両側、α＝0.05）を用いた。

【結果】

解析対象 67 株の CMZ 感受性は、感性 52 株（77.6%）、中間耐性 9 株、耐性 6 株であった。プラスミド性 *ampC* は 24 株（35.8%、DHA 型 15 株・CIT 型 9 株）に検出され、染色体性 *ampC* の発現亢進変異は 39 株（58.2%）に認めた。両者の重複保有は 1 株であった。

発現亢進変異を型別にみると、既報で発現上昇が最も大きい −42C＞T の 2 株はいずれも CMZ 非感性であったのに対し、上昇が中等度の −32T＞A（22 株）とスペーサー挿入（15 株）をもつ 37 株では 35 株（95%）が CMZ 感性であった。

菌株背景は 27 クローン型に分かれ、検出された耐性化機序はクローンと対応した（図 1）。ST73 *fim*H184（10 株）と ST73 *fim*H70（9 株）はすべて CMZ 感性かつ染色体性 *ampC* の発現亢進変異を認めたのに対し、ST1193 *fim*H64（8 株）と ST349 *fim*H54（4 株）はすべてプラスミド性 *ampC* 陽性で染色体性 *ampC* の発現亢進変異を認めなかった。

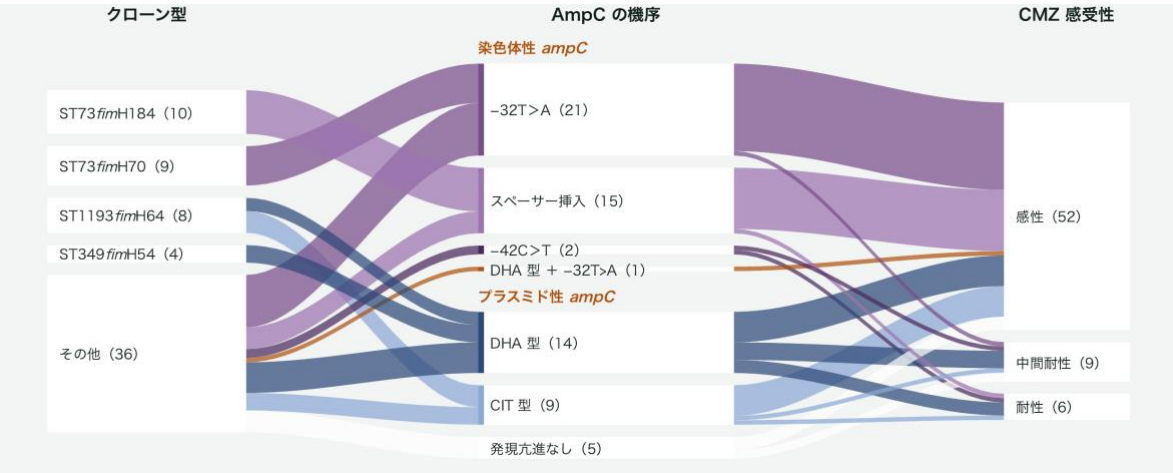


図 1 クローン型と AmpC の機序、CMZ 感受性の対応（解析対象 67 株）

年次推移では、非典型株（AmpC 産生疑いのうち CMZ 感性）の割合は 92%（2021 年）から 73%（2025 年）へ低下していたが有意ではなかった（p＝0.1144）。一方、プラスミド性 DHA 型 *ampC* 遺伝子保有株は 0 株から 8 株へ増加した（p＝0.0297、図 2）。

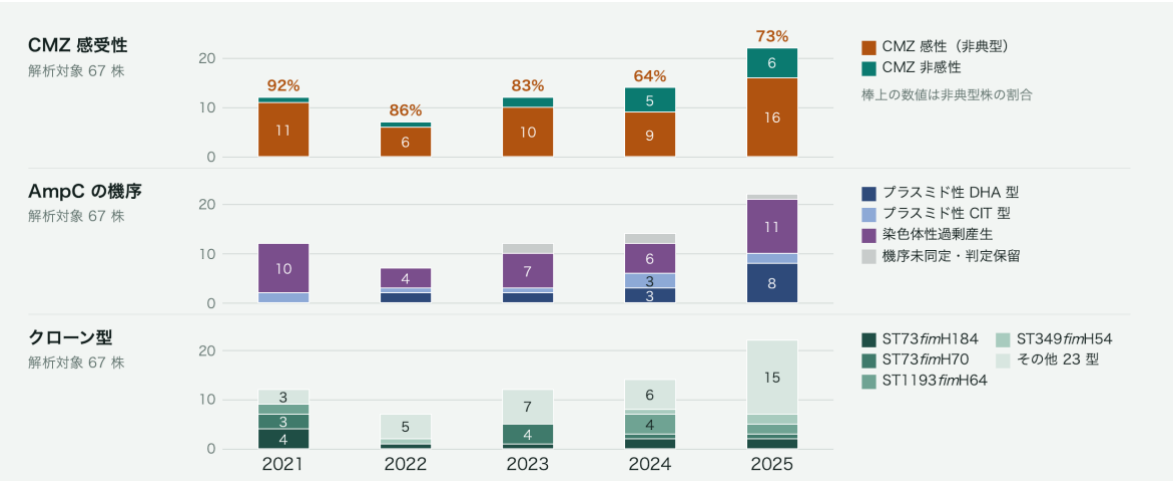


図 2 CMZ 感受性・AmpC の機序・クローン型の年次推移（解析対象 67 株）

【考察】

染色体性 *ampC* の発現亢進変異をもちながら CMZ 感性を示した株が多かったのは、変異の型によって発現上昇の程度が異なり、中等度の上昇では産生量が CMZ の耐性域に達しなかったためと考えられる。また、プラスミド性 *ampC* を保有していても CMZ 感性となる株は既報にもみられ、本研究の 62.5%（24 株中 15 株）は Matsumura ら（2016）の 55.6%（63 株中 35 株）と近い値であった。AmpC 産生と報告された集団は均一ではなく、機序の同定には遺伝子型の確認を要する。表現型のみで耐性機序を判断すると、機序を取り違える可能性がある。

【今後の予定】

ボロン酸阻害試験等による AmpC 産生の表現型確認に加え、染色体の *ampC* 遺伝子本体の変異検出、耐性機序が現段階で判明していない株の全ゲノム解析を予定している。成果は第 101 回日本感染症学会総会・第 75 回日本化学療法学会総会 合同学会で発表し、原著論文として投稿する。

※以降コピーして頁数を記載のうえ使用ください