



コリスチン耐性菌の出現状況と特性解析に関する研究

田村 豊 (たむら ゆたか)

酪農学園大学
動物薬教育研究センター 教授

<研究成果概要>

本研究では、家畜に使用する硫酸コリスチンに係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価における不足データを収集することを目的に各種試験を実施しました。

① 食事プラスミド性コリスチン耐性遺伝子の出現実態に関する研究

当初、プラスミド性コリスチン耐性遺伝子は *mcr-1* 及び *mcr-2* しか報告されていませんでしたが、研究実施中に他の *mcr* 遺伝子も報告されたことから追加して実験しました。その結果、*mcr-1* とともに *mcr-3* と *mcr-5* が家畜由来大腸菌から検出されました。

また、市販肉を調べたところ鶏肉9 検体 (8.7%) 由来大腸菌から *mcr-1*、鶏肉1 検体 (1.0%) 由来と豚肉1 検体 (1.0%) 由来 *Aeromonas sobria* から *mcr-3* が検出されました。一方、ヒトの臨床材料から分離された腸内細菌科細菌を調べたところ、コリスチンに対する耐性率は低く、大腸菌の1 株でのみ *mcr-1* が検出されました。

② コリスチン耐性菌の特性解析に関する研究

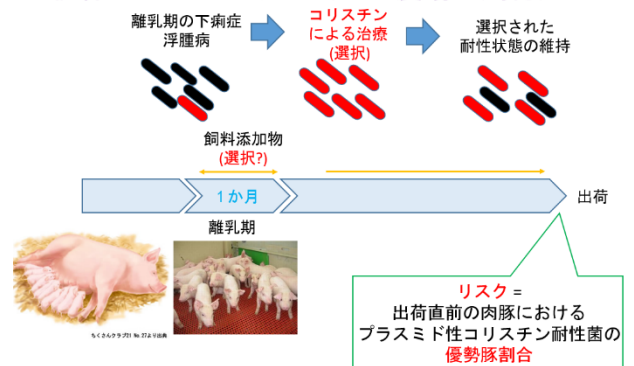
mcr-1 保有プラスミドが伝達した接合伝達体では、コリスチン耐性のみが伝達しました。また、*mcr-1* 遺伝子保有プラスミド上に他の耐性遺伝子を保有するものは認められませんでした。*mcr-3* と 5 単一保有プラスミドではコリスチン耐性以外の耐性遺伝子も存在しました。

一方、*mcr-1* 遺伝子保有細菌では、多剤耐性グラム陰性菌をレシピエントとした *mcr-1* の接合伝達体は観察されず、*mcr-1* は接合伝達されにくいと思われました。

さらに、マウスの全身感染モデルにおいて、*mcr-1* または *mcr-3* 保有プラスミドの獲得が生菌数の低下を伴うマウスへの病原性の低下に関与していることに加え、マウス生体内での菌の増殖性の低下をもたらしていることが示唆されました。

これらの実験成績と既存の公表データを基にリスクモデルを構築して定量的な発生評価を実施したところ、現在日本ではと畜場に出荷される肉豚の約5%で *mcr* 遺伝子保有コリスチン耐性大腸菌が腸管内で優勢であると推定されました。

リスクモデルの構造： 個体ベースモデル (1000農場で飼育)





発生毒性試験における胎児形態異常に関するデータ収集と骨格変異の毒性学的意義に関する研究： フルシトシン誘発性過剰肋骨の発現機序からの考察

栗形 麻樹子 (くわがた まきこ)

国立医薬品食品衛生研究所

安全性生物試験研究センター

毒性部 第二室 室長

<研究成果概要>

本課題では、ラット生殖発生毒性試験の胎児骨格観察において、しばしば自然発生性に観察される骨格変異である過剰肋骨の毒性学的意義を調べました。

① 発生毒性試験における胎児観察背景データ収集

2011年から2015年に国内24機関（15施設の製薬企業、9施設の受託機関）にて実施された生殖発生毒性試験の背景データを収集しました。この背景データには、帝王切開所見、胎児の外表面、内臓、骨格所見が含まれます。この調査によると過剰肋骨は比較的高頻度に観察され、系統差もありました。SDラットでは0.07-12.98%、Wistar Hannoverラットでは4.98-58.10%の発現頻度でした。また、SDラットでは9割が過剰肋骨の単独発現でしたが、Wistar Hannoverラットでは6割が単独発現した。残りの胎児では、過剰肋骨と胸椎骨化不全や*Hox* 遺伝子発現異常を示唆させる仙椎前椎骨数増加を併発していました。

② 抗真菌剤フルシトシン投与による過剰肋骨の発現機序解明

薬剤誘発性による過剰肋骨動物モデルとして、フルシトシンの前後軸を決定する*Hox* 発現に対する影響を調べました。75 mg/kgのフルシトシンをラットの妊娠9日あるいは13日に経口投与し、13日の午後の胎児を用いて評価しました。その結果、妊娠9日投与にて*Hoxa10*の尾方化が確認され、その結果として過剰肋骨が発現しました。また、妊娠13日投与により、*Hox11-13* 遺伝子発現異常による肢芽の形態異常が認められました。これらの結果により、フルシトシン投与時期に一致した*Hox* 遺伝子の発現異常が起こっていることが明らかになりました。

また、生後の過剰肋骨の形態推移を調べるためにフルシトシン 胎生期暴露出生児を用いてCT撮影にて追跡しました。第13肋骨及び第14肋骨（過剰肋骨）の長さは成長とともに伸長したが、その割合（第13肋骨に対する第14肋骨の比）は一定でした。即ち、過剰肋骨は生後に突然、伸長しないことがわかりました。また、過剰肋骨の型（痕跡、短小、完全）は胎生期における観察と生後観察では同様であることが明らかになりました。これは過剰肋骨の評価は胎児期で可能であることを示しています。

今回の結果から、フルシトシン誘発性の過剰肋骨は*Hox* 遺伝子発現異常に起因した変化であること示しています。しかし、同一個体を追跡した生後観察の結果から、生後に突然、伸長しないことがわかり、毒性学的意義は低いと考えられました。一方、自然発生性でもごく少数でしたが、*Hox* 遺伝子発現異常を示唆させる変化を伴っていました。今後、*Hox* 遺伝子発現異常を起こす機序の解明されることで、自然発生性と薬剤誘発性の過剰肋骨を識別できるようになると思われます。

