

[総 説]

薬剤耐性肺炎マイコプラズマの分子疫学

鈴木 裕¹⁾・阿部修一²⁾

¹⁾ 山形県立中央病院検査部

²⁾ 山形県立中央病院感染症内科

(令和2年5月20日受付)

肺炎マイコプラズマ (*Mycoplasma pneumoniae*) は、小児・若年者の気道感染症の重要な起因菌であり、また発熱や長引く咳を主症状とするマイコプラズマ肺炎の起因菌である。*M. pneumoniae* 感染症は2011年から2012年にかけて大流行したが、治療の第一選択薬であるマクロライド系抗真菌薬（以下、マクロライド）に耐性を示すマクロライド耐性 *M. pneumoniae* が流行の主流を占めたため問題視された。分子疫学解析により、P1 遺伝子 1 型で、特に multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) 型が 4-5-7-2 型、multi-locus sequence typing (MLST) 型が ST3 または ST19 の *M. pneumoniae* のマクロライド耐性率が高いことが示されている。一方で、近年流行の主流を成す *M. pneumoniae* の P1 遺伝子の遷移現象が起きており、1 型菌に代わってマクロライド耐性率の低い 2 型菌が増加しているため、全体として *M. pneumoniae* のマクロライド耐性率は低下傾向にある。今後は P1 遺伝子 2 型菌のマクロライド耐性化の動向を監視していくとともに、医療機関はマクロライド耐性 *M. pneumoniae* を迅速に診断するため遺伝子検査の導入を推進し、次の流行に備える必要がある。

Key words: *Mycoplasma pneumoniae*, マクロライド耐性, 分子疫学解析, P1 遺伝子型, MLVA

1. はじめに

肺炎マイコプラズマ (*Mycoplasma pneumoniae*; *M. pneumoniae*) は、小児や若年者における上・下気道感染症の重要な起因菌であり、また発熱や長引く咳を主症状とするマイコプラズマ肺炎の起因菌である^{1,2)}。*M. pneumoniae* 感染症は、全市中肺炎 (community-acquired pneumonia; CAP) の 20%³⁾、小児の CAP の 30% を占めるとされる^{4,5)}。我が国では2011年から2012年にかけて *M. pneumoniae* 感染症が大流行したが、治療の第一選択薬であるマクロライド系抗真菌薬（以下、マクロライド）に耐性を示すマクロライド耐性 *M. pneumoniae* が流行の主流を占めたことから問題視された⁶⁾。

感染症の疫学を理解するうえで、病原微生物の分子疫学解析は重要な手段となる。近年、*M. pneumoniae* においても種々の分子疫学解析法が確立され、遺伝子型とマクロライド耐性の関係が盛んに研究されている。本稿では、*M. pneumoniae* の分子疫学とマクロライド耐性について、山形県衛生研究所で得られた研究成果を交えて概説するとともに、臨床現場で用いられるマクロライド耐性 *M. pneumoniae* の検出法について紹介する。さらに、マクロライド耐性 *M. pneumoniae* 感染症の治療についても触れる。

2. *M. pneumoniae* の特徴

M. pneumoniae はモリキューテス綱、マイコプラズマ目、マイコプラズマ科、マイコプラズマ属に属する、人工培地で自己増殖を示す最小の微生物の1つである。長径 1~2 μm、短径 0.1~0.2 μm のフィラメント状の小さな細菌であり、ゲノムサイズも約 81.6 万塩基対と小さい（大腸菌の 1/6 程度）。また、細胞壁を欠くという特徴があり、グラム染色に難染性である¹⁾。

M. pneumoniae は菌体先端の細胞付着器官に密集する P1 タンパクを介して気管支線毛上皮に接着することによりヒトに感染する。この P1 タンパクは *M. pneumoniae* の滑走運動において中心的役割を果たすとともに、感染宿主の免疫応答における主な標的抗原でもある²⁾。*M. pneumoniae* 感染症の病態は、接着した *M. pneumoniae* が産生する毒素および細胞傷害性因子と感染宿主の自然免疫による過度の炎症反応との相互作用によって引き起こされると考えられている^{1,7)}。

M. pneumoniae は臨床検体からの分離培養が可能であるものの、発育にステロールを要求する性質から動物血清を添加した特殊な培地 (PPLO 培地等) が必要なこと⁸⁾、世代時間が 6 時間と長いため培養に長時間 (1~3 週間) を要すること²⁾から、*M. pneumoniae* 感染症の診断法としての分離培養の有用性は高くない。しかし、後述する *M. pneumoniae* の分子疫学解析や薬剤耐性の解析には臨床分離株の確保が極めて重要である。参考までに、山形県衛生研究所で実施している *M. pneumoniae* 分離培養の概要を Fig. 1 に示す。分離培養の詳細は成書等^{8,9)}を参照されたい。

著者連絡先：(〒990-2292) 山形市青柳 1800

山形県立中央病院検査部細菌検査室

鈴木 裕

TEL: 023-685-2626(内線 1316)

FAX: 023-685-2667

E-mail: suzukiyu1@ypch.gr.jp



Fig. 1. Culture method of *M. pneumoniae* in Yamagata Prefectural Institute of Public Health

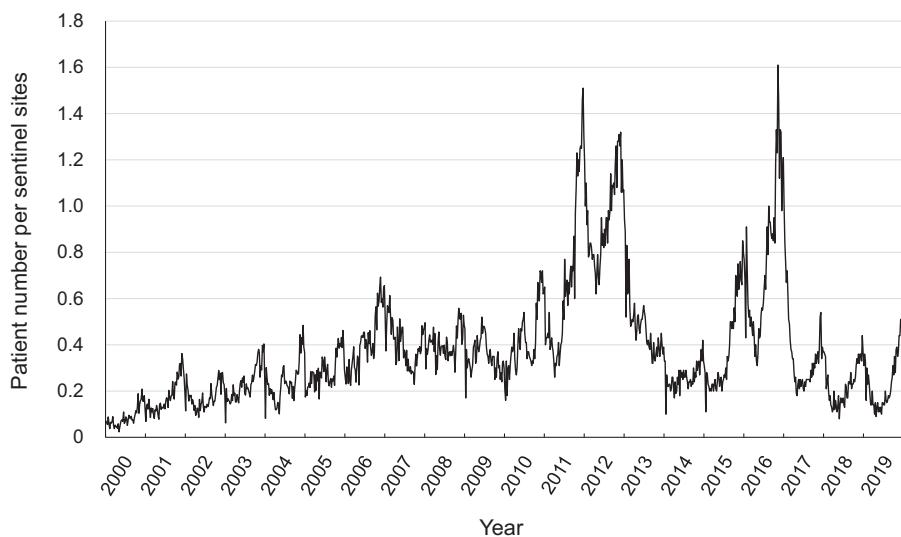


Fig. 2. Weekly patient number per sentinel sites of *M. pneumoniae* from 2000 to 2019 in Japan reported by The National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases

The graph was presented according to the data provided in reference 11.

3. *M. pneumoniae* 感染症の発生動向

我が国の *M. pneumoniae* 感染症の発生動向は、国の感染症発生動向調査事業におけるマイコプラズマ肺炎（感染症法の五類感染症、定点把握疾患）の発生動向調査によって把握されている。感染症発生動向調査は1981年4月から開始され、1999年3月まではマイコプラズマ肺炎を含む異型肺炎として調査が行われていたが、異型肺炎の多くをマイコプラ

ズマ肺炎が占めていたことから、実質的にはマイコプラズマ肺炎の動向を反映するものであった¹⁰⁾。マイコプラズマ肺炎は1980年代には4年に1度の周期的な流行が観察されており、流行年がオリンピック開催年に一致していたことからオリンピック肺炎と呼ばれることもあったが、1990年代に入ると流行の周期性は目立たなくなったり¹⁰⁾。1999年4月からは検査診断に基づくマイコプラズマ肺炎の発生動向調査が開始

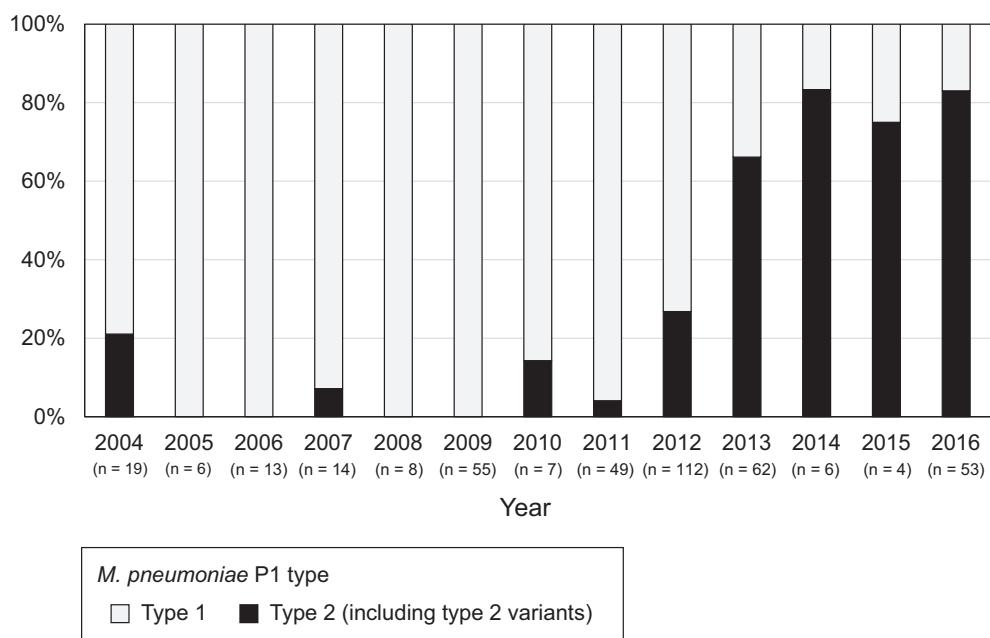
Table 1. MICs of macrolides against *M. pneumoniae* with or without macrolide resistance-associated mutation

<i>M. pneumoniae</i> strain	MIC range (mg/mL)									
	Erythro-mycin	Clarithro-mycin	Azithro-mycin	Rokitamy-cin	Telithro-mycin	Josamycin	Mideca-mycin	Minocycline	Levo-floxacin	Tosu-floxacin
Strains with macrolide resistance-associated mutation										
A2063G (n = 96)	32->64	32->64	16->64	0.156->64	16->64	0.0625->64	2->64	0.0625-1	0.5-1	ND
A2063T (n = 8)	64-256	128-256	16-64	1-2	ND	ND	ND	0.125-0.5	ND	0.125-0.1
A2063C (n = 1)	>256	128	16	4	ND	ND	ND	0.5	ND	0.5
A2064G (n = 7)	64->64	16->64	16-64	8->16	1->16	64->64	>64	0.0313-1	0.5-1	ND
A2064C (n = 1)	256	64	1	16	ND	ND	ND	0.125	ND	0.25
C2617A (n = 1)	1	0.5	0.0313	0.0313	0.0625	0.0625	ND	1	1	ND
C2617G (n = 4)	1-2	0.25-0.5	0.00781-0.0156	0.0156-0.0313	ND	ND	ND	0.125-0.5	ND	0.25-0.5
Strains without macrolide resistance-associated mutation (n = 423)										ND
	0.00195-0.0313	0.00049-0.0313	0.00012-0.00195	0.0039-0.0313	0.00024-0.0039	0.0156-0.0625	0.0625-0.25	0.0313-2	0.125-1	ND

ND, not determined.

MICs of strains with A2063G, A2064G, and C2617A mutations and strains without macrolide resistance-associated mutation were adapted from previous study (reference 21).

MICs of strains with A2063T, A2063C, A2064C, and C2617G mutations were determined in our study (reference 22).

Fig. 3. Annual transition of P1 type of *M. pneumoniae* isolated from 2004 to 2016 in Yamagata, Japan

The gray and black bar show the ratio of P1 type 1 strain and P1 type 2 strain including type 2 variants, respectively. The figure was presented by modifying reference 19 and adding unpublished data.

され、マイコプラズマ抗体検出をはじめ、loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法等によるマイコプラズマ核酸同定検査（2011年保険収載）、イムノクロマト法によるマイコプラズマ抗原定性検査（2013年保険収載）により診断されたマイコプラズマ肺炎症例が計上されている。Fig. 2に2000年から2019年までのマイコプラズマ肺炎発生動向の推移を示す¹¹⁾。マイコプラズマ肺炎流行の周期性は2000年以降も明らかではなかったが、近年では2011年から2012年にかけてと2016年に大きな流行を認め、流行の周期性が戻

りつつあるようにも見える。

4. *M. pneumoniae* のマクロライド耐性

M. pneumoniae 感染症の治療においては、本菌の細胞壁を欠くという特徴によりβ-ラクタム系抗菌薬は無効であるため、クラリスロマイシン、アジスロマイシン、およびロキタマイシン等のマクロライドが第一選択薬とされる^{12)~14)}。しかし、2000年以降マクロライドに対する耐性を獲得した*M. pneumoniae* がアジア各国を中心に増加した¹²⁾¹³⁾¹⁵⁾。我が国

Table 2. Correspondence of profiles of three different molecular epidemiological methods of *M. pneumoniae*; P1 typing, MLST, and MLVA

P1 type	ST	MLVA type	Reference
Type 1	1	4-5-7-2	33
	3	4-5-7-2	33
	5	4-5-7-2	33
	9	4-5-7-2	33
	11	4-5-7-2	33
	12	4-5-7-2	33
	13	ND	39
	17	ND	39, 41
	18	ND	39
	19	ND	39
	20	ND	39
	21	ND	39
	22	ND	39
	29	ND	39
	30	ND	39
Type 2 (including type 2 variants)	ND	4-5-7-3	19
	2	3-5-6-2	33
		3-6-6-2	
	4	3-6-6-2	33
	6	3-6-6-2	33
	7	3-6-6-2	33
	8	3-6-6-2	33
	10	3-6-6-2	33
	11	3-6-6-2	33
	14	ND	39, 41
	15	ND	39, 41
	16	ND	39
	31	ND	41

ND, not determined.

では、マクロライド耐性 *M. pneumoniae* は 2001 年に初めて検出され¹⁶⁾、以降の耐性菌検出率は 2003 年に 5.0%、2006 年に 30.6%、2009 年に 59.1%、2011 年に 89.5% と年々増加したことが報告されている⁶⁾。

M. pneumoniae のマクロライド耐性は、マクロライドの主要な作用部位である 23S rRNA ドメイン V 領域をコードする遺伝子の点変異（マクロライド耐性遺伝子変異）により付与される。具体的には、マクロライドがドメイン V に結合する上で重要な 2063 位、2064 位のアデニンの点変異によりマクロライドが結合できなくなり、マクロライドに高度耐性化する¹⁷⁾。また、23S rRNA の二次構造上 2063 位、2064 位に近接する 2617 位のシトシンはドメイン V のループ構造の維持に重要であり、この部位の点変異によりマクロライドが外れやすくなることでマクロライドに不完全に耐性化すると考えられている¹⁷⁾。我が国で分離される *M. pneumoniae* のマクロライド耐性遺伝子変異は A2063G 変異が最も多く、次いで A2063T が多い^{18)~20)}。マクロライド耐性遺伝子変異を有する *M. pneumoniae* に対するマクロライド、ならびに第 2 選択薬であるフルオロキノロン系およびテトラサイクリン系抗菌薬¹⁴⁾の MIC を Table 1 に示す²¹⁾²²⁾。23S rRNA 2063 位または 2064 位に変異を有する *M. pneumoniae* は総じて、

変異を有しない株と比べて高度にマクロライドに対して耐性である。なお、*M. pneumoniae* のマクロライド耐性は厳密には MIC 測定により決定されるべきだが、*M. pneumoniae* はリボゾームのオペロンを 1 組しか持たないという特徴があるため、マクロライド耐性遺伝子変異の保有とマクロライド耐性の表現型が非常によく一致することが知られている¹⁷⁾。よって、本稿では以下、マクロライド耐性遺伝子変異を有する *M. pneumoniae* をマクロライド耐性 *M. pneumoniae* と称する。

5. *M. pneumoniae* の分子疫学解析

M. pneumoniae の最も一般的な分子疫学解析法は、P1 蛋白をコードする P1 遺伝子の塩基配列の多型を基に分類する P1 遺伝子型別法である¹²⁾²³⁾。*M. pneumoniae* は P1 遺伝子型別により主要な 2 つの P1 遺伝子型、すなわち、1 型と 2 型に大別され、2 型にはさらに一部の塩基配列が異なる複数の亜型（2a 型、2b 型、2c 型等）が存在する^{23)~27)}。興味深いことに、*M. pneumoniae* は流行の主流を成す P1 遺伝子型が 8~10 年間隔で交代する現象（P1 遺伝子型の遷移現象）が日本を含む世界各国で報告されている^{19)28)~31)}。Fig. 3 に山形県で 2004 年から 2016 年に分離された *M. pneumoniae* の P1 遺伝子型の推移を示す。山形県では 2012 年より 2 型菌（特に 2c 型菌）が増加し、2013 年以降 1 型菌に代わって主流を占めた¹⁹⁾。大阪の報告³²⁾でも同様に 2015 年以降 2 型菌と 2c 型菌が増加しており、近年我が国において P1 遺伝子型の遷移現象が起きていると考えられる。

P1 遺伝子型別より高い識別能を持つ分子疫学解析法として、近年 multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) 法や multi-locus sequence typing (MLST) 法が確立された²⁴⁾³³⁾。MLVA 法は *M. pneumoniae* ゲノム上の 4 つの繰り返し配列領域の繰り返し数の組み合わせによる型別法で、*M. pneumoniae* は 20 以上の MLVA 型に細分化される^{24)34)~38)}。MLST 法は *M. pneumoniae* の 8 つのハウスキーピング遺伝子の塩基配列パターンの組み合わせによる型別法で、現在 37 種類の ST 型が知られている³³⁾³⁹⁾⁴⁰⁾。Table 2 に示すとおり、P1 遺伝子型、MLVA 型、および MLST 型はそれぞれよく対応することが知られている¹⁹⁾³⁸⁾³⁹⁾⁴¹⁾。我が国では、P1 遺伝子 1 型菌の MLVA 型は 4-5-7-2 型と 4-5-7-3 型、ST 型は ST3, ST17, ST19 が多いこと、2 型亜型を含む 2 型菌の MLVA 型は 3-5-6-2 型、ST 型は ST2, ST7, ST14 が多いことが報告されている¹⁹⁾³⁹⁾。

これらの分子疫学解析は、*M. pneumoniae* の地域における流行株の解析や施設内感染の同定等に広く利用されている^{34)~39)41)42)}。筆者らも以前、山形県で分離された *M. pneumoniae* について P1 遺伝子型別と MLVA 解析を実施し、山形県で 2011 年から 2013 年に複数の遺伝子型の *M. pneumoniae* が同時に流行したこと¹⁹⁾⁴³⁾、および複数の遺伝子型の *M. pneumoniae* による学校内流行が起こったこと⁴⁴⁾を報告した。Fig. 4 に、2012 年 9 月から 2013 年 1 月にかけて山形県で認めた学校内流行事例の概要を示す。この学校内流行は 3 つの MLVA 型の *M. pneumoniae* によるものであったが、興味深いことに、家族関係にある患者（Fig. 4 中、破線で結ばれた患者）から分離された *M. pneumoniae* の MLVA 型は全て

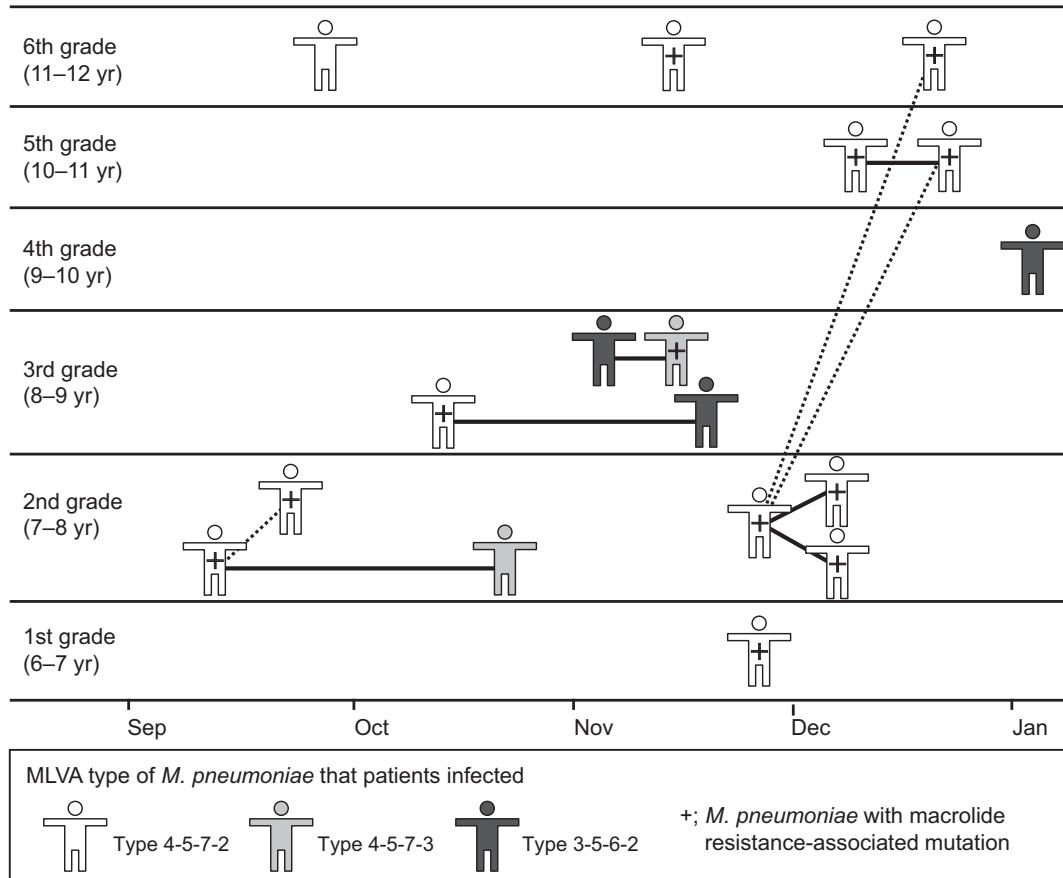


Fig. 4. Timing and MLVA type of *M. pneumoniae* strains isolated from a school epidemic observed from September 2012 to January 2013 in Yamagata, Japan

Figure shapes indicate affected students: Students with MLVA type 4-5-7-2, 4-5-7-3, and 3-5-6-2 *M. pneumoniae* are indicated as open shapes, gray shapes, and filled shapes, respectively. Students in the same classroom are connected by a line. Students in the same family are connected by dotted lines. The figure was presented by modifying reference 44.

一致していたのに対して、同じクラスに属する患者（Fig. 4 中、実線で結ばれた患者）間で *M. pneumoniae* の MLVA 型が一致した例は半数に留まっていた。これらの結果から、筆者らは *M. pneumoniae* 感染症の伝播の場として家庭が重要であること、および学校内ではクラス外に、例えば遊び友達等を介した感染伝播の場が存在する可能性があることを報告している⁴⁴⁾。今後もこれらの分子疫学解析法により *M. pneumoniae* 感染症の疫学研究がさらに進展することが期待される。

6. マクロライド耐性 *M. pneumoniae* の分子疫学的特徴

マクロライド耐性 *M. pneumoniae* の疫学研究においても、上で述べた分子疫学解析法が用いられる。筆者らも、山形県で2004年から2014年に分離された *M. pneumoniae* のP1遺伝子型およびMLVA型ごとのマクロライド耐性状況について以前報告した（Fig. 5）¹⁹⁾。これまでのところ、我が国のマクロライド耐性 *M. pneumoniae* は、山形県のみならず全国他地域においても、ほとんどがP1遺伝子1型菌である^{19,32,45)}。さらに、1型菌の主要なMLVA型である4-5-7-2型と4-5-7-3型では4-5-7-2型のマクロライド耐性率がより高い

こと（Fig. 5）^{19,46)}、およびマクロライド耐性1型菌のST型はST3とST19が多いこと^{39,41)}が示されている。

このように、P1遺伝子1型菌は高率にマクロライドに耐性化しているが、近年我が国ではP1遺伝子型の遷移現象により1型菌が減少し、代わりにマクロライド耐性率の低い2型菌（2型亜型菌を含む）が増加しているため（Fig. 3, Fig. 5）、全体として *M. pneumoniae* のマクロライド耐性率は低下傾向にある^{19,32)}。一方で、マクロライド耐性 *M. pneumoniae* はマクロライド存在下の選択圧により出現することが実験的に示されており⁴⁷⁾、また実際にマクロライド投与後に耐性化した *M. pneumoniae* が検出された患者の例が報告されている^{48)~50)}。筆者らも以前、マクロライド耐性 *M. pneumoniae* が出現するタイミングを検討するためにマクロライド感受性 *M. pneumoniae* 感染患者の検体を調べ、マクロライド投与により *M. pneumoniae* がマクロライドに耐性化することを報告している（Fig. 6）⁵¹⁾。具体的には、マクロライド投与開始後5日までに採取された検体から分離された *M. pneumoniae* が全例マクロライド感受性菌のままだった（Fig. 6 中、○）のに対して、7日以降に採取された検体から分離できた *M. pneumoniae* は6例全てがマクロライド耐性菌に

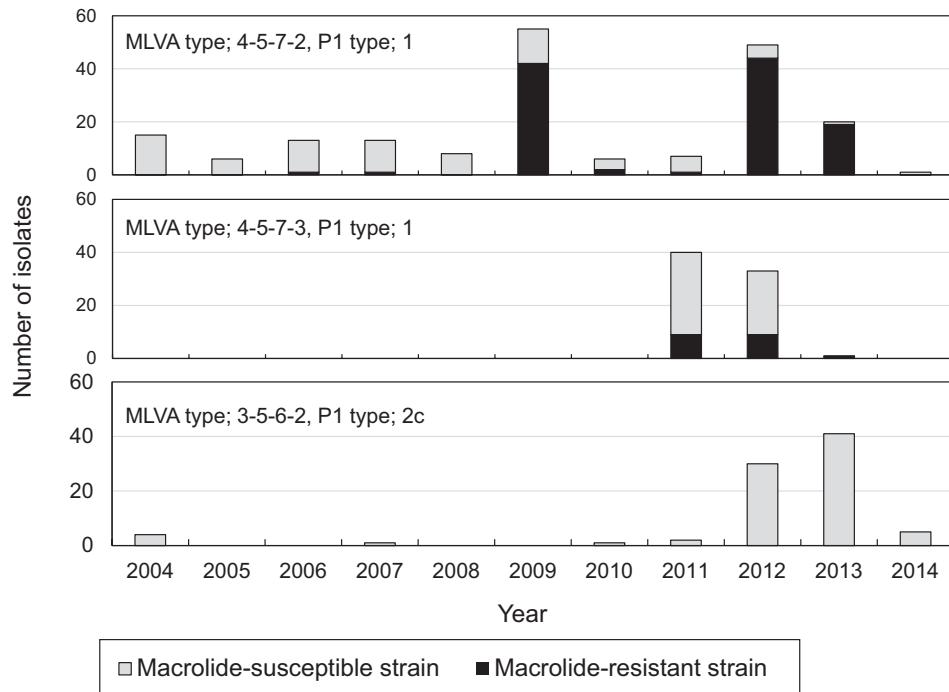


Fig. 5. Annual distribution of macrolide-resistant isolates of each MLVA type and P1 type *M. pneumoniae* isolated from 2004 to 2014 in Yamagata, Japan

The upper, middle, and lower graphs show annual distribution of *M. pneumoniae* isolates of MLVA type 4-5-7-2 and P1 type 1, MLVA type 4-5-7-3 and P1 type 1, and MLVA type 3-5-6-2 and P1 type 2c, respectively. The gray and black bar in each graph show macrolide-susceptible and macrolide-resistant isolates, respectively. The figure was presented by modifying reference 19.

なっていた (Fig. 6 中, ●)。注目すべきことに、マクロライドに耐性化した6例のうち3例はP1遺伝子2型菌であった⁵¹⁾。これらのこととは、現時点ではマクロライド耐性率の低い2型菌も、流行を繰り返してマクロライドに暴露される機会が増すことで耐性化が進行する可能性があることを示唆している。よって、今後は2型菌のマクロライド耐性化の動向を注視していく必要がある。

先に述べたとおり、*M. pneumoniae* のマクロライド耐性率は遺伝子型によって異なる、すなわち、P1遺伝子1型菌のマクロライド耐性率は高く、2型菌の耐性率は低い^{19,32,39,45,46)}。加えて筆者らは、Fig. 4に示すとおり、マクロライド耐性状況の異なる複数の遺伝子型の*M. pneumoniae* が学校内で同時に流行し得ることを報告した⁴⁴⁾。これらのこととは、例えはある学校内流行に属する最初の患者がマクロライド耐性*M. pneumoniae* に感染していたとしても、その後の患者が必ずしもマクロライド耐性*M. pneumoniae* に感染しているわけではないことを示している。よって、次項で述べるようなマクロライド耐性*M. pneumoniae* の検出法を用いて、個々の患者ごとにマクロライド耐性*M. pneumoniae* による感染か否かを確実に診断することが望まれる。

7. マクロライド耐性 *M. pneumoniae* の検出法

M. pneumoniae 感染症の診療において、マクロライド耐性菌による感染か否かを正しく診断することは使用抗真菌薬を選択する上で極めて重要である。一般的に、*M. pneumoniae* 感染症の診断はマイコプラズマ抗体検出やLAMP法による

マイコプラズマ核酸同定検査、イムノクロマト法によるマイコプラズマ抗原定性検査によりなされるが、これらの方法ではマクロライド耐性菌による感染か否かまでは判断できない。そのため、マクロライド耐性遺伝子変異の検出を目的とした種々の遺伝子検査法、具体的には、23S rRNA 遺伝子をPCRで增幅して塩基配列を確認するPCRダイレクトシークエンス法¹⁵⁾のほか、リアルタイムPCR法を応用した融解曲線分析法⁵²⁾、TaqManプローブ法⁵³⁾、quenching probe (Qプローブ) 法⁵⁴⁾等を用いた遺伝子検査法が開発された。さらに近年では、Qプローブ法を測定原理とし小型化・自動化された遺伝子検査機器であるGENECUBE[®] (東洋紡株式会社) やSmart Gene[®] (株式会社ミズホメディア) が発売され、一般医療機関にも普及しつつある。これらの遺伝子検査法は*M. pneumoniae* の検出において感度・特異度ともに優れているのみならず、マクロライド耐性遺伝子変異の有無を同時に判別可能であることから、マクロライド耐性*M. pneumoniae* 感染症の診療に大いに役立つものと期待される。

8. マクロライド耐性 *M. pneumoniae* 肺炎の治療

マイコプラズマ肺炎の治療薬は、耐性の有無にかかわらず成人でも小児でもマクロライド系薬（クラリスロマイシン、アジスロマイシン、エリスロマイシン）が第一選択である^{14,56)}。ただし、日常診療では*M. pneumoniae* の分離培養や薬剤感受性検査を実施すること自体が極めて困難であり、多くの場合マクロライド耐性の有無を調べることができない。したがって、マクロライド系薬の投与後に有効性を判定して、耐

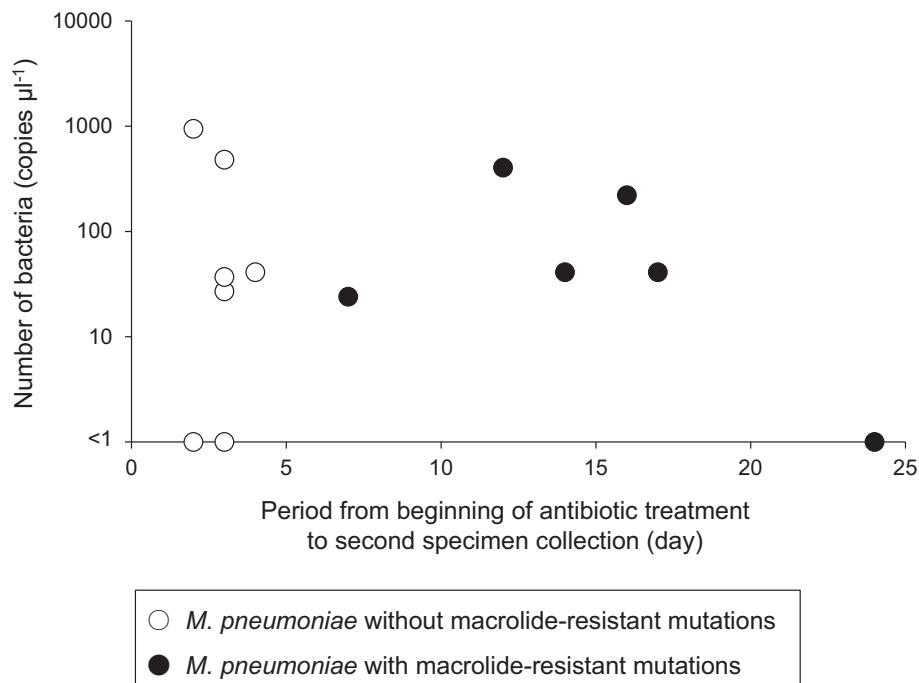


Fig. 6. *M. pneumoniae* load as quantified by real-time PCR in second specimens obtained after administration of macrolides according to time after the initiation of antibiotic treatment
Open circles indicate *M. pneumoniae* without macrolide-resistant mutations in the second specimen; filled circles indicate *M. pneumoniae* with macrolide-resistant mutations in the second specimen. These patients had infected with macrolide-susceptible *M. pneumoniae* at the point before administration of macrolides. The figure was presented by modifying reference 51.

性の有無を臨床的に推測することとなる。通常、マクロライド感性株によるマイコプラズマ肺炎ではマクロライド系薬の投与48時間後には約80%が解熱する。しかし、マクロライド耐性株では約30%しか解熱しないとされる。マイコプラズマ肺炎の治療開始2~3日後に症状が改善しない場合、マクロライド系薬の前投与があればマクロライド耐性率は90%以上であり、前投与がなければマクロライド耐性率は50%以下であると考えられる¹⁴⁾。

マクロライド耐性株と推測される場合、第二選択薬としてテトラサイクリン系薬またはキノロン系薬が投与される¹⁴⁾⁵⁶⁾。マクロライド耐性 *M. pneumoniae* に対する臨床的有効性や薬剤耐性誘導を考慮すると、キノロン系薬よりもテトラサイクリン系薬の方が有用と考えられる。テトラサイクリン系薬ではミノサイクリンが選択されることが多い。ただし、一過性骨発育不全、歯牙着色、エナメル質形成不全の副作用があるため、8歳未満の小児にはテトラサイクリン系薬は原則禁忌である¹⁴⁾。成人ではキノロン系薬としてはレボフロキサシン、ガレノキサシン、モキシフロキサシン、シタフロキサシン、トスフロキサシンが用いられる。小児ではトスフロキサシンが唯一使用可能なキノロン系薬である¹⁴⁾⁵⁶⁾。

また、マイコプラズマ肺炎の中には重症化する例があり、その病態は主に *M. pneumoniae* に対する生体の過剰な免疫反応と考えられている。そのような場合、免疫抑制および抗炎症の目的でステロイド薬の全身投与（メチルプレドニゾロンなど）が行われる¹⁴⁾。

9. おわりに

本稿ではマクロライド耐性 *M. pneumoniae* の分子疫学について筆者らの研究成果を交えて概説した。さらに、マクロライド耐性 *M. pneumoniae* の検出法について紹介し、マクロライド耐性 *M. pneumoniae* 感染症の治療についても述べた。我が国の感染症発生動向調査によればマイコプラズマ肺炎流行的周期性に再興の兆しがみられることから、我々は今後も継続して *M. pneumoniae* 感染症の発生動向を注視し、次の大流行に備えなければならない。現在のところP1遺伝子1型菌の減少に伴って我が国のマクロライド耐性 *M. pneumoniae* 検出率は低下傾向にあるが、次の大流行では再びマクロライド耐性 *M. pneumoniae* が猛威を振るわないと限らない。よって、今後は増加傾向にあるP1遺伝子2型菌のマクロライド耐性化の動向を監視していくとともに、一般医療機関においてもマクロライド耐性 *M. pneumoniae* 感染症を診断できるよう遺伝子検査体制の整備を進めることが重要である。

謝辞：本稿には筆頭筆者が山形県衛生研究所在籍中に行った研究内容が含まれます。研究に際してご指導を賜りました山形大学医学部感染症学講座教授 本郷誠治先生、同講座准教授 松崎葉子先生、同講座助教 下平義隆先生、山形県衛生研究所所長 水田克巳先生、同研究所主任専門研究員 瀬戸順次先生、山辺こどもクリニック 板垣勉先生、勝島小児科医院 勝島史夫先生および勝島由利子先生に深謝いたします。

利益相反：申告すべき利益相反なし。

文 献

- 1) Atkinson, T.P., M.F. Balish, K.B. Waites. 2008. Epidemiology, clinical manifestations, pathogenesis and laboratory detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *FEMS Microbiol. Rev.* 32: 956-973.
- 2) Waites, K.B., D.F. Talkington. 2004. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* 17: 697-728.
- 3) Foy, H.M. 1993. Infections caused by *Mycoplasma pneumoniae* and possible carrier state in different populations of patients. *Clin. Infect. Dis.* 17: S37-46.
- 4) Block, S., J. Hedrick, M.R. Hammerschlag, et al. 1995. *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in pediatric community-acquired pneumonia: comparative efficacy and safety of clarithromycin vs. erythromycin ethylsuccinate. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 14: 471-477.
- 5) Korppi, M., T. Heiskanen-Kosma, M. Kleemola. 2004. Incidence of community-acquired pneumonia in children caused by *Mycoplasma pneumoniae*: serological results of a prospective, population-based study in primary health care. *Respirology* 9: 109-114.
- 6) 生方公子, 諸角美由紀, 岩田 敏. 2011. 小児におけるマクロライド高度耐性・肺炎マイコプラズマの大流行. 病原微生物検出情報 (IASR) 32: 337-339.
- 7) 田中裕士. 2016. ヒトマイコプラズマ感染と免疫応答. p. 35-40. 最新マイコプラズマ学 (日本マイコプラズマ学会編), 近代出版, 東京.
- 8) 大屋日登美, 岡崎則男. 2016. *Mycoplasma pneumoniae* の培地, 分離培養, 保存法. p. 166-175. 最新マイコプラズマ学 (日本マイコプラズマ学会編), 近代出版, 東京.
- 9) 大屋日登美, 堀野敦子, 見理 剛, 他. 2011. 培養法 (*M. pneumoniae* の分離法). p. 8-17. 肺炎マイコプラズマ検査マニュアル 平成23年9月 (国立感染症研究所編), 国立感染症研究所, 東京.
- 10) 見理 剛. 2016. ヒトマイコプラズマ感染症の疫学. p. 82-87. 最新マイコプラズマ学 (日本マイコプラズマ学会編), 近代出版, 東京.
- 11) 国立感染症研究所. 感染症発生動向調査 週報 (IDWR). <https://www.niid.go.jp/niid/ja/idwr.html> 2020年2月1日現在
- 12) Yamazaki, T., T. Kenri. 2016. Epidemiology of *Mycoplasma pneumoniae* infections in Japan and therapeutic strategies for macrolide-resistant *M. pneumoniae*. *Front. Microbiol.* 7: 693.
- 13) Pereyre, S., J. Goret, C. Bébéar. 2016. *Mycoplasma pneumoniae*: current knowledge on macrolide resistance and treatment. *Front. Microbiol.* 7: 974.
- 14) 日本マイコプラズマ学会. 肺炎マイコプラズマ肺炎に対する治療指針. <http://plaza.umin.ac.jp/mycoplasma/guidelines/> 2020年2月1日現在
- 15) Matsuoka, M., M. Narita, N. Okazaki, et al. 2004. Characterization and molecular analysis of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* clinical isolates obtained in Japan. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 48: 4624-4630.
- 16) Okazaki, N., M. Narita, S. Yamada, et al. 2001. Characteristics of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* strains isolated from patients and induced with erythromycin in vitro. *Microbiol. Immunol.* 45: 617-620.
- 17) 成田光生. 2008. 薬剤耐性マイコプラズマの現状と今後. *日胸* 67: 580-590.
- 18) Kawai, Y., N. Miyashita, M. Kubo, et al. 2013. Nationwide surveillance of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* infection in pediatric patients. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 57: 4046-4049.
- 19) Suzuki, Y., J. Seto, Y. Shimotai, et al. 2017. Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis of *Mycoplasma pneumoniae* isolates between 2004 and 2014 in Yamagata, Japan: Change in molecular characteristics during an 11-year period. *Jpn. J. Infect. Dis.* 70: 642-646.
- 20) Tanaka, T., T. Oishi, I. Miyata, et al. 2017. Macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* infection, Japan, 2008-2015. *Emerg. Infect. Dis.* 23: 1703-1706.
- 21) Morozumi, M., T. Takahashi, K. Ubukata, et al. 2010. Macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*: characteristics of isolates and clinical aspects of community-acquired pneumonia. *J. Infect. Chemother.* 16: 78-86.
- 22) 鈴木 裕, 瀬戸順次, 板垣 勉, 他. 2014. 山形県で2004年から2013年の10年間に分離した *Mycoplasma pneumoniae* のマクロライド耐性遺伝子変異およびp1遺伝子型解析. 感染症学雑誌 89: 16-22.
- 23) Sasaki, T., T. Kenri, N. Okazaki, et al. 1996. Epidemiological study of *Mycoplasma pneumoniae* infections in Japan based on PCR-restriction fragment length polymorphism of the P1 cytadhesin gene. *J. Clin. Microbiol.* 34: 447-449.
- 24) Dégrange, S., C. Cazanave, A. Charron, et al. 2009. Development of multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis for molecular typing of *Mycoplasma pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* 47: 914-923.
- 25) Kenri, T., R. Taniguchi, Y. Sasaki, et al. 1999. Identification of a new variable sequence in the P1 cytadhesin gene of *Mycoplasma pneumoniae*: evidence for the generation of antigenic variation by DNA recombination between repetitive sequences. *Infect. Immun.* 67: 4557-4562.
- 26) Kenri, T., H. Ohya, A. Horino, et al. 2012. Identification of *Mycoplasma pneumoniae* type 2b variant strains in Japan. *J. Med. Microbiol.* 61: 1633-1635.
- 27) Zhao, F., B. Cao, J. Li, et al. 2011. Sequence analysis of the p1 adhesin gene of *Mycoplasma pneumoniae* in clinical isolates collected in Beijing in 2008 to 2009. *J. Clin. Microbiol.* 49: 3000-3003.
- 28) Kenri, T., N. Okazaki, T. Yamazaki, et al. 2008. Genotyping analysis of *Mycoplasma pneumoniae* clinical strains in Japan between 1995 and 2005: type shift phenomenon of *M. pneumoniae* clinical strains. *J. Med. Microbiol.* 57: 469-475.
- 29) Dumke, R., I. Catrein, E. Pirkil, et al. 2003. Subtyping of *Mycoplasma pneumoniae* isolates based on extended genome sequencing and on expression profiles. *Int. J. Med. Microbiol.* 292: 513-525.

- 30) Cousin-Allery, A., A. Charron, D. de Barbeyrac, et al. 2000. Molecular typing of *Mycoplasma pneumoniae* strains by PCR-based methods and pulsed-field gel electrophoresis. Application to French and Danish isolates. *Epidemiol. Infect.* 124: 103-111.
- 31) Jacobs, E., M. Vonski, K. Oberle, et al. 1996. Are outbreaks and sporadic respiratory infections by *Mycoplasma pneumoniae* due to two distinct subtypes? *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 15: 38-44.
- 32) Katsukawa, C., T. Kenri, K. Shibayama, et al. 2019. Genetic characterization of *Mycoplasma pneumoniae* isolated in Osaka between 2011 and 2017: Decreased detection rate of macrolide-resistance and increase of p1 gene type 2 lineage strains. *PLoS One* 14: e0209938.
- 33) Brown, R.J., M.T. Holden, O.B. Spiller, et al. 2015. Development of a multilocus sequence typing scheme for molecular typing of *Mycoplasma pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* 53: 3195-3203.
- 34) Sun, H., G. Xue, C. Yan, et al. 2013. Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis of *Mycoplasma pneumoniae* clinical specimens and proposal for amendment of MLVA nomenclature. *PLoS One* 8: e64607.
- 35) Sun, H., G. Xue, C. Yan, et al. 2017. Changes in molecular characteristics of *Mycoplasma pneumoniae* in clinical specimens from children in Beijing between 2003 and 2015. *PLoS One* 12: e0170253.
- 36) Ho, P.L., P.Y. Law, B.W. Chan, et al. 2015. Emergence of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* in Hong Kong is linked to increasing macrolide resistance in multilocus variable-number tandem-repeat analysis type 4-5-7-2. *J. Clin. Microbiol.* 53: 3560-3564.
- 37) Xue, G., Q. Wang, C. Yan, et al. 2014. Molecular characterizations of PCR-positive *Mycoplasma pneumoniae* specimens collected from Australia and China. *J. Clin. Microbiol.* 52: 1478-1482.
- 38) Diaz, M.H., A.J. Benitez, K.E. Cross, et al. 2015. Molecular detection and characterization of *Mycoplasma pneumoniae* among patients hospitalized with community-acquired pneumonia in the United States. *Open Forum. Infect. Dis.* 2: ofv106.
- 39) Ando, M., M. Morozumi, Y. Adachi, et al. 2018. Multilocus sequence typing of *Mycoplasma pneumoniae*, Japan, 2002-2016. *Emerg. Infect. Dis.* 24: 1895-1901.
- 40) Chalker, V., R. Brown. *Mycoplasma pneumoniae* MLST Databases. <https://pubmlst.org/mpneumoniae/> 2020年2月1日現在
- 41) Lee, J.K., J.H. Lee, H. Lee, et al. 2018. Clonal expansion of macrolide-resistant sequence type 3 *Mycoplasma pneumoniae*, South Korea. *Emerg. Infect. Dis.* 24: 1465-1471.
- 42) Suzuki, Y., T. Itagaki, J. Seto, et al. 2013. Community outbreak of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* in Yamagata, Japan in 2009. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 32: 237-240.
- 43) Suzuki, Y., J. Seto, Y. Shimotai, et al. 2020. Regional spread of three distinct genotypes of *Mycoplasma pneumoniae* and different timing of macrolide-resistant strain appearance among genotypes between 2011 and 2013 in Yamagata, Japan. *Yamagata Med. J.* 38: 19-24.
- 44) Suzuki, Y., J. Seto, Y. Shimotai, et al. 2019. Polyclonal spread of multiple genotypes of *Mycoplasma pneumoniae* in semi-closed settings in Yamagata, Japan. *J. Med. Microbiol.* 68: 785-790.
- 45) 細谷美佳子, 猪又明日香, 木村有紀, 他. 2017. 新潟県内で2013年から2016年に検出された*Mycoplasma pneumoniae* のマクロライド耐性変異解析とp1遺伝子による型別. 新潟県保健環境科学研究所年報 32: 64-69.
- 46) Ho, P.L., P.Y. Law, B.W. Chan, et al. 2015. Emergence of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* in Hong Kong is linked to increasing macrolide resistance in multilocus variable-number tandem-repeat analysis type 4-5-7-2. *J. Clin. Microbiol.* 53: 3560-3564.
- 47) 大屋日登美, 鈴木五三男, 成田光生, 他. 2008. 試験管内でセレクションされたマクロライド耐性*Mycoplasma pneumoniae*について. 日本マイコプラズマ学会誌 35: 47-51.
- 48) Chironna, M., A. Sallustio, S. Esposito, et al. 2011. Emergence of macrolide-resistant strains during an outbreak of *Mycoplasma pneumoniae* infections in children. *J. Antimicrob. Chemother.* 66: 734-737.
- 49) 黒崎知道, 尾内一信. 2012. 1次医療機関における肺炎マイコプラズマのマクロライド耐性. 病原微生物検出情報(IASR) 33: 267-268.
- 50) Itagaki, T., Y. Suzuki, J. Seto, et al. 2013. Two cases of macrolide resistance in *Mycoplasma pneumoniae* acquired during the treatment period. *J. Antimicrob. Chemother.* 68: 724-725.
- 51) Suzuki, Y., Y. Shimotai, T. Itagaki, et al. 2017. Development of macrolide resistance-associated mutations after macrolide treatment in children infected with *Mycoplasma pneumoniae*. *J. Med. Microbiol.* 66: 1531-1538.
- 52) Peuchant, O., A. Ménard, H. Renaudin, et al. 2009. Increased macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in France directly detected in clinical specimens by real-time PCR and melting curve analysis. *J. Antimicrob. Chemother.* 64: 52-58.
- 53) Suzuki, Y., J. Seto, Y. Shimotai, et al. 2016. Development of an endpoint genotyping assay to detect the *Mycoplasma pneumoniae* 23S rRNA gene and distinguish the existence of macrolide resistance-associated mutations at position 2063. *J. Microbiol. Methods* 131: 130-134.
- 54) 吉田愛美, 高橋一人, 斎藤泰智, 他. 2016. QP法によるマクロライド耐性マイコプラズマの検出. 医学検査 65: 166-171.
- 55) Leven, M., D. Uris, H.V. Bever, et al. 1996. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* by two polymerase chain reactions and role of *M. pneumoniae* in acute respiratory tract infections in pediatric patients. *J. Infect. Dis.* 173: 1445-1452.
- 56) 日本感染症学会・日本化学療法学会. 2019. JAID/JSC 感染症治療ガイド2019 (JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会編), ライフサイエンス出版, 東京.

An overview of molecular epidemiology of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*

Yu Suzuki¹⁾, Shuichi Abe²⁾

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Yamagata Prefectural Central Hospital

²⁾Department of Infectious Disease and Infection Control, Yamagata Prefectural Central Hospital

Mycoplasma pneumoniae is one of the major pathogens that cause upper and lower respiratory tract infections (RTI), such as community-acquired pneumonia, mainly in children and young adults. Macrolides are usually used for the treatment of *M. pneumoniae* infections as first-line antibiotics; however, the prevalence of RTI due to macrolide-resistant *M. pneumoniae* has been increasing for these two decades. Macrolide-resistant *M. pneumoniae* infection has become an important public health concern, and the epidemic of *M. pneumoniae* infection was observed with high prevalence of macrolide-resistant *M. pneumoniae* between 2011 and 2012 in Japan. Molecular epidemiological analysis revealed a high prevalence of macrolide resistance in P1 type 1 *M. pneumoniae*, especially multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) type 4-5-7-2, and multi-locus sequence typing (MLST) type ST3 and ST19 strains. The P1 type 1 strain has recently been decreased and the P1 type 2 strain that shows low prevalence of macrolide resistance has been increased, resulting in a decrease of macrolide-resistant *M. pneumoniae* in Japan. It is necessary for the precise diagnosis of macrolide-resistant *M. pneumoniae* infection to monitor trends of macrolide resistance in P1 type 2 strain and introduce the genetic testing methods into clinical situation, which should be useful to prepare for future outbreak or epidemic of *M. pneumoniae* infection.