

# 肺炎マイコプラズマ感染症を Quasispecies から治療を考える

2024/11/8

---

菊田英明

日本小児科学会 名誉会員

E-mail: [hide.ki@nifty.com](mailto:hide.ki@nifty.com)

HP: <https://doctor.99soudan.net>

---

\* 2017年12月8日 インフルエンザ学術講演会「マクロライド耐性マイコプラズマは何故生まれたか？」に最近の知見を追加、改変したものです。

## 略語

MP: *Mycoplasma pneumoniae*: *M. pneumoniae* (肺炎マイコプラズマ)

MRMP: Macrolide-resistant *M. pneumoniae* (マクロライド耐性 肺炎マイコプラズマ)

MSMP: Macrolide-susceptible *M. pneumoniae* (マクロライド感性 肺炎マイコプラズマ)

rDNA: ribosomal DNA (リボソーム DNA)

rRNA: ribosomal RNA (リボソーム RNA)

## マクロライド耐性 肺炎マイコプラズマの発生機序は？ (スライド 4~7)

肺炎マイコプラズマ (*Mycoplasma pneumoniae*: MP) は、1,632,788 塩基と最も小さく、最も単純な自己複製細菌です。他の原核生物とは異なり、MP には細胞壁がありません。マクロライド耐性肺炎マイコプラズマ (Macrolide-resistant *M. pneumoniae*: MRMP) は、リボソーム RNA (ribosomal RNA: rRNA) の変異により起こることは周知のことですが、どのようにして rRNA の変異が生じるか説明したいと思います。MP が複製 (replication) の過程でリボソーム DNA (ribosomal DNA: rDNA: rRNA をコードしている DNA のことで rRNA operon と呼ばれています) に変異が生じると、変異 rDNA から転写される rRNA は全て変異を持つこととなります。即ち、MRMP の rRNA の変異は rDNA の変異が直接の原因です。マクロライドなど外的因子が MP の rDNA に直接変異を起こすとは考えられません。また、rDNA から rRNA が転写 (transcription) される過程で一回エラーを起こしても、rDNA に変異がなければ rRNA の 1 個に変異が生じるだけであり MRMP にはなりません。

## 肺炎マイコプラズマは何故 rRNA に変異を起こしやすいか？ (スライド 2)

環状二本鎖 DNA である MP は rRNA をコードする rDNA (rRNA operon) を 1 個しかありません。

ヘリコバクター ピロリ菌は 2 個、肺炎球菌は 4 個、大腸菌は7個と複数個持っています。そのため MP では他の細菌と異なり1個の rDNA に変異が生じれば、影響は直ぐ全ての rRNA の変異につながります。即ち MP の 23S rRNA をコードしている rDNA (rRNA operon) の変異により、特定部位の rRNA の変異が生じれば、マクロライドの蛋白合成抑制作用が消失し MSMP (Macrolide-susceptible *M. pneumoniae*: MSMP) は MRMP になります。

肺炎マイコプラズマの rDNA の変異が起こる頻度は？ どの位時間が必要か？

(スライド 2, 3, 8~10)

細菌全般では 1 回の複製で  $10^7\sim 10^{11}$  塩基の 1 塩基に変異が入ることになります。一方、RNA ウイルスの場合は 1 回の複製で  $10^4\sim 10^6$  塩基の 1 塩基に変異が入り、DNA の複製時より変異が生じやすいとされています。MRMP の変異は rRNA に変異はありますが、初めに生じる変異は rDNA ですので、 $10^7\sim 10^{11}$  回の複製で 1 塩基の変異が生まれます。MP の塩基数を 1,632,788 塩基として計算すると、特定の 1 つの塩基に変異が生じるかどうかは、少なくとも  $10^7$  回以上の複製が必要になります。Doubling time (倍加時間) を 8 時間とすると、 $10^7$  回の複製には膨大な時間がかかりますが、実際には多くの細胞が並行して複製を行うため、1 個の塩基に変異が生じる時間は MP 集団全体としては短縮されます。たとえば、 $10^7$  回の複製に対して 1 個の変異が生じると仮定した場合、 $10^7$  細胞の集団が 1 サイクルの複製を行うだけで、 $10^7$  細胞の集団の中の 1 か所の塩基に変異が発生することが期待されます。集団全体として考えると、複製エラーの蓄積は短期間で起こります。

肺炎マイコプラズマの rDNA が変異を起こした後、リボソームが全て変異 rRNA になるにはどの位時間が必要か？ (スライド 14, 15)

一個の MP には約 300 個の rRNA が存在します。300 個のリボソームの 50% 以上が変異を持つと耐性になると考えられています。MP の倍加時間は 8 時間であり、大腸菌の 0.33 時間と比べて長く、潜伏時間 (Incubation period) も 2~4 週と他の細菌と比べ長くなります。細胞が新しいリボソームを作る速度や、既存のリボソームがどのくらいの速度で分解されるかによりますが、通常 1 個の MP の中の 300 個全てのリボソームが変異した rRNA になるには数日かかると推測されます。

MRMP が生じるにはマクロライドをどのくらいの継続使用することが必要か？ (スライド 16~19)

計算上では MRMP が 1 個生まれる時間は数日からですが、実際に MRMP が生まれるリスクが高くなる 14 日間以上の継続的なマクロライド使用です。MRMP には MSMP と比べマクロライド以外では growth advantage はありません。個人の体内に感染している MP には同じ免疫系が認識できるエピトープが存在しているため MSMP と MRSP が宿主から受ける免疫学的圧力は同じと考えられます。そのため、MRMP が MSMP より優位に増えるためには、継続的なマクロライドによる MP に対する圧力が必要となります。特に、抗菌薬が不完全 (低濃度) で作用した場合、MRMP が

生まれるリスクはさらに高まります。

潜伏期に MSMP に感染し MRMP が生まれてもマクロライドがない限り、MRMP に growth advantage はないため MRMP が優位に増えることはありません。MSMP に感染した場合、通常の治療期間の間に MRMP となり治療に反応しなくなることはありません。少なくとも 2~3 日で MSMP が全て MRMP にはならないので、症状出現初期に MRMP が検出された症例は初めから MRMP に感染していたと考えられます。このことは、マクロライドの効果は投与後 2~3 日以内の解熱で概ね評価できることから推測されます。但し、潜伏期間中から長期間マクロライドの存在下であれば、最初 MSMP であっても途中で MRSP が増加し、発症時の治療に影響を及ぼす可能性があります。MRMP 患者は、MSMP 患者よりも発熱期間が長く、入院期間が長くなります。MP 肺炎の重症例に MRMP が多いという報告はありますが、統計的に MRMP は病原性が強く MSMP より肺炎を起こしやすい、肺外合併症が多いという報告は僅かしかありません。

#### Quasispecies (MSMP と MRMP の混在)は肺炎マイコプラズマでは一般的か？ (スライド 20~26)

Quasispecies (準種)とはウイルスや細菌の進化や変異に関連して、単一の遺伝子集団ではなく、多様な遺伝子変異をもった集団として存在し、選択圧に応じて適応する動的な集団のことです。MP では MSMP と MRMP が混在する集団のことです。

通常の方法 (Sanger sequencing、Simple probe PCR) は MP DNA の検出には充分であるが、少ない MRMP を見落している可能性があると報告しています。Pyrosequencing 法によれば、通常の方法で MRMP が検出できたのは MRMP が約 50%以上を占める場合のみであり、MRMP と判断される閾値は約 50%であった。また、多くの検体は MSMP と MRMP の両方が含まれている Quasispecies であった。この報告では様々割合で MRMP の混ざった Quasispecies は一般的に存在することが示されています。この治療ではマクロライド使用が 86%で、他の薬剤へ変更されたのは 16%でした。通常の方法で MRMP と判断された検体が 30%あったにも関わらず、その半分はマクロライドで治癒したことが分かります。

同様に、通常の方法で nested PCR with sequencing で検出できる MRMP は 50%以下でも可能でしたが、Allele-specific real-time PCR による方法では、より多くの Quasispecies を検出できたと報告しています。通常の方法で MRMP を検出できる閾値はその PCR の違いにより異なります。しかし、通常の方法では Quasispecies の状態で存在する場合、少ない MRMP を見逃し MRMP の存在を著しく過小評価する可能性があります。通常の方法で MSMP、MRMP と判断されても、Quasispecies が多く存在するため、100% MSMP、100% MRMP ではありません。マクロライド治療によって MSMP が完全に消滅しないことから Quasispecies が多く存在することが推測できます。

Quasispecies が存在することは *in vitro* でも推測できます。それは、マクロライドを使用し標準株から MRMP を検出するためには長い継代培養を必要としましたが、野生株からは非常に短時間で MRMP を検出できているからです。このことは、通常の方法で MSMP と判断された野生株の中には少量の MRMP が存在していたことを示唆します。

## MRMP が MP の何パーセントを占めれば、臨床的にマクロライド耐性と判断されるか？（スライド 27, 28）

MP 感染症では Quasispecies が一般的と考ええると、臨床でのマクロライドの有効性は Quasispecies 内の MRMP の割合に依存すると考えられます。しかし、MRMP がどのくらいの割合を超えるとマクロライドの効果が無くなるかという臨床の効果の閾値についての報告はありません。MP 感染症は自然治癒する傾向のある感染症であり、更に個人の免疫状態により臨床の効果の閾値は大きく変わるため、薬剤の有効性の判断は容易でないと思います。通常の PCR 検査で MRMP と判断されるのは約 50%（PCR 検査での閾値）以上と仮定すると、臨床の効果の閾値が 50%より高ければ通常の検査で MRMP であってもマクロライドは有効（臨床的には MSMP と判断）となります。逆に臨床の効果の閾値が 50%より低ければ通常の検査で MSMP であってもマクロライドは効果なし（臨床的には MRMP と判断）となります。これが通常の PCR 検査の結果とマクロライドの効果に不一致が生じる原因になっていると考えられます。

## Quasispecies の中の MRMP の割合と PCR 結果および臨床効果の関係は？（スライド 29～34）

MS に感染した時に MP 内の MSMP と MRMP の割合で通常の PCR 結果と臨床経過がどのように変わるか推測してみたいと思います。通常の PCR 検査で MRMP と判断されるのは約 50%（PCR 検査での閾値）以上と仮定します。「臨床的に MSMP」とはマクロライドが臨床的に有効であったことを意味します。

1. 100% MSMP に感染した場合は、検査、臨床的にも大部分は MSMP と判断されます。仮に治療中に MRMP が生まれても臨床経過に影響を与えません。

2. 臨床の効果の閾値が、通常の PCR 検査での閾値(約 50%)より低い場合：

検査では MRMP が 50%以下のため MSMP と判断されます。ただし、臨床的にはマクロライドが無効の場合もあり MRMP と判断されることも出てきます。検査と臨床効果に不一致が生じる可能性があります。最初 MSMP であった MP が、マクロライドの使用により MRMP の割合が 50%以上増えることにより、MRMP と判断され一見短期間で *de novo* 変異を起こしたようにみえることがあります。しかし、これは混在していた MRMP が優位になって検出されただけです。稀ですが一度改善した後に、残存する MRMP が増加し数週間後に再燃することがあります。この場合も、最初 MSMP であったが再燃時の検査で MRMP と判断され、これも一見 *de novo* 変異を起こしたようにみえます。しかし、これも混在していた MRMP が優位になって検出されただけです。Quasispecies に対するマクロライド治癒は経過中に MRMP の割合が感染時より多くなります。残った MP の中で MRMP が 50%以上になり流行すると MRMP の Epidemic になります。

3. 臨床の効果の閾値が、通常の PCR 検査での閾値(約 50%)より高い場合：

検査では MRMP が 50%以上のため MRMP と判断されます。ただし、臨床的にはマクロライドが有効の場合もあり MSMP と判断されることも出てきます。稀ですが一度改善した後に、残存する MRMP が増加し数週間後に再燃することがあります。検査と臨床効果に不一致が生じる可能性があります。残った MP の 50%以上は MRMP ですので、流行すると MRMP の Epidemic になります。

す。

4. 100% MRMP に感染した場合は、大部分は臨床的にも検査でも MRMP と判断され、これが流行するとば MRMP の Epidemic となります。

Quasispecies の状態で感染が次から次に広がった場合、個人のマクロライドを使用する期間が短くても、元の感染者から受け継がれた MRMP がマクロライド存在下で選択され次第に MRMP の割合が多くなります。これにより、感染者間で MRMP の割合が次第に増加し、結果として完全に 100% MRMP の株に近づくと推測されます。MRMP の流行は MRMP が 50%以上を占める Quasispecies の MP が Epidemic infection を起こしていると推測されます。

*in vivo* で *de novo* 変異を起こしたという報告は、本当に *de novo* なのか？ (スライド 35~38)

今までに *de novo* 変異として報告された 10 例を検討してみました。Quasispecies の存在を考えて推測すると、10 例中 7 例は最初の段階で MRMP が少なかったため MSMP と判断されたが、マクロライド短期間使用で、2 週間頃の早期に MRMP が検出された症例で、最初から Quasispecies の状態で MRMP が存在していたと考えられた症例です。これは一見、*de novo* 変異が起こったと間違っって判断された症例と考えられます。その 7 例中 2 例は、最初は治療に反応しましたが、数週間後に残存していた MRMP が増え再燃したと推測された症例です。10 例中 3 例はマクロライド長期使用もしくは不明で完全には *de novo* 変異を否定できなかった症例でした。その 3 例中 2 例は、再燃した症例で、これも最初から Quasispecies の状態であったと考えられた症例です。全体から、個人の中でマクロライド短期間の治療中に *de novo* 変異が起こった症例は稀と考えられました。

感染と肺炎マイコプラズマの動態 (スライド 3)

MP の感染成立に必要な最小感染量 (Minimal infectious dose: MID) は数 100~数 1000 個と考えられています。2024 年の世界保健機関 (WHO) の定義に基づくと、MP の主な伝搬経路は感染性呼吸器粒子 (Infectious respiratory particles, IRPs) による空気経路伝搬 (空気を介して; through the air) です。一部は接触感染 (直接落下; Direct deposition と間接接触; indirect contact) で伝搬します。基本再生産数 (Basic reproduction number:  $R_0$ ) は 1.5~2.0 で、感染力はそれほど強くはなく、比較的近い距離で長時間接しないと感染しないため、感染は急激に流行するというより徐々に拡大していきます。実際 MP 感染症は保育園や幼稚園の年長、小学生、中学生などが中心で、家庭内や施設内などで感染が起こりやすいとされています。MP 感染症は不顕性感染も多く、無症状のケースを含めると、早ければ 2 歳頃から初感染が始まり、5 歳までに 60~70% の人が感染し、成人では約 95%、一度は感染します。しかし、終生免疫ではないため、再感染の可能性があります。MP に感染して肺炎になるのは 5~10% で、肺炎の 12% は重症化します。MP の P1 タンパク質は気道の上皮細胞の表面に存在する受容体 (ピメンチン) に付着します。付着した後、宿主細胞に損傷を与え炎症反応を引き起こします。主に細胞外で増殖しますが、マイコプラズマは独自に代謝を行うことができるので細胞内でも増殖します。1 つの細胞内に数 10~数 100 個の

MP が存在することもあります。

#### マイコプラズマ肺炎にマクロライドで治療した前後の肺炎マイコプラズマ DNA 量と生菌数の変化 (スライド 39~42)

PCR は感度が高く、迅速な診断が可能であるという利点がありますが、死菌や非感染性の残骸も検出します。そのため、MP の DNA が検出されても感染性を示すものではありません。培養による検出感度は PCR の感度の約 60%と低く、検出までに 1~4 週間かかります。そのため、MP の診断のほとんどは PCR で行われています。また、治療前の PCR による報告はたくさんありますが、治療前後の PCR、培養の報告はほとんどありません。

2017 年 1~3 月の間に中国の小児科に入院し Real-time PCR で MP が検出された MP 肺炎 (全員が胸部 X 線検査で肺炎像があり、IgM 抗体が陽性) 92 人の子供 (男性: 65 歳、女性: 27 歳、年齢: 5~15 歳) を対象とし、Real-time PCR による DNA 量と希釈定量培養による生菌数を比較した興味ある報告があります。残念ながら MSMP か MRMP かの記載はありませんが、当時、中国は MRMP が 50~90%を占めていた時期と推測されます。治療は独特で、AZM (10mg/kg、1 回、5 日間) と EM (10mg/kg、2 回、3 日間) を退院まで交互に静脈注射するという強力なものでした。全ての患者は胸部 X 線検査による肺病変の改善など、症状が寛解した時点で退院していました。平均入院期間は 10.7 日でした。今回の MP 肺炎の中には MRMP の症例がかなり含まれていたと推測されますが、全員マクロライドで治療し退院しております。その結果によれば、MP の DNA 検出率は治療前 100%、治療後 94.6%と有意差はなく、DNA 量も約  $10^5$  copies/mL 程度と治療前後で有意差はありませんでした。しかし、MP の生菌検出率は治療前 89.1%、治療後 53.2%と有意に低下していました。生菌数も治療前は  $10 \sim 10^4$  CCU/mL、治療後  $10 \sim 10^4$  CCU/mL と有意に低下していました。培養と DNA 一致率は治療前では 89.1%、治療後は 58.7%でした。治療後の退院時にほとんどの子どもから持続的に DNA が検出されました。これは今までの PCR の報告と一致しています。退院となった約半数は症状がほぼ無く、治療前に比べて感染力が低くなったとは言え、生きた MP が残存していたことは治療後も感染源になり得ることを示しています。長期間 MP が残存することが、治療後も咳嗽が長く続くことに繋がっている可能性があります。

#### マイコプラズマ感染後の PCR によるマイコプラズマ排泄期間と量 (スライド 43~46)

症状出現後 1 週間程は MP を高いレベルで排出し続けます。その後、症状が軽快したとしても 4~6 週間以上も MP が排出され続けます。PCR は必ずしも生菌数を表しているわけではありませんが、長期間生菌が残存していることは推測できます。MP 感染後、PCR で数週~数か月間 (中央値: 7 週) と長期間 DNA が検出されるという報告もあります。無症状者の排泄期間は症状のある人と比べ短いですが、中には数週間~数か月にわたって排泄し続ける人もいます。これにより、マクロライド治療により MSMP が完全には消滅しないため、MRMP が生じた時に Quasipieces が生じることは容易に推測できます。

MP 感染後の MP 量は、一般的に無症状者は症状のある人より少なく、上気道炎の人は下気

道炎の人より少ないと報告されています。流行時には健康人からも MP が高頻度に検出され、長期間検出されます。特に、家族内感染では 15 歳以下が 75%を占め、MP が検出された 44%は無症状であったと報告されています。無症状や症状の軽い乳幼児を含め感染の機会の多い小児が MP の reservoir（病原巣）となっている可能性が示唆されます。

#### MRMP が増加してきた理由（スライド 47～56）

日本で 1960 年代から EM が使用されるようになり、1991 年に CAM 販売開始、2002 年に AZM 販売開始となり、2000 年代にマクロライドの使用がピークに達しました。特に小児において呼吸器感染症の治療に頻繁に使用されました。MRMP が始めて報告されたのは、日本で 1968 年に 2 週間 EM を使用した 14 歳女児からです。日本は欧米に比べて抗菌薬の中でマクロライドの使用割合が高い傾向にあります。1990 年代から慢性副鼻腔炎、小児滲出性中耳炎に対する長期 CAM 低用量治療が開始され 2000 年代に増加してきました。長期 CAM 低用量治療とは、通常の内服量の半分の量を 3 か月（効果判定期間）～6 か月間、毎日内服するもので、2 歳以下には効果の少ないとされています。中国においてもこの治療が追従されました。しかし、欧米では慢性副鼻腔炎、小児滲出性中耳炎の治療にマクロライドは推奨されていません。

一般的にマクロライド耐性の変異のリスクは、マクロライドによる選択圧が低用量で長期間続く場合に高くなります。長期 CAM 低用量治療中の子どもに MP が感染した場合、感染しても無症状の子どもが多いため感染に気付かれずに、低濃度で長時間マクロライドに接触する可能性があり、MRMP が生まれるリスクが高くなります。マクロライドが多用された時期、長期 CAM 低用量治療が行われ始めた時期が MRMP 増加の時期と偶然の可能性はありますが一致していません。無症状者の多い A 群溶血性連鎖球菌、肺炎球菌、ヘリコバクター ピロリ菌の子どももマクロライド耐性誕生に、不適切なマクロライドの多用、長期 CAM 低用量治療が関係している可能性があります。

MRMP 増加の時期と AZM の発売の時期が近いという理由、AZM は他のマクロライドと比べて半減期が長く、血中および組織内で長く存在するという理由で、AZM が MRMP の増加に関与していると危惧する人がいるかもしれません。しかし、AZM が新たな MRMP 誕生に関与しているという確実な報告は現在までありません。マクロライドの違いによる DNA 複製時の変異率の違いはないことから、AZM が他のマクロライドより rDNA に変異を起こしやすいとは考えられません。また、AZM は多くは最終投与から約 10～14 日で血液中の濃度は検出できなくなります。3 日間の AZM 治療が CAM の 10～14 日治療と比べ、特に長期間 MP に圧力を与えているとは考えられず、AZM が変異を多くするとは考えにくいと思います。AZM 発売前から MRMP が発生していること、日本ではマクロライドの中で CAM が多くで使われ、欧米ではむしろ AZM が多く使われています。また、欧米での AZM の治療期間と投与量は日本と異なりますが 5 日間と日本より長期間使用するのが一般的です。しかし、欧米では MRMP の発症は日本と比べ少ない状態が続いています。

#### 肺炎マイコプラズマ感染症の子どもに行った治療の実際（スライド 57～60）

私は 2018 年 7 月～2020 年 2 月の PCR で MP が陽性で MP 感染症(肺炎: 47 例; 気管支炎: 13 例)と診断した 60 例 (MSMP: 45; MRMP: 15 例) を治療しました。治癒まで MSMP か MRMP かは知らない状態で治療を行いました。その結果は、CAM で治療した 23 例中 3 例は MRMP でしたが CAM のみで治癒しました。マクロライドと関係のない自然経過により治癒したか、Quasispecies で存在していた MSMP にマクロライドが効果を出して治癒したかは分かりません。MRMP なら必ずしもマクロライドが無効というわけではないと考えて良いと思います。MINO が使用された 15 名中 11 名は MSMP であり、本来 CAM の治療で良かった症例でした。MINO は MSMP、MRMP に関わらず、臨床効果は早く現れました。特に CAM で解熱しない例に対して MINO の効果は顕著でした。TFLX を使用した 4 名は全て MSMP であり、本来 CAM の治療で良かった症例で、TFLX は MSMP、MRMP に関わらず、臨床効果は MINO と比べ顕著ではありませんでした。また、入院は 60 名中 1 名だけでした。この子どもは肺炎で TFLX により治療し、発熱期間が長くなり入院となりましたが、検出された MP は MSMP でした。MP 肺炎にマクロライドで治療を行った場合、48 時間後に解熱が得られる割合は MSMP では 71%、MRMP では 28%という報告があり、Quasispecies の存在が通常の PCR と臨床効果の不一致を生み出している可能性があります。

#### 今後の検査、治療は？ (スライド 61)

PCR が必要になるのは、MP 肺炎を疑う症例だけで良いと思います。MP 感染症は自然治癒することも多いので、周囲に MP 感染症のヒトがいるからという理由で検査をする必要はないと思います。PCR は周囲に MP が流行し発熱が 48～72 時間持続し、咳嗽(早い時期は乾性咳嗽)が強く、胸部聴診所見が乏しく、血液で炎症反応(白血球数増加、CRP)が強くない時に、可能であれば行うので良いと思います。MP 肺炎で胸部 XP に異常が出てくるのは発熱後 3 日～7 日ですので、胸部 XP を撮るのであれば 2～3 日以降に行った方が良いと考えています。PCR を行わなくても、かなりの確率で MP 肺炎の診断は可能と考えます。

MP 感染症の軽症例は自然治癒すること、治療しても長期間 MP が残存することから PCR で MP 陽性であっても、軽症であればマクロライドは必ずしも使用しなくても良いと思います。通常の PCR で MRMP であっても Quasispecies でマクロライドが有効の可能性もありますので、マクロライドで治療を開始するので良いと考えます。まず、マクロライドで治療を開始し、3 日以上発熱が持続し、8 歳以上に限って MINO に変更するのが良いと考えます。

#### MRMP を少なくするためには？ (スライド 62, 63)

MP 感染症に適切な抗菌薬を使用し症状が改善しても、必ずしも MP が完全に消滅するわけではありません。MINO、TFLX の MSMP と MRMP に対する最小発育阻止濃度(MIC)は、ほぼ同等のため MINO、TFLX 使用により MP の絶対数は減少しますが MSMP と MRMP の両方が同じ割合で残存します。また、多くはありませんが、MP による肺炎は MSMP、MRMP に関係なく、マクロライド治療で同様の臨床転帰が示したという報告、マクロライド耐性は放射線学的転帰に有意な影響を与えず、MRMP でもマクロライドは一般的に処方されたまま治癒したという報告などもあ

ります。

個人の中で変異が生じ、初めは MRMP の割合は少なくとも、その後に MP 感染症疑いのヒトに対し、マクロライドを次々と使用する過程で MRMP の割合が次第に増加していく可能性があります。これを防ぐには、不適切なマクロライドを多用しないことです。また、個人が長期 CAM 低用量投与の過程に、新たに MRMP が生じた場合や MRMP の割合が少ない MP に感染した場合には、MRMP の割合の急激な増加に繋がります。これを防ぐには、欧米では推奨されていない慢性副鼻腔炎、滲出性中耳炎に対するマクロライド治療、長期 CAM 低用量治療を中止することです。

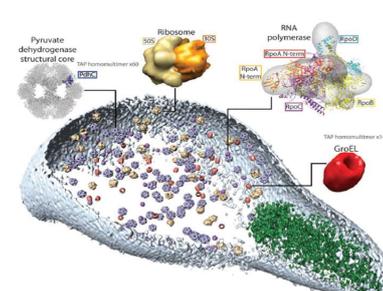
通常の検査で MSMP、MRSP と結果が出ても、体内に存在している MP は 100% MSMP、100% MRSP であるとは限りません。そのため、必ずしも MSMP は臨床的にマクロライド有効であり、MRSP は臨床的にマクロライド無効というわけではありません。また、MSMP、MRMP に対して適切な治療を行っても、生きた MP を完全に消滅できず長期間残ること、Quasispieces の状態はいつでも生じていることなどを念頭にマクロライドの使用方法を考えるべきと思われます。

HP へ戻る

<https://doctor.99soudan.net/>



## 肺炎マイコプラズマ感染症を Quasispeciesから治療を考える



2017年12月8日 インフルエンザ学術講演会  
「マクロライド耐性マイコプラズマは何故生まれたか？」に最近の知見を追加、改変したものです。

菊田英明  
日本小児科学会 名誉会員  
E-mail: [hide.ki@nifty.com](mailto:hide.ki@nifty.com)  
HP: <https://doctor.99soudan.net>

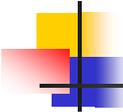
1



## 肺炎マイコプラズマの特徴-1

- 肺炎マイコプラズマ: 最も小さく、最も単純な自己複製細菌
- 原形質膜、リボソーム、および細胞膜からなる二本鎖環状DNAゲノム
- 細胞壁がない。
- マイコプラズマは二元核分裂によって繁殖しますが、細胞質分裂は、ゲノム複製に遅れることが多い。
- Circular, double stranded DNA
  - 1,632,788 bases/Genome =  $1.6 \times 10^8$  /Genome
  - **One ribosomal RNA (rRNA) operon (= ribosomal DNA)/Genome**  
(*E. coli*: 7 operons; *Streptococcus pneumoniae*: 4 operons; *H. pylori*: 2 operons)
- Ribosome
  - rRNA in ribosome: 3種類のrRNA (16S, 23S, 5S)
  - Number of ribosomes/cell:  $\sim 300$ /cell (*E. coli*: 6,800  $\sim$  72,000)
  - Half-life of rRNA: 3 $\sim$ 7.5 days (ヒト)

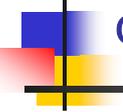
2



## 肺炎マイコプラズマの特徴-2

- Minimal infectious dose (MID) (感染を引き起こすために必要な最小感染量)
  - 数100～数1000個の細菌が感染成立に必要
- Basic reproduction number ( $R_0$ ) (基本再生産数)
  - 1.5～2.0 → 感染者1人が平均して1.5～2人に感染
- Doubling time (倍加時間): 2倍になる時間
  - 8時間と長い (E. coliは0.33時間: 他の細菌より変異は起こりにくい。)
- Incubation period (潜伏時間)
  - 2～4 週
- 肺炎マイコプラズマ感染症
  - 不顕性感染も多く、肺炎になるのは5～10%、肺炎の12%は重症化
  - 早ければ乳幼児期(2歳ごろ)に初感染が始まり、5歳までに60～70%の人が感染し、成人では約95%、一度は感染
  - 終生免疫ではないため、再感染
- 肺炎マイコプラズマのP1タンパク質は気道の上皮細胞の表面に存在する受容体(ピメンチン)に付着→宿主細胞に損傷を与え、炎症反応 (細胞外での増殖)
- 独自に代謝を行うことができ細胞内でも増殖。そのため、1つの細胞内に数10～数100個の肺炎マイコプラズマが存在することもある。

3



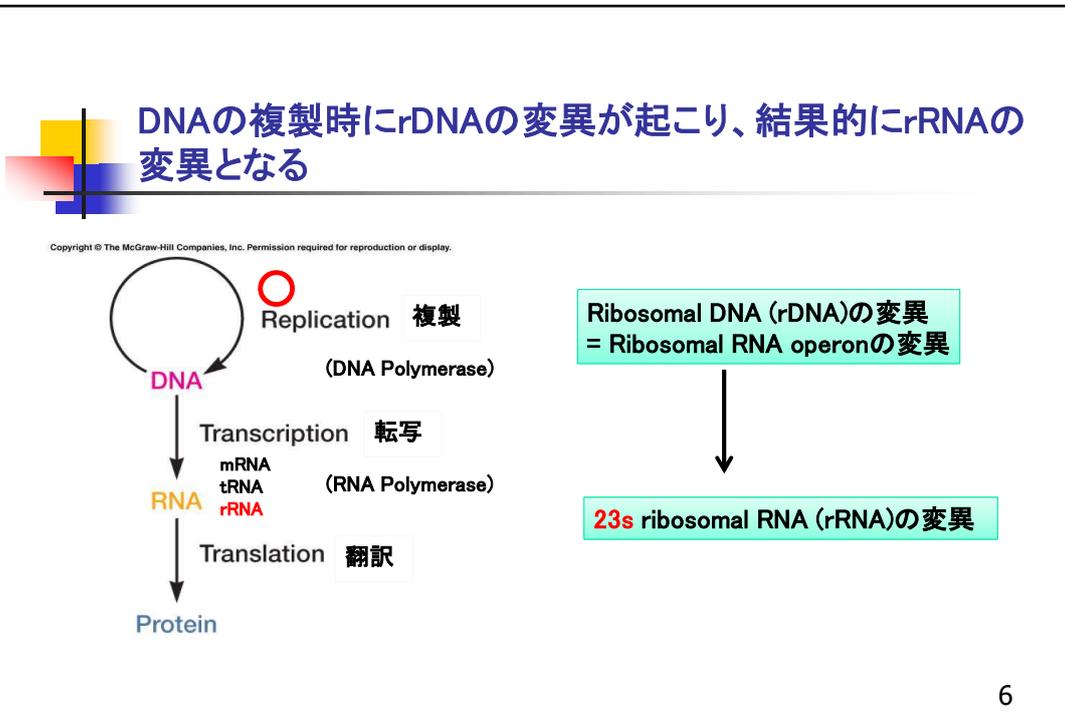
Q: rRNAの変異はどのようにして起こるのか？

4

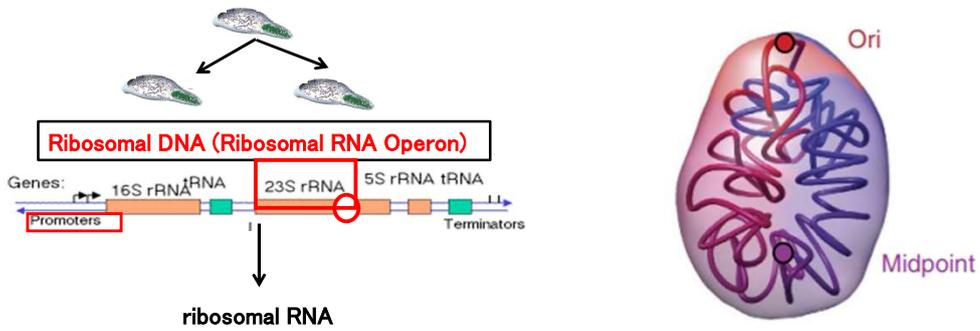
## MRMP発症の遺伝子変異

- 「Replication error (複製エラー)」: ribosomal DNA (rDNA)の変異はマイコプラズマの複製時に、マクロライドの存在と関係なくat randomに起き、これが主な原因
- 環境ストレス: 放射線、化学物質 (アジスロマイシンを含めてマクロライド抗菌薬がDNAに変異を引き起こすリスクは高くない)、紫外線などの環境要因がDNAを損傷し、修復過程で変異が導入されます。
- 「Transcription error (転写エラー)」: DNAからRNAが転写される過程で起こりますが、この機序では全てのribosomal RNA (rRNA)に変異が起こらない。

5



DNAの複製時にrDNAの変異が起こり、結果的にrRNAの変異となる



Replication (複製) 時の変異

Nat Com 2017; 8: 14665

<https://www.nature.com/articles/ncomms14665>

7

Q: 変異が生じるには何回複製が必要か？  
どの位、時間が必要か？

8

## 肺炎マイコプラズマの複製時の変異

- 肺炎マイコプラズマの複製時のエラー率を一般細菌と同様な $10^{-7} \sim 10^{-11}$ 回の複製に1塩基の変異(1回の複製で $10^7 \sim 10^{11}$ 塩基の1塩基に変異)と仮定すると、
- 1塩基に変異が生じるまでの複製回数
  - $10^{-7}$ のエラー率の場合: 約 1,000 万回に1回の複製で1塩基にエラーが生じる。
  - $10^{-11}$ のエラー率の場合: 約 1000 億回に1回の複製で1塩基にエラーが生じる。
  - つまり、肺炎マイコプラズマの1つの塩基にエラーが生じるためには、約  $10^7 \sim 10^{11}$  回の複製が必要
- 全体のエラー発生頻度
  - $10^{-7}$ のエラー率の場合:  $10^{-7} \times 1,632,788 = 0.163$ なので、1回の複製で約0.16箇所エラーが発生
  - $10^{-11}$ のエラー率の場合:  $10^{-11} \times 1,632,788 = 0.00001632$ なので、1回の複製で非常に低い確率(ほぼゼロ)でエラーが発生
- 特定部位の変異の生じやすさ
  - エラー率が極めて低いため、特定の1つの塩基に変異が生じることは非常に稀
- エラー率の範囲が広いこと、具体的にどの程度の複製で変異が生じるかは、実際のエラー率や条件に依存しますが、少なくとも $10^7$ 回以上の複製が必要

9

## DNA変異が生じるのに必要な時間

- 複製エラー: 細菌全般では1回の複製で $10^7 \sim 10^{11}$ 塩基の1塩基に変異 (RNA virus:  $10^4 \sim 6$ の複製)
- 1塩基に変異が生じるには $10^7 \sim 10^{11}$ 回の複製が必要 → マイコプラズマは1,632,788塩基のため、 $10^7$ 回以上の複製が必要
- 1回の複製に約8時間かかるとすると、全体として非常に多くの複製サイクルが必要
- 仮に $10^7$ の複製に対して1個の変異が生じると仮定した場合、 $10^7$ のマイコプラズマの集団が1サイクルの複製を行うだけで、 $10^7$ 集団の中のどこか1個の塩基に変異が生じる。
- そのため、実際には多くのマイコプラズマが並行して複製を行うため、個々の塩基に変異が生じる時間は、マイコプラズマ集団全体では短縮される。

10



## Q: MRMPにgrowth advantageはあるか？

---

11



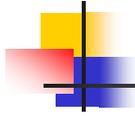
## MRMPにgrowth advantage(成長の優位性)はない

---

- MRMPにはMSMPと比べマクロライド以外でgrowth advantageはない。
  - A2063G: MSMPに差はない。
  - MRMP株間でも大きな差はない。
- 免疫学的圧力: 個人の体内に感染しているMPは同じ免疫系が認識できるエピトープが存在している。→ 宿主からMSMPとMRSPが受ける免疫学的圧力は同じ。

MRMPにgrowth advantageはない → MRMP誕生し、MSMPより優位に増加するためにはマクロライドが必要

12



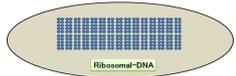
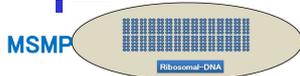
## MRMPは病原性が強いのか？

- MRMP患者は、マクロライド感受性MP患者よりも発熱期間が長く、入院期間が長くなる。
- マイコプラズマによる肺炎の重症例にMRMPが多い。
- 統計的にMRMPは病原性が強くMSMPより肺炎を起こしやすい、肺外合併症が多いという報告は僅かです。
- MP肺炎のマクロライド耐性に関係なく、マクロライドでも同様の臨床転帰。→ マクロライドは、マクロライド耐性変異を持つマイコプラズマ肺炎の子供に投与できる。(BMC Infect Dis. 2024; 24: 758. <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-024-09612-6>)
- 高い耐性にもかかわらず、マクロライドは一般的に処方されたが、マクロライド耐性は放射線学的転帰に有意な影響はなかった。(Microorganisms 2024, 12(9), 1806; <https://doi.org/10.3390/microorganisms12091806>)



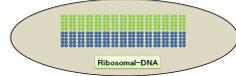
Q: 300個のrRNA中で何個のrRNAが変異したら、耐性になるか？  
300個のリボソームが全て変異rRNAになるにはどの位 時間が必要か？

## マイコプラズマ1個に300個のリボソーム

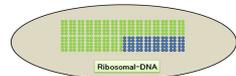


rDNAの変異

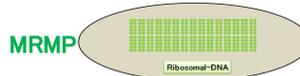
数日



8時間:1回の複製  
: 1/2がMRMP



16時間:2回の複製  
: 3/4がMRMP



全てのrRNAが変異し耐性が完成

マイコプラズマの倍加時間は約8時間。

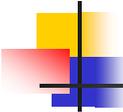
細胞が新しいリボソームを作る速度や、  
分解される速度に依存するが、通常、  
300個全てのリボソームが変異したrRNA  
になるには**数日**かかると推測

300個のrRNA中で何個のrRNAが変異を  
持つと耐性になるか？→実際には**50%以  
上のリボソームが変異**を持つ必要

15

Q: MRMPが生じるにはマクロライドをどのくらいの継続使用することが必要か？

16

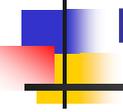


## マクロライドによる選択圧を どの位の期間が受ける必要があるか？

---

- 計算上: MRMP1個が生まれる時間: 通常、**数日から**
- 臨床的: MRMPが生まれるリスクが高いのは**14日間以上**の継続的なマクロライド使用です。
- 特に、抗菌薬が**不完全(低濃度)**で作用した場合、MRMPが生まれるリスクは更に高まる。

17



Q: 1回のマイコプラズマ肺炎に対する、マクロライド治療でMRMP肺炎は生じるのか？

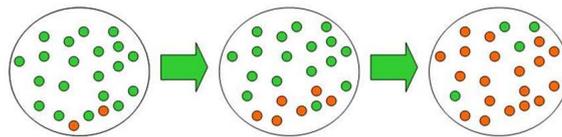
---

18

## 1回のマイコプラズマ肺炎に対する、マクロライド治療でMRMP肺炎は生じない

- 潜伏期にMSMPに感染しMRMPが生まれてもマクロライドがない限りMRMPにgrowth advantageはないためMRMPが優位に増えることはない。
- **但し、潜伏期間中から長期間マクロライドの存在下であれば、最初MSMPであっても途中でMRSPが増加し発症後の治療に影響を及ぼす可能性**
- MSMPに感染して、通常の**短期間の治療**でMRMPによる肺炎となり、治療中にマクロライド治療に反応しなくなることはない。
- 少なくとも2～3日でMSMPが全てMRMPにならないので、そのような症例は、最初からMRMPに感染したと推測

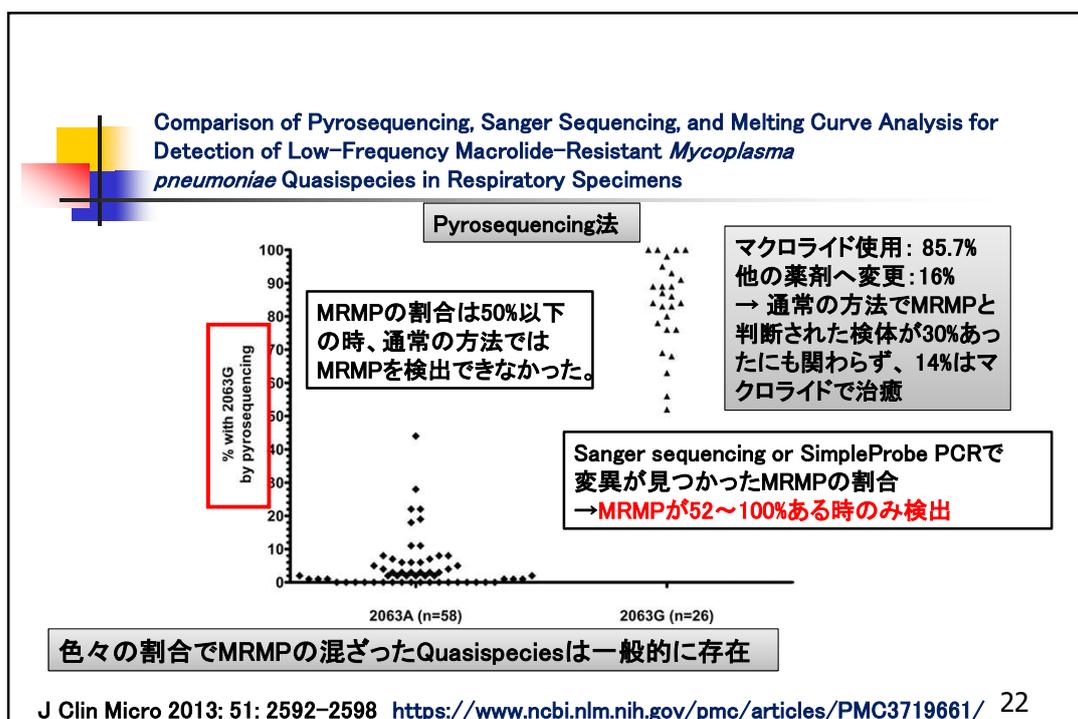
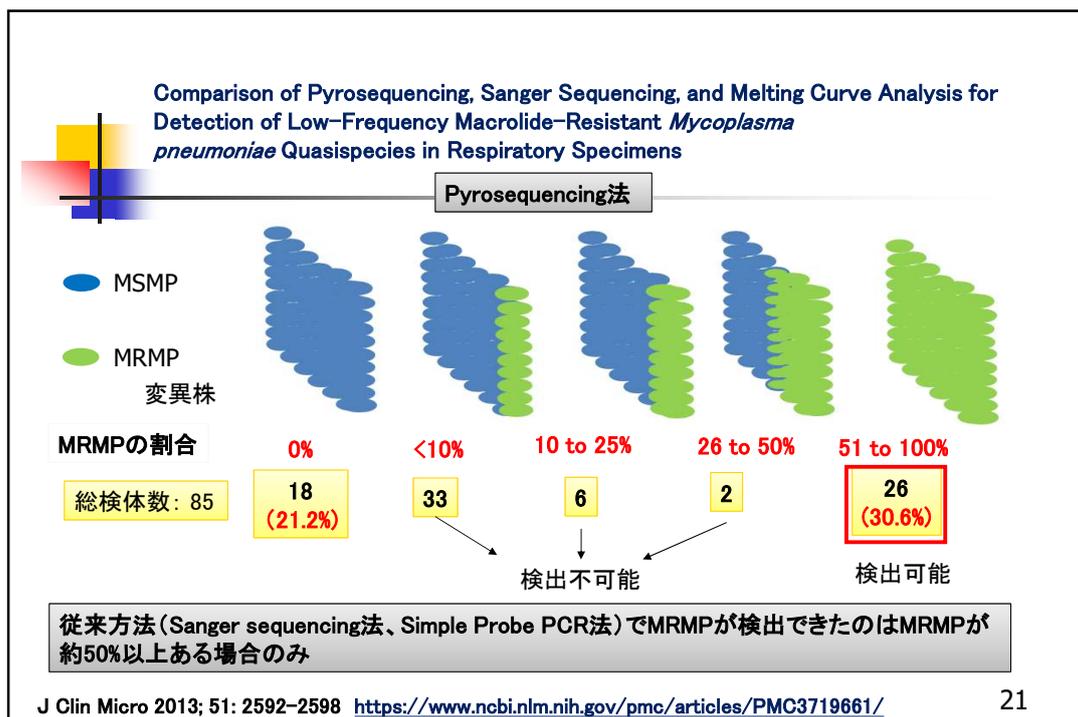
19



Q: Quasispecies (準種) は一般的か？

Quasispecies (準種) とはウイルスや細菌の進化や変異に関連して、単一の遺伝子集団ではなく、多様な遺伝子変異をもった集団として存在し、選択圧に応じて適応する動的な集団  
→肺炎マイコプラズマではMSMPとMRMPが混在する集団

20



Allele-specific real-time PCR testing for minor macrolide-resistant *Mycoplasma Pneumoniae*

- アレル特異的リアルタイムPCR (allele-specific real-time PCR: ASPCR: 特定の アレル (遺伝子の変異型) を検出および定量するための技術) と nested PCR with sequencing による比較

Genotypes	Method	
	ASPCR	Nested PCR+sequencing
Total	178	178
<i>M. pneumoniae</i> positive (no. %)	164	153
Resistance mutations	149	110
A2063G	38	109
A2063G+WT	53	0
A2064G+WT	5	0
A2063G+A2064G+WT	43	0
A2063G+A2064G	10	0
A2064G	0	1
WT	15	43
Negative	14	25

マイコプラズマ陽性検体の多くに Quasispecies が存在

BMC Infect Dis 2019;19: 616 <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-019-4228-4>

23

Distribution of cases on different proportions of A2063G and A2064G tested by ASPCR and compared with nested PCR following with sequencing

Method		Proportion of mutation (ASPCR) (%)					Total	
		<S	≥S and <30	≥30 and <50	≥50 and <100	100		Negative
Nested PCR + sequencing	A2063G	5	14	13	41	33	3	109
	WT	10	12	9	12	1	0	44
	Negative	5	2	2	1	4	11	25
Total		20	28	24	54	38	14	178
Nested PCR + sequencing	A2064G	0	0	1	0	0	0	1
	WT	93	55	1	0	0	3	152
	Negative	13	1	0	0	0	11	25
Total		106	56	2	0	0	14	178

A2063Gの頻度: 28検体で30%未満、24検体で30~50%、92検体で50~100%

A2064Gの頻度: 56検体で30%未満、2検体で30~50%

nested PCR + sequencingで検出できた変異はASPCRで変異が30%以上の検体が多かった。

BMC Infect Dis 2019;19: 616 <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-019-4228-4>

24



## *in vitro*でもQuasispeciesが示唆される

- Microbiol Immunol 2001; 45: 617–620: clinical isolates **野生株** (rRNA変異を発見した**最初の報告**)
  - 141 EM sensitive isolates を100  $\mu$ g/mLのEMを含む培地で**10~28日間**の培養した後、11株にマイコプラズマの23S rRNAの点変異を発見
- Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 460–465: reference strain **標準株**
  - EM, AZMの低濃度濃度で**23~50の連続継代後**にMRMP検出
- Microorganisms 2024, 12, 218.
  - AZM を使用して培養し、**7野生株**中2株に変異を確認
  - 変異の検出時期が**28日**と標準株使用の結果と比べ**はるかに早かった**。
  - 不均一なウイルス集団の配列変異を説明するために一般的に使用される準種は、薬剤感受性と薬剤耐性の**分子変異体の混合集団を含むことを意味**します。

マクロライドを使用し標準株からMRMPを検出するためには長い継代培養時間を必要。野生株からは非常に短時間でMRMPを検出 → MSMPと判断された野生株の中に少量のMRMPが存在していたことを示唆

25



## 通常のPCR検査の注意点

- 通常のPCR検査 (Sanger sequencing, Simple Probe PCR, nested PCR with sequencing) は、マイコプラズマのDNAの検出には良い検査
- しかし、MSMPとして判断されたMPのいくつかの臨床株は、MSMPおよびMRMPの集団である可能性があることが示唆
- 通常のPCR検査でMSMP、MRMPと判断されても、Quasispeciesが多く存在することから、100% MSMPや100% MRMPではない。
- 通常のPCR検査は、特定の遺伝子変異 (たとえば、23S rRNA遺伝子の変異) をターゲットにして耐性株を検出しますが、Quasispeciesとして存在する場合、**少数のMRMPを見逃し**、MRMPの存在を著しく**過小評価**

26



Q: MRMPがMPの何パーセントを占めれば、臨床的にマクロライド耐性と判断されるか？

---

27



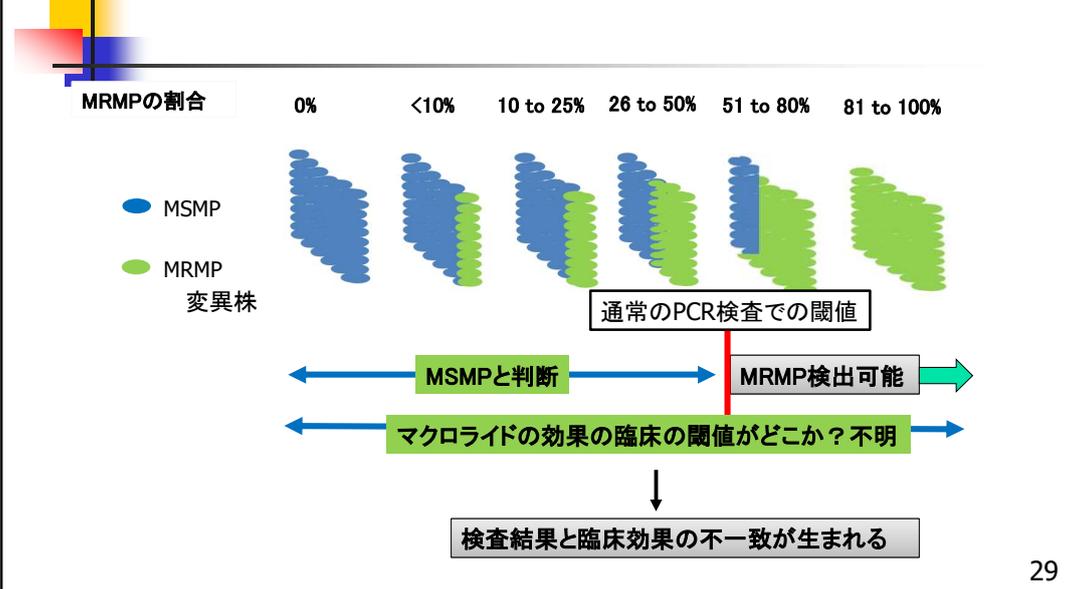
Q: MRMPがMPの何パーセントを占めれば、臨床的にマクロライド耐性と判断されるか？

---

- 肺炎マイコプラズマ 感染症ではQuasispeciesが一般的と考え、マクロライドの臨床でのマクロライドの有効性はQuasispecies内の **MRMP の割合に依存する**と考えられる。
- 個人内の MRMP がどの位を占めるとマクロライドの効果なくなるかという**臨床効果の閾値の報告はない**。
- MP感染症は自然治癒する傾向のある感染症であり、更に個人の免疫状態により臨床の閾値は大きく変わるため**薬剤の有効性の判断は容易でない**。
- 検査でMRMPと判断されるのは約50% (**検査での閾値**) 以上とすると
  - 臨床の効果の閾値が50% (**検査での閾値**) より高ければ通常の検査でMRMPであってもマクロライドは有効 (**臨床的にはMSMPと判断**) と判断
  - 臨床の効果の閾値が50% (**検査での閾値**) より低ければ通常の検査でMSMPであってもマクロライドは効果なし (**臨床的にはMRMPと判断**) と判断
  - **通常のPCRの検査結果とマクロライドの効果の不一致が起こっていると考えられます。**

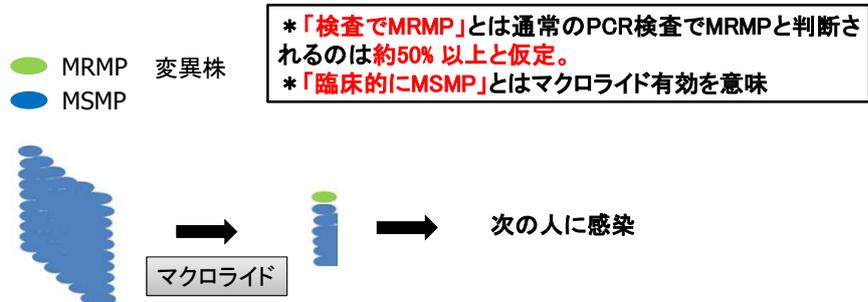
28

## MRMPの割合とPCR検査及びマクロライドの臨床効果の関係



## 100% MSMPに感染

- 検査でも、臨床的にもMSMPと判断されることが多い。
- 仮に治療中にMRMPが生まれても臨床経過に影響を与えない。



## 臨床効果の閾値が、通常のPCR検査でMRMPと判断される の閾値（約50%）より低い場合

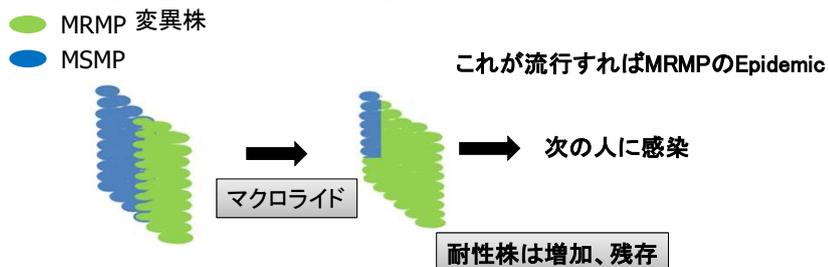
- 検査ではMSMPと判断される。
- 臨床的判断
  - マクロライドが有効でMSMPと判断される。
  - 一部はマクロライドが無効でMRMPと判断される。
- 検査と臨床効果に不一致が生じる可能性
- マクロライド治療
  - 最初MSMPであったがMRMPの割合が50以上に増えることにより、MRMPと判断され一見短期間で *de novo* 変異を起こしたようにみえる。
  - 一度改善した後に、残存するMRMPが増加し数週間後に再燃することがある。
  - 次の感染者は、MRMPの多いMPIに感染することになる。



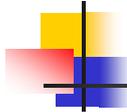
31

## 臨床効果の閾値が、通常のPCR検査でMRMPと判断される の閾値（約50%）より高い場合

- 検査ではMRMPと判断される。
- 臨床的判断
  - マクロライドが無効でMRMPと判断される。
  - 一部はマクロライドが有効でMSMPと判断される。
- 検査と臨床効果に不一致が生じる可能性
- マクロライド治療
  - 一度改善した後に、残存するMRMPが増加し数週間後に再燃することがある。
  - 次の感染者は、MRMPの多いMPIに感染することになる。



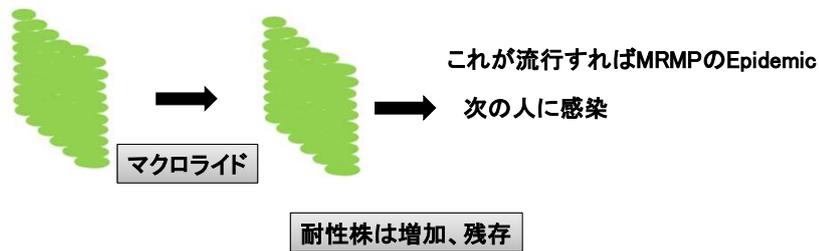
32



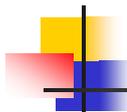
## 100% MRMPに感染

- 検査でも、臨床的にも、MRMPと判断されることが多い。

- MRMP 変異株
- MSMP

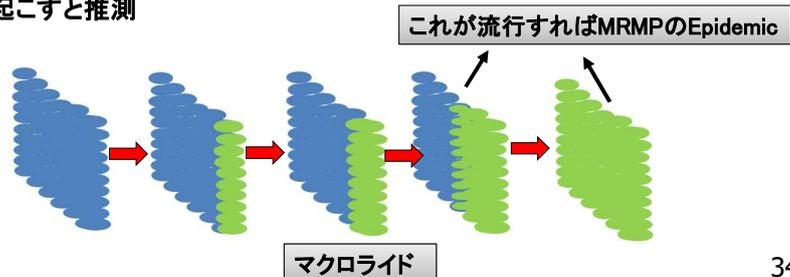


33



## 個人のマクロライド使用は短期間でもQuasispeciesの状態 で感染が継続していった場合に100%のMRMPに近づく

- Quasispeciesの状態が感染が次から次に広がった場合 → 個人のマクロライドを使用する期間が短くても、元の感染者から受け継がれたMRMPがマクロライド存在下で**選択され次第にMRMPの割合が多くなる可能性**
- これにより、感染者間でMRMPが次第に増加し、結果として完全に100% MRMPの株に近づくと推測
- MRMPの流行はMRMPが50%以上を占めるQuasispeciesのMPが流行すればMRMPのEpidemicを起こすと推測

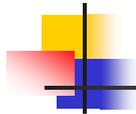


34

Q: 一人で*in vivo*で*de novo*変異を起こしたという報告は、本当に*de novo*なのか？

### 10例の*de novo* mutation の報告例

年齢	使用薬剤	使用期間	変異出現時期	変異部位		再燃時期	雑誌名
6y	AZM	7 d	11 d	A2063G	Quasi		Emerg Infect Dis 2011; 17: 1079-1082
6y	CAM	10 d	10 d	A2063G	Quasi		Eur Respir J 2011; 37:1522-1524
8y	AZM	5 d	4 d	A2063G	Quasi	12d	Ped Infect Dis J 2012; 31: 1210
11y (Job's syndrome)	JM	3 weeks		A2059A (wild)+ A2059G (resistant)	Long+ Quasi		J Clin Micro 2012; 50: 3402-5
	+ RXM	4 weeks	55 d				
Infant	CAM	?	4 weeks	A2063G	?	4 weeks	
Children	CAM	?	2 weeks	A2063G	?	2 weeks	
Children	AZM	?	10 weeks	A2063G	?	10 weeks?	J Med Microbiol 2013; 62: 1876-1882
8y	AZM	3 d	8 d	A2063G	Quasi		J Antimicrob Chemother 2013; 68: 724-5
5y	CAM	3 d	12 d	A2064G	Quasi		Scand J Infect Dis 2014; 46: 315-319
51y	RXM	10 d	17 d	A2058G	Quasi		



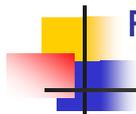
## *de novo*変異の報告例 *in vivo* のまとめ

### Quasispeciesの存在を考えて推測

- **10例中7例**: 最初の段階でMRMPが少なかったためMSMPと判断されたが、マクロライド短期間使用で、2週間頃の早期にMRMPが検出された症例で、最初からQuasispeciesの状態ではMRMPが存在していたと考えられた症例。一見、*de novo*変異が起こったと間違って判断された症例と考えられる。
  - その**7例中2例**は、最初は治療に反応したが、数週間後に残存していたMRMPが増え再燃したと推測された症例。稀ですが再燃には注意が必要。
- **10例中3例**はマクロライド長期使用もしくは不明で完全には*de novo*変異を否定できなかった症例
  - その**3例中2例**は再燃した症例。これも最初からQuasispeciesの状態であったと考えられた症例

一人の短期間の治療中に*de novo*変異が起こったとは稀であると考えられる

37



## References of *de novo* mutation *in vivo*

- Macrolide Resistance in Mycoplasma pneumoniae, Israel, 2010
  - Emerg Infect Dis 2011; 17: 1079
  - [https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/17/6/10-1558\\_article](https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/17/6/10-1558_article)
- Macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae in paediatric pneumonia
  - Eur Respir J 2011; 37:1522-1524
  - <https://erj.ersjournals.com/content/37/6/1522>
- Management of macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae infection
  - Ped Infect Dis J 2012; 31:1210
  - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22668803/>
- Multilocus variable-number tandem-repeat analysis-confirmed emergence of a macrolide resistance-associated mutation in Mycoplasma pneumoniae during macrolide therapy for interstitial pneumonia in an immunocompromised child
  - J Clin Microbiol 2012; 50: 3402
  - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3457418/>
- Clinical outcomes and macrolide resistance in Mycoplasma pneumoniae infection in Scotland, UK
  - J Med Microbiol 2013; 62: 1876
  - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24008501/>
- Two cases of macrolide resistance in Mycoplasma pneumoniae acquired during the treatment period
  - J Antimicrob Chemother 2013; 68:724
  - <https://academic.oup.com/jac/article/68/3/724/783022?login=false>
- Development of macrolide resistance in Mycoplasma pneumoniae-infected Swedish patients treated with macrolides
  - Scand J Infect Dis 2014; 48: 315-319
  - <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/00365548.2013.866268>

38



## マイコプラズマ肺炎にマクロライドで治療した前後の マイコプラズマDNA量と生菌数の変化

39

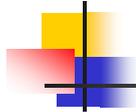


## Real-Time PCR and Quantitative Culture for Mycoplasma pneumoniae Load in Pharyngeal Swabs from Children at Preliminary Diagnosis and Discharge

- 対象: 2017年1月～3月の間に北華大学付属病院小児科に入院した**マイコプラズマ肺炎**(全員がX線検査で肺炎像)**92人**の子供(男性: 65歳、女性: 27歳、年齢: 5～15歳)
- MRMPかMSMPが鑑別はされていない。(MRMPが50～90%を占めていた時期と推測)
- 血清IgM抗体陽性: 治療前: 80/92; 約4-6日後: 92/92
- **アジスロマイシン(10mg/kg、1回、5日間)とエリスロマイシン(10mg/kg、2回、3日間)を交互に静脈注射**を行っていました。全ての患者は、陽性徴候の排除や胸部X線による肺病変の改善など、**症状が寛解した時点で退院**
- 平均入院期間: 10.7日
- **リアルタイム PCR および希釈定量培養の比較**

Hindawi BioMed Res Intern Volume 2020; 9814916  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2020/9814916>

40



## 肺炎マイコプラズマのPCRによるDNA量

Real time PCR			
	検出率	DNA定量	
入院時(治療前)	92/92 (100%)	2.48 x 10 <sup>2</sup> ~1.95 x 10 <sup>5</sup> copies/mL	92検体中 48/92: 入院時>退院時
退院時(治療後)	87/92 (94.6%)	1.86 x 10 <sup>2</sup> ~6.70 x 10 <sup>5</sup> copies/mL	28/92: 入院時=退院時 16/92: : 入院時<退院時

マイコプラズマのDNA検出率、コピー数: 治療前後で有意差はなかった。



## 肺炎マイコプラズマと培養による生菌数

Culture			
	検出率	定量培養(生菌数)	
入院時(治療前)	82/92 (89.1%)	10~10 <sup>4</sup> CCU/mL	47検体中 37/47: 入院時>退院時
退院時(治療後)	49/92 (53.2%)	10~10 <sup>2</sup> CCU/mL	8/47: 入院時=退院時 2/47: 入院時<退院時

CCU (color-changing units): PFUと同じと考えて良い

マイコプラズマの生菌検出率、生菌数量: 治療前に有意に多かった。

退院となった約半数 → 感染力が低くなったとはいえ、生きたMPが存在 → 咳嗽の持続 → 感染源 → MSMP、MRMPが完全に消滅するわけではないので色々の割合でMRMPが混ったQuasispeciesが生じることは容易に推測



## マイコプラズマ感染後のPCRによる排泄期間、排泄量

---

43



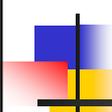
## マイコプラズマ感染後のPCRによる排泄期間、排泄量

---

- マイコプラズマ感染後、長期間マイコプラズマを排泄
  - BMC Microbiology 2008; 8: 93: 治療の有無に関わらず長期間、保菌の中央値は発症後7週
  - PLoS Medicine 2013; 10: e1001444: 1Mo: 9/43 (21%); 3Mo: 3/43 (7%)
  - Antimicrob Agents Chemother 2016; 60: 4310-4314: 肺炎では 保菌の中央値は発症後79.5日
  - Scand J Infect Dis 2014; 46: 315-9: 咽頭から平均7週間 (2日~7か月)
- マイコプラズマ感染後、URIとLRIとのマイコプラズマ量の比較
  - Antimicrob Agents Chemother 2016; 60: 4310-4314 : URIは少ない。
  - PLoS Medicine 2013; 10: e1001444: URIは少ない。
- 無症状者の排泄期間、マイコプラズマ量は症状のある人との比較
  - Antimicrob Agents Chemother 2016; 60: 4310-4314: 無症状者は短い。
  - J Infect Dis 2001; 183: 675-678: 無症状者は短い。細菌量は症状のある人と比べ少ない。
  - PLoS Medicine 2013; 10: e1001444: 無症状でも長期間排泄している人がいる。細菌量は症状のある人と変わらない。

MSMPでもマクロライド治療により完全には消滅しないで長期間存在していると推測

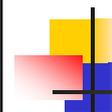
44



## 耐性マイコプラズマのreservoir(病原巣)？

---

45



## Children are a relevant reservoir for *M. pneumoniae*

---

- Scand J Infect Dis 1992; 24: 161-4
  - 流行時期: 758名の健康人の13.5%からマイコプラズマを検出
  - その後11カ月の間に、499名の4.6%からマイコプラズマを検出
  - 流行時期には健康保菌者が多く存在し、長期間、保菌
- PLoS Medicine 2013; 10: e1001444: 約半数は無症状
- J Infect Dis 2001; 183: 675-678
  - マイコプラズマが検出された急性呼吸器感染症の**家族の15%**からマイコプラズマを検出(患者を治療しても治療しなくても**家族の感染率は同じ**。)
  - 検出された家族の75%は15歳以下で、44%は**無症状**
  - Apparently, children are a relevant reservoir for *M. pneumoniae*.

無症状や症状の軽い乳幼児を含め感染の機会が多い小児がMPのreservoir(病原巣)となっている可能性

46



何故、長年までMRMPが増加しなかったか？  
何が変わったのか？

47



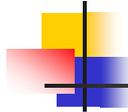
rRNAの変異は特定されていない1990年代にマイコプラズマに対するマクロライド耐性の発生が注目（特に、1990年代後半から2000年代初期にかけて、耐性株の分離が急増）

## Time line

- 1961年？：日本でEM販売開始（1955年錠剤発売；1966年発売ドライシロップ）
- 1968年：日本でEMを使用した14歳女児から2週間後に最小発育阻止濃度が上昇したMRMPの始めて報告
- 1991年：日本でCAM販売開始
- 1998年：慢性副鼻腔炎に対するマクロライド療法の治療指針（長期CAM低用量投与）
- 1999年：小児滲出性中耳炎に対するマクロライド療法
- 2001年：MRMPがrRNAのmutationで起きていることの発見
- 2002年：日本でAZM（アジスロマイシン）販売開始
- 2007年：副鼻腔炎診療の手引き（日本鼻科学会）がCAMを推奨
- 2008年：マイコプラズマの全国調査開始→？MRMP割合増加
- 2015年：小児滲出性中耳炎の診療ガイドライン

マクロライドの多用、長期CAM低用量療法の開始とが一致？

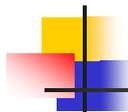
48



## マクロライド、長期CAM低用量治療とMRMPの流れ

	マクロライドの使用	長期CAM低用量治療	MRMP流行
1990年代	呼吸器感染症の治療において広く使用 1991年: CAM使用開始	慢性副鼻腔炎、小児滲出性中耳炎の治療法として注目	初期: 報告が始まる 後半: 急速に増加
2000年代	使用量のピーク 2002年: AZM使用開始	使用継続	増加持続
2010年代	減少傾向	治療法を検討する動き	増加持続
2020年代	減少傾向	慎重な姿勢が強まり、減少傾向しかし、継続している	増加持続

日本は欧米に比べて抗菌薬の中でマクロライドの使用割合が高い傾向



## Prevalence of macrolide-resistant *M. pneumoniae* for different continents over time (地区によるMRMPの経年変化)

The data are presented as mean prevalence

Area	≤2008	2009–11	2012–14	2015–17	2018–20
<b>Asia</b>	37%	67%	76%	63%	34%
(Children)	42%	69%	79%	64%	45%
Europe	0.8%	4%	4%	4%	10%
North America	12.5%	9%	11%	6%	9%
Oceania	0%	0%	5.6%	-	-

MRMPは欧米と比較してアジア(日本、中国)で多い



## 長期CAM低用量投与

- 長期CAM低用量投与療法
  - 1991年に、クラリスロマイシン (CAM) 長期投与がびまん性汎細気管支炎 (DPB) の治療に有効であることが確認 これを小児に応用
  - 通常の内服量: 半分の量を3か月 (効果判定) ~から6か月間、毎日内服
  - 抗菌効果だけでなく、免疫調節効果や抗炎症作用を期待
  - 2歳以下の小児および関連するアデノイド疣贅を伴う患者では少ない効果
- 日本
  - 日本における小児でのCAMの長期低用量治療の使用が増加してきたのは、1990年代後半から2000年代初頭
- 中国
  - 中国で慢性副鼻腔炎、滲出性中耳炎に対してマクロライド少量長期投与が本格的に行われるようになったのは、おおよそ2000年代の初頭から中頃。日本での治療法が参考にされ、同様の方法が中国でも採用されるようになった経緯。(2011~2015年: マクロライド使用増加)
- 欧米
  - 一般的に行われていない。むしろ、すべきでない。

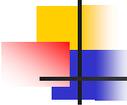
潜伏期間中にマクロライドに接触する危険性

51



## マイコプラズマ以外の細菌のマイコプラズマ耐性

52



## A群溶血性連鎖球菌、肺炎球菌、ヘリコバクター ピロリ菌もマクロライド耐性増加

- A群溶血性連鎖球菌 (*S. pyogenes*)
  - 外から(外来性の)耐性遺伝子を獲得
  - 日本では2000年代初頭から耐性株の増加
  - 日本は耐性が比較的高い傾向です。特に、ヨーロッパやアメリカでは、耐性の割合は国によって異なるものの、日本よりは低いことが一般的
- 肺炎球菌 (*S. pneumoniae*)
  - 外から(外来性の)耐性遺伝子を獲得とRibosomal DNAの変異
  - 1990年代後半から2000年代初頭にかけて観察
  - 欧米と比較して肺炎球菌のマクロライド耐性が相対的に高い傾向があり、特に小児において耐性株が多く検出
- ヘリコバクター ピロリ菌 (*H. pylori*)
  - Ribosomal DNAの変異(内因性: マイコプラズマと同様の機序)
  - 2000年代から耐性が確認
  - 日本では約20~30%程度の耐性で欧米と比べ比較的高い傾向

無症状の保菌者の多いA群溶血性連鎖球菌、肺炎球菌、ヘリコバクター ピロリ菌もマクロライド耐性の増加に不適切なマクロライドの多用、長期間CAM低用量治療が関係している可能性

54



## Q: AZMが原因か？

54

## Clarithromycin, Azithromycinの半減期と有効血中濃度

- アジスロマイシン (Azithromycin) は、日本と欧米での使用割合に差
  - 欧米: アジスロマイシンはマクロライド系抗生物質の中で非常に広く使用。特にアメリカ合衆国では、呼吸器感染症、皮膚感染症、性行為感染症 (特にクラミジア) などに対して第一選択薬としてよく使用
  - 日本ではアジスロマイシンは使用されていますが、他のマクロライド、特にクラリスロマイシン (Clarithromycin) の使用が一般的。クラリスロマイシンは呼吸器感染症や慢性副鼻腔炎の治療で広く使用。長期間の低用量治療
  - アジスロマイシンの治療期間は、**欧米では投与量は日本と異なるが、5日間の方がより一般的**

薬剤	半減期	ピークの血中濃度	マイコプラズマに対する有効血中濃度	薬剤中止後の有効血中濃度維持期間
CAM	約3~7時間	服用後約1~2時間でピークで、ピーク血中濃度は約1~2 $\mu\text{g/mL}$	約0.03~0.1 $\mu\text{g/mL}$ 肺や他の組織に高い濃度が維持	最後の投与後24時間以内にほぼ消失
AZM	約68~72時間	服用後約2~3時間でピークで、ピーク血中濃度は約0.4~0.6 $\mu\text{g/mL}$	約0.0125~0.1 $\mu\text{g/mL}$ 組織移行性が高い	最後の投与から5~7日間にわたり有効な血中濃度を維持

AZMが新たなMRMP誕生に関与しているという事実はない

55

## AZMが他のマクロライドと比べMRMPの発症を危惧する考察

- アジスロマイシンは、他のマクロライドと比べて血中および組織内での有効濃度が長く維持され、マイコプラズマに対する圧力が継続的にかかり耐性菌株が選択
  - 選択圧の持続: アジスロマイシンの長期間の効果は、菌がより長くマクロライドの圧力下にさらされることを意味し、耐性変異を持つ菌が生き残る可能性
  - 不完全な治療: アジスロマイシンの長い半減期は、一見有効な短期間の治療を可能にしますが、完全に菌を除去しない場合、低濃度での持続的な曝露が耐性菌の選択を助長する可能性
- しかし、一般的には、アジスロマイシンの最終投与から約10~14日で、血液中のアジスロマイシン濃度は検出できなくなります。→ **他のマクロライドと大きな差はない**
- There isn't conclusive evidence** indicating that azithromycin causes a higher incidence of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* (MRMP) compared to other macrolides like erythromycin or clarithromycin when used as prescribed.

マクロライドの違いによるDNA複製時の変異率に違いはない。  
 →アジスロマイシンが他のマクロライドよりrDNAに変異を起こしやすいとは考えられない。  
 アジスロマイシンは最終投与から約10~14日で、血液中の濃度は検出できなくなる。  
 →3日間のAZM治療がCAMの10~14日治療と比べ特に多くなるとは考えにくい。

56

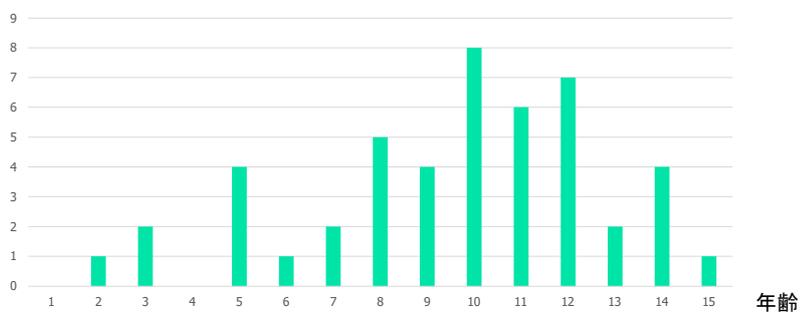


## マイコプラズマ感染症に対する使用薬剤と臨床効果の実際

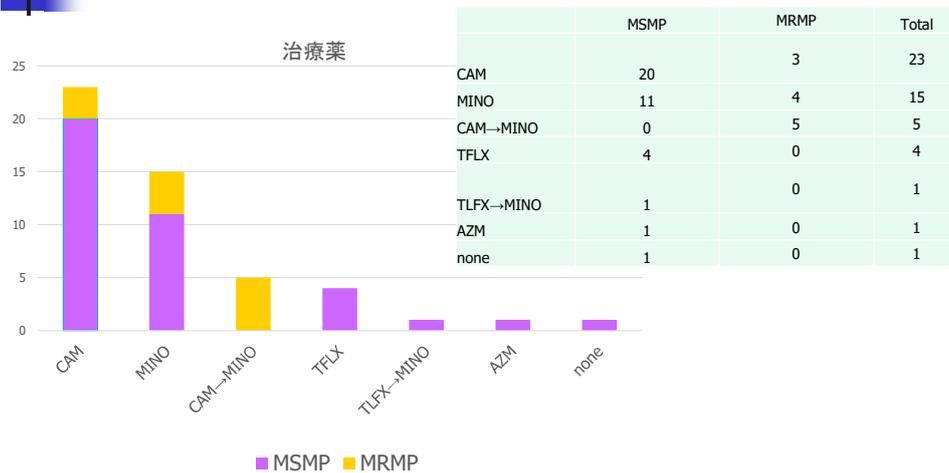


## マイコプラズマ感染症の子ども

- 2018年7月～2020年2月：PCRでマイコプラズマ陽性でMP感染症（肺炎：47例；気管支炎：13例）60例（MSMP：45；MRMP：15例）の年齢分布



## マイコプラズマ感染症に対する使用薬剤とマクロライド感受性



59

## 肺炎マイコプラズマ感染症の子どもに行った治療の実際

- 治癒までMSMPかMRMPかは知らされない状態で治療
- CAMで治療した23例中3例はMRMPでしたが、CAMのみで治癒した。MRMPなら必ずしもマクロライドが無効というわけではない。
- MINOを使用した15名中11名はMSMPであり、本来CAMの治療で良かった症例
- TFLXを使用した4名は全てMSMP。本来CAMの治療で良かった症例
- MINOはMSMP, MRMPに関わらず、臨床効果は早く出現。特にCAMで解熱しない例に対しては効果は顕著
- TFLXはMSMP, MRMPに関わらず、臨床効果はMINOと比べ明らかではなかった。
- 入院は60名中1名のみ: MSMP, TFLX治療、発熱期間長くなり入院
- 気管支炎1名はMSMP: 服薬できなかったが、自然治癒

MP肺炎にマクロライドで治療を行った場合、48時間後に解熱が得られる割合はMSMPでは71%、MRMPでは28%という報告 (Antimicrob. Agents Chemother 2013; 57: 5181 doi:10.1128/AAC.00737-13)

Quasispeciesの存在が通常のPCR検査と臨床効果の不一致を生み出している可能性

60

## 今後の検査、治療は？

### ■ PCR検査

- MP肺炎を疑う症例:PCR検査は周囲にMPが流行し発熱が48～72時間持続し、咳嗽(早い時期は乾性咳嗽)が強く、胸部聴診所見が乏しく、血液で炎症反応(白球数増加、CRP)が強くない場合 → **MP肺炎を疑った時に、可能であれば行う。**
- 周囲にMP感染症のヒトがいる場合 → MP感染症は自然治癒することも多いので、PCR検査を行う**必ずしも必要はない。**
- MP肺炎を疑って胸部XPを行う。 → 異常が出てくるのは発熱後3日～7日が多い。**2～3日以降**に行った方が良い。
- PCR検査を行わなくても、かなりの確率でMP肺炎の診断は可能。

### ■ 治療

- MP感染症は軽症のものは自然治癒する → 治療しても長期間MPが残存することからPCR検査でMP陽性であっても、**軽症であればマクロライドは必ずしも使用しなくても良い。**
- 通常のPCR検査でMRMP → Quasispeciesのこともあるので、マクロライドが有効の可能性もあるので、**マクロライドから治療を開始して良い。**
- マクロライドで開始し、3日以上発熱が続き、8歳以上ならMINOIに変更するのが良い。

61

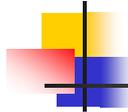
## MINO, TFLXのMSMP, MRMPに対する効果

	MIC(最小発育阻止濃度)	
	MINO	TFLX
MSMP	0.06～0.25 $\mu\text{g/mL}$	0.12～0.5 $\mu\text{g/mL}$
MRMP	0.06～0.25 $\mu\text{g/mL}$	0.25～1.0 $\mu\text{g/mL}$

MINO, TFLXはMSMP, MRMPに対して同等に有効 → Quasispeciesの時、MINO, TFLX使用によりマイコプラズマの絶対数は減少するが、MSMPとMRMPの割合は変わらず両方残存

マイコプラズマ感染症に適切な抗菌薬を使用し、症状が改善 → 肺炎マイコプラズマが完全に消滅しない

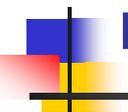
62



## MRMPを少なくするためには？

- 個人の中で変異が生じ、初めはMRMPの割合は少なくとも、その後にMP感染症疑いのヒトに対し、マクロライドを数人が使用する過程でQuasispeciesとなり、次第にその割合が増加 → 不適切なマクロライドを多用しない。
- 個人が長期CAM低用量投与の過程中に、新たにMRMPが生じた場合やMRMPの割合が少ないMPに感染した場合、MRMPの割合の増加に直結 → 欧米では推奨されてなく、慢性副鼻腔炎、滲出性中耳炎に対する長期CAM低用量療法を中止する。

通常のPCR検査でMSMP、MRSP → 体内に存在しているMPは100% MSMP、100% MRSPであるとは限りません。そのため、MSMPは臨床的にマクロライド有効であり、MRSPは臨床的にマクロライド無効というわけではない。  
MSMP、MRMPに対して適切な治療 → 生きたMPを完全に消滅できず長期間残ること、Quasispeciesの状態はいつでも起こる可能性がある。



HPへ戻る

<https://doctor.99soudan.net/>