



薬剤耐性遺伝子を検出する新技術を開発！ 2019年11月に  
製品化9種類のESBL 遺伝子型の迅速検出技術を実用化

【本研究成果のポイント】

- ・抗菌薬が効かない薬剤耐性菌が世界的に拡大しており、訪日客が急増する東京オリンピック・パラリンピックに向けて監視体制の強化が求められています。
- ・基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生菌の遺伝子検出に関して、2015年12月に開発・実用化した技術を更に高度化させ、従来の方法では識別することが困難であった、より多くの遺伝子型を同時に検出できる技術を開発しました。
- ・本技術を用いた製品は2019年11月から販売され、病院や研究機関等の薬剤耐性菌の検査において、従来品と比べて検査の迅速化・効率化が期待されます。

【開発の経緯】

抗菌薬（抗生物質）の不適切な使用を背景として、抗菌薬が効かない薬剤耐性菌が世界的に拡大しています。薬剤耐性菌は人や食品等と共に国や地域を超えて移動するため、薬剤耐性菌の拡大を防ぐためには国際的な取り組みが必要です。このため、世界保健機構（WHO）は2015年に薬剤耐性（AMR）に関するGlobal Action Planを採択しました。これを受け、日本でも薬剤耐性（AMR）対策アクションプランが制定され、薬剤耐性菌を増やさないための対策が進められています。また、訪日客が急増する2020年の東京オリンピック・パラリンピック競技大会に向けて、薬剤耐性菌の海外からの持ち込みに対する監視体制の強化が求められています。

薬剤耐性菌のなかでも、基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ（ESBL）を産生する細菌は、近年急速な増加がみられ、院内感染の原因菌だけでなく、市中での健常者の保菌が大きな問題となっています。ESBL産生菌は、適切な抗菌薬を投与しなければ死滅しないため、早期に特定できなければ、症状の重篤化やそれに伴う医療費の増加、また更なる薬剤耐性菌の出現を引き起こす恐れがあります。

薬剤耐性菌を特定する方法の一つとして、薬剤耐性遺伝子の保有状況を検出する方法があります。去る2015年12月、国立大学法人広島大学と関東化学株式会社は、ESBLの薬剤耐性遺伝子検出法に関する共同研究を行い、主なESBLの遺伝子型6種類を約3時間で検出できるマルチプレックスPCR<sup>\*1</sup>法を用いた迅速検出技術を開発・実用化しました。この度、同大学の院内感染症プロジェクト研究センターの池田光泰研究員、鹿山鎮男客員准教授（薬剤耐性学）、菅井基行客員教授（薬剤耐性学）、大毛宏喜教授（感染症学）と関東化学株式会社は、新たに3種類のESBL遺伝子型を検出する技術を開発し、前述のマルチプレックスPCR法に組み込むことで、9種類のESBL遺伝子型を同時に検出できる迅速検出技術を開発しました。

追加した3種類のESBL遺伝子（ESBL型GESグループ、CTX-M chimera、CTX-M-25型）は、近年日本でも検出されており、今後流行が懸念される遺伝子型です。カルバペネマーゼ型GES遺伝子を保有する菌とESBL型GES遺伝子を保有する菌では有効な抗菌薬が異なるため、これらの判別は臨床的に非常に重要であったものの、塩基配列が似ていることからこれまでの一般的なPCR法での判別は非常に

困難でした。また、CTX-M chimera 遺伝子は 2 種類の遺伝子型が融合したキメラ構造を有するため、従来の PCR 法では偽陰性や他の遺伝子型と混同するなど正確な判別は困難でした。

しかし、今回の新技術の導入により、これらの遺伝子型を容易に判別することが可能になりました。また、CTX-M-25 遺伝子は主に畜産分野で問題となっている遺伝子型であり、ワンヘルス（人・動物・環境の健康は相互に関連しており一つの健康である）の概念から、今後の動向を把握すべき遺伝子型です。

国内外で検出される薬剤耐性菌の流行は地域や時期により異なりますが、この 3 種類の ESBL 遺伝子型が追加されたことで、より現在の日本の発生状況に即し、今後流行が起こり得る株にも対応可能な薬剤耐性菌の検出を実現しました。

本技術が社会貢献の一助となることを期待し、関東化学株式会社が成果を用いた製品として実用化するに至りました。

※1 PCR 法とは DNA を増幅させる手法の一つです。一般的な PCR 法では 1 つの遺伝子を増幅しますが、マルチプレックス PCR 法は同時に複数の遺伝子を増幅する方法です。一部の細菌は自身の染色体とは別に、プラスミドと呼ばれる環状の DNA を持つことがあります。プラスミドは細菌同士の接合により、他の細菌に伝播する場合があります。

### 【開発した技術】

本技術は、2 種類のマルチプレックス PCR 法<sup>\*1</sup>を用いて 9 種類の ESBL 遺伝子型を同時に増幅し、電気泳動パターンを元に遺伝子型を決定する手法です。

表 1. 検出対象遺伝子とその増幅サイズ

	検出対象遺伝子	増幅サイズ <sup>*</sup> (bp)
Reaction mixture 1	<i>bla</i> <sub>CTX-M-25</sub> group	522
	<i>bla</i> <sub>CTX-M chimera</sub>	391
	<i>bla</i> <sub>CTX-M-1</sub> group	268
	<i>bla</i> <sub>CTX-M-8</sub> group	189
Reaction mixture 2	<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	655
	<i>bla</i> <sub>CTX-M-2</sub> group	475
	<i>bla</i> <sub>CTX-M-9</sub> group	350
	<i>bla</i> <sub>GES (ESBL type)</sub>	228
	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	132

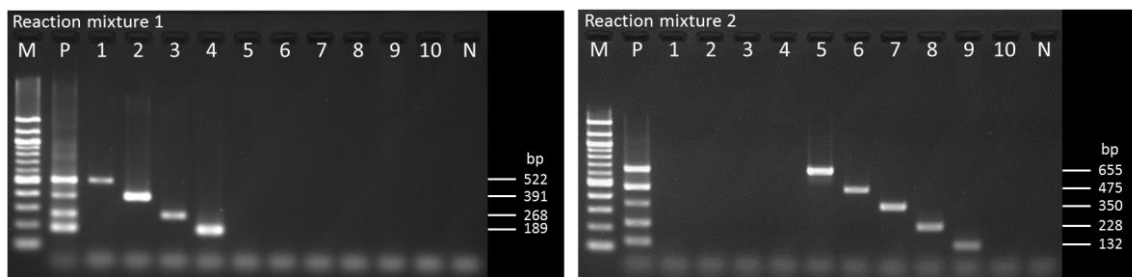


図 1 電気泳動例

下記の遺伝子型を解析した電気泳動パターンの実例

M: 100 bp DNA Ladder、P: ポジティブコントロール、1: CTX-M-25、2: CTX-M-64 (chimera)、3: CTX-M-1、4: CTX-M-8、5: SHV、6: CTX-M-2、7: CTX-M-9、8: GES-1 (ESBL 型)、9: TEM、10: GES-2 (カルバペネマーゼ型)、N: ネガティブコントロール (TE 緩衝液)

### 【発売される製品】

本製品は、2019年11月に関東化学株式会社より「シカジーニアス® ESBL 遺伝子型検出キット2」として発売されます。

### 【お問い合わせ先】

（研究内容に関するお問合せ先）

広島大学大学院 医系科学研究科 客員准教授 鹿山 鎮男

（国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 主任研究官）

Tel: 042-307-1192

E-mail: kayama@niid.go.jp

広島大学大学院 医系科学研究科 研究員（薬剤耐性学） 荒井 千夏

Tel: 082-257-5636

E-mail: carai@hiroshima-u.ac.jp

（製品に関するお問合せ先）

関東化学株式会社 試薬事業本部 バイオケミカル課 課長 小林 崇良

Tel: 03-6214-1090 FAX: 03-3241-1047

E-mail: bio-info@gms.kanto.co.jp

発信枚数：A4版 3枚（本票含む）