

1 . 緑膿菌 Twitching motility に対する各種抗菌薬の影響

大分大学医学部感染分子病態制御講座

岸 建志、宮島佳子、大濱 稔、
森永亮太郎、時松一成、永井寛之、
門田淳一、那須 勝

[目的] 緑膿菌気道感染症においてバイオフィルム形成は宿主免疫に対する抵抗、抗菌薬感受性の低下など感染の慢性化・難治化に関わる重要な因子である。Twitching motility(以下 TM)は type 4 pili の働きによって硬質表面を細菌が移動する能力であり、biofilm の形成段階において重要な役割を果たし、緑膿菌感染症の病原性を左右する重要な因子であると考えられている。我々は緑膿菌 PAO-1 株の TM 能に対する最小発育阻止濃度(MIC)以下での各種抗菌薬の影響について検討したので報告した。

[方法] 抗菌薬は azithromycin(AZM), ceftazidime(CAZ), piperacillin(PIPC), imipenem(IPM), levofloxacin(LVFX), tobramycin(TOB), minocycline(MINO), clindamycin(CLDM)を使用した。TM 能の評価として MIC 以下の各種抗菌薬を含有した 2mm 厚の Luria-Betani medium (1.5% agar) plate を作成し、PAO-1 株を plate 中央の底に接種して 48 時間、37℃ で培養した。接種した点からコロニー外周に形成される Twitching zone 外縁までの最長半径を計測した。

[結果] 各種抗菌薬の検討で、AZM では 1/64MIC : 20.1±2.8 mm, 1/32MIC : 13.8±3.6 mm, 1/16MIC : 8.5±4.6 mm (p<0.001 vs control : 28.6 ±3.3 mm, Student t-test, n=6)と濃度依存的に TM 能が減退していた。また CAZ, PIPC においても各々 1/16MIC (CAZ: 8.5±1.3 mm vs control 28.3 ±1.5 mm, PIPC: 18.5±2.2 mm vs control 26.1 ±1.7 mm, p<0.001)と低濃度で TM 能が減退し AZM 同様に濃度依存的であった。

一方 CLDM, LVFX, IPM, TOB, MINO では薬剤による TM 能の減退がほとんど観察されなかった。Gram 染色による形態学的変化では、AZM では菌体の膨化がみられ、CAZ, PIPC では低濃度では菌体に変化はなかったが、高濃度では菌体のフィラメント化が観察された。

TM 能の減退があった 3 薬剤について、薬剤作用後の菌体中の type 4 pili の構造蛋白である pilin 蛋白の発現量を Western blot 法にて比較したところ AZM では濃度依存的に pilin 蛋白発現量の減少が認められたが、CAZ, PIPC では pilin 蛋白量に変化がなかった。

[考案] 各種抗菌薬による TM への影響には差が認められた。AZM, CAZ, PIPC で濃度依存的に TM 能の減退が観察された。AZM では pilin 蛋白の発現減少が TM 能減退の一因であると考えられた。今後各抗菌薬の機序について検討を進める必要があると思われた。