

薬剤耐性菌に関する教育に向けて ～スマートフォンの画面から検出されるテトラサイクリン耐性因子の解析～

Research for Education of the Antimicrobial Resistance: Analysis of the Tetracycline Resistance Determinants in the Microorganisms on Smartphones

○八重樫理称^{*1}, 岡田菜月^{*2}, 福士祥代^{*2}, 安川洋生^{*1}

Riho YEGASHI^{*1}, Natsuki OKADA^{*2}, Sachiyo FUKUSHI^{*2}, Hiro YASUKAWA^{*1}

^{*1}岩手大学教育学部, ^{*2}岩手大学技術部

^{*1}Faculty of Education, Iwate University, ^{*2}Division of Technical Support, Iwate University

[要約] 薬剤耐性対策は喫緊の課題であり, 解決に向けて教育と啓蒙に取り組むべきとされるが, アンケート調査の結果から岩手大学教育学部生の多くはこれに関連する知識を持っていないことが分かった. 現状と取り組むべき課題を認識させるために, 岩手大学教育学部生のスマートフォン画面の薬剤耐性因子の調査を行った. 45 台のスマートフォン画面からサンプリングし, 抗菌薬(アンピシリン, テトラサイクリン, ストレプトマイシン, リファンピシンのいずれか)を含む培養液で培養した結果, 14 台 (31%) について微生物の増殖がみとめられた. これらの内 3 台のスマートフォン由来の試料についてはテトラサイクリンを含む培養液で微生物の増殖がみとめられ, DNA を解析したところ, テトラサイクリン耐性因子である *tet(K)* が検出された. 本報告の結果は薬剤耐性菌が身近に存在していることを示しており, 教育学部生が現状を把握し, 薬剤耐性対策の重要性を理解する契機になると考える.

[キーワード] スマートフォン, テトラサイクリン, 薬剤耐性

I. 緒言

1. テトラサイクリン

抗菌薬は, 細菌の増殖を抑制する(静菌的作用)か, あるいは死滅させる(殺菌的作用)機能を有する化合物である. 微生物が産生し抗菌活性を有する化合物を抗生物質と呼ぶが, これも抗菌薬に含まれるため, 本稿では抗菌薬として記載する. 抗菌薬はその分子構造, 及び作用機序に基づいて分類されている. 例えば本稿で取り上げるテトラサイクリンはテトラサイクリン系抗菌薬に分類される薬剤の一つで, 炭素の六員環が 4 つ繋がった構造を基本とし, 細菌のリボソームに作用してタンパク質合成を阻害することにより細菌の増殖を抑制する.

抗菌薬は細菌感染症の治療に目覚ましい効果を上げたが, 一方で, 抗菌薬を使い始めて間もなくその抗菌薬に対して耐性を示す細菌(薬剤耐性菌)が出現した.

薬剤耐性菌の耐性機構にはさまざまな種類があるが, 本稿で述べるテトラサイクリン耐性に関しては, 細菌内に入ったテトラサイクリンを積極的に菌体外に排出するポンプ機能を持ったタンパク質による耐性 (*tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(D)*,

tet(E), *tet(G)*, *tet(H)*, *tet(J)*, *tet(K)*, *tet(L)*, *tetA(P)*, 等), テトラサイクリンからリボソームを保護するタンパク質による耐性 (*tet(M)*, *tet(O)*, *tet(S)*, *tet(Q)*, 等), テトラサイクリンを修飾し不活化する酵素による耐性 (*tet(X)*, 等), が詳しく研究されている.

2. 薬剤耐性菌の増加

細菌が薬剤耐性を獲得する機構については詳しく研究され, 耐性に必要な DNA を他の薬剤耐性菌から獲得する例や, 細菌自体の DNA の変異により耐性を獲得する例が明らかにされた. 細菌間の DNA の移動や, 細菌の DNA の変異は頻繁に起きており, これらを繰り返すことで耐性度が上昇することも, 複数種の抗菌薬に耐性を示すようになる(多剤耐性)こともある.

耐性菌が出現すると, それに対して新たな抗菌薬を開発し使用することになるが, その新薬に対しても耐性菌が出現するため, 更に別の抗菌薬を開発して対応するという事態が繰り返されてきた. しかし今日では, 薬剤耐性菌の出現に新たな抗菌薬の開発が追いつかない状況である. そのため, もはや抗菌薬が効かない(抗菌薬では治らない)という状況になりつつある. 現在, 世界で薬

剤耐性菌に起因する死亡者の数は少なく見積もって 70 万人とされる。インフルエンザによる年間の死亡者は 25~50 万人（厚労省新型インフルエンザ対策関連情報）、マラリアによる年間の死亡者は 40 万 5000 人（WHO 2019 年世界マラリア報告書）、エイズによる年間の死亡者は約 100 万人（国連合同エイズ計画 UNAIDS による報告）であり、薬剤耐性菌は犠牲者の多いことが知られているこれらの感染症と同程度かそれ以上の犠牲者を出している。

薬剤耐性菌に起因する死亡者数は増加しており、2014 年のイギリスの薬剤耐性レビュー委員会の報告（オニールレポート）によると、このまま対策を怠ると、2050 年には世界で 1000 万人が薬剤耐性菌により死亡すると試算されている。今日誰もが罹患する可能性のあるがんについては、2018 年の死亡者が世界で 960 万人であり（国際がん研究機関 IARC による報告）、これに匹敵する犠牲者が出ると予測されている。薬剤耐性菌が社会に与える影響は甚大であり、危機感を持って捉えられている。

3. 重要視される学校の役割

こうした危機的状況に対し、現在は世界各国で対策が執られている。2015 年に開催された世界保健総会において「薬剤耐性対策グローバル・アクションプラン」が決定され、WHO 加盟各国は 2 年以内に薬剤耐性に関する国家行動計画を策定することが求められた。この世界的な動きを受け、日本では 2016 年にアクションプランを決定し、国民が協働して集中的に取り組むべき対策をまとめた。具体的な取り組みの一つとして、中学校・高等学校の生徒への教育の推進を求めている。また、この取り組みを進める中で開催された政府会議（第 4 回薬剤耐性（AMR）対策推進国民啓発会議）において「最も有効な普及啓発方法は担当医からの直接の説明だが（中略）教育現場の key opinion leader を育成していく必要がある」、「学校教育の重要性がしばしば指摘されている」、「学校の間を利用した啓発（中略）が必要」、等が述べられており、学校の役割がますます重要視されてきている。なお、このアクションプランは 2016 年からの 5 カ年計画であり本年（2020 年）が最終年である。2021 年以降も新たなプランを作成することが決定されている。

4. 教育学部生の教育に向けた取り組み

先述の通り、薬剤耐性対策の具体的な取り組みとして中学生と高校生への教育の推進が求められており、それを実施するためには学校の教員も薬剤耐性対策に関する知識を持つ必要がある。ただし、医師や薬剤師、あるいは生命科学系の研究者と同等の知識やスキルを求めるものではない。喫緊の問題があることを認識し、その問題の解決に向けて行動することの必要性を理解した上で、それを生徒に根気よく指導できる教員が必要であろう。

そこで、教員を志す岩手大学教育学部の学生に、薬剤耐性菌が普段の生活と無縁の遠くの医療機関や研究機関にのみ存在するのではなく、日常生活環境中にも存在することを認識させることから始めた。薬剤耐性菌が身近に生息していることを実感として認識した後に、それが何気なくしている習慣（処方されたお薬を最後まで飲まない、等）によって増えてしまうことを学ばせ、学生は執るべき薬剤耐性対策を理解できるであろう。

生活環境中のさまざまな場所に薬剤耐性菌が存在することを学生に知ってもらうために、学生のスマートフォン（以下、スマホ）、学部棟内のハンドドライヤー、家庭の洗濯機、について調査をした。これらの調査では抗菌薬としてテトラサイクリン、アンピシリン（細菌の細胞壁合成を阻害する薬剤）、ストレプトマイシン（細菌のタンパク質合成を阻害する薬剤）、リファンピシン（細菌の RNA 合成を阻害する薬剤）を用いた。いずれも長年にわたり使用されており、耐性を示す細菌が広くみとめられることが知られている。

スマホの調査結果に関しては一部を報告済みである（安川,他, 2020）。本稿では既報以降の調査結果を含めてあらためて報告し考察する。

II. 方法

1. サンプリングと培養

岩手大学教育学部生を主とした 45 名を対象に実施した。学生には調査の意義を伝え、次に、スマホ画面から薬剤耐性菌を含む微生物が検出されるであろうことと、それらの微生物が直ちに健康被害を及ぼすものではないことを説明した。調査について学生の同意を確認した後に、既報（安川,他, 2020）に記載の手順に従ってサンプリン

グシ培養した。培養後の微生物の増殖の有無は目視により判断した。

2. DNA の解析

テトラサイクリンを含む培養液で増殖した微生物を、既報 (Ng, *et al.*, 2001; Fan, *et al.*, 2007; 安川, 他, 2020) に記載の方法にて回収し, DNA 粗抽出液を調製して PCR を行った。PCR 産物が確認できた場合は, それらを精製し塩基配列を決定した。その際, 二本鎖の一方の DNA 鎖の塩基配列を決定するために PCR プライマーのフォワードプライマーを用い, 他方の DNA 鎖の塩基配列を決定するためにリバースプライマーを用いた。

III. 結果と考察

1. 耐性を示す微生物の検出

学生は日常的にスマホを使用しており, スマホの画面には唾液の飛沫によって飛散した口腔由来の微生物が付着しているであろうし, 手指を介してさまざまな微生物(本人に由来する微生物や環境中の微生物)が付着していると考えられる。それらの微生物の中には薬剤耐性菌が含まれると想定されるため, その実態を把握するために調査を行った。

45 台のスマホについて調査した結果 (微生物の増殖の有無) を表 1 に示す。表中ではアンピシリンを ABPC, テトラサイクリンを TC, ストレプトマイシンを SM, リファンピシンを RFP と表記した。「-」は抗菌薬を含まないことを示し, その培養液は実験の対照として用いた。

「+」は培養液中に微生物の増殖がみとめられたことを示す。その培養液中の微生物が 1 種類か複数種かは確認していない。「+」が記されていない空欄は微生物の増殖がみとめられなかったことを示す。ただし, 微生物は存在していたが培養条件が増殖に適していなかったという可能性を排除できないため, この結果のみをもって微生物はいなかったとは判断できない。

45 台の内の 12 台 (27%) のスマホに由来する試料については抗菌薬を含まない培養液で微生物の増殖がみとめられず, 33 台 (73%) のスマホに由来する試料については増殖がみとめられた。この内の 14 台 (全体の 31%) については抗菌薬を含む培養液で微生物の増殖がみとめられた。テトラサイクリンを含む培養液で増殖がみとめられたのは 3 台のスマホに由来する試料であった。

2. テトラサイクリン耐性因子の解析

テトラサイクリンを含む培養液で増殖がみとめられた 3 つの試料について PCR を行った。その結果, いずれにおいても *tet(K)* の一部を増幅するプライマーセットで PCR 産物が検出された。

これらの PCR 産物を精製し, 両鎖の塩基配列をそれぞれ決定した。ただし, シーケンサーの特性上, PCR 産物の両末端部では塩基配列が正確に解読できなかったため, 出力された波形データを目視で確認しながら判定可能であった領域のみを解読した。

その結果, 用いたプライマーセットで増幅される PCR 産物の鎖長は 169bp であるところ, 解読できたのは 150~161bp であった。ただし, いずれにおいてもプライマーの一部 (3'末端を含む塩基配列) が正確に解読できており, 解析に支障はないと判断した。

PCR 産物から得られた塩基配列について, 既に報告されている *tet(K)* の塩基配列 (GenBank S67449) の該当する領域と比較したところ, 解読できた PCR 産物の塩基配列はいずれも既知の塩基配列と一致した。

IV. 結言

本調査により, 私たちの身近に薬剤耐性菌が存在することが示された。ただし, これらの細菌が必ずしも直ちに健康被害を及ぼすものではない。この点も含めて, 対策の一環として薬剤耐性菌に関する正しい知識をより多くの人々に周知することが重要であると考え。そうした普及・啓発活動を推進する場として教育現場を活用し, 薬剤耐性菌を増やさないという意識を生徒, 保護者, 教職員で共有することが有効であると考え。

実験室での実験と並行して, 岩手県内の二つの高校の協力を得て無記名で高校生の意識調査を行ったところ (2020 年 1 月及び 6 月; 計 341 名), 「薬剤耐性菌という言葉聞いたことがありますか」との問いに「はい」と回答した生徒は 81 名 (24%) であり, やはり少ないことが分かった。しかし「薬剤耐性菌について詳しく聞きたいと思えますか」との問いには 184 名 (54%) の生徒が「はい」と回答し, 薬剤耐性菌という言葉聞いたことのない生徒も含めて半数以上がこの問題について知りたいと思っていることが分かった。高校生の意欲が高いのであるから, 薬剤耐性菌に

関する普及・啓発活動を推進する場として教育現場を活用することは非常に効果が高いと思われる。

謝辞

本研究は科学研究経費基盤 C (一般) 「生活環境中における薬剤耐性菌の調査と解析」(課題番号 18K022350001) により行われた。サンプリングに協力してくれた岩手大学の学生, アンケートに協力していただいた高校の教員の方々, アンケートに回答してくれた高校生に感謝申し上げます。

参考文献

Fan,W.,et al., (2007) : Multiplex real-time SYBR Green I PCR assay for detection of tetracycline efflux genes of Gram-negative bacteria, *Molecular and Cellular Probes*, 21, pp245-256.
 Ng,L.K., et al., (2001) : Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes, *Molecular and Cellular Probes*, 15, pp209-215.
 安川洋生, 他, (2020) : 薬剤耐性菌に関する教育に向けて～スマホ画面から検出される耐性因子の調査～, *日本科学教育学会研究会研究報告*, 34(6), pp57-60.

表 1. 培養結果

No.	抗菌薬 (12.5 μg/mL)				
	-	ABPC	TC	SM	RFP
1	+				+
2	+	+		+	
3	+			+	
4	+				
5	+				
6	+	+	+	+	
7					
8	+	+			
9	+				
10					
11					
12					
13					
14	+				
15	+			+	+
16					
17					
18	+		+	+	
19					
20	+				
21					
22	+			+	
23					
24	+	+		+	
25	+			+	
26	+	+			
27	+				
28	+				
29	+			+	
30	+				
31	+				
32	+				
33	+				
34	+		+	+	
35	+				
36	+	+			
37	+				
38	+				
39	+				
40					
41	+				
42	+				
43	+				
44	+				
45					