

**薬剤耐性菌に関する教育に向けて**  
**～ハンドドライヤーの送風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 in Air Blow of the Hand Dryers

○菅井響\*<sup>1</sup>, 岡田菜月\*<sup>2</sup>, 福士祥代\*<sup>2</sup>, 安川洋生\*<sup>1</sup>

Hibiki SUGAI\*<sup>1</sup>, Natsuki OKADA\*<sup>2</sup>, Sachiyo FUKUSHI\*<sup>2</sup>, Hiro YASUKAWA\*<sup>1</sup>

\*<sup>1</sup>岩手大学教育学部, \*<sup>2</sup>岩手大学技術部

\*<sup>1</sup>Faculty of Education, Iwate University, \*<sup>2</sup>Division of Technical Support, Iwate University

**[要約]** 今日, 世界各国に薬剤耐性菌が蔓延し有効な抗菌薬が減少しつつある. 薬剤耐性菌対策は喫緊の課題であり, 我が国においては具体的な取り組みの一つとして中学生, 及び高校生への教育が求められている. 学校教員を志す教育学部生の意識の向上のために, 岩手大学教育学部に設置されているハンドドライヤーについて薬剤耐性菌の調査を行った. 調査した 10 台の内の 9 台について, 抗菌薬を含む培養液で微生物の発育がみとめられた. これらの内テトラサイクリンを含む培養液で増殖した微生物試料について, 同薬剤に対して耐性を付与する遺伝子の解析を行ったところ *tet(K)*, 及び *tet(M)* をみとめた.

**[キーワード]** テトラサイクリン, ハンドドライヤー, 薬剤耐性菌

## I. 緒言

### 1. 薬剤耐性菌の増加

抗菌薬は, 細菌の増殖を抑制するか, あるいは殺菌的に作用する薬剤である. 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おり, 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, 4 個の炭素六員環が結合した構造を基本とし, 細菌のリボソームに作用してタンパク質合成を阻害し細菌の増殖を抑制する.

医療機関では長年にわたり患者に対してさまざまな抗菌薬を処方し成果を上げてきた. それとともに, 抗菌薬を使用すると抗菌薬に対して耐性を獲得した細菌(薬剤耐性菌)が出現し, 抗菌薬による治療が難しくなることも分かってきた. 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, テトラサイクリンが作用しないようにリボソームを保護するタンパク質による耐性, 細菌内に入ったテトラサイクリンを修飾し不活化する酵素による耐性, が詳しく研究されている.

耐性菌が出現すると, その対策として新たな抗

菌薬を開発し適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なければならないという事態が繰り返されてきた. 薬剤耐性菌に関しては, これが世界的に蔓延して有効な抗菌薬がなくなると社会に重大な影響を与えるため, 危機感を持って捉えられている. 薬剤耐性菌に起因する死亡者数は年々増加しており, 英国の薬剤耐性レビュー委員会(オニール・コミッション)によると, このまま対策を怠ると, 2050 年には薬剤耐性菌による死亡者は世界で 1000 万人に上ると試算されている.

### 2. 学校に求められる教育の推進

こうした危機的状況に対し, 現在は世界規模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 加盟各国は薬剤耐性に関する国家行動計画の策定を求められた. 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が決定され, 国民が協働し, 集中的に取り組むべき対策がまとめられた. このアクションプランでは執るべき薬剤耐性対策を 6 分野に分けて記述しており, その中で目標の一つとして「国民の薬剤耐性に関する知識や理解を深め, 専門教育等への教育・研修を推進する」ことを掲げている. そ

のための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（第4回薬剤耐性（AMR）対策推進国民啓発会議）、学校教育がますます重要視されてきている。

### 3. 教育学部生の現状

教員を志す教育学部生が薬剤耐性菌についての程度認識しているのかを知るために、岩手大学教育学部の講義の一つにおいて受講生（199名）を対象にアンケート調査を実施したところ（2018年度後期～2020年度前期）、薬剤耐性菌という言葉を知ったことのある学生は33名（16.6%）であった。また、薬剤耐性菌対策が喫緊の課題であることを知っている学生は10名（5.0%）であった。このように薬剤耐性菌について認識している教育学部生は極めて少なく、学生が教員として教壇に立ちアクションプランに記載された具体的な取り組みに携わるためには、卒業までに学ぶ機会を設けることが必要であると思われる。また、アンケート対象の199名の内の49名について「薬剤耐性菌について詳しく聞く機会があれば参加したいと思うか」と訊ねたところ、35名（71.4%）が「はい」と回答した。このように多くの学生が薬剤耐性菌について知りたいと思っており、学ぶ機会を設けることは学生の立場からも望ましいと思われる。

### 4. これまでの調査と解析の概要

教育にあたっては、微生物や抗菌薬に関する専門知識を有しない学生が多いことを考慮し、実感を伴って学ぶことができるように、身近な事例を提示しそれらについて解説することから始めるのが適切であろうと思われる。そこで、学生が学内で頻繁に使用するハンドドライヤーに注目し、その送風からどの程度の薬剤耐性菌が検出されるのかを調べ資料とすることとした。

岩手大学教育学部に設置されているハンドドライヤーの内の10台にNo. 1～No. 10と番号を付し、これらについて調査したところ、表1の通り9台

について抗菌薬を含む培養液で微生物の発育がみとめられた（既報（安川，2020b）に記載の結果を編集して表示）。表中の「-」は培養液に抗菌薬を添加しなかったことを示し（実験の対照として使用）、「+」は微生物の増殖がみとめられたことを示す。調査したハンドドライヤーの内の5台（No. 1, No. 4, No. 5, No. 7, 及びNo. 8）に由来する試料において、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た。

表1. 微生物の増殖の有無

No.	抗菌薬 (12.5 $\mu$ g/mL)				
	-	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
1	+	+	+	+	
2	+				+
3	+				+
4	+	+	+	+	
5	+		+	+	
6	+				+
7	+		+	+	
8	+	+	+	+	+
9	+	+			
10	+				

テトラサイクリンを含む培養液で増殖のみとめられた微生物試料について、PCR法にてテトラサイクリン耐性因子の検出を行ったところ、テトラサイクリン排出タンパク質をコードする *tet(K)* と、リボソーム保護タンパク質をコードする *tet(M)*、及び *tet(S)* をみとめた（安川，2020b）。

本稿ではテトラサイクリン耐性因子についてあらためてPCRを行い、増幅したPCR産物の塩基配列を決定したのでその結果を報告する。

## II. 方法

テトラサイクリン耐性因子が検出された試料について、凍結保存しておいたDNA粗抽出液を用いてあらためてPCRをした。PCRにはKOD One PCR Master Mix (TOYOBO)を用い、既報（Ng, *et al.*, 2001; Fan, *et al.*, 2007; 安川, 他, 2020）に記載したプライマーを用いた。PCR産物については、その両鎖の塩基配列を決定するために、精製して2本のチューブに分注し、一方をPCRプライマーのフォワードプライマーにて、他方をリバー

スプライマーにて解析した。

### Ⅲ. 結果

テトラサイクリンを含む培養液で増殖した微生物の DNA 粗抽出液を用いてあらためて PCR を行ったところ、*tet(K)* (No. 1, No. 4, No. 5, No. 7, 及び No. 8) と、*tet(M)* (No. 7, 及び No. 8) の明瞭な PCR 産物のみとめた。

これらの PCR 産物を精製して塩基配列を決定した。シーケンサの特性上、PCR 産物の両末端付近の塩基が正確に解読できなかったため、装置から出力された波形データを確認しながら判定可能な塩基を解読した。解読できた塩基配列はいずれも PCR に用いたプライマーの 3' 末端側を含んでおり、解析に支障はないと判断した。

*tet(K)* の PCR 産物の鎖長は 169b であるところ、解読できたのは 158~163b であった。これらの塩基配列について、既に報告されている *tet(K)* の塩基配列 (GenBank S67449; 全長 1380bp) の該当する領域と比較した。図 1 に *tet(K)* と PCR プライマーの位置を模式的に示し、PCR で増幅される領域の塩基配列を示した。また、各 PCR 産物の鎖長と、*tet(K)* の当該領域との比較結果を一覧に示した。このように、PCR 産物の解読できた塩基配列はいずれも *tet(K)* と一致することが分かった。

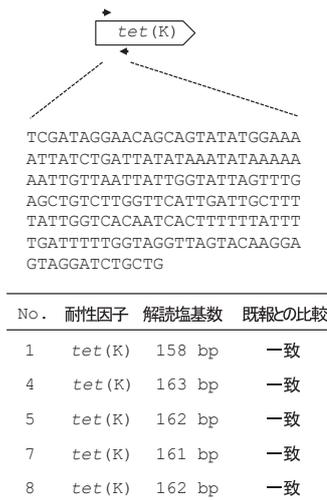


図1. *tet(K)*とPCR産物の塩基配列の比較。

*tet(M)* の PCR 産物の鎖長は 406b であるところ、解読できたのは 385b と 387b であった。これらの塩基配列について、既に報告されている *tet(M)* の

塩基配列 (GenBank X90939; 全長 4419bp) の該当する領域と比較した。図 2 には *tet(M)* と PCR プライマーの位置を模式的に示し、PCR で増幅される領域の塩基配列を示した。また、2つの PCR 産物の鎖長と、*tet(M)* の当該領域との比較結果を一覧に示した。このように、PCR 産物の解読できた塩基配列はいずれも *tet(M)* と一致することが分かった。



図2. *tet(M)*とPCR産物の塩基配列の比較。

### Ⅳ. 考察

本稿、及び既報にて、筆者らは生活環境中にさまざまな薬剤耐性菌が存在していることを示した。なお、抗菌薬を含む培養液のいくつかについては増殖がみとめられなかったが「当該の抗菌薬に対する薬剤耐性菌が存在しなかった」とは直ちに判断できない。薬剤耐性菌は存在したが、本稿に記載の培養条件が増殖に適していなかった可能性が否定できない。

先述の通り、今日、薬剤耐性菌が世界各国に蔓延しており、有効な抗菌薬が減少しつつある。新薬を開発しても、それによってまた新たな薬剤耐性菌を生み出すことになり、これまでの「いたちごっこ」から抜け出すことはできない。こうした状況を打開するために、薬剤耐性菌に関する正しい知識や抗菌薬の適切な使用方法を、より多くの人々に周知することが重要であると考えます。そうした普及・啓発活動を推進する場として教育現場を利用し、薬剤耐性菌を増やさないという意識を生徒、保護

者、教職員で共有し醸成することが有効であろう。

一方、十分な免疫機能が備わっている健康な成人に対しては、全ての薬剤耐性菌が直ちに健康被害を及ぼすわけではない。薬剤耐性菌が重篤な健康被害を及ぼすのは、基礎疾患があり免疫力が低下している人、術後の体力の低下している人、免疫機能の低い小児や高齢者、等の易感染者たちであろう。この点に留意して、薬剤耐性菌の脅威ばかりを伝え不安を煽ることのないように注意する必要がある。

薬剤耐性菌を正しく恐れ、問題解決のための適切な知識を普及・啓発するには、教育学部生が積極的に薬剤耐性菌について学ぶことが必要であろう。本稿は、教育学部に設置され日頃から学生が使用しているハンドドライヤーを対象に実施した調査と解析の結果を報告しており、これが教育学部生にとって薬剤耐性菌について考える契機となることが期待される。

## 補足

細菌がどのようにして薬剤耐性を獲得するのかについては、薬剤耐性菌から耐性に必要な DNA を獲得する例や、DNA の変異による例が知られている。また、すでに薬剤耐性を有している細菌の DNA が変異することにより耐性度が上昇する例もよく知られている。これについては、例えば、1990 年以前に発見された薬剤耐性因子の一つである *tet(X)* は、テトラサイクリンを不活化することにより細菌に耐性を付与していたが、チゲサイクリン(テトラサイクリンと類似の構造を有し、細菌のタンパク合成を阻害するグリシルサイクリン系抗菌薬)を不活化する活性は低く、細菌に耐性を付与することはなかった。しかし 2000 年以降に発見された *tet(X)* のバリエーションは、細菌にチゲサイクリン耐性を付与することが筆者らの研究室を含む複数の研究室により明らかとなった (He, *et al.*, 2019; Sun, *et al.*, 2019; 安川, 2020a)。チゲサイクリンは多剤耐性菌にも有効であり、臨床における重要な選択肢の一つである。同抗菌薬を不活化できるように変化した新たな *tet(X)* バリエーションが出現したことにより、多剤耐性菌に有効な選択肢を失う可能性がある。

## 謝辞

本研究は科学研究費基盤 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。

## 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.
- He, T., *et al.* (2019) : Emergence of plasmid-mediated high-level tigecycline resistance genes in animals and humans, *Nature Microbiology*, 4(9), pp1450-1456.
- Ng, L. K., *et al.* (2001) : Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes, *Molecular and Cellular Probes*, 15, pp209-215.
- Sun, J. *et al.* (2019) : Plasmid-encoded *tet(X)* genes that confer high-level tigecycline resistance in *Escherichia coli*, *Nature Microbiology*, 4(9), pp1457-1464.
- 八重樫理称, 他 (2019) : 薬剤耐性菌に関する教育に向けて～ハンドドライヤーの送風から検出される薬剤耐性菌の調査～, *日本科学教育学会研究会研究報告*, 34(1), pp23-26.
- 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.
- 安川洋生 (2020a) : テトラサイクリン耐性因子 TetX とそのバリエーションの比較解析, *岩手大学教育実践総合センター研究紀要*, 19, pp105-109.
- 安川洋生 (2020b) : ハンドドライヤーの送風中の薬剤耐性因子の調査, *岩手大学教育実践総合センター研究紀要*, 19, pp111-114.