

## MS-1

## 主な非結核性抗酸菌の主要薬剤に対する多様な耐性機序

吉田 志緒美 (国立病院機構近畿中央胸部疾患センター臨床研究センター)

非結核性抗酸菌 (nontuberculous mycobacteria: NTM) は、結核菌に代表される結核菌群やらい菌以外の抗酸菌の総称である。中高年齢層の女性を中心とした肺 NTM 症が最も多く、治療効果の向上と多剤耐性菌の出現抑制を目的として、マクロライド(クラリスロマイシン: CAM) を中心とした多剤併用による化学療法が推奨されている。しかし、NTM 菌は増殖速度が遅く、多くの場合病状の進行も非常に緩慢であり、十分な薬効が得られないことから長期にわたる治療を必要とする。患者の高齢化も重なり、様々な副作用の出現がみられ、使用できる薬剤が限られてしまうことから耐性化を招きやすい。また、ヒトの体内でしか生存できないヒト結核菌とは異なり環境のあらゆる場所に浸淫しているため、複数菌もしくは複数クローンによる感染事例も稀ではない。多様な菌種で構成される NTM は結核菌と異なり菌種ごとに病態が異なることから、NTM 症に対してどのような化学療法が適しているのかについて十分な根拠に基づいた明確な基準はない。それでも、分離頻度の高い病原性 NTM 症の治療効果の予測に菌種の決定と薬剤感受性検査を行うことは、ある程度有用である。その基となる病原性の定義であるが、その境目はあくまで宿主との関わり合いで決定されるため、NTM は環境に棲息しているにもかかわらず宿主の状態によって病原性が認められている菌種とそうでない菌種があるとされている点が、その病態を見えにくくしている。ヒトが宿主である場合、多様な NTM 種の中から治療を要するとされる菌種のみクローズアップされるため、NTM そのものが持つ自然耐性はよくわかっていない。臨床分離株を対象とした知見が多い現状では、NTM が本来有している耐性機序や薬剤にさらされることにより獲得される耐性メカニズムの解明は限定的である。一方、医療デバイスを介した環境中の NTM を起炎菌とした感染事例や免疫能が低下した患者への感染も散見されるため、従来病原性がそれほど高くないとされてきた NTM による難治症例も報告されている。環境と臨床の両面からその耐性機序を把握する必要があるだろう。結

核菌に対する薬剤感受性検査に関しては比率法などが標準法として確立されており、主な抗結核薬の感受性結果は結核治療上信頼がおけるものであるのに対し、NTM に対する薬剤感受性検査は *Mycobacterium avium* complex (MAC) の CAM や *M. kansasii* のリファンピシンでのみ関連性が報告されている程度である。*M. kansasii*、MAC 以外の NTM は薬剤感受性検査を実施する必要はないとされるが、*M. abscessus* complex については、マクロライドの誘導耐性能の観点からデータの蓄積が求められる。近年はこれら菌群のアミノグルコシドに対する感受性が報告されており、治療効果との関連性が注目されている。日常的に遭遇しやすい NTM であればガイドラインに従って検査を行い、治療に結び付けることも可能だが、稀な NTM 種に対してはその表現型や遺伝子型から、最も類似性が高いであろう遅発育菌や迅速発育菌に準じた治療が選択されがちである。しかし、治療が難渋した場合はその原因が菌側によるものなのか、宿主や他の要因によるものなのかの判断は難しい。加えて、診断されても必ずしも全例で治療を行うわけではない。このような状況は、“NTM の薬剤感受性検査は可能だが、その結果をもって薬が効くかどうかはわからない。”といったジレンマを常に内包させている。けれども、近年はヒトを取り巻く環境が大きく変化し、住環境からの NTM 感染リスクの評価や新しい菌種による NTM 症が報告されている。エビデンスが認められている薬剤に対してのみ感受性を調べるだけでは、薬剤の相乗効果や減衰現象などのデータが得られず、難治性 NTM 症に対応することはおろか、新規の事例において治療効果の推測もできない。一方、未開な領域が多い NTM 研究はブレイクスルーを起こす可能性を秘めており、患者側、医療関係者側の両方から更なる同定・薬剤感受性検査のニーズが高い分野でもある。今回は、主な NTM の主要薬剤に対する耐性機序を文献的考察や当院でのいくつかの事例を交えながら概説する。主に実地臨床での問題点を中心に、参加者の方へ昨今話題を提供する機会を設けたい。

## MS-2

## 抗酸菌の ONE Health における立ち位置は？

岩本 朋忠（神戸市環境保健研究所感染症部）

非結核性抗酸菌（NTM）によって引き起こされる NTM 症は、世界的に患者数が増加しており、社会問題化している。本感染症はヒトからヒトへの感染はなく、環境中の NTM への暴露が感染源と考えられている。効果的な治療のない難治性疾患であり、患者数を減らすためには、本菌への感染予防が極めて重要となる。予防の基本は、感染源、感染経路の解明であり、近年、NTM の環境内動態に関する研究が世界的に活発化している。これまでに、米国においてはシャワー、日本においては浴室での感染の可能性が示されている。欧州においては、ブタの介在、すなわち、人獣共通感染症としての可能性が示されている。また、我が国や欧州においては、土壌環境中の本菌の関与を示唆する報告もある。

NTM に感染し、発病する患者が世界中で増えているという事実は、本来自然環境中に常在する NTM、なかでも比較的病原性の高い一部の NTM が、何らかの仲介者（手段）を介してヒトの生活圏に接近し、さらには、その場に定着して、ヒトとのかかわりを高めている（暴露機会の増加）という可能性を示唆している。この一連の流れのモデルとして、我々は、河川表層水（自然環境）と健常人浴室環境中の NTM モニタリング調査を行っている。本調査により、河川表層水には NTM が常在していることが分かった。また、その菌種は *Mycobacterium avium*, *M. intracellulare*, *M. colombiense* などの MAC をはじめとする種々の病原性 NTM や 2006 年以降に新種登録された *M. soulense*, *M. nebraskense*, *M. arupense*, *M. virginense*, *M. shigaense* など、多様性に富んでいることが確認された。健常人の浴室環境では

河川水に比べて多様性は低いものの、*M. avium*, *M. gordanae*, *M. abscessus* などが分離された。興味深いことに、ヒトおよびブタ MAC 症の起原菌である *M. avium* subsp. *hominissuis* (MAH) が河川表層水から分離され、その分離株の遺伝子型は、ヒト/浴室環境型の遺伝子型とブタ型の遺伝子型の両方が検出された。自然環境中の NTM がヒト・動物に感染し、さらに、ヒト・動物から排出された NTM が環境中にプールされ、再び、ヒト・動物への供給源になるという感染環を反映していると思われる。

我々は、この感染環を通じて、MAH が多様性を獲得してきた痕跡を、MAH の多株比較ゲノム解析を実施することで突き止めた。すなわち、MAH は遺伝子を他の種から頻繁に獲得していること、さらに MAH は進化の過程で異系統間での染色体の組み換え（有性生殖様の組み換え）を行っていることを解明した（Yano et al. *Genome Biol. Evol.* 9: 2403-2417. 2017）。このことから、MAH が他の種から獲得した有用遺伝子を集団内に積極的に拡散することで地域環境に適応しているという地域適応モデルを提唱した。このモデルは、MAH だけではなく、他の NTM にも当てはまるのではないかと考えている。

本シンポジウムでは、ユビキタスだが多様な分布を示すという NTM の地域特性と MAH の比較ゲノム解析から見出された地域適応モデルについて概説し、自然環境を遺伝子プールにして多様性を獲得している NTM の実像について考える機会を提供したい。

## MS-3

ゲノム解析による *Mycobacterium avium* 症の病態の検討

打矢 恵一 (名城大学薬学部微生物研究室)

非結核性抗酸菌による感染症は世界的に増加しており、我が国においては MAC (*Mycobacterium avium* complex)、とくに *M. avium* subsp. *hominissuis* (MAH) による罹患率が高い。MAH は、土壌や水中などの自然界に広く分布している環境常在菌でありヒトやブタに感染する。MAH 症は、主に HIV 感染者のような免疫不全者に発症する全身播種型 (経腸感染) と健常人に対する肺感染型 (経気道感染) の 2 つの病型があり、後者における臨床的な問題点として変則的な病態が挙げられる。しかし、MAH 症の感染様式や病態、さらに増加要因については不明な点が多い。その要因は、宿主側に加えて病原体側の遺伝学的な特性に起因すると考えられる。我々は、MAH 症のこのような問題点を明らかにする目的で、これまで報告がなかった肺 MAH 症患者由来株のゲノムの全塩基配列を決定した。そして、この解析により得られた遺伝情報をもとに、病態が明らかな患者由来株の遺伝学的な特徴を調べ、比較することにより病原性等に関わる遺伝子の検討を行った。

肺 MAH 症患者由来株の全ゲノム解析からの知見：菌株は、国立病院機構東名古屋病院において分離された重篤化した肺 MAH 症患者由来 TH135 株を使用した。解析の結果、ゲノムサイズは 4,951,217 bp、GC% は 69.3%、ORF 数は 4,636 であった。そして、ゲノムの全塩基配列が決定されている AIDS 患者由来 MAH 104 株のゲノムと比較を行った結果、特異的な領域 (10,000 bp 以上) が TH135 株は 10 領域、104 株は 11 領域が存在していた。これらの領域の GC% は、ゲノム全体のそれに比べて低かった。さらに、両端には遺伝子組換えに関わるインテグラーゼなどをコードした遺伝子が多く見られたことから、進化の過程でゲノムに外来性に挿入されたと考えられた。これらの特異的な領域に存在する遺伝子を詳細に調べた結果、mycobacteria の病原性に関わる重要な遺伝子が存在していた。以上の結果から、肺 MAH 症と播種型 MAH 症を引き起こす菌株は遺伝学的特性が異

なっており、進化の過程で獲得した特異的な遺伝子が MAH 症の感染様式に影響を与えていると考えられた。新規プラスミド (pMAH135) の同定：TH135 株のゲノム解析の結果、巨大プラスミドの存在が示唆された。その存在を S1 nuclease-PFGE 法、さらに特異的なプローブを用いたサザンブロッティングで確認を行った。これまで *M. avium* からは、pVT2 などの 4.8 kb~16 kb の比較的小さなプラスミドの報告がある。pMAH135 のサイズは 194,711 bp、ORF 数は 164、そして GC% は 66.5% で染色体の GC% (69.3%) に比べて低かった。興味あることに、pMAH135 上には病原性に関与する type VII 分泌装置や mycobactin の合成、さらに薬剤耐性に関与する multidrug efflux transporter と相同性を示す遺伝子が存在していた。

比較ゲノム解析による肺 MAH 症の悪化要因の検討：全国の国立病院機構の各施設より分与して頂いた病態が明らかな肺 MAH 症患者由来株を臨床データに基づいて、悪化群由来株 (n=17) と安定群由来株 (n=29) の 2 つのグループに分類した。これらの菌株から得られたゲノム情報、さらに海外で解析された MAH 株 (n=32) のゲノム情報を NCBI より入手して比較を行った。SNPs (single nucleotide polymorphisms) による系統樹解析の結果、日本株と海外株は異なったクラスターを形成し、遺伝学的に大きく異なっていることが示された。さらに悪化群由来株が多く存在するクラスターが形成され、そこには特異的な遺伝子領域が存在し、pMAH135 を含む *M. avium* の病原性に関わる種々の遺伝子がコードされていた。以上の結果から、pMAH135 を含むこれらの病原遺伝子が肺 MAC 症の病態に関与していることが示唆された。

【共同研究者】高橋弘泰、森山 誠、旭 将来、二改俊章、稲垣孝行、市川和哉、八木哲也、富田秀太、中川 拓、小川賢二