HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	日本で臨床分離された迅速発育抗酸菌株における疫学的特徴、および薬剤感受性に関する研究［全文の要約］
Author(s)	鎌田, 啓佑
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 配架番号：2518 他
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14054号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78013
Type	doctoral thesis
File Information	Keisuke_Kamada_summary.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文(要約)

日本で臨床分離された迅速発育抗酸菌株における疫学的特徴、および薬剤感受性に関する研究

(Studies on epidemiological characteristics and drug susceptibility profile of Rapidly Growing Mycobacteria clinically isolated in Japan)

2020 年 3 月

北海道大学

鎌田　啓佑

Keisuke Kamada

学位論文(要約)

日本で臨床分離された迅速発育抗酸菌株における疫学的特徴、および薬剤感受性に関する研究

(Studies on epidemiological characteristics and drug susceptibility profile of Rapidly Growing Mycobacteria clinically isolated in Japan)

2020 年 3 月

北海道大学

鎌田　啓佑

Keisuke Kamada

【背景と目的】

迅速発育抗酸菌による感染症は近年増加傾向にあるが、菌種同士が近縁であることから正確な菌種同定のためには煩雑な遺伝子学的手法が必要となることもあり十分な検査が行われてこなかった。そのため日本国内における疫学的な地域差は十分にわかっていない。また、迅速発育抗酸菌には *Mycobacteroides abscessus* group=MAG を始めとして難治性の感染症の原因となる菌種が多いが、薬剤感受性試験についてもこれまで商業ベースでの測定が出来ず、日本国内で分離される迅速発育抗酸菌の薬剤感受性は大部分が不明なままであった。今回の我々の目的は大きく分けて 2 つある。一つ目は菌種同定のために十分な遺伝子学的手法を用いることで正確な菌種同定を行い、日本で分離される迅速発育抗酸菌の地域や検体種別による差異を評価することである(第一章)。二つ目は日本の迅速発育抗酸菌の薬剤感受性プロファイルを明らかにすると同時に、今後、新規治療薬の候補となり得る薬剤の探索を行うことである。(第二章)。

【材料と方法】

第一章：2012 年 1 月から 2019 年 3 月までに日本全国各地でヒト臨床検体から分離された RGM 532 株(下気道 428 株、非下気道 79 株　皮膚軟部組織 27 株、膿瘍 17 株、CAPD 関連 13 株、血液 11 株、耳漏 6 株、骨 2 株、その他 3 株、 不明 8 株)を対象とした。菌種同定は house keeping gene(*hsp65*, *rpoB*, *sodA*)の遺伝子シークエンス解析を行った。MAG と同定された菌株に対しては全株で PCR-based typing scheme と erm(41)遺伝子のシークエンス解析を用いて亜種を評価した。

第二章：薬剤感受性試験は上記の株のうちの 509 株に対する 24 種の抗菌薬 MIC(マクロライド系 clarithromycin (CLR), azithromycin (AZM), ニューキノロン系 levofloxacin (LVX), sitafloxacin (STF), ciprofloxacin (CIP), moxifloxacin (MXF), アミノグリコシド系 arbekacin (ABK), amikacin (AMK), gentamycin (GEN), tobramycin (TOB), カルバペネム系 (ペネム系) imipenem (IPM), doripenem (DOR), faropenem (FRP), セフェム系 cefmetazole (CMZ), cefoxitin (FOX), ceftriaxone (CRO), cefepime (FEP), テトラサイクリン系 tigecycline (TGC), minocycline (MIN), その他 -linezolid (LZD), ethambutol (EB), rifabutin (RFB), amoxicillin / clavulanic acid (AMC), trimethoprim / sulfamethoxazole (SXT))を CLSI M24A-2 に準じて微量液体希釈法を用いて測定した。また薬剤耐性株については *rrl*, *rrs*, *gyrA*, *gyrB* 遺伝子などの遺伝子変異を必要に応じて調査した。

【結果】

第一章：全体で 15 菌種が同定され全体の約 6 割を MAG が占めた。下気道検体、非下気道検体のいずれでも分離された上位 3 菌種は同一であったが、それぞれにおいて MAG が占める割合は非下気道検体では下気道検体と比較して有意に低かった(39.5% vs 68.4%, p<0.001, OR 0.26, 95%CI: 0.16-0.42)。また、北日本ではその他の地域と比較して分離された迅速発育抗酸菌の中で MAG が占める割合が有意に高かった(83.7% vs 60.5%, p=0.001, OR 3.35, 95%CI: 1.56 to 7.07)。沖縄は他地域と比較して *Mycobacteroides abscessus* subsp. *abscessus* =MAB における C28 sequevar の割合が有意に高かった(61.5% vs 8.1%, p<0.001, OR 18.06, 95%CI: 5.60 to 56.6)。

第二章：最も多くの菌種に対して感受性が良好であった薬剤は amikacin と linezolid であった。大部分の RGM 菌種において arbekacin、 sitafloxacin がそれぞれアミノグリコシド系抗菌薬、キノロン系抗菌薬のなかで最も低い MIC 値を示した。cefmetazole は cefoxitin と同じセファマイシン系抗菌薬の一種で全ての菌種で類似した MIC 値を示し

た。また、MAB における rifabutin MIC≦2 mg/L を示す菌株の割合が有意に *Mycobacteroides abscessus* subsp. *massiliense* =MMA よりも高いことがわかった(28.1% vs 17.7%, p=0.041)。*M. fortuitum* の中に少ないながらもキノロン系抗菌薬に対して耐性を示す株が存在しその中の一部が QRDR 領域にアミノ酸変異(S83W)をもつことが明らかになった。

【考察】

第一章：下気道検体から分離される RGM 菌種と非下気道検体から分離される RGM 菌種の特徴をこれまで不明だった MAG の亜種にまで踏み込んで明らかにした。非下気道検体から分離される MAG の割合は下気道検体から分離される MAG の割合と比較して有意に低いこと(68.4% vs 35.9%)、また、非下気道検体から分離される MAG の亜種は MMA が有意であるのに対して(54.6%)、下気道検体から分離される MAG の亜種は MAB が有意(58.8%)であることがわかった。同一地域内での検体種別間で MAG の中の優位な亜種が異なることは過去に示されておらず今回の我々の調査は貴重な疫学情報といえる。また、北日本(北海道＋東北)で分離される RGM が他地域と比較して MAG の割合が高いことが示されたがこれは北日本から集められた検体のほとんどが下気道検体であったことも関係しているかと思われた。しかし全ての地域の下気道検体のみで同様の検討を行っても同様の結果となった。北日本は平均気温、日照時間、降水量などが他地域と比較してより低値であることから分離頻度の差異を生んだ原因として気候条件の関与を第一に考えたが、分離された菌種間でのこれらのパラメータの統計学的な有意差は示せなかった。MAB における C28 sequevar を有する菌株の割合が沖縄では非常に高く国内の他地域よりも台湾からの報告に近い値であった。C28 sequevar を有する菌株はマクロライド感受性であることが多いことから、沖縄での MAB 感染症は国内の他地域で分離された MAB と比較して治療予後が良い可能性がある。

第二章：RGM に対する arbekacin の MIC に関する報告はこれまでには無かったが、今回の研究で対象となったほぼ全ての RGM 菌種で arbekacin の MIC 値はアミノグリコシド系抗菌薬の中で最も低かった。過去の報告で sitafloxacin の MIC 値が他のキノロン系抗菌薬と比較して低いこと示唆されていたがより多くの菌種でも同様の結果であることを今回の研究で示した。また、cefmetazole は cefoxitin と同じセファマイシン系抗菌薬の一種で全ての菌種で類似した MIC 値を示したことから日本のように cefoxitin を使用できない地域では、cefmetazole は治療薬の選択肢になり得るかもしれない。近年、rifabutin は内服可能な MAG の治療薬としてその有効性が示唆されているが、これまでに CLSI の推奨する CAMHB 培地で微量液体希釈法を用いて測定された MIC 値についてはまとまった報告はなかった。今回我々は、多数の菌株を対象に rifabutin MIC 値を測定し、さらに MAB に対する MIC が MMA に対する MIC よりも低いことを示した。MAB は clarithromycin だけでなくキノロン系抗菌薬にも非常に高い耐性率を示しており、内服可能な治療薬の探索が喫緊の課題であることから、今後 rifabutin がその役割を果たす可能性があるか十分に検証していく必要がある。

【結論】

第一章：下気道検体と比較して非下気道検体から分離される RGM では MAG が占める割合が少ない。また北日本で分離される RGM は MAG の割合が高い。沖縄で分離される MAB は国内の他地域と比較して治療予後がよいとされる erm(41)C28 sequevar を有する割合が高い。

第二章：日本で分離された RGM15 菌種の薬剤感受性プロファイルを示した。Arbekacin, sitafloxacin は RGM 感染症に対する新規標準治療薬の選択肢となる可能性を秘めている。また rifabutin は MAB に対する内服可能な治療薬の候補となりうる。