

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：非結核性抗酸菌の疫学・診断・治療に関する研究
2. 研究開発代表者：阿戸 学
3. 研究開発の成果

非結核性抗酸菌症は、感染症法に定められた疾患ではなく、正確な疫学情報は存在しない。全ゲノム解析株が乏しく、ゲノム情報に基づいた分子疫学手法、診断マーカー、薬剤耐性機序の確立がなされていない。さらに、臨床的に長期に病状が安定している症例から、急速に増悪する症例まで様々であり、その病態も不明である。加えて、薬剤耐性菌が多く治療に難渋する。また、自然環境に存在し、内因性再燃と再感染に関して明確に区別ができず、対策に苦慮しているのが現状である。このため、本研究班では、我が国における結核性抗酸菌症の現状を疫学的解析でまず明らかにし、正確な全ゲノム情報に基づいた非結核性抗酸菌症の対策に資することを目的とした。

研究班の臨床機関へのアンケート調査により、非結核性抗酸菌症の罹患率は推定14.7人/10万人と同時期に報告された結核よりも多いということが明らかになった。平成27年度は、主要検査センター3社にデータセットの抽出を依頼し、抗酸菌症診断例の性年齢分布、地域差、菌種分布および感受性検査データを直接解析した。期間有病率は9.01/10万と、死亡統計からの推定値と比較して低値であった。この原因として、院内検査室を持たない小規模医療機関が本調査の主な対象となり、大規模専門病院でのデータが含まれないバイアスが考えられた。菌の地域別構成(図1)や性・年齢分布はアンケートによる調査とほぼ一致し、全国の本疾患状況が別の視点からも確認できた。

肺*Mycobacterium avium complex*(MAC)症のうち、最も多い肺*M. avium subsp. Hominissuis* (MAH)症患者で3年以上経時的に観察できている症例を対象に、増悪している12例と、安定している症例10例を抽出し、これらの症例から得られた株のVNTR解析により、同一クローンの感染症例から、遺伝的に多様と考えられる8株を全ゲノム解析対象株とした。ゲノムライブラリー作成後、PacBio次世代シーケンサーでデータを収集し、現在、8株の全ゲノム配列を解析中であり、MAHコアゲノムを決定する(図2)。

“キャピリアMAC抗体ELISA”開発のノウハウを基に、より有益な診断技術開発を試みた。臨床的に長期に病状が安定している肺MAC症例40例と急速に悪化する症例37例を同定し、血清および尿検体を採取した。悪化症例は有空洞例が多く、BMI低値、CRP高値であった。各種抗酸菌抗原に対する血中抗体をELISA法にて測定した。その結果、2種類の抗原に対する血清応答を組みあわせることで感度の改善(>90%)、および肺MAC症の病勢評価に有用である可能性が得られた。

また、新規診断マーカーの探索として、二次元電気泳動、質量分析-マスコットによるデータベースマッチングを利用したプロテオミクス解析により、非結核性抗酸菌症の患者血清中や尿中のバイオマーカー同定を試みた。患者血清中にMAH由来の複数の蛋白質に反応する抗体産生がウェスタンブロット法で確認され、6スポットについて抗原を同定した。症例の少ない*M. kansasii*や*M. abscessus*感染の検体については、収集を継続している。

薬剤排出ポンプが非結核性抗酸菌の薬剤耐性への関与を調べる目的として、MAH菌の薬剤排出能の評価系を確立した。また、薬剤耐性により遺伝子導入が困難な非結核抗酸菌に使用可能なプラスミドを開発した。

本研究を支える菌・宿主双方の基盤情報として、結核菌とは異なるユニークな細胞内寄生戦略に関して、MAH菌は感染マクロファージ内でオートファゴソーム形成による防御から回避できることが示唆された。またMAH感染特徴的な脂質抗原として、グルコースモノミコール酸に対する免疫応答をマウスモデルで確認し、MAH感染症の診断や予防法開発に応用を検討する。

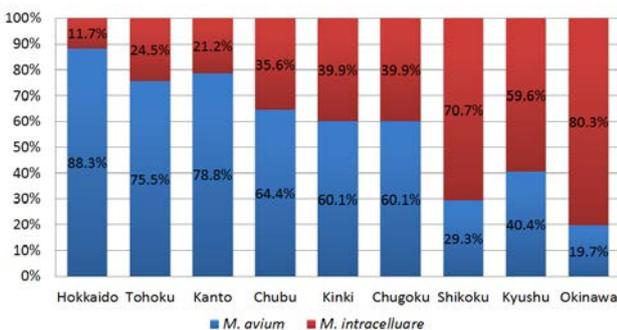


図1 地域による *M. avium* 及び *M. intracellulare* の分離比率

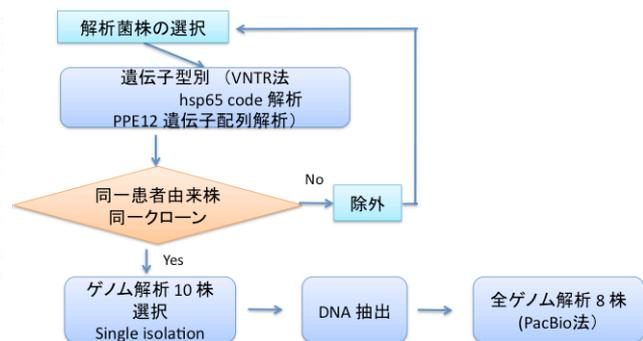


図2 ゲノム解析フローチャート