

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19473

研究課題名(和文) 肺非結核性抗酸菌症における抗酸菌の病態解明

研究課題名(英文) Elucidation of the pathophysiology of pulmonary nontuberculous mycobacteriosis

研究代表者

内藤 圭祐 (NAITO, Keisuke)

産業医科大学・医学部・修練指導医

研究者番号：80739475

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：全120例のうち気管支洗浄液の抗酸菌培養で55例が陽性であった。培養陽性55例のうち52例(94.5%)で抗酸菌群特異的PCRが陽性となった。52例のうち、抗酸菌群のclone library methodで単一のphyloptypeが検出した群(単一群)が45例(86.5%)で、複数のphyloptypeが検出した群(複数群)が7例(13.5%)であった。複数群では有意に治療を要した症例が多く( $P=0.032$ )、治療が行われても症状が改善した症例が少なく( $P=0.016$ )、胸部CTで陰影の増悪がみられる傾向( $P=0.048$ )があり、予後が悪い可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：NTM was cultured in 55 of 120 patients, and 52 (94.5%) of these 55 patients were positive for the clone library method. Among these 52 patients, BALF samples of 45 (86.5%) patients were occupied with a single phyloptype of NTM (mono-phyloptype group), and multiple phyloptypes were detected (multi-phyloptype group) in the rest 7 (13.5%) patients. The multi-phyloptype group significantly included more patients with worsening chest CT findings ( $P=0.048$ ), more patients requiring treatment ( $P=0.032$ ), and fewer patients responding to antimycobacterial treatment ( $P=0.016$ ) compared to the mono-phyloptype group. Patients with multi-phyloptype NTM group tend to show worsening chest CT findings and lower response to antimycobacterial treatment and symptom improvement.

研究分野：呼吸器内科

キーワード：肺非結核性抗酸菌症 clone library method 複数菌感染

1. 研究開始当初の背景

肺非結核性抗酸菌 (NTM) 症は未だに十分有効な抗菌薬治療がなく、複数の抗酸菌が検出された症例などでは正確な診断や治療に難渋することがある。また、近年免疫抑制剤や生物学的製剤、抗癌剤の種類や使用が増加しており、肺 NTM 症の早期発見も重要である。

2. 研究の目的

肺 NTM 症に対する治療効果が乏しいため、早期診断、早期治療が重要となるが、どのような症例の治療効果が乏しいのかを検討し、また、clone library 法が早期診断に有用かを検討することを目的とした。

3. 研究の方法

2010年7月以降に産業医科大学および関連病院で肺 NTM 症を疑い気管支鏡検査を施行した 120 例を対象とした。気管支洗浄液から DNA を抽出し、抗酸菌群の 16S rRNA 遺伝子を網羅的に PCR 法で増幅した。PCR が陽性になった症例に関しては PCR 産物の clone library を作成し、無作為に選択した 96 クローンの塩基配列と基準株で分子系統樹を作成し、各々の菌種を推定し、患者背景や胸部 CT 所見、経過などを後方視的に検討した。

4. 研究成果

BALF の NTM 培養陽性で抗酸菌群特異的 PCR が陽性だった 52 例の培養結果 (内側の円グラフ) と、clone library method の結果 (外側の円グラフ) を図 1 に示した。BALF 培養では *M. avium* (55.8%), *M. avium*+同定不能 (1.9%), *M. intracellulare* (19.2%), *M. kansasii* (11.5%), *M. abscessus* (9.6%), 同定不能 (1.9%) だった。一方、clone library method では、主に *M. avium* (46.2%), *M. intracellulare* (17.3%), *M. kansasii* (11.5%), *M. abscessus* (9.6%) が検出した。培養にて、複数の抗酸菌が検出した症例は *M. avium*+同定不能の 1 例のみで、この症例は clone library method では *M. avium*+*M. intracellulare* が検出した。またもう一例の同定不能に関しては clone library method では *M. celatum* が検出した。また、培養で検出した抗酸菌は 52 例全てで clone library method でも検出した。さらに、培養では 1 例 (1.9%) のみ複数の抗酸菌を検出したが、clone library method では 7 例 (13.5%) で複数の抗酸菌の phylotype を検出した。

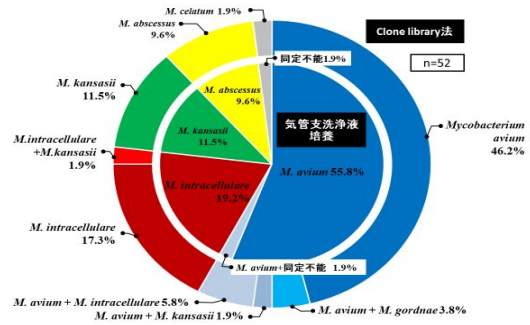


図 1 気管支洗浄液と Clone library 法の結果

一方、BALF 培養陽性で、抗酸菌特異的 PCR が陰性の症例が 3 例あったが、それらは *M. intracellulare* が 2 例、*M. kansasii* が 1 例であった。BALF の NTM 培養陽性で抗酸菌群特異的 PCR が陽性だった 52 例について単一群と複数群との比較において、臨床症状や BALF の塗抹では有意な差はなかった。Modified Bhalla CT scoring system を用いた胸部 CT スコアでは複数群でスコアが高い傾向にはあったが、合計や各項目で有意差はなかった。一方、胸部 CT で病変がある肺区域の数は単一群で  $7.7 \pm 3.4$  区域だったのに対し、複数群では  $13.1 \pm 3.1$  区域と複数群で有意に病変の範囲が広がった ( $P < 0.01$ )。また治療を要した症例が単一群では 26/45 例 (57.8%) だったのに対し、複数群では 7/7 例 (100%) と有意に頻度が高かった ( $P = 0.032$ )。治療を要した症例は喀痰、(肺 NTM 症もしくは肺結核治療歴、) 空洞形成、高度気管支拡張病変のいずれかを有するものが多かった。治療を要した症例のうち単一群の 21 例、複数群の 7 例で半年後の症状の推移を追うことができ、単一群では症状が改善した症例が 11/21 例 (52.4%) だったのに対し複数群では 0/7 例だった ( $P = 0.016$ ) (図 2)。

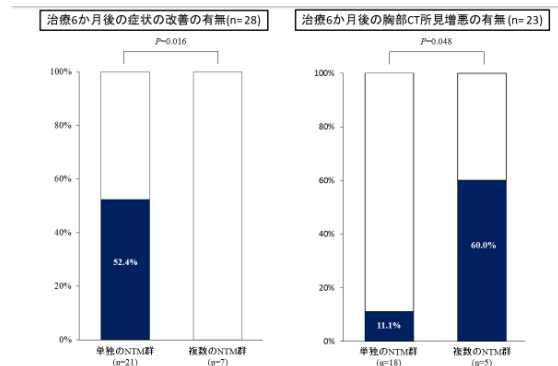


図 2 治療 6 か月後の症状改善の有無と胸部 CT 所見の増悪の有無

また、治療期間は単一群では平均  $18.5 \pm 15.9$  ヶ月、複数群では  $41.0 \pm 14.7$  ヶ

月と複数群で有意に長かった ( $P<0.01$ )。治療を要し、かつ治療開始時と半年後に胸部 CT が撮影されていた症例が単一群では 18 例、複数群では 5 例あり、治療開始時の modified Bhal la CT scoring system のスコアと半年後の score を比較し、単一群では 2/18 例 (11.1%) が増悪したが、複数群では 3/5 例 (60%) と有意に増悪する割合が高かった ( $P=0.048$ ) (図 2)。BALF で NTM 培養が陰性だった 65 例のうち抗酸菌特異的 PCR が陽性だった症例は 11 例 (16.9%) だった。抗酸菌特異的 PCR 陰性 54 例と陽性 11 例については臨床所見 (や採血結果) に有意差はなく、胸部 CT では modified Bhal la CT scoring system のスコアに関し、合計点では抗酸菌特異的 PCR 陰性と陽性では陽性例でスコアが高い傾向にあったが有意差はなかった。空洞形成の項目 (feeding bronchus sign) に関して、抗酸菌特異的 PCR 陰性例では  $0.1\pm 0.3$  点、陽性例では  $0.5\pm 0.6$  点と有意にスコアが高く ( $P<0.01$ )、抗酸菌特異的 PCR 陽性例で空洞を形成している症例が多く、程度も強かった。

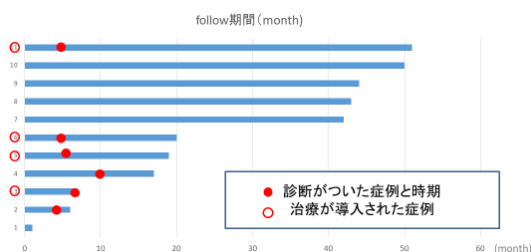


図 3 気管支洗浄液の抗酸菌培養が陰性で抗酸菌特異的 PCR が陽性だった 11 例の経過

図 3 に抗酸菌特異的 PCR が陽性だった 11 例の経過を示した。11 例中 6 例 (54.5%) が初回検体採取後、平均  $6.2\pm 2.1$  ヶ月後の検体で抗酸菌培養が陽性となった。(また 6 例のうち 4 例では治療が導入された。) のこりの 5 例のうち経過で一度も抗酸菌培養検査が行われていなかったのが 1 例、はじめの培養陰性の結果をもってフォローが終了になっている症例が 1 例だった。一方 NTM 培養と抗酸菌特異的 PCR が両方陰性だった 54 例では経過観察 (平均  $20\pm 19.7$  ヶ月) 中に培養が陽性となった症例はなかった。

本研究では肺 NTM 症を疑い気管支鏡検査を施行した患者に対し、BALF 培養と抗酸菌群の clone library method を行い比較検討した。BALF の抗酸菌培養が陽性、clone library method が陽性の症例では複数菌が検出される症例があること、clone library method で複数の NTM が検出された症例では胸部 CT で病変の範囲が広く、また治療を行っても胸部 CT が増悪する割合が多く、症状が改善しにくく、予後が悪い可能性が示唆された。一方、

BALF の抗酸菌培養が陰性だった症例に関し、(clone library method が陰性の症例では 1 例も後に培養で NTM が検出されなかったのに対し、) clone library method が陽性の症例では半数以上で後に培養で NTM が検出され培養と clone library method を併用することで早期診断につながる可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 2 件)

第 91 回日本感染症学会総会学術講演会

16S ribosomal RNA 遺伝子を用いた細菌叢解析法による肺非結核性抗酸菌症の検討  
2017 年

内藤 圭祐、野口 真吾、矢寺 和博、赤田 憲太郎、西田 千夏、山崎 啓、川波 敏則、城戸 貴志、石本 裕士、福田 和正、谷口 初美、迎 寛

第 87 回日本感染症学会西日本地方学会術集会

16S ribosomal RNA を用いた抗酸菌群の clone library method による肺非結核性抗酸菌症の予後と早期発見の検討  
2017 年

内藤 圭祐、川波 敏則、福田 和正、山崎 啓、畑 亮輔、赤田 憲太郎、野口 真吾、迎 寛、齋藤 光正、矢寺 和博

[図書](計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

内藤 圭祐 (NAITO, Keisuke)  
産業医科大学・医学部・修練指導医  
研究者番号：80739475

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし