

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：82801

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K22755

研究課題名（和文）M. abscessus group に対するRifabutinの抗菌作用

研究課題名（英文）Study on the efficacy of Rifabutin for M. abscessus group

研究代表者

鎌田 啓佑（Kamada, Keisuke）

公益財団法人結核予防会 結核研究所・臨床・疫学部・医員

研究者番号：80885666

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：代表者はM. abscessus species 320株を評価し、より薬剤耐性傾向の強い亜種であるM. abscessusの方がM. massilienseよりRifabutin感受性が良好である可能性を論文報告した。更に、Omadacyclineと併用した際の相乗（シナジー）効果を 菌株を用いた実験で証明し論文報告した。また、菌株間のRifabutin感受性の差異を調べるためにRifampicin-resistance determining region (RRDR)の遺伝子配列を解析した結果、すべての臨床分離株でアミノ酸配列は一致していたことを感染症学会東日本地方会で報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高度薬剤耐性を有するM. abscessus感染症の治療は非常に難しい。通常、薬剤感受性が担保された3-4種類の抗菌薬を併用した上で最短でも数ヶ月以上の治療期間が必要とするが、特に内服できる治療薬の選択肢は極めて限られており、Rifabutinにかかる期待は大きい。代表者らのM. abscessusに対するRifabutinの薬剤感受性評価は過去最大規模のものである。また、近年海外で効果が注目されているomadacyclineとの併用で治療相乗効果が期待されることも臨床的に重要性の高い発見であり今後の臨床研究での評価が期待される。

研究成果の概要（英文）：We reported on 320 clinical isolates of M. abscessus species, showing that M. abscessus, a more drug-resistant subspecies, may be more susceptible to rifabutin than M. massiliense. Furthermore, the synergistic effect of the combination of rifabutin and omadacycline was demonstrated in an experiment using bacterial isolates. To investigate the difference in susceptibility to rifabutin between strains, we analyzed the gene sequence of the rifampicin-resistance determining region (RRDR), and found that the amino acid sequence was identical in all clinical isolates. Because of a series of reports of decreased rifabutin MIC in ADP-ribosyltransferase (Arr) gene (MAB_0591) knockout strains, we decided to investigate the gene and amino acid sequence of MAB_0591 and its promoter region in clinical isolates, and are currently analyzing the results.

研究分野：抗酸菌感染症

キーワード： M. abscessus group 迅速発育性抗酸菌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

迅速発育性抗酸菌の一種である *M. abscessus* group 感染症は難治性であり新規治療薬の探索が喫緊の課題である。数少ない有効な治療薬の多くは注射薬であり、内服可能な治療薬の選択肢が限定的であることから、退院後の外来での治療に非常に難渋することが多い。Rifabutin は内服可能な治療薬の候補として近年注目が高まっているが、その薬剤感受性は臨床分離株で十分に評価されておらず定まっていない。*M. abscessus* group の中で Rifabutin の有効性が期待できる菌株があるのか、また菌株間の Rifabutin の抗菌作用の違いを遺伝子学的に説明することができれば、薬剤感受性試験や菌株の遺伝子検査によって Rifabutin の効果が期待できる症例を選別できる可能性があり、将来的に *M. abscessus* group 感染症の治療に大きな恩恵をもたらすことが期待される。

2. 研究の目的

本研究の目的は難治性である *M. abscessus* group 感染症に対する治療薬としての Rifabutin の有用性を評価することである。

3. 研究の方法

1) 日本全国の臨床検体から分離された、迅速発育性抗酸菌を 500 株以上収集し、そこに含まれた *M. abscessus* group 320 株の亜種を遺伝子学的に精密に同定し、日本において臨床検体より分離される *M. abscessus* group の疫学を示した。

2) 前述の通り収集した菌株について *M. abscessus* 臨床分離株の Rifabutin 感受性を評価した。

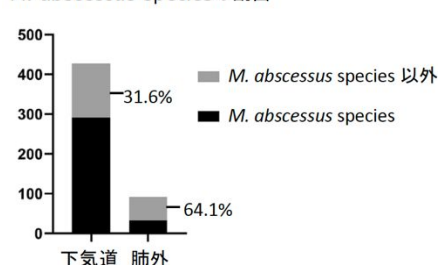
3) 薬剤感受性試験において Rifabutin の最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) 2mg/L と 4mg/L の菌株群間で Rifampicin-resistance determining region (RRDR) の遺伝子配列を比較した。更にリファマイシンを ADP で修飾することによって効果を減弱する ADP-ribosyltransferase (Arr) 遺伝子 (MAB_0591) のノックアウト株において Rifabutin MIC が低下したとの報告が相次いだため、臨床分離株における MAB_0591 およびそのプロモーター領域の遺伝子およびアミノ酸配列を調査する方針とした。また *M. abscessus* group のコロニー形態 (*M. abscessus* group では菌細胞壁に糖ペプチド脂質を含む Smooth 型と含まない Rough 型が知られている) による Rifabutin 感受性の違いを評価した。

4) *M. abscessus* group 感染症に対する別の有望な治療候補薬である Omadacycline の有効性を評価するために Rifabutin をはじめとする 6 つの抗菌薬とそれぞれ 2 剤併用した際のシナジー効果 (相乗効果) の有無についてチェッカーボード法を用いて調査した。

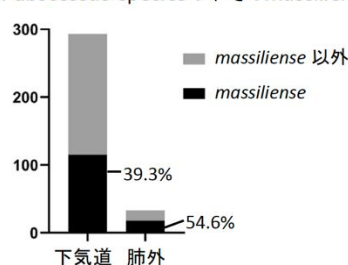
4. 研究成果

1) 代表者らは、全体の約 60% が *M. abscessus* group であることだけでなく、肺外の臨床検体では喀痰などの呼吸器検体と比較して *M. abscessus*

M. abscessus species の割合

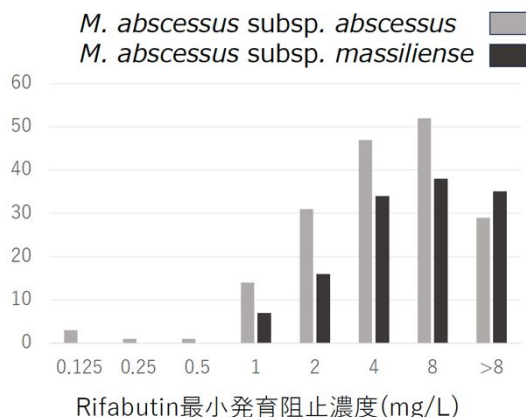


M. abscessus species 中での *massiliense* の割合



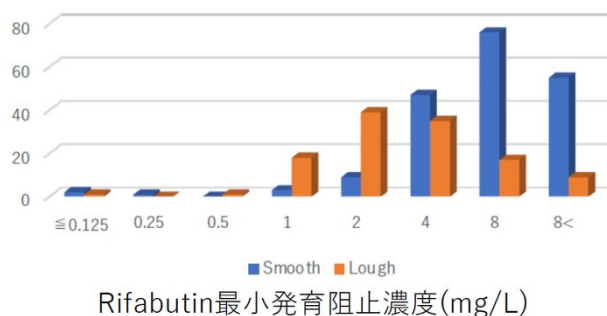
group 以外の菌種が分離される頻度が高いこと、また、肺外臨床検体では *M. abscessus* group が分離された場合でも、*M. massiliense* という亜種の割合が高い傾向にあることを示した¹⁾。

2)代表者らは *M. abscessus* group 320 株を含んだ迅速発育性抗酸菌の薬剤感受性試験を行い、Rifabutin の最小発育阻止濃度が 2mg/L 以下である株の割合が、*M. abscessus* subsp. *massiliense* と比較して薬剤耐性傾向の強い *M. abscessus* subsp. *abscessus* で高いことを示した²⁾。また同じ迅速発育性抗酸菌である *M. fortuitum* のフルオロキノロン耐性株を発見し、耐性獲得前後の菌株を比較することによって Quinolone Resistance-Determining Region の遺伝子変異がキノロン耐性の原因となりうることを初めて報告した³⁾。



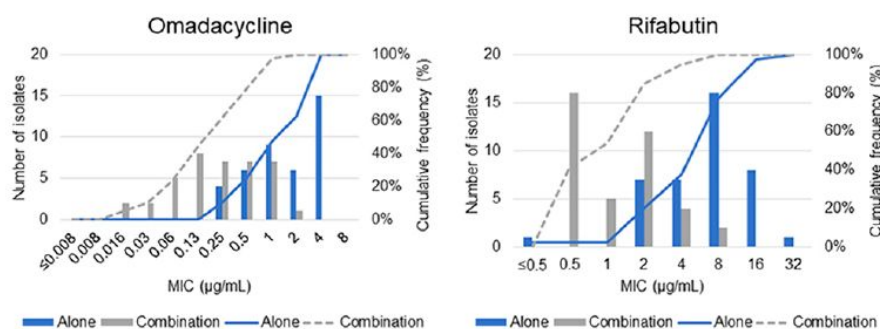
3)代表者らは *M. abscessus* group 臨床分離株

の Rifampicin-resistance determining region (RRDR) を調査した結果、すべての *M. abscessus* group 株が Rifampicin 感性の結核菌における RRDR とアミノ酸配列が一致していた。つまり RRDR 領域の変異は *M. abscessus* group の Rifabutin 感受性の差異に関与していないことが示された。また、*M. abscessus* group のコロニー形態間の Rifabutin による最小発育阻止濃度を比較したところ、細胞壁に糖ペプチド脂質を欠く Rough 型の菌株で最小発育阻止濃度が低いことが示された。これらの結果は、代表者が筆頭演者として第 71 回日本感染症学会東日本地方会学術集会で発表した。臨床分離株における MAB_0591 およびそのプロモーター領域の遺伝子およびアミノ酸配列については現在結果解析中である。



4)Rifabutin だけでなく Amikacin, Clarithromycin, Clofazimine, Imipenem, Tezizolid の計 6 種類の抗菌薬を Omadacycline とそれぞれ併用した際のシナジー効果(相乗効果)について評価した結果、Rifabutin は臨床分離株 40 株のうち、76.9%の菌株でシナジー効果が認められ、これは他の 5 つの抗菌薬と比較して最も高い割合であった⁴⁾。今後 Rifabutin と Omadacycline の併用レジメンは内服治療レジメンの有力な候補となる可能性があり、今後、期待される臨床試験の結果によっては未来の標準治療となる可能性を秘めている。

Omacycline/Rifabutin combination



引用文献

- 1)Kamada, et al. Geographical distribution and regional differences in 532 clinical isolates of rapidly growing mycobacterial species in Japan. *Sci Rep.*2021;11(1):4960.
- 2)Kamada, et al. Nationwide surveillance of antimicrobial susceptibility of 509 rapidly growing mycobacteria strains isolated from clinical specimens in Japan. *Sci Rep.* 2021;11(1):12208.
- 3)Kurokawa, et al. Pulmonary infection due to fluoroquinolone-resistant Mycolicibacterium fortuitum: a case report. *BMC Infect Dis.* 2020;20(1):866.
- 4)Fujiwara, et al. In Vitro Synergistic Effects of Omacycline with Other Antimicrobial Agents against Mycobacterium abscessus. *Antimicrob Agents Chemother.* 2023;67(6):e0157922.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Fujiwara Keiji, Aono Akio, Asami Takahiro, Morimoto Kozo, Kamada Keisuke, Morishige Yuta, Igarashi Yuriko, Chikamatsu Kinuyo, Murase Yoshiro, Yamada Hiroyuki, Takaki Akiko, Mitarai Satoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 <i>In Vitro</i> Synergistic Effects of Omadacycline with Other Antimicrobial Agents against <i>Mycobacterium abscessus</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Antimicrobial Agents and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/aac.01579-22	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kamada Keisuke, Yoshida Atsushi, Iguchi Shigekazu, Arai Yuko, Uzawa Yutaka, Konno Satoshi, Shimojima Masahiro, Kikuchi Ken	4. 巻 11
2. 論文標題 Nationwide surveillance of antimicrobial susceptibility of 509 rapidly growing mycobacteria strains isolated from clinical specimens in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-91757-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kamada Keisuke, Yoshida Atsushi, Iguchi Shigekazu, Arai Yuko, Uzawa Yutaka, Konno Satoshi, Shimojima Masahiro, Kikuchi Ken	4. 巻 11
2. 論文標題 Geographical distribution and regional differences in 532 clinical isolates of rapidly growing mycobacterial species in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4960
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-84537-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kurokawa Kana, Harada Norihiro, Sasano Hitoshi, Takagi Haruhi, Takei Satomi, Nakamura Ayako, Kamada Keisuke, Yoshida Atsushi, Kikuchi Ken, Takahashi Kazuhisa	4. 巻 20
2. 論文標題 Pulmonary infection due to fluoroquinolone-resistant <i>Mycobacterium fortuitum</i> : a case report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 866
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12879-020-05596-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鎌田 啓佑
2. 発表標題 迅速発育性抗酸菌の薬剤感受性と治療薬選択
3. 学会等名 第71回日本感染症学会東日本地方会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------