

主論文の要約

Genetic diversity of clinical *Mycobacterium avium*
subsp. *hominissuis* and *Mycobacterium*
intracellulare isolates causing pulmonary diseases
recovered from different geographical regions

（各地域から得られた肺 MAC 症患者由来 *Mycobacterium avium*
subsp. *hominissuis* と *Mycobacterium intracellulare* の遺伝的多様性）

名古屋大学大学院医学系研究科 細胞情報医学専攻
臨床薬物情報学講座 医療薬学分野

（指導：山田 清文 教授）

市川 和哉

【緒言】

Mycobacterium avium complex (MAC) は、日和見病原菌である *M. avium* と *M. intracellulare* が構成するグループの総称であり、ヒトへの病原性を持つとともに、ウシ、トリ、ブタなどの動物や、土壌、水などの環境から分離される。それぞれの宿主への特異性から *M. avium* はトリへの病原性を示す：*M. avium* subsp. *avium*、*M. avium* subsp. *silvaticum*、ウシのヨーネ病の原因菌：*M. avium* subsp. *paratuberculosis*、ヒトやブタへ感染する：*M. avium* subsp. *hominissuis* の4つの亜種に分類されるが、*M. intracellulare* での亜種の報告はされていない。MAC は肺非結核菌症の主な原因菌の一つであり、近年世界的に肺 MAC 症の罹患率は増加しており、日本や韓国では、その傾向が特に顕著である。肺 MAC 症の罹患率や病状については地域によって差が認められ、その要因が宿主にあるのか細菌にあるのか不明である。そこで本研究では、分子疫学解析を行なうための一つの方法である Variable numbers of tandem repeats (VNTR) 型別解析法を用いて、日本、韓国、アメリカ、オランダ及び、ドイツの5つの国から得られた *M. avium* と *M. intracellulare* の遺伝子的な多様性についての評価を行なった。

【方法】

1. 解析対象：
米国胸部疾患学会/米国感染症学会 2007 の診断基準に合致した MAC 患者由来株 377 株の解析を行なった。
2. *M. avium* 261 株の解析
M. avium (日本 94 株、韓国 98 株、アメリカ 32 株、オランダ 27 株、ドイツ 10 株)を用いて、14 領域 VNTR 型別解析法、挿入配列 IS*Mav6*、Heat shock protein65 (*hsp65*)での亜種の同定を行なった。
3. *M. intracellulare*116 株の解析
M. intracellulare (日本 78 株、韓国 16 株、アメリカ 15 株、オランダ 7 株)を用いて 16 領域 VNTR 型別解析法を行なった。
4. 系統樹解析
VNTR 型別解析法でのデータを基に Minimum spanning tree (MST)にて系統樹を作成した。
各 VNTR 領域のプロファイルを基にしてそれぞれの菌種の基準株 *M. avium*104 と *M. intracellulare*ATCC13950 からのマンハッタン距離を計算した。

【結果】

1. *hsp65* の結果、解析した 261 株の *M. avium* は全て同一の亜種 *M. avium* subsp. *hominissuis* であった。

2. ISMav6の分布は各国により異なった。日本 (47.9%; 45/94) および(韓国 61.2%; 60/98)と保有率が高いが、アメリカ (12.5%; 4/32) と低く、オランダとドイツは ISMav6の保有株は認められなかった。
3. 261株の *M. avium subsp. hominissuis* の VNTR 法では 171 の VNTR 遺伝子型に分けることができた。クラスター解析においては、地域ごとに特徴のある3つのクラスターに分類された (クラスター A-C; Fig. 1a)。クラスターAは95.7%の日本株と98%の韓国株で形成され、高い類似性が示された。また、クラスターAには ISMav6保有株が含まれ、クラスターB及びCには ISMav6保有株がなかった (Fig 1b)。アメリカ株は32株中6株がクラスターA、14株クラスターB、12株がクラスターCに入り、ISMav6を保有した4株すべてクラスターAとなった。オランダ株とドイツ株は37株中27株がクラスターCに分けられ、残りはそれぞれに分布した。
4. 116株の *M. intracellulare* においては82のVNTR遺伝子型に分類できたが、地域ごとのクラスターは形成しなかった (Fig. 2)。
5. 基準株である *M. avium*104と *M. intracellulare*ATCC13950からのマンハッタン距離を求め比較したところ、*M. avium* においては日本株と比べ、アメリカ株、オランダ株及びドイツ株は有意な差が認められたが (P<.001)、日本株と韓国株では差はなかった (Fig 3)。一方、*M. intracellulare* ではクラスター解析同様に、地域による違いは認められなかった。

【考察】

M. avium が VNTR 型別解析により地域性が認められたことは、欧米の分離株と東アジアの分離株で遺伝的な背景が異なることを示唆し、菌の進化の過程や、感染源の違いを反映すると推察される。ISMav6の保有率は日本において、肺 MAC 症患者分離株では高く、一方でブタから分離された菌株からの ISMav6の保有がないことが報告されている。今回の結果より、*M. avium* の ISMav6の保有はヒトと動物の宿主の違いだけではなく、地域の違いが保有率と関連することが考えられた。*M. intracellulare* において地域性が認められなかった点に関しては、サンプルサイズの偏りが本研究の制限事項ではあるが、肺 MAC 症に感染する *M. avium* と *M. intracellulare* の間には生態的地位の違いが考えられた。

【結論】

肺 MAC 症を引き起こす *M. avium* ではすべて同じ亜種 *M. avium subsp. hominissuis* であったが、東アジアと欧米から分離された *M. avium* では異なる系統の菌株の感染であることが示唆された。一方で、*M. intracellulare* は地域性がなく、*M. avium* と *M. intracellulare* の分布の差異が明らかとなった。