

話題の感染症

Mycobacterium kiyosense について

Mycobacterium kiyosense species nova

みたらい さとし ふかの はな こ
御手洗 聡¹⁾：深 野 華 子²⁾
Satoshi MITARAI Hanako FUKANO

はじめに

人類史上の重要性から考える抗酸菌症の代表は、やはり結核である。結核は結核菌が引き起こす全身感染症であり、基本的にヒトを固有宿主として伝播していく。従って、適切に結核を診断し、感染経路を遮断すれば自ずと結核の罹患者数は減少していく。日本でも 1960 年代に 400/10 万人以上であった罹患率が減少し、2021 年には 10 万人あたり 10 を下回っていわゆる低まん延状態になった。結核が漸減しているのと対照的に増加しているのが、同じ抗酸菌でも結核とは異なるカテゴリーとなる非結核性抗酸菌症である。結核菌がヒトを固有宿主としているのに対して、非結核性抗酸菌は土壌や水系など環境中に常在する。つまり環境からヒトに感染をおこすが、詳細な感染メカニズムはいまだ明らかにはなっていない。2016 年の南宮らの報告では、2014 年当時で罹患率 14.7/10 万人と推定されており、その時点での結核の罹患率を凌駕していた¹⁾。Hamaguchi らが検査センターのデータを集計して推定したその後の罹患率も上昇を続けており、2017 年時点で 19.2/10 万人と報告されている²⁾。要するに結核と非結核性抗酸菌症は、トレードオフの関係で減少/増加しているように見える。疫学的な増減はほぼ明確であるが、どのようなメカニズムが背景にあるのかは必ずしも明確でない。一部には人口全体の高齢化、免疫不全患者の増加、衛生・生活環境の変化、等が関与しているかもしれない。非結核性抗酸菌症のほとんどは *Mycobacterium avium* あるいは *Mycobacterium intracellulare* で占められているが、

その非結核性抗酸菌症全体に対する割合は、徐々にではあるが低下しており、代わりにこれまで稀少とされていた非結核性抗酸菌による感染症が増加している。今回話題とする *Mycobacterium kiyosense* もそういった稀少菌種の一つとして登録されている。

I. 抗酸菌全体における *Mycobacterium kiyosense* の位置づけ

抗酸菌は一般に、Bacteria 界、Actinobacteria 門、Actinomycetales 綱、Corynebacterineae 目、Mycobacteriaceae 科、*Mycobacterium* 属に分類される真正細菌である。Bergey's manual of determinative bacteriology によると、抗酸菌群 (The Mycobacteria) は、直線あるいはやや湾曲した桿菌で、一部分枝することがあり、サイズは $0.2-0.7 \times 1.0-10 \mu\text{m}$ である。染色性として、定型的抗酸性・抗アルコール性 (発育期により変化) を有しており、グラム陽性であるがグラム染色では簡単に染まらない。運動性はなく、分生孢子や明白な気中菌糸や芽胞を形成しない。好気性あるいは微好気性である、とされている³⁾。

LPSN (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature, <https://lpsn.dsmz.de/genus/mycobacterium>) によると、有効に発表され、かつ正しい名称を持つ下位分類群の数は 202 (同義異名を含むと 216) となっている⁴⁾。*Mycobacterium* 属は、一つの属でこれだけ多くの菌種 (亜種含む) を包含している上、MALDI TOF-MS などで抗酸菌種の同定が容易になったこともあり、それによって「同定不可」となった場合、新種である可能性が高いとい

1) 公益財団法人結核予防会結核研究所抗酸菌部
〒204-8533 東京都清瀬市松山3-1-24
2) 国立健康危機管理研究機構国立感染症研究所
ハンセン病研究センター
〒189-0002 東京都東村山市青葉町4-2-1

1) Department of Mycobacterium Reference and Research, Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association
(3-1-24 Matsuyama, Kiyose, Tokyo 204-8533 JAPAN)
2) Leprosy Research Center, National Institute of Infectious Diseases
(4-2-1 Aoba, Higashimurayama, Tokyo 189-0002 JAPAN)

える。抗酸菌は新種登録により年々その数を増している。

われわれが2023年に正式登録した *Mycobacterium kiyosense* species nova (species nova は「新種」の意味) は、元々1981年に日本の肺疾患患者から初めて分離された、同定されていない非結核性抗酸菌として、IWGMT90018 という識別番号が与えられていた。IWGMT は、International Working Group for Mycobacterial Taxonomy (抗酸菌分類国際研究班) の略称である。その点で、IWGMT の散発的分離は報告されていたが、2020年頃結核研究所で保管している IWGMT90018 を整理したところ、すでに10株を超える数が保管されていたので、正式に登録することを前提として同定を行ったのが登録の経緯である。名称を清瀬にちなんだものとしたのは、われわれが登録に使用した臨床分離株の最初の分離症例が、結核予防会複十字病院 (在東京都清瀬市) の症例であったためである。

Ⅱ. *Mycobacterium kiyosense* sp. nov. の説明的定義 (descriptive definition) ⁵⁾

定型的抗酸性を有する。Middlebrook 7H10 寒天培地または小川培地上で、37℃で14日間培養後に発育を認める。指摘発育温度は37℃である。培地に発育したコロニーはスムーズ型で、光源への曝露の有無を問わずオレンジ色の色素を産生する

(scotochromogenic, Runyon II) (図1)。生化学的特徴として、硝酸還元試験陰性、ウレアーゼ活性陰性、Tween 80 加水分解試験陰性、ピクリン酸耐性試験陰性、アリルスルファターゼ試験3日目陰性・14日目陽性、カタラーゼ試験 (68℃) 陽性、半定量カタラーゼ試験陽性である。薬剤感受性は、Clarithromycin (CAM) および Rifampicin (RFP) に高度感受性であり、Ethambutol に中等度の耐性を示す。α-ミコール酸、メトキシミコール酸、ケト-ミコール酸を有する。*M. viciniigordoniae*、*M. paragordoniae* および *M. gordonae* に対する ANI (Average Nucleotide Identity) は、各々 86.7%、82.5% 及び 82.2% である。

規準株である IWGMT90018-18076^T (肩付きの T は Type strain の意味) (=JCM 34837^T =KCTC 49725^T) はゲノムサイズが 6,346,450 bp (GC 含量 67.1%) である。完全長ゲノムシーケンスは、アクセス番号 AP025179.1 で GenBank/EMBL/DBJ からダウンロード可能である。

Ⅲ. *M. kiyosense* の生理学的及び生化学的特徴

生理学的特徴を解析するため、原著では IWGMT90018-18076^T 株、*Mycobacterium fortuitum* subsp. *fortuitum* JCM 6367^T、*M. gordonae* ATCC 14470^T、*M. paragordoniae* JCM 18585^T、*M. kansasii* JCM 6379^T、'*Mycobacterium avium* subsp. *hominisuis*' TH135、および *Mycobacterium tuberculosis* var. BCG

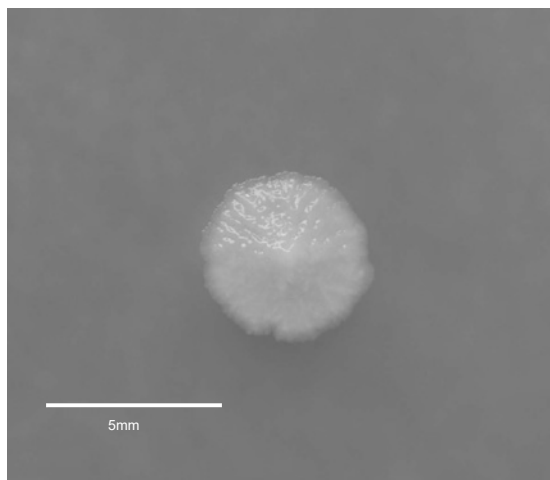
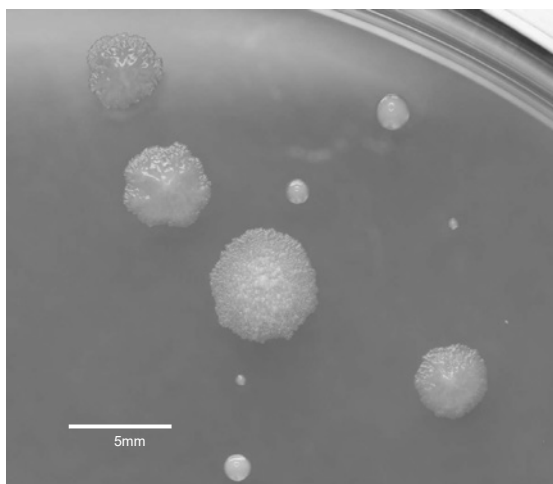


図1 *Mycobacterium kiyosense* (発育15日目)

(図1は巻末カラーで掲載しています)

Pasteur が使用されている。これらの株は、コロニー形態の観察のため 2% 小川培地（極東製薬）に 2 週間継代培養された。色素産生および光発色性試験も、同じく 2% 小川培地を用いて実施されている。また、これらの株は 30℃、37℃、42℃ で 4 週間継代培養され、最適な増殖温度が調べられた。

同様に、生化学的試験としてカタラーゼ（68℃）試験、半定量カタラーゼ試験、硝酸塩還元試験、ウレアーゼ試験、Tween 80 加水分解試験、ピクリン酸培地発育能、ならびにアリルスルファターゼ試験（3 日法および 14 日法）を実施している。各菌株の生理学および生化学的特徴を表 1 に示した。

IWGMT90018-18076^T 株は、継代培養後 2 ～ 3 週間で滑らかな scotochromogenic なコロニーを形成した。菌体の増殖は 30℃ および 37℃ で確認され、至適増殖温度は 37℃ であった。

IV. *M. kiyosense* の脂肪酸・ミコール酸分析

IWGMT 90018-18076^T 株の脂肪酸メチルエステル

(FAME) プロファイルは、*M. gordonae* との類似指数 (similarity index) は 0.679 であり、主要な脂肪酸メチルエステルは C_{16:0}（パルミチン酸：37.71%）と C_{18:1 ω 9c}（オレイン酸：29.5%）であったとされている。同様にミコール酸の分析では、*α*-mycolate、methoxy-mycolate および keto-mycolate の含有が確認されている。

V. *M. kiyosense* の遺伝学的特徴

16S rRNA 遺伝子系統樹、全ゲノム解析 (WGS)、ANI に基づき、原著に示された 16 株は *M. gordonae* complex に属する新種であるとされている。病原性因子の比較解析において、*M. gordonae* complex の中で、*mgtC* 遺伝子を保持していたのは *M. kiyosense* のみであり、*mgtC* 遺伝子は *Salmonella typhimurium* のマクロファージ内生存に必要であることが知られている。その後の研究により、*M. tuberculosis* にも *mgtC* のオルソログ（相同遺伝子）が存在することが確認されており、ヒトマクロファージ内やマウス感染モデルでの

表 1 *Mycobacterium kiyosense* の生理学的特徴と他菌種との比較

Characteristic	IWGMT 90018-18076	<i>M. gordona</i> ATCC14440	<i>M. paragordona</i> JCM18585	<i>M. kansasii</i> JCM6379	<i>M. avium</i> TH135	<i>M. fortuitum</i> JCM6387	BCG Pastuer
Growth speed	Slow	Slow	Slow	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Growth at:							
30℃	+	+	+	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
37℃	+	+	-	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
42℃	-	-	-	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Pigmentation	SC	SC	SC	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Colony morphology	Smooth	Smooth	Smooth	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
Catalase at 68℃	+	+	+	+	N.E.	N.E.	-
Semiquantitative Catalase	+	+	+	+	N.E.	N.E.	N.E.
Nitrate reductase	-	-	+	+	-	N.E.	N.E.
Urease activity	-	-	+	+	-	N.E.	N.E.
Tween 80 hydrolysis	-	+	-	+	-	N.E.	N.E.
Picric acid tolerance	-	-	-	N.E.	-	+	N.E.
Arylsulfatase:							
3 days	-	-	-	N.E.	-	+	N.E.
14 days	+	-	-	N.E.	-	+	N.E.

SC: Scottochromogenic, N.E.: Not evaluated

生存に重要であると考えられている。従って、*mgtC* 遺伝子を持つ唯一の種である *M. kiyosense* は、他の *M. gordonae* complex とは異なる生物学的特性および病原性を有する可能性があると考えられている。

VI. *M. kiyosense* の臨床症例報告

M. kiyosense 同定に使用された IWGMT90018 は、元々日本国内の 12 人の患者の喀痰または気管支肺胞洗浄液から分離されたものであり、同定不能ということで結核研究所抗酸菌部に同定依頼のあった臨床分離株である。この事実から、主に気道感染症を引き起こす可能性が考えられる。

症状 1) Yamada らは 2024 年に *M. kiyosense* による NTM-PD を診断した症例を報告している⁶⁾。それによると、56 歳の免疫的には正常と考えられる女性が検診で胸部レントゲンに異常所見を指摘され、著者らの病院を受診した。症状としては軽度の喀痰が認められるのみで、病歴上特記すべき事項もなかった。抗 GPL コア抗体（キャピリア MAC, タウンズ）は陰性であり、胸部 CT 上左肺中下肺野に多発性の結節影を認めている。小葉中心性の結節で、気管支拡張を伴っていた。喀痰から抗酸菌が 2 回分離されたが、MALDI TOF-MS でも菌種同定に至らなかった。16S rRNA のホモロジー検索では、*M. asisticum* に 99.51%、*M. vicinigordonae* に 99.28%、*M. gordonae* に 99.09% の相同性が認められたが、種の同定には至らなかった。3 か月の経過観察中にわずかな増悪が認められ、気管支鏡検査が実施され、気管支洗浄液から分離された株は喀痰から分離された株と同じ薬剤感受性パターンを示したため、結核研究所抗酸菌部にてゲノム解析を行い、ANI から *M. kiyosense* と同定された。NTM-PD の診断基準に適合することとなったが、治療に関するエビデンスに欠けること、患者の病態が安定していることを理由に、いわゆる「watchful waiting」となった症例である。薬剤感受性試験（Minimum Inhibitory Concentration: MIC）では CAM、RFP、Levofloxacin (LVFX) および EB に感受性と報告されている。

症状 2) 都丸らは 2024 年に菌状息肉腫の 70 歳女性における *M. kiyosense* の感染例を報告している⁷⁾。現病歴として、菌状息肉腫に対するステロイド外用薬の使用と光線療法にて加療中であった。定期

的に CT にて経過観察中に Th5-6 の溶骨性変化を認めている。同病変に対して生検を施行し、乾酪壊死と多核巨細胞を伴う肉芽腫形成を認めている。また、胸部 CT にて右肺に炎症性病変が認められ、肺結核と結核性脊椎炎が最初疑われた。血液検査では白血球 7,260/mm³、CFP 0.12 mg/dl、赤沈 30 mm/h と軽度の炎症反応を認めている。IGRA 検査では T-SPOT TB（オックスフォードイムノテック）および QuantiFERON TB Plus（キアゲン）の両方で判定保留であった。生検標本の抗酸菌培養にて陽性となり、MALDI TOF-MS でも同定不能であった。全ゲノム解析で ANI から *M. kiyosense* と同定されている。CAM および RFP 感受性と考えられ、CAM+RFP+EB にて治療を行い、症状および CT 所見の改善を認めている。治療 1 年を経過した時点で再燃は確認されていない。

以上のように、肺内、肺外ともに感染症としての基準を満たすと思われる症例が報告されており、ヒトに対して病原性があると考えられる。

VII. *M. kiyosense* の薬剤感受性

原著では、臨床分離株 9 株の MIC を測定している（CLSI 準拠）。方法としては微量液体希釈法である。結果は表 2 に示すとおりで、EB に中程度耐性と考えられている。

五十嵐らが規準株を含む *M. kiyosense* 14 株の MIC を測定して報告している⁸⁾。当該菌種が Runyon II の遅発育性抗酸菌であることから、CLSI M24 3rd ed に準拠して Cation-adjusted Mueller-Hinton 培地に 5% OADC を添加した培地で薬剤の 2 倍希釈系列を作成して測定している。対象薬剤は CAM、azithromycin (AZM)、moxifloxacin (MFLX)、sitafloxacin (STFX)、amikacin (AMK)、kanamycin (KM)、minocycline (MINO)、doxycycline (DOXY)、isoniazid (INH)、linezolid (LZD)、EB、ethionamide (TH)、rifabutin (RBT) および RFP である。

各抗菌薬に対する MIC_{50/90} (μg/mL) はそれぞれ CAM が 1/4、AZM が 8/32、MFLX が 1/2、STFX が 0.25/1、AMK が ≤ 8/16、KM が 8/8、MINO が 4/8、DOXY が 4/8、INH が 4/ > 4、LZD が ≤ 2/ ≤ 2、EB が 8/8、TH が 2/2、RBT が ≤ 0.25/ ≤ 0.25、RFP が 0.5/1 であったと報告されている。CLSI の基準 (M24S)

表2 IWGMT90018 臨床分離株 9 株の最小発育阻止濃度

	CAM	RFP	RBT	INH	EB	STFX	MFLX	AMK	LZD
IWGMT90018-18076	1	0.5	0.25	8	4	0.5	0.25	4	4
1088	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	4	2	0.25	0.125	8	≤ 1
1383	0.5	0.25	≤ 0.125	8	4	0.25	0.25	8	8
1384	≤ 0.25	0.25	≤ 0.125	4	2	0.125	0.125	8	≤ 1
1385	≤ 0.25	0.25	≤ 0.125	4	1	0.25	≤ 0.0625	4	≤ 1
1386	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	4	2	≤ 0.03125	≤ 0.0625	4	2
1413	0.5	0.25	≤ 0.125	2	4	0.25	0.25	8	2
1595	2	0.5	≤ 0.125	8	4	0.5	0.25	8	4
1665	2	1	≤ 0.125	64	4	0.5	0.5	8	8

CAM: clarithromycin, RFP: rifampicin, RBT: rifabutin, INH: isoniazid, EB: ethambutol, STFX: sitafloxacin, MFLX: moxifloxacin, AMK: amikacin, LZD: linezolid

に当てはめた場合に耐性判定となった株は、MINO が 3 株、DOXY が 4 株、RFP が 1 株であったが、判定基準を持たない薬剤を除き、概ね良好な感受性を示したとされている。

おわりに

M. kiyosense を登録後、今回症例に示した 2 例を含めて 7 例での臨床検体からの *M. kiyosense* の分離同定を認めている。多くは呼吸器由来であるが、縦隔リンパ節生検検体や血液培養から陽性となった場合もあり、*M. gordonae* に遺伝的に近いとはいえ、同菌のように多くがコンタミネーションという訳ではなく、ほとんどは感染症として分離されていると思われる。定型的な病態は未だ不明であり、今後症例が蓄積されることによって治療法等に関する標準的知見が得られることが期待される。現時点（2025 年 4 月現在）でも同定には基本的に全ゲノム解析あるいは MLST（Multi-Locus Sequence Typing）を必要とするため、MALDI TOF-MS で同定不能の抗酸菌が検出された場合は、結核予防会結核研究所抗酸菌部細菌科までご連絡願いたい。

文 献

1) Namkoong H, Kurashima A, Morimoto K, Hoshino Y, Hasegawa N, Ato M, Mitarai S. Nationwide survey on the

epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacterial disease in Japan. *Emerg Infect Dis* 2016; 22(6): 1116–1117.
2) Hamaguchi Y, Morimoto K, Mitarai S. Laboratory-based surveillance of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease in Japan. *ERJ Open Res* 2024; 0: 00337-2024 [DOI: 10.1183/23120541.00337-2024].
3) Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. *The Mycobacteria*, pp597–603. *Bergey’s Manual of determinative bacteriology – 9th ed.* Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md. 2000.
4) List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. *Genus Mycobacterium*. <https://lpsn.dsmz.de/genus/mycobacterium> (last access on April 25, 2025).
5) Fukano H, Yoshida M, Kazumi Y, Sakagami N, Ato M, Mitarai S, Hoshino Y. Complete Chromosomal Genome Sequence of *Mycobacterium* sp. Strain IWGMT90018-18076. *Microbiol Resour Announc*. 2022 May 9:e0007822. doi: 10.1128/mra.00078-22.
6) Yamada K, Koyauchi T, Yokomura K, Fujita T, Sugiyama H, Shimota R, Shimura N, Matsumoto Y, Nakamura S, Chikamatsu K, Mitarai S, Suda T. Non-tuberculosis Mycobacterial Pulmonary Disease Caused by *Mycobacterium kiyosense*, a New Species. *Intern Med*. 2023 Nov 13. doi: 10.2169/internalmedicine.2785-23.
7) 都丸敦史, 小林 哲, 藤本 源, 岡野智仁, 齋木晴子, 鶴賀龍樹, 伊藤稔之, 古橋一樹, 小久江友里恵, 藤原拓海. *Mycobacterium kiyosense* による脊椎炎の 1 例. *結核* 2024; 99: 197–200.
8) 五十嵐ゆり子, 青野昭男, 近松絹代, 高木明子, 御手洗聡. *Mycobacterium kiyosense* の各種抗菌薬に対する最小発育阻止濃度. *日本臨床微生物学会雑誌* 2025; 35(S1): 321.

話題の感染症

Mycobacterium kiyosense について 御手洗 聡、深野華子

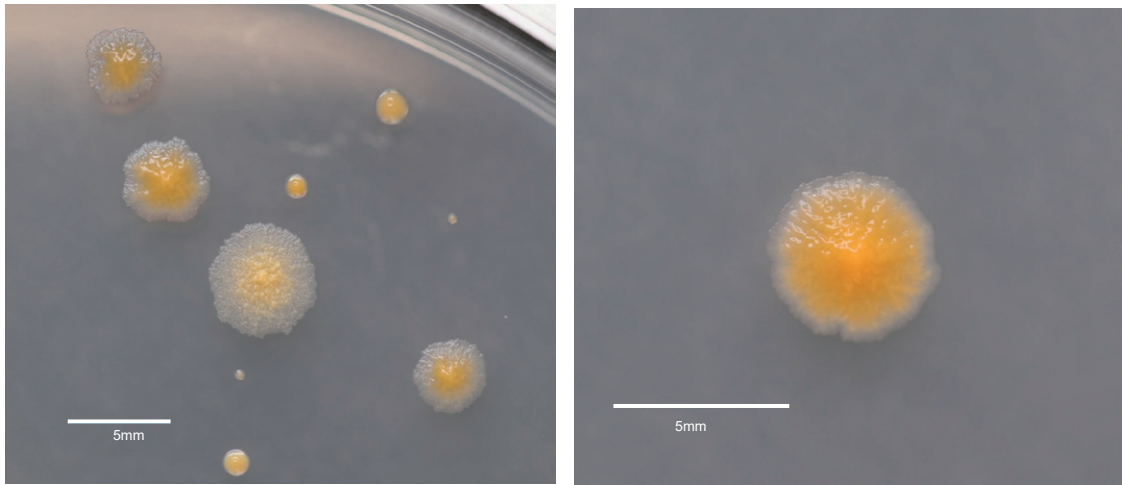


図 1 *Mycobacterium kiyosense* (発育 15 日目)