

2022年5月30日

## 病原真菌の新しい薬剤耐性化メカニズムを発見

SDGs3 に貢献 新種の白癬菌で見つかった白癬治療薬耐性菌を解析

帝京大学医真菌研究センター准教授 山田剛率いる日本の研究グループとスイス・ローザンヌにあるローザンヌ大学病院ならびにローザンヌ大学名誉教授 Michel Monod 率いるスイスの研究グループで構成される国際研究チームが、新種の白癬菌で見つかった白癬治療薬耐性菌から病原真菌の新しい薬剤耐性化メカニズムを発見しました。本研究成果は、SDGsの目標3（すべての人に健康と福祉を）達成への貢献が期待されます。

### 【本研究の背景】

近年、微生物感染症における薬剤耐性がグローバルな脅威となっています。薬剤耐性菌の拡大は、患者の生命はもとより、社会全体に対して直接または間接的に深刻な影響を与えます。真菌感染症の中でもとりわけ患者数が多く、わが国では国民病とさえ言われる白癬（水虫）においても、原因となる白癬菌の薬剤耐性化の波が世界的規模で広がっており、薬剤耐性菌の疫学調査ならびに耐性化メカニズムの解明が急務となっています。そのような状況の中、数年前から山田准教授とスイスの Monod 名誉教授を中心とする国際研究チームは、アジアからヨーロッパへと拡大しつつある新種の白癬菌 *Trichophyton indotineae*（以下、*T. indotineae*）で見つかったアゾール系抗真菌薬<sup>1)</sup>（以下、アゾール）の耐性株における薬剤耐性化メカニズムの解析を進めてきました。

### 【本研究の概要】

本研究チームは、2種類のアゾール（イトラコナゾールとボリコナゾール）に対する薬剤感受性調査で見つかった4つのアゾール耐性株、そして2つのアゾール感受性株（TABLE 1）を材料に用いて、*T. indotineae*における薬剤耐性化メカニズムの解析を

TABLE 1 Phenotypic and genotypic characteristics of *T. indotineae* isolates used in this study

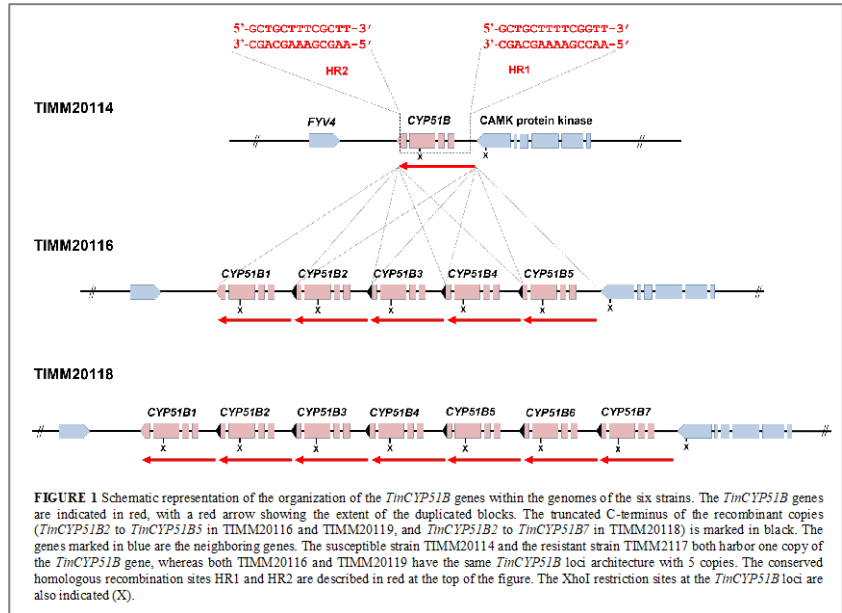
Species and isolate no. <sup>a</sup>	Amino acid substitution in SQLE	ITC MIC <sub>80</sub> (μg/ml)	VRC MIC <sub>80</sub> (μg/ml)	Fold expression of <i>TinCYP51B</i> (mean ± SD) <sup>b</sup>	<i>TinCYP51B</i> copy number within genome
<i>T. indotineae</i>					
TIMM20114 (UKJ1676/17; IFM 67092)	Ala448Thr	0.06	0.015	1	1
TIMM20115 (UKJ1700/17; IFM 67093)	Phe397Leu	0.06	0.03	1.1 ± 0.4	1
TIMM20116 (UKJ1708/17; IFM 67094)	Ala448Thr	1.0	1.0	34.0 ± 5.3	5
TIMM20117 (200087/18; IFM 67095)	Ala448Thr	0.5	0.5	9.6 ± 0.7	1
TIMM20118 (UKJ1687/17; IFM 67096)	Phe397Leu	0.5	1.0	35.0 ± 12.1	7
TIMM20119 (200123/18; IFM 67097)	Phe397Leu	1.0	1.0	68.5 ± 25.3	5

<sup>a</sup>All strains were from a previously published resistance study in India, with the numbering in bold (7). They were then preserved in the culture collection of Teikyo University Institute of Medical Mycology (TIMM) and Medical Mycology Research Center, Chiba University (IFM), through the National Bio-Resource Project, Japan (<http://www.nbrp.jp/>).

<sup>b</sup>Results represent expression levels from three independent real-time PCR experiments. Expression levels of *TinCYP51B* genes were indicated as relative fold changes compared to the CT mean of the data from TIMM20114.

行いました。過去に白癬菌で報告されている2つの薬剤耐性化メカニズム、(1) 薬剤の作用標的分子に生じたアミノ酸変異、(2) 薬剤を細胞外に排出する薬剤排出トランスポーターの過剰発現、との関連を明らかにすることを出発点とし、分子生物学、遺伝学、遺伝子工学などの技術を駆使した解析を実施しました。

解析の途中で、出発点とした上記 2 つの薬剤耐性化メカニズムの関与を否定するデータが得られ、新しい薬剤耐性化メカニズムが存在する可能性が示唆されたため、別の角度から解析を進めていった結果、すべてのアゾール耐性株においてアゾールの作用標的分子<sup>2)</sup>の 1 つである CYP51B (lanosterol 14 $\alpha$ -demethylase) の過剰発現が確認されました。CYP51B の過剰発現の原因を突き止めるために、これら株の全ゲノムシーケンス解析を実施し、CYP51B をコードする *CYP51B* 遺伝子が座乗する *CYP51B* 遺伝子座を解析したところ、2 つのアゾール感受性株 (TIMM20114、TIMM20115) とアゾール耐性株 TIMM20117 の *CYP51B* 遺伝子座には *CYP51B* 遺伝子が 1 コピーで存在するのに対し、2 つのアゾール耐性株 TIMM20116 および TIMM20119 では 5 コピーの、そして TIMM20118 では 7 コピーの *CYP51B* 遺伝子がタンDEMリピート化<sup>3)</sup>した状態で *CYP51B* 遺伝子



座に存在することが判明しました (FIGURE 1、TABLE 1)。本解析結果、更に RNA 干渉<sup>4)</sup>技術を用いた解析結果などから、これらの *T. indotinea* がアゾール耐性化した主な原因は、*CYP51B* 遺伝子に繰り返し重複が起こり、ゲノム上でタンDEMリピート化したことで生じた *CYP51B* 過剰発現であると結論づけられました。

### 【本研究の展望】

本研究成果は、薬剤耐性菌対策の強化に資するものであり、SDGs の目標 3 (すべての人に健康と福祉を)、特にターゲット 3.3 の達成に役立てられるものと期待されます。

### 【論文掲載】

本研究は以下の国際雑誌に掲載されました。

著者名 : Yamada T, Yaguchi T, Maeda M, Alshahni MM, Salamin K, Guenova E, Feuermann M, Monod M.: Gene amplification of *CYP51B*: a new mechanism of resistance to azole compounds in *Trichophyton indotinea*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.

DOI: 10.1128/aac.00059-22.

掲載日 : 2022 年 5 月 12 日にオンライン版が掲載

#### 【用語の解説】

- 1) 真菌の lanosterol 14 $\alpha$ -demethylase を阻害し、真菌細胞膜の重要な構成成分であるエルゴステロールの合成を阻害する真菌症治療薬です。
- 2) 薬が特異的に作用し、機能が抑制される分子です。
- 3) 同じ遺伝子が隣り合って繰り返し存在することです。
- 4) 2本鎖 RNA がいくつかのタンパク質と複合体を作り、相同な塩基配列をもつ mRNA と特異的に対合し切断することによって遺伝子の発現を抑制してしまう現象です。RNA 干渉は、遺伝子の機能を人為的に抑制することへの応用が可能であり、汎用性のある遺伝子の機能解析ツールとして利用できます。

#### 【助成金】

本研究は、財団法人発酵研究所一般研究助成 (IFO Research grant GK-2020-1-026)、および千葉大学真菌医学研究センター共同利用・共同研究 (Grant 21-11) の助成によって行われました。

#### 【問い合わせ先】

帝京大学 本部広報課

〒173-8605 東京都板橋区加賀 2-11-1

TEL : 03-3964-4162

E-mail : kouhou@teikyo-u.ac.jp

※本リリースは、文部科学省記者会、科学記者会等に配信しております。