







学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 721 号	氏名	Khangai Ayush
審査委員会委員	主査氏名	平松 和史	
	副査氏名	伊東 弘樹	
	副査氏名	寺村 健	
論文題目			
<p>Exploring Alternative Treatment Choices for Multidrug-Resistant Clinical Strains of <i>Helicobacter pylori</i> in Mongolia          (モンゴルにおける多剤耐性ヘリコバクター・ピロリに対する代替除菌療法の検討)</p>			
論文掲載雑誌名 Microorganisms			
論文要旨			
<p>背景：胃がんなどに関連する <i>Helicobacter pylori</i> は、菌の薬剤耐性化によって人類の健康に重大な影響を及ぼす 16 の病原体の一つとして、問題視されている。本研究では、モンゴルで分離された耐性 <i>H. pylori</i> を含む菌株に対する furazolidone (FUR)、rifabutin (RFB)、ciprofloxacin (CIP)、moxifloxacin (MOXI) の抗菌力を検討した。</p> <p>方法：以前の研究で、モンゴルで分離され、amoxicillin、clarithromycin、metronidazole、levofloxacin (LVF)、minocycline の薬剤感受性を測定した 361 株を用いて、FUR、RFB、CIP、MOXI の最小発育阻止濃度 (MIC) を検討した。さらに、このうちの 229 株を用いて全ゲノム配列を決定し、キノロン系薬や RFB 耐性に関連する遺伝子の解析を行った。</p> <p>結果：対象となった患者は平均 44 歳であり、26.9% が男性患者から分離された菌株であった。検討した 361 株の FUR に対する耐性率は 0%、RFB に対する耐性率は 0.5% と非常に低く、さらにすべての株で FUR の MIC は 0.5 µg/ml 以下であった。以前の研究で検討した 5 薬剤の抗菌薬感受性結果から、5 剤すべてに感性であった 20 株、1 剤耐性 21 株、2 剤耐性 20 株、3 剤耐性 20 株、5 剤耐性 10 株、計 91 株の <i>H. pylori</i> を選択し、CIP 及び MOXI の MIC を測定した。検討したすべてのキノロン系薬で同等の耐性率を示していた (LVF : 44%、CIP : 43%、MOXI : 42%)。キノロン系薬の薬剤感受性検査を行った 91 株のうち 77 株を含む 229 株の全塩基配列を解析した。塩基配列の解析は <i>H. pylori</i> 26695 株と 9 薬剤すべてに感性であった 10 株を reference として行った。RFB の MIC が 4 µg/ml であった株で、<i>rpoB</i> 遺伝子に D530N と R701C の変異を認めていた。キノロン耐性においては、<i>gyrA</i> 遺伝子の N87KI や D91G/Y/N が LVF、MOXI、CIP の耐性と有意に関連していた。また <i>gyrA</i> 遺伝子の V199I や N660D 変異も統計上キノロン耐性に関連していると考えられた。一方で、8 株のキノロン耐性株は <i>gyrA</i> や <i>gyrB</i> のキノロン耐性決定領域に変異を認めなかった。</p> <p>結論：RFB や FUR は多剤耐性 <i>H. pylori</i> に対して有用である可能性が示された。また LVF を含む治療に不応である場合は、同系統のキノロン系薬である CIP や MOXI を代替薬として使用することは避ける必要がある。</p> <p>本研究によってモンゴルにおける <i>H. pylori</i> の感受性状況やその耐性遺伝子が明らかになった。こうした研究は、モンゴルにおける薬剤耐性の <i>H. pylori</i> 感染症に対する新しい治療法の開発に重要な役割を果たすものと考えられた。このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験  
の結果の要旨  
学力の確認

審査区分 課・論	第721号	氏名	Khangai Ayush
審査委員会委員	主査氏名	平松 和史	
	副査氏名	伊東 弘樹	
	副査氏名	寺林 健	

学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。

1. 本論文における多剤耐性の定義を説明しなさい。
2. モンゴルでは *H.pylori* 感染症以外の通常の感染症に対して、どのような抗菌薬が使用されることが多いのか。
3. 胃内視鏡検査を実施する4週間以内に H<sub>2</sub> ブロッカーを投与していた患者を本研究では除外しているが、その理由を説明しなさい。
4. リファンピシンではなく、リファブチンを本研究で用いた理由は何か。
5. フラゾリドンはその毒性が理由で、人への使用ができない国が多い。今回の研究で本剤を検討対象とした理由を説明しなさい。本剤の毒性をどのように考えているか。
6. *ParC* 遺伝子の変異について検討を行っているか。
7. 論文中の臨床的ブレイクポイントと耐性のカットオフ値が異なるのは、どのような意味があるのか。
8. モンゴルにおいて、*H.pylori* の薬剤耐性率が高い主な理由は何か。
9. 生検をサンプルしたモンゴル国内の地域によって、*H.pylori* の薬剤耐性率に違いはあるのか。
10. メトロニダゾールの耐性率が高い理由は、何が考えられるか。
11. キノロン耐性 *H.pylori* の世界での分布はどうなっているか。
12. 解析を行った *H.pylori* 361 株から、どのようなクライテリアで初回解析に用いた 91 株を選択したのか。
13. キノロン耐性 *H.pylori* から同定された *gyrA* 遺伝子における変異によって、なぜジャイレースはキノロン抵抗性となるのか。
14. リファブチン耐性 *H.pylori* から同定された *rpoB* 遺伝子における変異によって、なぜ RNA ポリメラーゼはリファブチン抵抗性となるのか。
15. モンゴルにおける薬剤耐性 *H.pylori* に対するリファブチンやフラゾリドンの潜在的有用性を示したことがこの論文の医学分野における貢献であるが、科学的新規性はどのようなものがあるのか。

これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 Khangai Ayush

## 論 文 題 目

Exploring Alternative Treatment Choices for Multidrug-Resistant Clinical Strains of *Helicobacter pylori* in Mongolia

(モンゴルにおける多剤耐性ヘリコバクター・ピロリに対する代替除菌療法の検討)

## 要 旨

**Background:** Since *Helicobacter pylori* was discovered, it has emerged as one of 16 antibiotic-resistant pathogens that pose the most serious threat to human health, due to its resistance. In this study, we determined the potency of furazolidone (FUR), rifabutin (RFB), ciprofloxacin (CIP), and moxifloxacin (MOXI) against clinical multidrug-resistant *H. pylori* isolates from Mongolia. **Method:** We determined the minimum inhibitory concentration (MIC) for FUR, RFB, CIP, and MOXI by 2-fold agar dilution method in 361 isolates that had previously been tested MIC for amoxicillin, clarithromycin, metronidazole, levofloxacin (LVF), and minocycline. Later, we performed full-genome sequencing for 229 (63% of total) isolates and analyzed. SPSS Statistics version 25.0 used for statistical significance. **Results:** The age of participants was  $44.3 \pm 13.4$  (mean  $\pm$  SD) years, and 26.9% (94/361) were male. The MIC of FUR and RFB were tested in all isolates and resistance was very low: 0% (no isolate) and 0.5%

(two isolates), respectively. Interestingly, all isolates were less than 0.5 µg/mL (100%) for FUR, and less than 0.06 µg/mL (99.1%) for RFB. Furthermore, to save time and effort, 91(25%) *H. pylori* strains were randomly selected based on previous antimicrobial resistance: one antibiotic, two antibiotics, three antibiotics, five antibiotics, and sensitive to all antibiotics were 21, 20, 20, 10, and 20, respectively. We found that *H. pylori* strains exhibited a similar level of resistance to all quinolone antibiotics (LVF, 44%; CIP, 43%; and MOXI, 42%) that was consistent across sexes. Among these strains, 49 were sensitive, and 42 were resistant to quinolones. *H. pylori* 26695 and 10 *H. pylori* sensitive strains to all nine antibiotics used as reference and analyzed the full genome sequence of 229 (63%) strains, including 77 (85%) of selected 91 strains. We found D530N and R701C from the *rpoB* gene in strain UB217 (MIC 4.0 µg/mL), while strain Ke9 (MIC 8.0 µg/mL) had hypothetical mutations in **Table 1**. In addition, two strains (strains UB75 and Kh67) had V538I mutations, that were reported to be resistant to RFB; however, both strains were sensitive to RFB. Within 78 sequences, the *gyrA* mutations N87K/I ( $p < 0.0001$ ) and D91N/Y/G ( $p < 0.0001$ ) were significantly associated with CIP, MOXI, and LVF resistance. There were also hypothetical mutations, V199I ( $p < 0.012$ ) and N660D ( $p < 0.005$ ) in **Table 1** that were significantly associated with resistance but also 8 resistant strains without significant mutations in *gyrA*. **Conclusion:** The potency of RFB, and FUR against multidrug resistant clinical strains was satisfactory. Also, results suggest that if patients do not respond to LVF including regimen, further treatment with same group antibiotics such as CIP, and MOX might need to be carefully considered.