

表 1.主にアジア諸国で分離された結核菌の *rpoB* 遺伝子の変異

アミノ酸置換	菌株数(%)	分離地(菌株数)
RFP 耐性		
Leu 511 Pro	1 (1.1)	Nep(1)
Gln 513 Pro	5 (5.6)	Mal(1),Mya(1),Thai(2),Yem(1)
514 Phe ins.	2 (2.2)	Mal(1),Yem(1)
Asp 516 Tyr	1 (1.1)	Mal(1)
Asp 516 Val	12 (13.3)	Ban(1),Mal(2),Mya(2),Nep(1), Thai(2),Yem(4)
Ser 522 Leu	1 (1.1)	Yem(1)
His 526 Arg	3 (3.3)	Can(1),Thai(2)
His 526 Asp	4 (4.4)	Ind(1),Mya(1),Thai(2)
His 526 Tyr	8 (8.9)	Indn(1),Mal(2),Mya(1),Phi(1), Thai(1),Yem(2)
Ser 531 Leu	46 (51.1)	Can(12),Mal(7),Mya(9),Phi(3), Thai(4),Yem(11)
Ser 531 Trp	2 (2.2)	Ind(2)
None	5 (5.6)	Ban(1),Ind(1),Mya(1),Thai(1), Yem(1)
RFP 感受性		
None	26 (100)	Ind(3),Indn(3),Kor(3),Mal(6), Mya(3),Thai(5),Yem(3)

表 2.RFP 耐性結核菌の *rpoB* の変異と Line probe 法の結果の比較

Line probe	菌株数	<i>rpoB</i> の変異(菌株数)
ΔS1	6	511 cCg (1), 513 cCa (5)
ΔS2	1	516 Tac (1)
ΔS3	1	522 tTg (1)
ΔS4	3	526 cGc (3)
ΔS5	2	531 tGg (2)
R2	12	516 gTc (12) (Asp→Val)
R4a	8	526 Tac (8) (His→Tyr)
R4b	4	526 Gac (4) (His→Asp)
R5	46	531 tTg (46) (Ser→Leu)
WT/R2	1	None
WT	6	514 TTC ins.(2), None (4)

結核菌 virulence の in vitro における評価に関する研究

分担研究者 小野寄菊夫 名古屋市立大学薬学部教授

BCG や結核菌の virulence を知ることは、ワクチンの開発、結核患者の治療や感染予防上重要である。本来、virulence は in vivo における菌の増殖や発症をもつて評価されるものである。しかし、感染動物実験を行うことは色々な問題がある。我々は、ヒト胎児由来2倍体肺線維芽細胞株を virulence の異なる BCG(Pasteur, Tokyo)株や結核菌株と培養後、IL-1 や TNF- α で処理すると、菌の virulence に比例して、細胞傷害が起こることを見いだしている。従って本実験系は、結核菌や BCG の in vitro における virulence の評価やワクチンの開発に応用できると考えられる。以上の知見をふまえ、本方法により臨床分離結核菌株の virulence の評価を試みた。薬剤感受性株、多剤耐性菌株を含む薬剤耐性株について調べた結果、感受性株、耐性株何れも H37Rv 株とほぼ同様な virulence を示した。更に、多剤耐性株について、カタラーゼ活性陽性と陰性株について比較したが、同様な virulence であった。以上の結果、本アッセイ系で見ると薬剤耐性結核菌も感受性菌も同等の virulence を持っていると考えられる。

A. 研究目的

BCG や結核菌の virulence を知ることは、ワクチンの開発、結核患者の治療や感染予防上重要である。本来、virulence は in vivo における菌の増殖や発症をもつて評価されるものである。しかし、感染動物実験は、時間がかかること、安全性に問題があること、多くの菌株については実際上調べるのが難しいこと、必ずしもヒトに対する反応性とは異なることなど、限界がある。我々は、ヒト胎児由来2倍体肺線維芽細胞株 (MRC-5, MRC-9) を virulence の異なる BCG(Pasteur, Tokyo)株と培養後、IL-1 や TNF- α で処理すると、菌の virulence に比例して、細胞傷害が起こることを見いだしている。更に、結核菌 H37Rv は、これらサイ

トカインに対して強い細胞障害性を誘導するが、H37Ra はほとんど障害性を誘導しなかった(1)。従って本実験系は、結核菌や BCG の in vitro における virulence の評価やワクチンの開発に応用できると考えられる。

今回は、以上の知見をふまえて、本方法により臨床分離結核菌株の virulence の評価を試みた。

B. 研究方法

96穴培養プレートに標的細胞をまき、細胞を付着させた後に菌を加え、16~18時間培養した。次に IL-1 又は TNF- α を加え2日間培養したのち、細胞をクリスタ

ルバイオレットで染色し、プレートリーダーで吸光度を測定した。

菌株は BCG の Pasteur、Tokyo 株及び、結核菌の強毒株 H37Rv、弱毒株 H37Ra 株の生菌、及びオートクレイブ死菌を用いた。また、臨床分離結核菌株を用いた。

結果のグラフの横軸は細胞当たりの菌数、縦軸は菌を加えず、かつ IL-1 や TNF- α を加えていない細胞の吸光度を 100% とし示した。

C. 研究結果

すでに報告したように、ヒト胎児肺由来 2 倍体線維芽細胞株 (MRC-5、MRC-9) を BCG、Tokyo、Pasteur 株、結核菌 H37Ra、H37Rv 株生菌で処理後 IL-1、または TNF で処理すると、用いた菌株の virulence に応じて細胞死が誘導された (図 1)。また、この現象は、死菌ではほとんど観察されなかった (図 2)。従って、MRC-5 や MRC-9 株は結核菌や BCG の in vitro での virulence の評価に応用できるものと考えられる。

そこで、臨床分離結核菌株について本法で見られる "virulence" について検討した。臨床分離株は、表 1 に示すように、薬剤感受性株 (DS-MTB)、多剤耐性株 (MDR-MTB) を含む薬剤耐性株 (DR-MTB) をもちいた。また、同時にカタラーゼ活性を測定した。カタラーゼ活性は、概して、DR-MTB において低かった。virulence については、DS-MTB、DR-MTB 間で差は認められなかった (図 3)。さらに、MDR-MTB の中には、カタラーゼ活性陽性、陰性株があるので、それについても比較した (図 4)。しかし、その間においても差は認められなかった。

D. 考察

以上の結果、本法で調べる限りにおいて、薬剤感受性結核菌、薬剤耐性結核菌、多剤耐性結核菌は同等の virulence を持っていると考えられる。更にカタラーゼ陽性、陰性多剤耐性菌も同等の virulence を持っていると考えられる。カタラーゼ活性の陰性化は INH 耐性のメカニズムの一つであることが明らかにされているが、本実験で用いた、INH 耐性菌にカタラーゼ活性因子菌が多いのは、それを裏付けている。カタラーゼ活性陰性の多剤耐性結核菌は、動物実験において virulence が低下しているとの報告があるが (2)、そうでは無く、virulence に多様性があるという報告もある (3)。ヒトでは多剤耐性菌の健常人への新たな感染が見られることから、ヒトにおいてはカタラーゼ活性陰性の多剤耐性結核菌も薬剤感受性菌と同等な virulence を持っている可能性がある。

E. 結論

本アッセイ系で見える限り、薬剤耐性結核菌も薬剤感受性菌と同等の virulence を持っており、治療や予防にあたっては、十分な注意が必要であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

T. Takii, C. Abe, A. Tamura, S. Ramayah and K. Onozaki In vitro evaluation of virulence of Mycobacterium Bovis BCG, Mycobacterium Tuberculosis and Clinically Isolates of multidrug-resistant M. Tuberculosis.

投稿中

2. 学会発表

1. 瀧井猛将、阿部千代治、小野寄菊夫.
結核菌・BCG virulence の in vitro 評価
法の開発 BCG・BRM 療法研究会誌 21、
31-36、1997.
2. T.Takii, C. Abe, A. Tamura, S. Ramayah
and K. Onozaki An in vitro method for
evaluation of virulence of mycobacteria.
U.S.-Japan Cooperative Medical Science
Program, Proc. thirty-third research conference
on tuberculosis and leprosy, 79-82, 1998.
3. 田村綾子、瀧井猛将、小野寄菊夫、阿
部千代治 結核菌・BCG virulence の in
vitro 評価法の開発 日本薬学会第 119
年会 発表予定 1999 年 3 月、徳島

表1 Characteristics of Clinical Isolates of MTB

Bacterial Strains	Catalase Activity*	Resistance to
<u>Drug Resistant Strains</u>		
MDR-1	(-)	INH, RFP, SM, CPM, EVM
MDR-2	(-)	INH, RFP, SM, EMB, KM, CPM, EVM, TH, PAS
MDR-3	7mm	INH, RFP
MDR-4	(-)	INH, RFP, SM, EMB, KM, CPM, TH, CS,PAS
MDR-5	9mm	INH, RFP, EMB, KM, TH, PAS
MDR-6	(-)	INH, RFP, EMB, KM, CPM, CS, PAS
MDR-7	1mm	INH, RFP, EMB
MDR-8	(-)	INH, RFP, SM, KM, CPM
MDR-9	4mm	INH, RFP, SM, EMB, KM, CPM
MDR-10	4mm	INH, RFP, SM
.		
DR-1	(-)	INH, EBM, PAS
DR-2	(-)	INH, EMB, PAS
DR-3	(-)	INH
DR-4	9mm	SM, CPM
DR-5	10mm	KM
<u>Drug Sensitive Strains</u>		
DS-1	16mm	
DS-2	7mm	
DS-3	10mm	
DS-4	19mm	
DS-5	4mm	
DS-6	10mm	
DS-7	7mm	
DS-8	18mm	
DS-9	12mm	
DS-10	6mm	
DS-11	11mm	

* Catalase activity was expressed as the height of generated bubble (O₂).

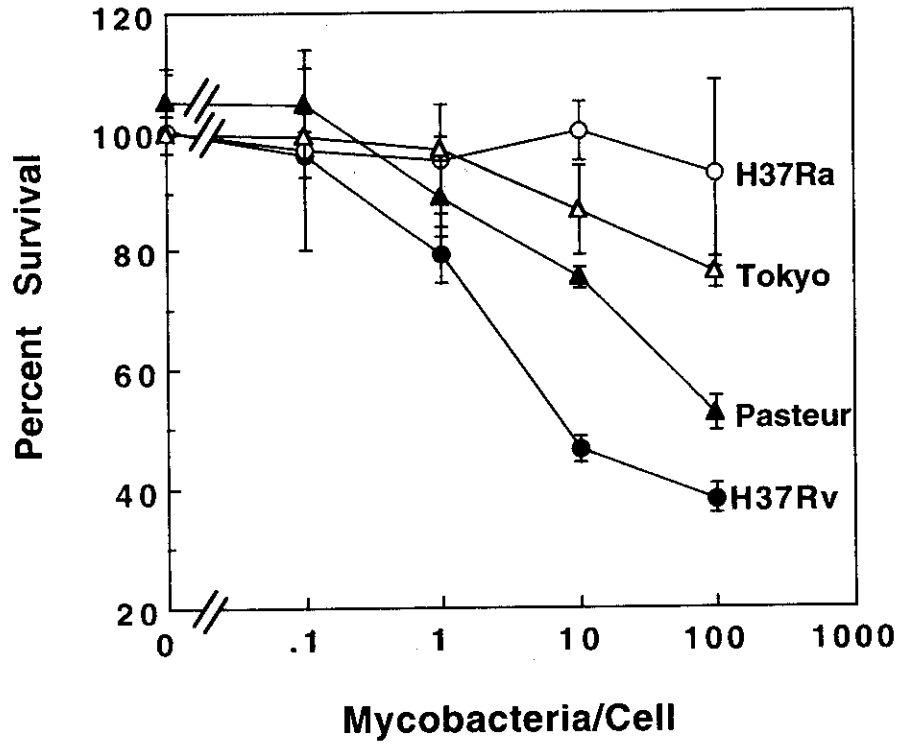
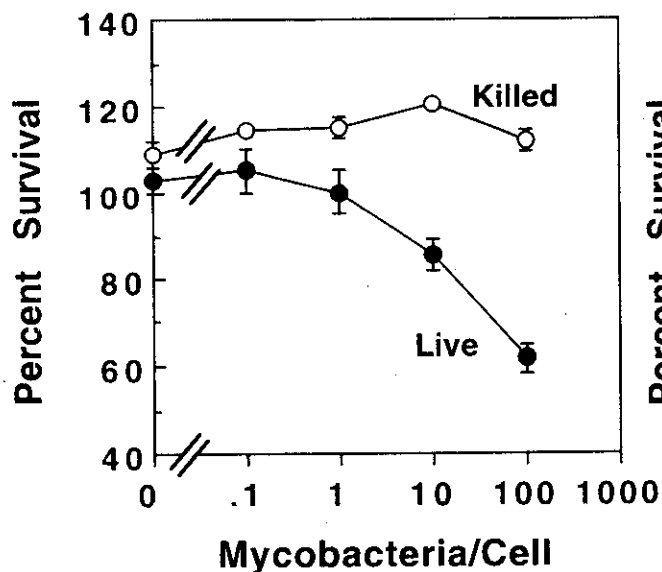
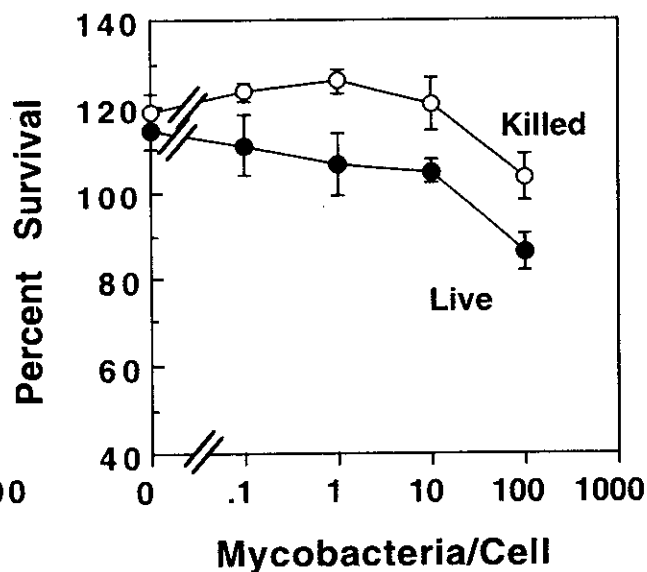


図1 ヒト胎児肺由来線維芽細胞株MRC-9における、virulenceの異なる *M. Tuberculosis* (H37Rv、H37Ra) とBCG株(Pasteur、Tokyo) のTNF感受性に及ぼす影響

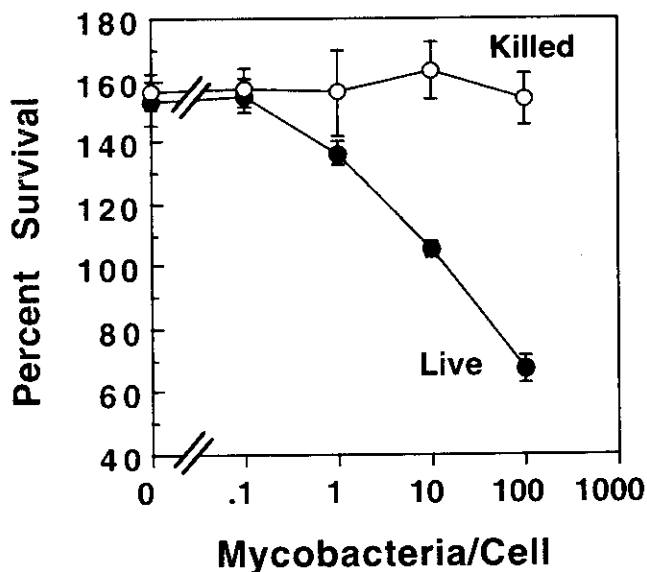
a) Pasteur-IL-1



b) Tokyo-IL-1



c) Pasteur-TNF



d) Tokyo-TNF

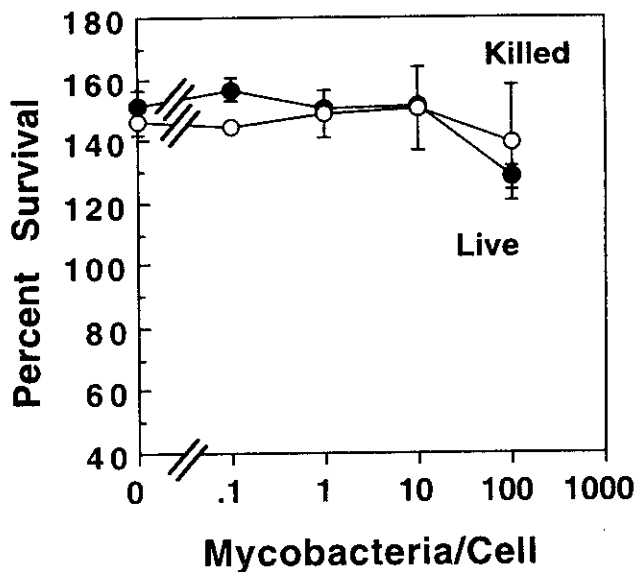
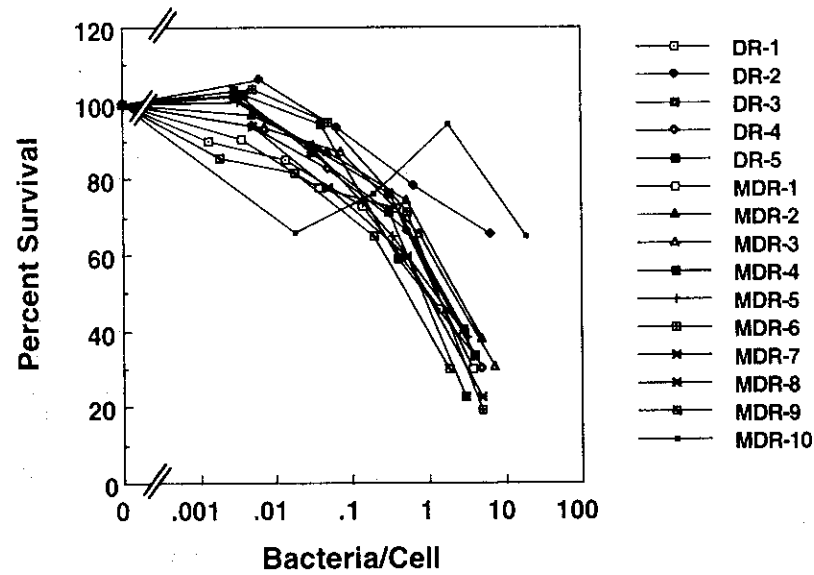


図2 ヒト胎児肺由来線維芽細胞株MRC-9における、virulenceの異なるBCG株 (Pasteur、Tokyo) のIL-1、TNF感受性に及ぼす影響

a) Pasteur株で前培養後、IL-1 (100 U/ml)添加 b) Tokyo株で前培養後、IL-1添加
 c) Pasteur株で前培養後、TNF (100 U/ml)添加 d) Tokyo株で前培養後、TNF を添加

a) MDR- and DR-MTB



b) DS-MTB

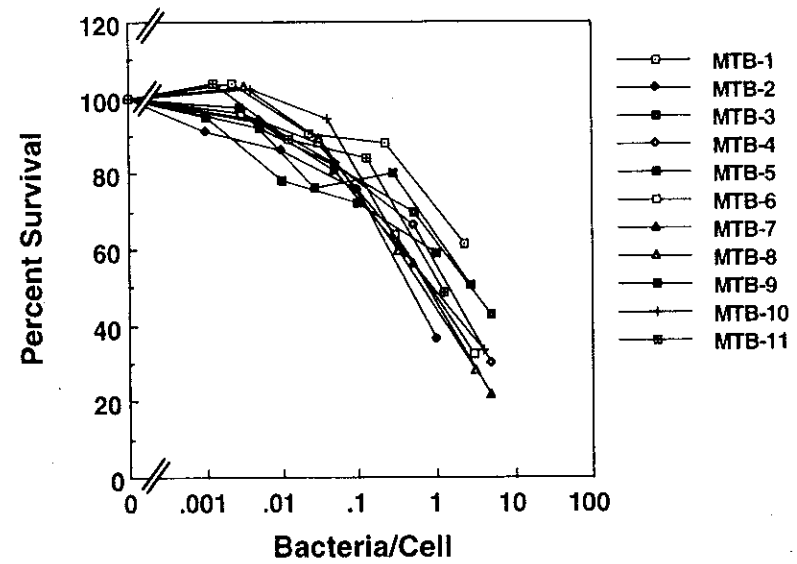
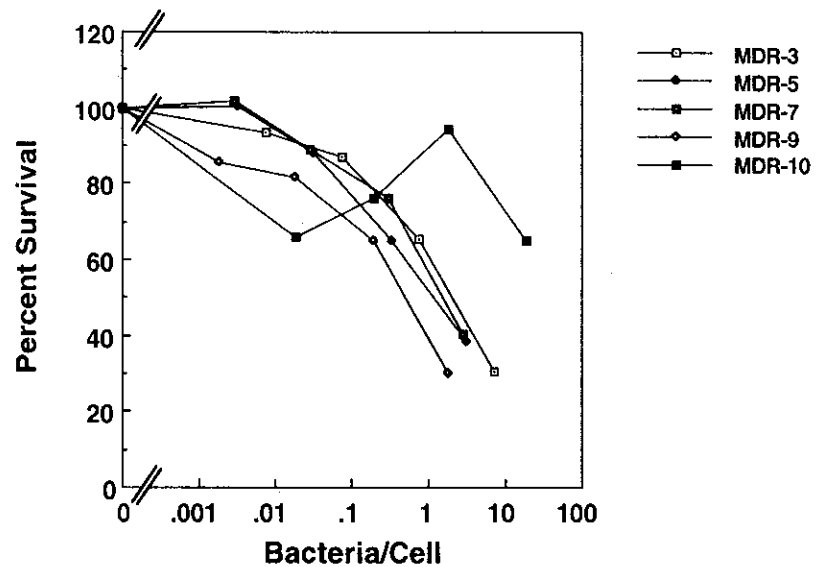


図3 MDR-,DR-,DS-MTBの比較

a) Catalase Positive MDR-MTB



b) Catalase Negative MDR-MTB

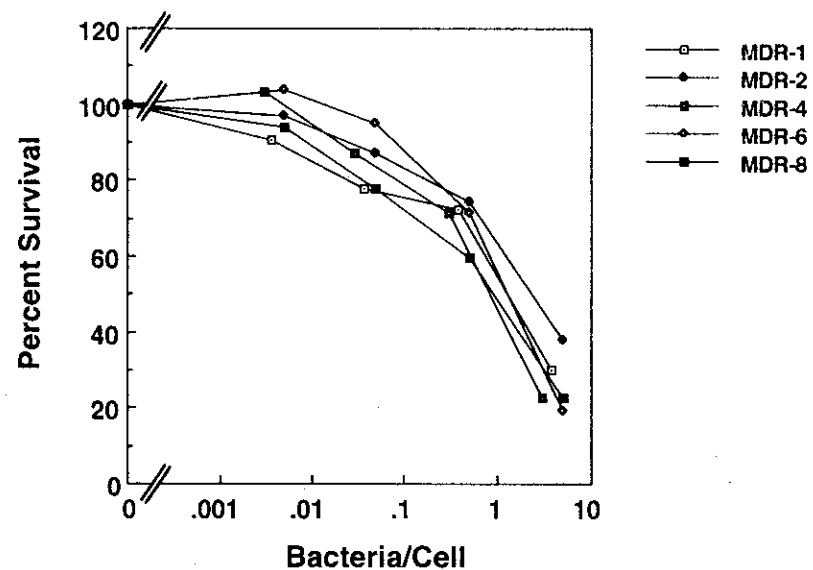


図4 カタラーゼ活性陽性、陰性MDR-MTB株の比較

多剤耐性結核における長期生存例に関する研究

分担研究者 毛利昌史 国立療養所東京病院病院長

研究協力者 佐藤紘二

研究要旨：

最近の報道によると日本での結核の発病者が、今までの減少傾向から一転して増加傾向に転じたと報じられた。これは、国民医療行政上由々しき状況である。なかでも多剤耐性結核の集団発生は、結核対策上重大な問題である。近年、当院には、常に20名前後の多剤耐性結核患者が存在している。これらの患者の殆どの症例が長期療養を余儀なくされているにもかかわらず全身状態は、それほど悪くはない。そこで、これらの患者の化学療法歴を辿ると共に、同じ結核患者であるにもかかわらず治癒した患者とこれらの患者との宿主としての免疫応答の違いをサイトカインの面より検討した。その結果、多剤耐性結核患者の殆どの症例が10回以上の予防法申請（35条または34条）がなされていた。しかし、耐性になったのは意外に早い時期であり、いわゆるtwo phase chemotherapyの重要性が再認識された。更に今回の小数例では、測定した個々のサイトカインについて多剤耐性患者と治癒患者との間に明らかな差は見られるには至らなかったが、症例数が増えれば差違が見られそうなサイトカインも存在している。このような中でTh1/Th2比および数個の測定項目のグラフパターンには、両者間に僅かな差が見られるが正確には症例が増えた時点で統計的判断をしなければならない。これは、両群間に結核菌に対する応答に差があることを示唆している。

A. 研究目的

多剤耐性結核患者の中には、急激な悪化を来すこともなく生き永らえていることが多々見られる。このような患者と支障無く結核治癒に至った症例との間にどのような違いが有るのか、発症以来の服薬状況は結核予防法申請書に基づき長期の服薬を把握した。他方宿主の結核菌に対する応答に関与するものとしては、種々のサイトカインを通して検討し、多剤耐性結核治療の一助とすることを目的にした。

B. 研究対象と方法

対象は、最近2年間に当院に入院或いは外来通院したことのある患者の中で少なくともINHとRFPの二剤以上の耐性結核菌患者19例と結核が略治癒した21症例である。疫学調査は患者からの詳細な聞き取り調査と保健所へ提出の予防法申請書に

基づくものとした。宿主の検体検査としては結核の発症と防御に関連する因子（IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-12, IgE, T細胞, B細胞, Th0細胞, Th1細胞, Th2細胞）を調べ、多剤耐性結核の特徴を把握し、順調に治癒した症例と比較して治療に役立つ要因がないか検討した。

C. 研究結果

当院の結核入院患者の断面調査（平成11年1月13日）では、入院患者数195名、この内訳は生活保護者49名、ホームレス32名、外国人15名でその他が通常の結核患者であった。この内の17名が多剤耐性結核患者であった。明らかに社会的弱者に集中してみられる。一方最近2年間の外来も含めた調査では、1剤以上の耐性菌結核でいわば多剤耐性結核の予備群と考えられる者が62症例あった。しかし、幸いなことにこれらの患者は、一部の遷

延排菌者を除いて順調な経過で排菌は陰性化していた。この間の多剤耐性結核は27名（入院拒否者と行方不明者を含む）で化学療法歴は、非常に長く予防法申請が長期に亘っていた。多剤耐性結核患者の中からアトランダムに抽出した症例でも表1に見られるように5年以上の化療のものが殆どである。化療の経過を見ても初回の治療は極く標準的な治療法で開始されているにもかかわらず延々と化学療法を続けなければならなくなった背景には、宿主側の医学的、社会的要因が大きく重なっていた。他方、医学的側面を結核関連サイトカインを通して検討した結果を末尾に図示した。厳格な統計的検定を行うには標本数が十分ではないので、ここでは実数のみを呈示するに留めた。今回測定 of サイトカイン類の内IL-4, IL-12およびTNF- α は、測定限界以下のことが多く各々2.0pg/ml未満、7.8pg/ml未満、5pg/ml未満のことが殆どで多剤耐性結核患者と結核治癒症例との間の比較が出来なかった。測定値が異なっていて標本の数を増すと有意差が出る可能性のあるものを順次グラフ表示した。T細胞とB細胞の割合を図1、図2に示した。グラフ中の左側の棒グラフ19本が多剤耐性結核のものでそれより右側は結核治癒症例のグラフである。殺菌上重要なマクロファージ機能活性化するのに必要なIFN- γ の血清中濃度を示したのが図3である。グラフの中の空白の所より左側が多剤耐性群であり、右側は結核治癒群である。一見差が有りそうだが数が少なくなんとも言えない。図4は結核肉芽腫形成に関与すると言われるTNF- α である。1症例だけ極端に大きい値のものがあるがその原因は不明である。図5、図6は各々CD4陽性ヘルパーT細胞中のTh1, Th2細胞百分率である。これはサイトカイン

産生パターンよりIFN- γ (+)でIL-4(-)をTh1細胞としIFN- γ (-)でIL-4(+)をTh2細胞としている。このTh1、Th2サブセットだけでははっきりしないがTh1/Th2比をみると図7のようになり両者のパターンはやや異なっているようにもみえる。しかし最終的には統計学的検定結果を待つて判断しなければならない。いずれにしろこれらのグラフで共通していることは、多剤耐性結核と結核治癒後のサイトカイン産生量に違いが有っても極く僅かであると見ることが出来る。

D. 考察

結核防御免疫は、T細胞の中でもTh1が主体であるとされ、Th1, Th2サブセットの概念が一般に受け入れられている。そこでIFN- γ はTh1の分化に必須の役割をすることが分かっているので感染抵抗性Th1細胞（抗原特異的IFN- γ 産生性T細胞）の誘導機構として抗原特異的T細胞を高いIFN- γ 産生性T細胞へ分化させることが必要になる。通常、生体内でTh1, Th2は相互に抑制し合うことによりバランスを保ち生体の恒常性を維持しているため、生体にとってこのバランスは重要な意味を有しているといえる。今回の検討でもTh1/Th2比では、多剤耐性結核症例と治癒例とのグラフパターンにやや違いが見られることは、二つのグループには結核に対する応答に少し違いが有るのかもしれない。動物実験で示されている図8を参照するとよく似た状況が考えられる。すなわちIFN- γ の動向が非常に重要である。

E. 結論

(1) 多剤耐性結核患者の化学療法歴は、殆どの症例において非常に長期に亘っている。

しかし、耐性菌となったのは比較的早い時期である。

(2) 多剤耐性結核患者では、排菌が在っているにもかかわらず誘導されるサイトカイン類および分化誘導される細胞に、すでに治癒した患者のデータと多少の違いは在るものの大きな差が見られなかつた。このことは、結核菌の抗原刺激があるにもかかわらずマクロファージの活性化に必要な抗原特異的なIFN- γ 産生が少ないことを示唆している。即ち多剤耐性患者では、抗結核防御免疫の誘導と発現機構が弱体化している可能性がある。

(3) 従って、夢の様な話ではあるが将来的には、多剤耐性結核患者に対する抗原特異的なIFN- γ によるサイトカイン療法も視野に入れておく必要がある。

F. 研究発表

学会発表

佐藤紘二、毛利昌史、他：多剤耐性結核患者が辿った化学療法歴。日本結核病学会総会。1999.

G. 知的所有権の取得状況

無し。

表1 多剤耐性結核患者と抗結核剤の治療歴

経過	症例	I	II	III	IV	V	VI
第1回		I.R.E.6	I.R.S.6	I.R.E.S.6	I.R.E.6	I.R.S.6	I.R.E.S.3
2		R.E.S.3	I.S.P.PA.6	I.R.E.S.6	I.R.E.6	I.R.S.E.1	I.R.E.S.3
3		R.E.6	I.S.PA.C.8	I.R.E.6	K.T.PA.6	S.E.T.6	I.R.S.6
4		I.E.S.T.6	I.S.E.C.6	I.R.E.S.6	K.T.PA.6	E.P.K.6	I.C.PA.6
5		I.E.S.T.6	I.R.E.P.8	I.R.E.S.6	K.T.P.PA.6	I.E.P.K.6	I.C.6
6		I.E.S.T.4	I.R.P.K.6	I.R.S.6	T.P.PA.V.6	E.P.K.6	I.R.E.6
7		I.E.T.6	I.P.K.6	I.R.E.S.6	T.P.V.PA.6	E.P.K.6	I.6
8		I.E.T.6	I.T.V.6	I.E.K.6	T.V.PA.6	E.P.K.6	I.P.C.K.3
9		I.T.PA.6	I.T.S.6	I.E.K.6	T.V.PA.6	E.P.1	I.C.P.K.3
10		P.T.PA.K.6	I.T.6	I.E.K.6	T.C.PA.6	I.E.P.6	I.C.K.6
11		P.K.PA.6	I.T.6	I.E.T.6	T.C.PA.6	I.E.P.S.6	I.T.K.6
12		P.S.PA.6	I.5	I.E.T.6	T.C.PA.6	T.PA.V.6	I.T.K.6
13		I.S.6	I.R.2	I.E.T.6	T.C.PA.6	T.PA.V.6	I.T.K.6
14		I.P.PA.V.6	I.S.PA.6	I.E.R.6	T.C.PA.6	T.S.PA.6	I.T.PA.6
15			I.E.6	I.E.R.6	T.C.PA.6	T.C.P.V.6	
16			I.E.6	I.E.R.6		T.C.V.6	
17			I.E.N.6	I.T.C.6			
18			I.E.6	I.R.S.6			
19			I.6	I.R.PA.6			
20			I.6	I.P.T.6			
21			I.6	I.P.T.6			
22			I.6	I.P.T.6			
23			I.6	I.P.C.6			
25			I.6	I.R.C.6			
26			I.6	I.P.C.6			
27			T.C.V.PA.N	E.S.T.P.N6			

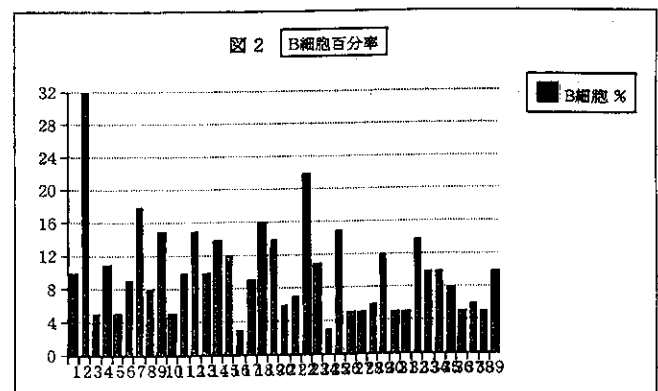
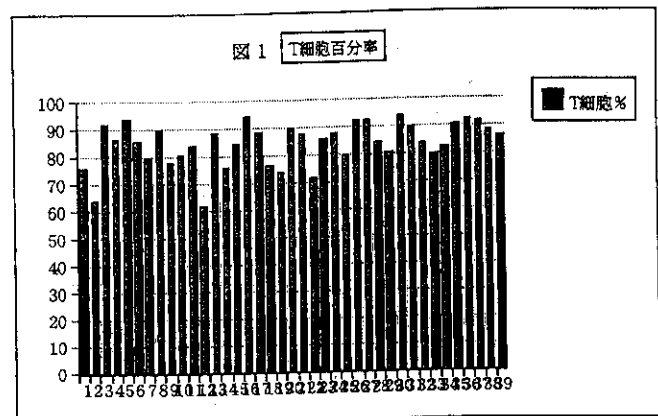


図3 IFN- γ 血清中濃度

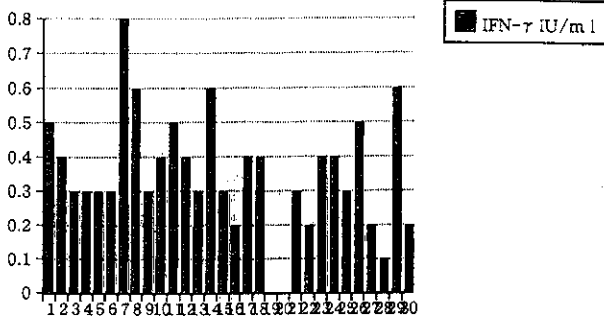


図5 CD4陽性ヘルパーT細胞中のTh1細胞百分率

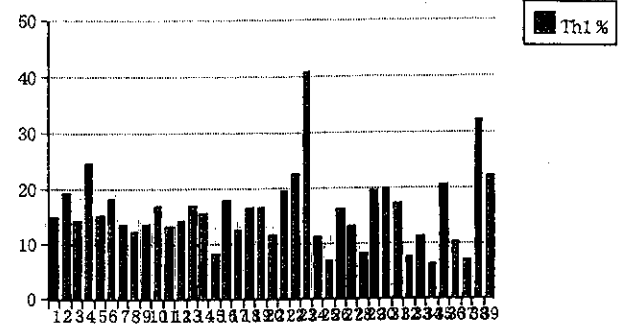


図4 TNF- α 血清中濃度

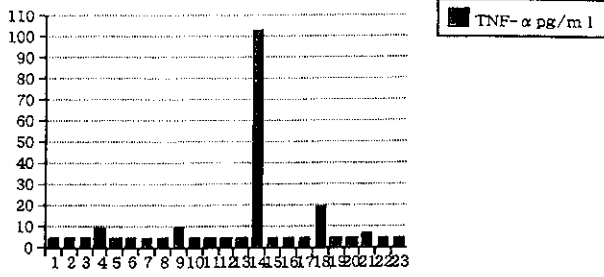


図6 Th2サブセット

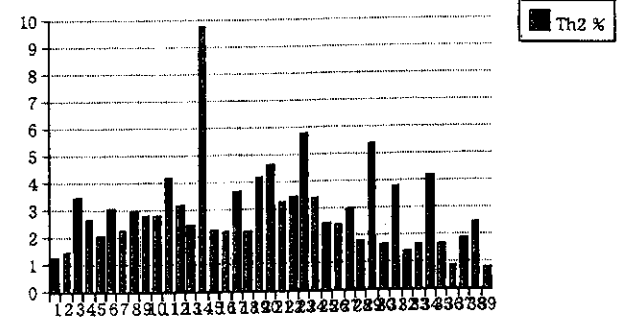


図7 Th1百分率/Th2百分率

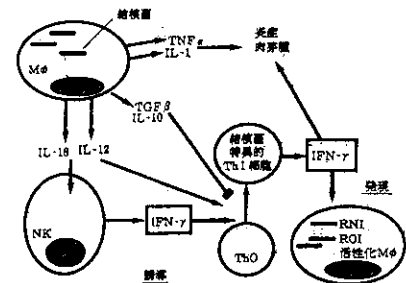
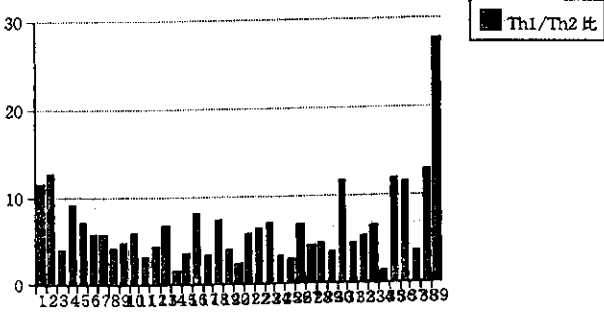


図8 結核防御免疫の誘導と発現に関わる主要サイトカイン (光山による)

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
難治性抗酸菌症に対する Biotherapy
—ロムルチドおよび補中益気湯による免疫増強療法—

分担研究報告書

分担研究者 螺 良 英 郎 結核予防会 大阪病院長

研究要旨：抗結核薬に耐性を示す菌種による肺結核症や非結核性抗酸菌症に対し宿主感染防御力とQOLを含めた病態の改善を図る免疫増強効果について検討する。

A. 研究目的

免疫増強療法としてMDP誘導体ロムルチドおよび漢方薬「補中益気湯」を化学療法と併用することにより効果を検討する。

B. 研究方法

一定期間化学療法剤による治療にもかかわらず、多剤耐性の抗酸菌を持続的に排出していることが確認され、化学療法の効果が期待できないと判断され、かつ一定の除外基準を設けて症例を対象とする。さらに患者の同意を確認して実施する。ロムルチドは200mgを原則として「間欠投与」とし、1回50 μ g~200 μ gを週2回皮下投与するが、発熱等の副作用発現を考慮して、初期10 μ g程度の少量から開始し、漸増法により所定の量が投与可能となった時点より週2回法を行い、安全性が確認され、病状悪化が認められなければ3ヶ月を1クールとして投与を継続する。

C. 研究結果

現在患者の選択、同意の取得、治験目的の説明等に十分な準備を行っている。かつてのパイロット試験では64歳の婦人にロムルチドを投与して、QOLの改善がみられている。

D. 考察

ムラミルジペプチド誘導体のロムルチドはマクロファージを活性化し、CSFおよびインターフェロンの産生を増強し、マウス実験結核症に対する治療効果、マウス実験非結核性抗酸菌症に対する抗結核薬との併用治療効果も認められている。

「補中益気湯」は生理機能の低下（虚証）に対して広く用いられ、肺結核の補助療法として使用された成績では、末梢リンパ球数の増加や有意な体重の増加が認められている。

E. 結論

現時点では対象症例の選択や説明、同意に細心の注意を払って十分な準備の下に治験を開始した段階である。しかし現行の化学療法に反応の少ない難治性抗酸菌症に対するBiotherapyは極めて意義ある治療法と考える。

肺結核症、肺非結核性抗酸菌症の難治症例に対する
ロムルチドによる免疫療法の検討

結核予防会 大阪病院

肺結核症、肺非結核性抗酸菌症の難治症例に対するロムルチドによる免疫療法の検討
(実施要綱)

1. 経緯および背景：

ロムルチドは第一製薬株式会社により開発されたムラミルジペプチド誘導体で、癌患者の放射線療法による白血球減少症を適応症として既に認可されている。(商品名：ノピア)
ロムルチドは、基礎的研究の結果、マクロファージに作用してCSFおよびインターロイキンの産生を増強し、マクロファージ自身や好中球を増加させるとともに、それらの抗菌機能を高め、さらに、補体やフィブロネクチンなどの液性因子の産生を促進させることが示唆されている。加えて、マウス実験結核症にたいする治療効果、マウス実験非結核性抗酸菌症にたいする抗結核薬との併用治療効果も認められており、ロムルチドが難治性感染症にたいする化学療法剤の治療効果を向上させることが期待される。

1992年に難治性抗酸菌症に対するロムルチドの有効性をパイロット試験として行った限りにおいては、一部の症例において、そのQOLが改善し、体重の増加、食欲の昂進、意欲の上昇など病態の好転が観察され、しかも、抗菌薬を併用する事によって、長年、陽性であった菌の消失、胸部レ線所見の安定などを導く事が出来た。

今回、厚生省の新興・再興感染症研究の一環として、上記のような基礎的、臨床的検討結果を踏まえ、肺結核症、肺非結核性抗酸菌症の難治症例に対する免疫増強療法としてのロムルチドの効果について臨床治験を計画した。

本治験は「医薬品の臨床試験の実施に関する基準（GCP）」に従い、治験の説明書を作成し、患者またはその代理者に十分な説明と同意を得た上で実施する。

2. 目的：

菌耐性の難治性肺結核症および肺非結核性抗酸菌症を対象とし、免疫増強療法としてのロムルチドの有効性を原則的には現行の化学療法との併用、症例によっては単独治療により検討する。

3. 対象：

1) 対象疾患

肺結核症あるいは肺非結核性抗酸菌症患者で、原則として、詳細な観察、検査が可能な入院症例を対象とする。

2) 選択基準

肺結核症：

- (1) 多剤耐性の結核菌を持続的に排出している事が確認されている症例
- (2) 少なくとも過去1年以上にわたり治療、観察がなされており、臨床経過が明確である症例
- (3) 病状がある程度一定していて、過去、現在において施行されている化学療法の効果が病態の改善に必ずしも期待出来ないと判断される症例

肺非結核性抗酸菌症

- (1) MACを始めとする多剤耐性の非結核性抗酸菌を持続的に排出している事が確認されている症例
- (2) すくなくとも過去3か月に涉って治療、観察がなされていて臨床経過が明確である症例
- (3) 病状がある程度固定していて、過去、現在において施行されている化学療法の効果が必ずしも病態の改善に期待出来ないと判断される症例

3) 除外基準

- (1) 対象疾患、基礎疾患あるいは合併症が極めて重篤である患者
- (2) 16才未満の患者
- (3) 妊婦または妊娠している可能性のある患者および授乳中の患者
- (4) 薬物過敏症の既往歴のある患者
- (5) アレルギー素因のある患者
- (6) 重篤な肝、腎障害のある患者
- (7) DICおよびその準備状態にある患者
- (8) エンドトキシン血症を合併している患者
- (9) その他、治験担当医師が不相当と認めた患者

4. 患者の同意 (別紙の同意書参照)

ロムルチド投与の開始に先立ち、対象となる患者(患者が同意能力を欠く時には家族またはそれに準じた代諾者)に対して、下記の内容を記載した文書を交付し説明を加えた後に自由意思による同意を文書で取得する事とする。

- (1) 治験の目的と方法

- (2) 予想される効果および危険性
- (3) 他の治療法との関係
- (4) 同意しない場合であっても治療上、不利益は蒙らない事
- (5) 同意した場合でも随意に撤回が可能なる事
- (6) その他、人権の保護に関する事項

5. 治験薬剤

ロムルチド注：1バイアル中ロムルチド200マイクログラム含有

(添付溶解液：1アンプル中注射用水1ml含有)

6. 治験方法

化学療法を含む現行の療法にロムルチド投与を追加し、非盲験試験法にて検討する。

7. 投与方法

1) 注射液の調製法

投与直前に、治験薬ロムルチド注1バイアルに添付溶解液1mlを加えて溶解し注射液とする。

2) 投与方法および投与量

原則として、以下に示すように「間欠投与」とする。

ロムルチドとして一日一回50 μ g~200 μ gを3~4日毎に(週2回)皮下投与する。発熱等の副作用が現れる可能性もあるので、今回は、10 μ g程度の少量から開始し、慎重に経過を見つつ連日、2日毎に増量しながら皮下注射し、所定の量(通常は100 μ g)が投与可能となった時点より週2回とするような方法を採用する。この結果、ロムルチドの安全性が確認され、かつ、病状悪化が認められなければ3か月を1クールとして投与を継続する。

なお、同一部位の反復注射は避ける。

3) 薬剤の保管および未使用薬剤の回収

治験中、薬剤の保管は当院の薬局に委託する。また、未使用の薬剤および空箱も治験終了後、治験委員会が回収するまで保管を薬局に委託する。

8. 併用薬剤・療法

治験の期間中は、原則として抗結核薬および抗酸菌症に適切な抗菌薬以外は可能なる限り投与しない。しかし、治療上、必要な投薬は妨げられないが止むをえないと判断された場合を除き、化学療法を含む現行療法を変更しない事、また、免疫能に影響を与えると考えられる薬剤（CSF、 γ -グロブリン、ステロイドホルモン等）の併用は行わないこととする。

ロムルチド投与により発熱を伴う患者に対する解熱剤の投与は差し支えない。

9. 投与の中止

以下のような場合にはロムルチドの投与を中止する。

いずれの場合も中止した時点で所定の観察、検査結果を記載し中止理由とともに記録保存する。

- (1) ロムルチド投与後、対象外の症例である事が判明した場合
- (2) 病状が悪化（原病、合併症の発症・悪化を含む）した場合
- (3) ロムルチドによる随伴症状、臨床検査値異常が現れた場合
- (4) 治療方針が変更になった場合
- (5) 患者または代理人から中止の申し出があった場合

10. 観察・検査

別に個人表を作成して、各項目について記載する。

（調査の内容は近畿ロムルチド研究会の定めた所に従う）

1) 患者背景

- ①患者イニシャル（姓、名） ②カルテ番号 ③生年月日 ④性別
- ⑤身長 ⑥体重 ⑦診断名 ⑧病型（日本結核病学会分類に準拠する）
- ⑨重症度 ⑩基礎疾患・合併症 ⑪既往歴 ⑫既往歴 ⑬現病歴
- ⑭ロムルチド開始前の臨床経過（抗菌剤の投与期間・種類等を含む）

2) 投与状況

ロムルチドを投与した期間、投与量を調査表に記録する。

3) 臨床症状

ロムルチド投与開始から終了後3カ月の間、2週毎（月2回）に下記の項目に

つき観察し、調査表に記録する。原則として、投与法は週2回の間欠投与なので一ヶ月毎の初回投与前日を観察日にあてる。

①体温：原則的に1日3回（朝、昼、夕）測定し、最高値を記録する。

ただし、ロムルチド投与日には投与前に一回、投与後は可能な限り頻回に測定、記録してその熱型表のコピーを調査表に貼付する。

②咳嗽： ++（睡眠が障害される程度）、+、- の3段階で記録する。

③喀痰量：++++（100ml/日以上）、+++（50ml/日以上）、++、

+（10ml/日未満）、- の5段階で記録する。

実測値を付記する事を原則とする。

④喀痰性状：P（膿性）、PM（粘液膿性）、M（粘液性）の3段階記録する

⑤喀痰喀出難易度：++（非常に困難）、+（困難）、-（容易）の3段階で記録する。

⑥血痰：+（有り）、- の2段階で記録する。

⑦呼吸困難：++（起座呼吸の程度）、+、- の3段階で記録する。

⑧胸痛：+（あり）、- の2段階で記録する。

⑨胸部ラ音：++、+、- の3段階で記録する。（担当医師の判断）

⑩チアノーゼ：+、- の2段階で記録する。

⑪脱水症状：+、- の2段階で記録する。

なお、ロムルチド投与開始から終了後1カ月間は注意深く自、他覚的随伴症状の把握に努める。

4) 体調

一ヶ月毎の初回投与前日と最終投与後に下記の項目についてアンケートを行い調査表に記録する。

①食欲：

(1) 全部食べられる (2) かなり食べられる (3) 半分しか食べられない

(4) 少ししか食べられない (5) ほとんど食べられない

②気分：

(1) いつも良い (2) 良いときが多い (3) 良い時と悪い時が半々

(4) 悪いときが多い (5) いつも悪い