

- and Therapeutic Gene Treatment against Infectious Diseases and Neuron Diseases. Feb.3, 2006. OSAKA, JAPAN.
7. 岡田全司: 新しい結核ワクチン. (特別講演 未来に繋がる結核対策). 第 47 回日本呼吸器病学会. (2007.5.)
 8. 岡田全司: ワクチン開発. (特別講演 抗酸菌研究の最前線). 第 82 回日本結核病学会. (2007.6.大阪)
 9. 岡田全司: 新しい結核ワクチン(教育講演). 第 81 回日本結核病学会総会. (2006.4 仙台)
 10. 岡田全司: (第 80 回記念企画 講演) 新しい結核ワクチンの開発: 新世代ワクチン・ストラテジー. (第 80 回記念企画: 感染症学の Break-Through を目指して) 第 80 回日本感染症学会総会. (2006.4. 東京)
 11. Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Fukamizu R, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, R.M.Abalos, J.A.Burgos, R Gelber, Sakatani M.: Treatment of Multi-drug resistant Tuberculosis(XDR-TB, super-spreader MDR-TB) by Novel vaccination (HVJ-envelope/HSP65 DNA+ IL-12 DNA). 13th International Congress of Immunology, Rio de Janeiro. Brazil. 2007.8.
 12. Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Fukamizu R, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, R.M.Abalos, J.A.Burgos, R Gelber, Sakatani M.: Treatment of Multi-drug resistant Tuberculosis (XDR-TB, super-spreader MDR-TB) by novel vaccination (HVJ-envelope/HSP65 DNA + IL-12 DNA). FASEB Meeting AAI, 2007.
 13. Okada M.: Novel vaccination (HVJ-liposome/HSP65 DNA + IL-12 DNA) against Tuberculosis using cynomologas monkey. Educational seminar for infectious deseases: Tohoku University Medical School (Japan) and Benza University (South Africa) collaborative study. (Aug 21, 2006. Sendai, Japan)
 14. Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Fukamizu R, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, R.M.Abalos, J.A.Burgos, R Gelber, Sakatani M.: Novel vaccination (HVJ-liposome/HSP65 DNA+ IL-12 DNA) against Tuberculosis using cynomolgus monkey. Tuberculosis using cynomolgus monkey. Keystone 2007. Vancouver, Canada.
 15. Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Fukamizu R, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, R.M.Abalos, J.A.Burgos, R Gelber, Sakatani M.: Novel vaccination (HVJ-liposome / HSP65 DNA+ IL-12 DNA) against tuberculosis using cynomolgus monkey. 11th Congress of the Asian Pacific Society of Respirology. November 19-22, 2006. Kyoto, Japan.
 16. Okada M, Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Tanaka T, Takai H, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Takatani N, Izumiya M, Yoshida S, Kaneda Y, Nakajima T, Matsumoto M, Gelber R, E.C.Dela Cruz, E.V.Tan, McMurray D N, Sakatani M.: The Development of novel HVJ-liposome / HSP65 DNA + IL-12 DNA vaccination against tuberculosis using cynomolgus monkey. FASEB Meeting AAI (Washington D.C. 2006.5)
 17. Okada M, Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Tanaka T, Takai H, Fukunaga Y, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Yoshida S, Nakajima T, Kaneda Y, Matsumoto M, Tan E.V, Gelber R, Dela Cruz E.C, Reed S, Ohara N, McMurray D, Sakatani M.: Novel vaccines (HSP65 DNA+ IL-12 DNA Vaccine) Against Tuberculosis using cynomolgus monkey. Keystone Symposia (Pathogen-Host Stand off : Persistent and Latent Infection). Jan 5-10, 2006.
 18. 岡田全司, 喜多洋子, 金丸典子, 橋元里実, 西田泰子, 網井良恵, 井上ルリ子, 深水玲子, 浅木亮子, 仲谷均, 山田順子, 高尾京子, 浅井律子, 浪江由美, 井上義一, 吉田栄人, 中島俊洋, 坂谷光則: 結核に対する新しいワクチン (Hsp65+IL-12 DNA) の開発とキラーT細胞分化誘導効果. 呼吸器病学会 (2007.5.東京)
 19. 喜多洋子, 金丸典子, 橋元里実, 西田泰子, 網井良恵, 井上ルリ子, 深水玲子, 浅木亮子, 仲谷均, 山田順子, 高尾京子, 浅井律子, 吉田栄人, 中島俊洋, 坂谷光則, 金田安史, E. V. Tan, D.L.C. DelaCruz, 岡田全司: ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いた新しい結核ワクチン開発: HSP65 DNA + IL-12 DNAワクチン. 呼吸器病学会 (2007.5.東京)
 20. 喜多洋子, 井上義一, 深水玲子, 坂谷光則, 岡田全司: ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いた結核に対する新しい DNA ワクチン開発:

- Hsp65DNA+IL-12DNA ワクチン(5). 第 82 回結核病学会総会. (2007.6.大阪)
21. 岡田全司、喜多洋子、深水玲子、井上義一、坂谷光則: 結核に対する新しいワクチン (HVJ-Envelope/Hsp65DNA+IL-12DNA) による T 細胞活性化機構. 第 82 回結核病学会総会. (2007.6.大阪)
 22. 浅木亮子、喜多洋子、深水玲子、坂谷光則、岡田全司: 気道内免疫ワクチン及びエアゾル結核感染モデルマウスを用いた新しい結核ワクチン評価法の確立. 第 82 回結核病学会総会. (2007.6.大阪)
 23. 井上義一、喜多洋子、深水玲子、坂谷光則、岡田全司: 結核に対する新しいワクチン (HVJ-Envelope/Hsp65DNA+IL-12DNA) の開発とモルモット肺結核病理像改善作用. 第 82 回結核病学会総会. (2007.6.大阪)
 24. 深水玲子、喜多洋子、坂谷光則、岡田全司: HSP65 遺伝子導入マウス及び IL-12 遺伝子導入マウスを用いた結核感染防御機構の解析. 第 82 回結核病学会総会. (2007.6.大阪)
 25. 岡田全司、喜多洋子、金丸典子、橋元里実、深水玲子、中島俊洋、松本真、吉田栄人、井上義一、金田安史、坂谷光則: BCG ワクチンよりも強力な新しい結核ワクチン (HVJ-エンベロープ/Hsp65DNA+IL-12DNA) の開発とキラー T 細胞分化誘導作用. 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会 (2006.12.大阪)
 26. 岡田全司、喜多洋子、中島俊洋: ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いた結核に対する新しい DNA ワクチン開発: HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン. 日本ワクチン学会 2006.
 27. 岡田全司、喜多洋子、田中高生、井上義一、坂谷光則: 結核に対する新しいワクチン (HVJ-liposome/Hsp65+IL-12 DNA) によるキラー T 細胞分化誘導作用. 第 81 回日本結核病学会総会(2006.4. 仙台)
 28. 井上義一、田中高生、喜多洋子、坂谷光則、岡田全司: 結核に対する新しいワクチン (HVJ-liposome/Hsp65+IL-12 DNA) の開発と肺結核病理像改善作用. 第 81 回日本結核病学会総会(2006.4. 仙台)
 29. 喜多洋子、田中高生、井上義一、坂谷光則、岡田全司: ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いた結核に対する新しい DNA ワクチン開発: HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン. 第 81 回日本結核病学会総会 (2006.4. 仙台)
 30. 藤山理世、河上靖登、白井千香、青山 博、千原三枝子、岩本朋忠、園部俊明、鈴木克洋、岡田全司、坂谷光則: 神戸市において、結核定期外検診時に施行した QFT-2G 検査について. 第 81 回 日本結核病学会総会 (2006.4. 仙台)
 31. 沖塩協一、鈴木克洋、岡田全司、坂谷光則、鎌田有珠、藤岡智、大場泰良、中野泰克、駿田直俊、阿部聖裕、森健一: 政策医療呼吸器ネットワークシステムの分析による抗酸菌症入院症例菌種の検討. 第 81 回日本結核病学会総会(2006.4. 仙台)
 32. 鈴木克洋、露口一成、吉田志緒美、林清二、岡田全司、坂谷光則: QuantiFERON-TB 第二世代による結核院内感染対策の試み. 第 81 回日本結核病学会総会(2006.4. 仙台)
 33. 藤山理世、田中賀子、中谷幸子、樋口順子、渋谷雄平、青山博、白井千香、伴貞彦、片上裕子、千原三枝子、栗木茂一、吉岡伸子、河上靖登、鈴木克洋、岡田全司、坂谷光則: 神戸市で結核定期外健康診断時に施行した QFT-2G 検査と接触度について. 公衆衛生学会 2006.
 34. 鈴木克洋、露口一成、吉田志緒美、林清二、岡田全司、坂谷光則: QuantiFERON-TB 第二世代による結核院内感染対策の試み. 結核 81 巻 3 号 Page 276(2006.03)
 35. 沖塩協一、坂谷光則、岡田全司、鎌田有珠、藤内智、大場泰良、中野泰克、阿部聖裕、駿田直俊、森健一、鈴木克洋: 政策医療呼吸器ネットワークシステムの分析による抗酸菌症入院症例菌種の検討. 結核 81 巻 3 号 Page 244(2006.03)
 36. 岡田全司、喜多洋子、金丸典子、橋元里実、高井寛子、福永有可里、坂口弥生、古川いづみ、山田恭子、和泉谷美和、高谷直子、田中高生、井上義一、橋本幸子、吉田栄人、中島俊洋、坂谷光則: 結核に対する新しいワクチン (HVJ-liposome/Hsp65+IL-12 DNA) の開発と T 細胞免疫増強効果. 第 46 回日本呼吸器学会学術講演会 (2006. 6. 東京)
 37. 喜多洋子、金丸典子、橋元里実、高井寛子、福永有可里、坂口弥生、古川いづみ、山田恭子、和泉谷美和、高谷直子、田中高生、井上義一、橋本幸子、吉田栄人、中島俊洋、坂谷光則、金田安史、大原直也、Tan E.V, DelaCruz E.C, Gelber R, 岡田全司: ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いた結核に対する新しい DNA ワクチン開発: HSP65 DNA + IL-12 DNA ワクチン. 第 46 回日本呼吸器学会学術講演会 (2006. 6. 東京)
 38. 庄嶋淳子、田中剛、慶長直人、松下育美、桜田紳策、土方美奈子、井上義一、鈴木克洋、坂谷光則、岡田全司、木村謙太郎、小林信之、豊田恵美子、工藤宏一郎、永井英明、倉島篤行、加治木章、桶谷典弘、早川哲史、白川太郎、玉利真由美、中田光、岡晃、安藤覚、田宮元、笹月健彦、猪子英俊: 肺非結核性抗酸菌症感受性領域の全ゲノム高解像度マッピング. 第 46 回日本呼吸器学会学術講演会 (2006.6.東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 (出願中)

[岡田全司]

岡田全司、高森靖、小川一行、永田欽也
「感染症治療剤 15K granulysin」
WO 03/070268 A1
2002年

岡田全司、吉田栄人、中島俊洋
DNAワクチン組成物(結核ワクチン
HVJ-liposome/Hsp65 DNA+ IL-12
DNA)
提出日:平成17年9月27日
整理番号: MED-A0504 受付番号:
50501768464
出願番号通知:特願2005-280379
2005年

岡田全司、吉田栄人、松本真
「抗酸菌症ワクチン baculo
virus/Hsp65DNA」
2005年

岡田全司、大杉義征、三原昌彦
「キラーT細胞の誘導抑制剤」
特許申請中

岡田全司、大杉義征、三原昌彦
「心臓移植における拒絶反応抑制剤」
特許申請中

[中島俊洋]

中島俊洋

「遺伝子導入のための不活性化ウイルス
エンベロープベクター」
特願2001-026185号(出願番号)
特開2001-286282号(公開番号)
主要国において
出願中
(公開番号 WO01/57204)

中島俊洋

「HVJの融合タンパク質を含有する遺伝子
移入ビヒクル」
特願2000-264424号(出願番号)
特開2002-065278号(公開番号)
国内出願中

中島俊洋

「不活性化センダイウイルスエンベロープの製造方法」
PCT/JP02/07879(出願番号)
WO03/014338(公開番号)
主要国において出願中

中島俊洋

「ウイルスエンベロープを用いた生体分子の
導入方法ならびにそのための組成物および
システム」
特願2004-108599号(出願番号)
主要国において出願中

中島俊洋

「化学療法剤を封入した医薬製剤」
PCT/JP03/13860(出願番号)
主要国において出願中

中島俊洋

「細胞増殖性疾患を治療するための医薬組
成物」
特願2004-098839号(出願番号)
国内出願中(海外出願予定)

中島俊洋

「ウイルスエンベロープからなる免疫アジュバ
ント」
特願2004-108599号(出願番号)
国内出願中(海外出願予定)

中島俊洋

「ウイルスエンベロープからなる免疫アジュバ
ント」
特願2004-172449号(出願番号)
国内出願中(海外出願予定)

中島俊洋

「ウイルスエンベロープの精製方法」
特願2004-219381号(出願番号)
国内出願中(海外出願予定)

中島俊洋

「ヒト細胞、その取得用法及び用途」
特願2006-292045号(出願番号)
国内出願中(海外出願予定)

[金田安史]

金田安史
「HVJの融合タンパク質を含有する遺伝子
移入ビヒクル」
2000年

金田安史

「遺伝子導入のための不活性化ウイルス
エンベロープベクター」

2001年

金田安史

「不活性化ウイルスエンベロープの製造方法」

2002年

金田安史、小谷均、山本誠司

「化学療法剤を封入した医薬製剤」

2002年

[松本真]

松本真

「医薬組成物」 特願 2005-292461

2005年

2. 実用新案登録

3. その他

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

中国オフロキサシン耐性結核の現状に関する基礎研究

分担研究者 菅原 勇 （財）結核研究所 センター長

研究要旨

中国でオフロキサシン耐性と判定された87の結核菌株のうち、49株でgyrAの突然変異が見つけた。この結果は、中国では、既にオフロキサシン耐性が、既に存在することを示している。将来、中国で大規模なfluoroquinolone耐性の研究が必要である。

A. 研究目的

中国で多剤耐性結核が多いのは、周知の事実である。中国北京市結核肺腫瘍研究所李伝友博士と共同研究を行い、オフロキサシン耐性結核の状況を明らかにする。同時に、日本のオフロキサシン耐性の実態を明らかにして中国と比較検討する。

B. 研究方法

中国でオフロキサシン耐性と判定された（比例法を用いた）87の結核菌株と22のオフロキサシン感受性株を用いた。定法により、DNAを抽出後、PCRを行い、DHPLC法によりオフロキサシン耐性の標的遺伝子であるgyr遺伝子突然変異を検出した。オフロキサシン感受性結核菌のデータと比較検討した。複十字病院でオフロキサシン耐性結核菌がないかも同時に調べた。

C. 研究結果

109の臨床株全部で、gyrAコドン95のACC突然変異が見つけた。

これは、オフロキサシン耐性と関係がなかった。87のオフロキサシン耐性結核菌株のうち49株(56%)でgyrAの突然変異が見つかった。49株のうち10株は、Ala⁷⁴Serの変異で、以前報告されていないものであった。gyrBで突然変異は見られなかった。

昨年、複十字病院で分離された結核菌350株のうち、MICとDHPLCにより7株（2%）でオフロキサシン耐性株が見つけた。この7人の結核患者が、どのようにオフロキサシン耐性を獲得したかを調べるために、カルテを精査したが、明白な原因は不明であった。

D. 考察

これらの結果は、中国で、すでにオフロキサシンを含むFluoroquinolone耐性が存在することを示している。この原因を、早急に調べる必要がある。日本では、まだ耐性比率が低く、中国のデータとは、違いが大きい。中国、日本で、オフロキサシン耐性の広範な研究がないので、行う価値がある。中

国では、オフロキサシン耐性結核の頻度が高いので、治療法の再検討が必要である。

E. 結論

中国のオフロキサシン耐性結核菌で、効率がgyrA突然変異が見られた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. I. Sugawara, H. Yamada and S. Mizuno: Nude rat (F344/N-rnu) tuberculosis. Cell. Microbiol. 8:661-667, 2006.

2. I. Sugawara, T. Udagawa, Y. Kazumi: Experimental evidence for dual infection with two genetically distinguishable Mycobacterium tuberculosis strains using a guinea pig model. Indian J. Tuberculosis, 53:84-91, 2006.

3. Isamu Sugawara, Tadashi Udagawa, and Tadayoshi Taniyama: Protective efficacy of Recombinant BCG Tokyo (Ag85A) against M. tuberculosis-infected guinea pigs in comparison with that of DNA vaccine encoding Ag85A. Tuberculosis, 2006 (in press).

4. I. Sugawara, S. Mizuno, T. Tatsumi and T. Taniyama: Imaging of pulmonary granulomas by a photon imager. JJID 59: 332-333, 2006.

5. S. Yoshida, M. Yoshida, I. Sugawara and K. Takeda: Mice strain differences in effects of fetal exposure to diesel exhaust gas on male gonadal differentiation. Environ Sci. 13:117-23, 2006.

6. Aki Matsumoto, Kumiko Hiramatsu, Yingji Li, Arata Azuma, Shoji Kudoh, Hajime Takizawa, and Isamu Sugawara: Repeated exposure to low-dose diesel exhaust after allergen challenge exaggerates asthmatic responses in mice. Clin. Immunol. 121:227-235, 2006.

7. R. Shi, J. Zhang, C. Li, Y. Kazumi and I. Sugawara: Emergence of Ofloxacin Resistance in Mycobacterium tuberculosis Clinical Isolates from China: gyrA Mutation Analysis by Denaturing HPLC and DNA Sequencing. J. C. M. 44: 4566-4568, 2006 .

8. 鹿住祐子、前田伸司、菅原勇: rpoB遺伝子と16SrRNA解析による抗酸菌同定の試み。Kekkaku 81:551-558, 2006.

9. 鹿住祐子、和田雅子、菅原勇、木村清延、糸納秀司: 2症例から細菌学的同定されたMycobacterium heckeshornenseについて。Kekkaku 81:603-607, 2006.

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

タイ国における多剤耐性等の難治性結核患者の検体バンクとコホート研究

分担研究者 野内 英樹 長崎大学熱帯医学研究所・国際連携研究戦略本部
(結核研究所教授 元：HIV結核プロジェクト主任研究員、現：研究部フェロー)

研究要旨

北タイ・チェンライ県において、難治性結核患者（多剤耐性・再発・治療失敗例）の検体バンクとコホート研究を立ち上げ、結核症に対するフィールド研究開発の基盤を作成した。研究のプロトコルを作成しながら、過去の結核登録のデータベースを検討した。得られた疫学情報、臨床情報、細菌学的情報と共に、血液サンプルを活用して、難治化していない新規の結核患者、及び結核症を発症していない正常タイ人と比較する事により、多角的に難治化に関する因子の同定を進めている。また、コホートでフォローアップをして、免疫マーカーがこれらの群で低下している事実を突き止め、それを指標として、何らかの免疫賦活療法が適応となるかどうか検討する。アジアにおける国際共同研究における研究倫理のフォーラムを主催しているタイ側と協議し、また岡田班長の目指している研究開発の基盤作とする。

A. 研究目的

北タイ・チェンライ県において、難治性結核患者（多剤耐性・再発・治療失敗例）の検体バンクとコホート研究を立ち上げ、結核症に対する研究開発のフィールド基盤を作成した。得られた疫学情報、臨床情報、細菌学的情報と共に、血液サンプルを活用して、難治化していない新規の結核患者、及び結核症を発症していない正常タイ人と比較する事により、多角的に難治化に関する因子の同定を進めている。

B. 研究方法

結核研究所が主体となり、タイNIH、長崎大学等とコンソーシアムを組んで運営しているタイ国チェンライ県の結核研究

フィールドを活用して、(1)難治性結核患者（多剤耐性・再発・治療失敗例）の検体バンクとコホート研究を立ち上げた。(1)の群に関しては、菌側のRFLP等の標準タイピングを活用して、厳格に内因性の再燃と外来性再感染を区別している。(2)結核治療に反応が良く再発をしなかった群、結核に罹患していない(3)正常タイ人のコントロール群を設定し、比較の対象としたい。取り込み時にケース・コントロール研究の形態にて、(1)と(2)の比較にて結核症の難治に関する種々の要因検討、(3)と結核症群(1-2)の比較にて、結核自体の発症に関連する様々な臨床疫学、遺伝疫学、免疫学的な種々の宿主因子の検討を進めている。岡田班長は、多剤耐性結核患者でキラーTリン

パ球の分化因子やキラーT蛋白やToll like receptorで免疫応答が悪化している事を発表しているが、重要な検討事項と考えられる。また、チェンライ県における薬剤耐性結核患者の頻度の推移を分析し、研究班の主題である多剤耐性結核の制御に関して背景因子を同定した。

結核研究所はエイズに関連する結核症のフィールド研究を指向し、1995年よりタイ保健省との覚え書きの基に、結核研究所職員と関係者をタイ国チェンライ県に駐在させ、TB/HIV Research Projectという国際共同研究プロジェクトを実施している。1996年にチェンライ県全県の喀痰塗抹陽性結核患者を対象として開始した薬剤耐性サーベイランスの開始以来、臨床分離結核菌株はタイ保健省結核課に保存されている。結核菌のDNA指紋法を活用して結核菌の感染ルート解明も追究している。また早期より、自発的HIV検査とカウンセリングを強化し実施している。結核登録を活用したサーベイランスに関しては1987までに遡って入力をして、結核疫学上の動きを見ると共に、薬剤耐性サーベイランスの治療歴の確認等に活用している。WHO方式のコホート治療結果評価を1995年登録の患者より実施している。更に、チェンライ県衛生局と協力して死亡統計や結核とエイズのサーベイランスデータを統合・電算化し、長期的予後の検索が可能なフィールドに確立している。チェンライ県は、住民登録での人口は1,273,349人（推定にて1,310,000人）のタイの中でも大きな県である。出稼ぎも少なく人口は安定している。チェンライ県には、県病院としてのチェンライ病院(Chiang Rai Regional Hospital)と、各郡に1つ存在する16の郡病院(District Hospital)がネットワークを形成している。チェンライ病院、エイズや結

核等の感染症診療では住民の最終診断・治療の場所となっている。国民皆保険制度にて、基礎的な患者フォローアップもされている。

患者サンプルは末梢血から血漿、単球、単球以外の単核球にそれぞれ分離し、単球以外は各々の条件で保存する。本体研究と共同して、臨床免疫学的な研究を分担研究者の櫻田、赤川と協力しておこなう。末梢血単球由来マクロファージを用いて、多剤耐性結核の宿主側要因としてマクロファージの自然免疫を中心とした検索を行う。単球は上記方法でマクロファージに分化させ、LPS、BCGなどの刺激前後での標的分子の発現の検出を試みる。標的分子はプロテアソームに関する手法を用いて、絞り込まれている。血漿は保存後、サイトカインの測定に、単核球に関してはフローサイトメトリーT細胞のサブセット (V_{γ}/V_{γ} 中心) の検索に使用する。

(倫理面への配慮)

タイ国側については、タイ保健省倫理委員会の定める倫理規定に沿って研究を実施している。参加研究者全員の合意を得た研究プロトコルを作成し、タイ国保健省倫理委員会および関連研究施設の倫理委員会に提出し、今回のプロトコルも正式な研究として承認を得た。

本研究に参加する患者については、担当医師による十分な説明の後、書面によるインフォームドコンセントを得た。研究を通して得られた個人情報には厳密に管理し、参加研究者以外のものが内容を知り得ることはない。現在までの日泰間の共同研究でこれらの基本原則を遵守し、更に、検体等の日泰間の移動等に関しては文書でのMaterial Transfer Agreement等を結び、知的財産権(パテント)等の問題も含め国

際共同研究に関連した倫理的な問題に配慮してきた実績がある。コホートの参加者にはインフォームド・コンセントに基づく自発的な参加を実施し、参加者のフォローアップにも強制は加えなかった。なるべく、医療的な利益が参加者に得られる様に、タイ保健省の発行する国民健康保険への参加の支援等を行っている。タイ人若手研究者の育成の為、マヒドン大学学術担当副学長Srisin教授の基で、大学院博士課程を学んでいるChutharut氏を分担研究者の日本へ招聘し、分担研究者の櫻田が進める上記共同研究の為のアッセイを開発習得し、現在タイ国にて本研究を主体となり進めている。

C. 研究結果

チェンライ県で結核研究の検体バンクのプロトコールにてコホートとしてフォローアップが認められている患者群について、対象となる患者群を同定した。表1に示すように、初発例が440名、再発例11名、治療失敗例25名、慢性排菌例9例、治療脱落后再排菌例が34例、合計520例のPBMC、血漿、菌体が保存してある。この中で、多剤耐性結核症例は、初発例で8例(1.8%)、再発例で1名(9.1%)、治療失敗例で4名(16.0%)、慢性排菌例1例(11.1%)、治療脱落后再排菌例で4例(11.8%)含まれていて、再登録例で初発例と比較して頻度が非常に高い。また、WHO式のコホート治

療成績の分析で治療失敗となる率（治療途中を除いて）が、初発例で16例(4.5%)、再発例で1名(11.1%)、治療失敗例で4名(16.7%)、慢性排菌例4例(50.0%)、治療脱落后再排菌例で4例(13.8%)とこれも、再登録例で初発例と比較して非常に高い。よって、再登録結核症例を初発例と比較しながら、難治性結核のメカニズムを検討する事の有用性が示唆された。現在、主任研究者の岡田先生、分担研究者の櫻田先生に協力を願い、この保存検体の血漿を使用して、血漿中のインターフェロン γ とGranulysinのELISAで測定する事を、タイ国立マヒドン大学のSrisin副学長とタイNIHの協力を得て、実施試験を行っている。また、前向きのコホートでも、刺激を入れながら、サイトカイン測定を進める。いくつかのサイトカイン測定に関してはタイ側のサポートが得られる。

表2に示す様に、この検体バンクの菌株より、再発例に関して、以前の菌が得られる例が77例同定されて、結核菌指紋分析と症例検討を図1の様に進めている。また、再発（Relapse）例のみならず、治療失敗例、慢性排菌（図2）例についても同様に検討を進めている。

表1 タイ国チェンライ県結核Specimen Bankよりの人検体

結核登録分類	検体数	MDR-TB	%MDR	オッズ比
New(新規)	440	8	1.8%	1
Relapse(再発)	11	1	9.1%	5.40
Failure(治療失敗)	25	4	16.0%	10.29
Chronic (慢性排菌)	9	1	11.1%	6.75
Return after default	34	4	11.8%	7.20
Other (その他)	1	0	0.0%	0.00
Total (総数)	520	18	3.5%	

表2 タイ国チェンライ県結核Specimen Bankよりの菌体

西暦年	再発患者数	1996年以前に初発	両菌株有		片方菌株欠如
			総数	RFLP済	
1996	23	21	0	0	2
1997	24	17	0	0	7
1998	30	12	4	4	14
1999	29	9	4	4	16
2000	41	9	10	9	22
2001	33	5	9	6	19
2002	37	5	7	1	25
2003	35	0	11	1	24
2004	38	4	6	1	28
2005	31	2	15	0	14
2006	20	0	11	0	9
総数	477	220	77	26	180

図1 RFLP分析の事例 HIV Negative , 39 years , Male

- 1997 Oct** - New Pulmonary TB case, sputum AFB 2+ , CXR - Rt.upper lung cavity Resistance to INH, and Sensitive to RFP, SM, EB, Start with Rifater and Ethambutol
- 1997 Dec** - Sputum AFB negative, followed by INH and Rifampicin
- 1998 April** - 3 times of sputum smear negative and decrease infiltration considered 'CURE'
- 1999 April** - Relapse, smear 3+ and massive hemoptysis, Resistance to INH, SM. Sensitive to RFP, EB, 2HRZES/HRZE/5HR
- 1999 May** - Sputum AFB negative
- 1999 Dec** - Sputum AFB Negative , No infiltration Considered "CURE"

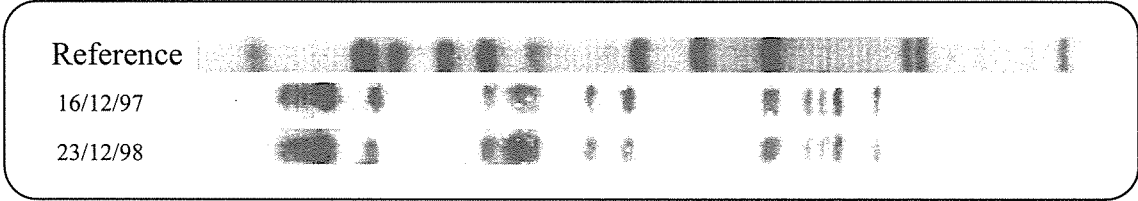
Reference

16/10/97

26/03/99

図2 治療失敗例のRFLPペア分析 HIV Unknown , 41 years , Female

- 1997 Dec** - New Pulmonary TB case,sputum AFB negative,cavity RUL
Start HRZE,sputum become 3+,after 2weeks of treatment
followed by HRZE
- 1998 Feb** - Sputum AFB 2+, Resistance to INH,sensitive to RFP,SM,EB
followed by kanamycin 0.75 gm OD,ofloxacin(100),PAS,INH
for 3 months
- 1998 Sep** - Sputum AFB 3+,Lost 5 months,Resistance to INH and RFP
sensitive to SM and EM , RZE 1 month
- 1998 Oct** - Sputum AFB 2+, start 2HRZES/HRZE/15HRE
- 1998 Dec** - Sputum AFB 2+, start CAT IV
- 1999 Apr** - Sputum AFB 2+, change regimen to V
- 1999 Oct** - Dead , Dx MDR-TB , complete Failure



背景となるチェンライ県における薬剤耐性結核患者の頻度の推移であるが、表3に示す様に、全登録患者中の多剤耐性結核の頻度は1996年の16.8%(481株中81株)、97年の13.9%(813株中113株)、98年に12.9%(746株中96株)、99年に5.2%(716株中37株)、2000年に4.8%(667株中32株)、01年に4.6%(817株中38株)、02年に3.9%(735株中29株)と脱落率の低下に伴い、低下してきていた。しかし、03年に6.8%、04年に9.2%、05年に7.7%と問題となっている。03-05年の初回例の多剤耐性結核は、0.87%、1.8%、0.98%と低率の

ままなので、治療脱落が再度生じたりした為その他で、本研究の焦点である再登録例での薬剤耐性結核が増した事によると考えられる。

現在、以前からの菌株で多剤耐性に加えて二次抗結核薬に含まれる6つの区分（アミノグリコシド系、ポリペプチド系、フルオロキノロン系、チオアミド系、サイクロセリン、パラアミノサリチル酸）のうち、3つ以上に耐性を持っている結核菌と定義されるXDR-TB (Extensively Drug Resistant Tuberculosis)がどこまで存在するか菌株を上記の様に多く同定され

た暦年の多剤耐性菌の中から検索する。特に、1996-1999年は図3に示す様に、HIV感染者の多剤耐性結核患者において顕著に高い死亡率が記録されているので、XDR-TBの定義の契機となった南アフリカでの事例の様に、致死率が高いXDR-TB菌がHIV感染者で蔓延していたのではと考えられる。

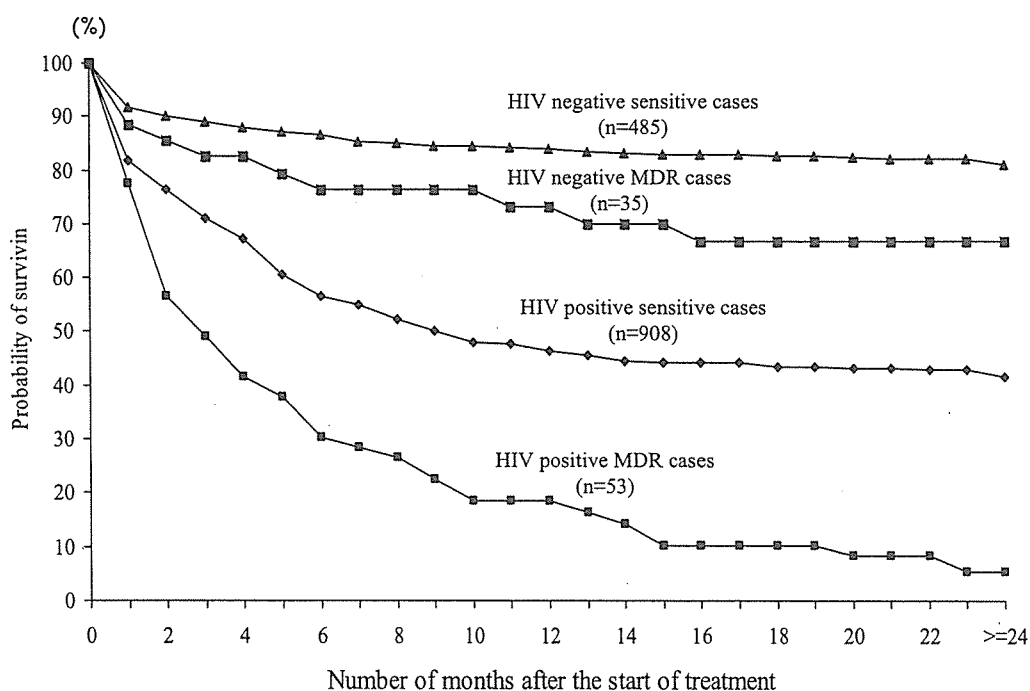
長崎大学は世界保健ニーズに応える医薬品研究開発ディプロマコースを熱帯医学研究所でタイ国チュラロンコン大学、タマサート大学と共同して開催されている機会にて、結核に関する研究開発の課題を検討した。結核の多剤耐性結核の制圧には、再登録例にも活用できる薬剤の開発が国策として医薬品分野の製品開発を志向しており、倫理委員会を整えているタイでは

関心が高かった。ワクチン開発に関しては、再登録例での免疫能低下とそれに対応した効力のあるワクチンという整合性が期待されている。つまり、岡田班長の志向する「免疫賦活療法」の研究開発には、研究開発のボランティアの対象となる難治性結核患者で、指標となる免疫マーカーが低下しているかどうかまず突き止めて、次に免疫賦活療法がそれを指標として活用できるか検討するステップが必要と指摘された。単純な共同研究では、前述の様にタイ側若手研究者の研究能力の向上が強調される。しかし、Product Developmentの様な研究開発の過程においては、タイ側のオーナーシップが重要で、組織的対応が必要とのコメントであった。

表3 喀痰塗抹陽性肺結核患者における年次別薬剤感受性検査

Sensitivity	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	Total
S	275	520	492	533	500	632	589	622	773	369	5,305
C	10	45	32	15	11	11	1	6	1	0	132
H*	13	31	32	30	25	42	41	44	59	31	348
R*	26	17	11	5	14	15	13	11	6	4	122
S*	41	50	46	51	56	55	37	56	60	34	486
E*	0	1	1	0	1	2	5	0	0	0	10
HE	1	12	0	2	1	2	4	3	5	0	30
HR	7	23	18	5	8	8	9	14	14	5	111
HS	10	14	20	27	12	15	10	20	30	10	168
HRS	14	14	18	4	5	11	6	9	8	3	92
HRE	13	32	10	7	6	5	4	8	7	2	94
HRSE	47	44	50	21	13	14	10	25	67	28	319
HSE	2	0	6	6	5	0	2	3	4	2	30
RE	2	2	5	2	1	0	2	1	1	2	18
RS	11	7	1	6	5	5	1	3	3	1	43
RSE	2	1	2	1	2	0	0	0	1	0	9
SE	7	0	2	1	2	0	1	1	1	1	16
Total	481	813	746	716	667	817	735	826	1040	492	7,333

図3 1996-1999年の結核症の2年生存率



D. 考察

本研究は非常にユニークな研究である。元々疫学上のコホート研究のために整備されたフィールドを臨床免疫学的研究に利用する学際的な研究である。本岡田班は、アジア地域との研究ネットワーク活用による研究開発であり、現地での研究基盤が欠かせない。この様な研究にはタイ国のチェンライ県の様に、地域ベースで20年の地域結核登録データベースを持ち、しかも菌体保存を10年以上保存している地域は研究開発のフィールドとして重要である。特に本研究の場合、結核菌のタイピングをして、前と同じ菌による再燃(reactivation)か、前と違う菌により再感染(reinfection)発病したものかにより、大きく解釈が異なるが、その比較が出来る。これまで、システムの結核の再発と治療失敗の原因要因について、薬剤耐性菌出現の問題からの検討は研究発表している。しかし、症例の蓄

積、血漿、PBMCの保存は検体バンクとして進めてきたが、宿主側の要因検索は進んでいなかったので、今回の研究を機会として進行させる。

コホートは倫理委員会の承認が得られたので、前向きに取り込みを増やし、免疫応答の継時的な変化を見ながら、免疫マーカーの低下の状況と臨床的予後を明らかにする事を進める。分担研究者の慶長らと遺伝学的素因を調べるには、サンプル数が必要なので、Retrospective の取り込みを考慮する。Retrospective な取り込みが出来た場合、その過程で、この様な結核患者の長期予後の分析が出来ると思われる。免疫マーカーがこれらの群で低下している事実を突き止めた場合、それを指標として、何らかの免疫賦活療法が適応となるかどうか検討し、岡田班長の目指している研究開発の基盤としたい。また、タイ保健省 NIHやマヒドン大学の様な有力なタイ国研

究機関との共同作業によるコホート研究の運営を通じて、今後の研究開発の組織化についての検討を進めたい。

その研究開発での課題を明確に同定する為、長崎大学が中心メンバーであるアジア西太平洋地域の倫理審査委員会フォーラム (FERCAP) 主催の国際シンポジウムに参加して、より倫理的な側面から、本研究班の中心テーマである多剤耐性結核の制御に役立つ具体的な製品開発の具体的な方向性を検討したい。

長崎大学は海外拠点も活用した国際的な医薬品の製品開発の分野において、パイオニアの活動を展開しており、結核分野においても結核専門家と連携をしながら、多剤耐性結核の制御に役立つ製品開発のあり方を検討できる。

タイ国では、BCGは東京株を使用しており、またBCGレコンビナントにてHIVワクチンを開発してきた事より、結核ワクチンの開発に関して興味を持っている。岡田班長はアジアにおける数少ない結核ワクチンの開発者であり、共同研究の意義は深い。

E. 結論

北タイ・チェンライ県において、難治性結核患者（多剤耐性・再発・治療失敗例）の検体バンク、コホート研究を進めている。検体バンクよりは使用検体を同定し、実験を開始した。コホートは倫理委員会の承認が得られたので、前向きに開始する。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表
該当なし

2. 学会発表

1. 野内英樹、Vu Dnih Thiem、松林格、鈴木基、吉田レイミント、Dang Duc Anh、有吉紅也 ベトナムでのコホート設置による研究促進—Khanh Hoa Health Project の臨床疫学フィールド設定の経験より— 第30回日本熱帯医学会九州支部会シンポジウム、長崎、2007年2月
2. 野内英樹、石川信克、有吉紅也 結核—エイズ—アジア—アフリカのフィールド研究活動と人材育成のネットワーク構築へ向け 第21回日本国際保健医療学会(ワークショップ16)、長崎、2006年10月
3. 山田紀男、野内英樹、今津里沙、石川信克 エイズと結核の国際共同研究と人材育成システムとの連携：タイ国チェンライ県での経験より Human Resource Development and International Cooperative Research: Experiences from Chiang Rai, Thailand 第21回日本国際保健医療学会(ワークショップ演題 W16-1)、長崎、2006年10月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

中国東北部における結核菌の薬剤感受性に関する解析
南アフリカ由来植物の抗結核菌活性

分担研究者 服部俊夫 東北大学大学院医学系研究科教授
共同研究者 Prof. Hong Ling, DR. Haizhou Zhou
ハルピン医科大学微生物学教室
Dr Yujun Liang, Dr. Binying Ji
ハルピン市胸部疾患病院
Prof. CL Obi 南アフリカ大学
菅原 勇 結核研究所

研究要旨

中国東北部の結核患者から得られたサンプルを培養し、共同研究により中国で薬剤感受性試験を実施した。160のサンプルを解析し、薬剤感受性試験は、SM, INH, RFP, EMBの4剤に関して実施した。その結果 5例が検索した4種の薬剤すべてに感受性があることが判明した。現在VNT Rを現地ですべく解析中である。また南アフリカ共和国でヒーラーにより結核患者に使用されているCarissa edulis, Lipjavanの抽出エキスを得て結核菌の生育に及ぼす影響を観察した。

A. 研究目的

HIV感染に合併する結核は多剤耐性結核であることが多い。分担研究者は中国国内の研究協力者と共にHIV感染に合併する結核の病態や診断方法に関する研究を行ってきた。昨年度までにTBGL抗体を用いた結核の早期診断方法の開発に関する研究を行い、TBGL値とELISPOTアッセイを組み合わせることで、非定形抗酸菌などの感染を排除し、高感度に結核感染を検出できることを示した。

今年度は中国東北部の結核患者から得られたサンプルについて薬剤感受性を明らか

にすることを目的とした。薬剤感受性試験を行い、薬剤耐性を示した。また南アフリカ共和国ではXDR結核のアウトブレイクが生じ従来の抗結核剤に代わる薬剤の開発が望まれている、ここでは結核患者に古くから投与されている二つの植物エキスの結核菌の生育に及ぼす影響を観察した。

B. 研究方法

中国の結核はハルピン市胸部疾患病院で診断された結核患者の基礎的なデータ：年齢、性別、現在の結核の病状、喀痰検査、結核の病歴と治療歴、リスク・コンタクト、

BCG接種歴、PPD検査の結果、自覚症状(咳、息切れ、体重減少、発熱、消耗など) 薬剤耐性試験は4種類の薬剤、ストレプトマイシン(S) イソニアジッド(H) リファンピシン(R) エタンブトール(E)を用いて行った。

さらに南アフリカの植物 *Carissa edulis*, Lipjavan (図1) はベンダ大学で得た植物を破碎したのちにメタノールで24時間抽出した、後にチーズ布で漉し、さらにWhatman filter No3で濾過し、蒸留したものを用いた。実験にあたってはDMSOにて溶解した後に1mlのH37Rvとともに二つの濃度で一晩培養後、1%小川培地で4週培養後CFUを数えた。

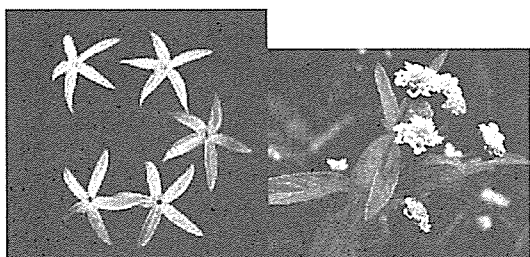


図1: *Carissa edulis*(左)とLipjavan(右)

*Carissa edulis*はキョウチクトウ科の低木。アフリカ各地で葉・根・果実が薬用に用いられている。LipjavanはLippiaの仲間。クマツヅラ科の多年草。南アフリカでは葉から茶が作られている。

C. 結果

4種の薬剤すべてに対して耐性を示した患者が5例検出された。5例のうち3例は喀痰検査(スメア) また5例ともに結核病歴を有していた。七年間あるいは2年間断続的な咳があった例があった。一方で血痰を認めた症例はなかった。呼吸困難を認

めた例が2例で発熱を認めた例も2例であった(文末表参照)。

南アフリカ由来植物エキスはH37Rvの生育には影響は認められなかった。

D. 考察

中国で160の結核菌株より5株の薬剤耐性株を得た、これらの臨床症状からすると5例全例が以前に結核を罹患したことのある患者であり、その治療の際の問題点があげられる。今後はVNT Rを用いてこの結核菌が昨年報告した Super Spreader MDRと近似のものであるかどうかを検討する準備を進めている。またこれらの菌株の第二選択薬に対する薬剤感受性試験を行いXDR-TB菌であるかの検証も大事である。中国からの菌株の受け入れは困難であるのでこれらの実験をハルピン医科大学で行えるべく共同研究体制を強化する必要がある。

南アフリカの植物エキスには今回強い抗結核菌活性は認めなかった。今後培養条件を変えて検索する。またこれらの薬剤はエイズにも効果があるといわれているので、免疫系を介して結核の病態を改善している可能性が高い。今後はこれらのエキスのガンインターフェロン産生など、免疫系に及ぼす作用を検討し、その抗結核作用の本態を明らかにする。

E. 結論

中国のハルピン地区における薬剤耐性結核菌を同定し、今後の共同研究の足がかりとする。また南アフリカ共和国の結核患者に使用されている植物は免疫系に作用している可能性が高いことが示唆された。

F. 健康危険情報

該当事項無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Osamu Usami, Yugo Ashino, Yuichi Komaki, Masafumi Tomaki, Toshiya Irokawa, Tsutomu Tamada, Tsunefusa Hayashida, Katsuji Teruya and Toshio Hattori. : Efavirenz induced neurological symptoms in rare homozygote CYP2B6 *2/*2 (C64T). International Journal of STD & AIDS, accepted
2. Tamada T, Nara M, Tomaki M, Ashino Y, Hattori T. : Secondary bronchiolitis obliterans organising pneumonia in a patient with carbamazepine-induced hypogammaglobulinemia. Thorax. 2007 Jan;62(1):100.
3. Usami, O., Xiao, P., Hong Ling, H. and Hattori, T. : Competitive Study of Monoclonal Antibodies Against the HIV-1 Gp41 Core Structure. Microbiology and Immunology 50: 131-134, 2006
4. Di Li, Hong-Xi Gu, Shu-Yun Zhang, Zhao-Hua Zhong, Min Zhuang, Toshio Hattori : YMDD mutations and genotypes of HBV in Northern China. J J Infectious Diseases 59:42-45, 2006
5. Guio, H.; Okayama, H.; Ashino, Y.; Saitoh, H.; Xiao, P.; Miki, M., Yoshihara, N., Nakanowatari, S.,

Hattori, T. : Method for efficient storing and transport of sputum specimens for molecular testing of tuberculosis. The Int. J. Tb Lung Dis. 10:906-10. 2006

6. Nara M, Sano K, Ogawa H, Tamada T, Nagaoka M, Okada K, Watanabe M, Moriya T, Miki H, Nakata K, Ichinose M, Hattori T. : Serum Antibody Against Granulocyte/Macrophage Colony-Stimulating Factor and KL-6 in Idiopathic Pulmonary Alveolar Proteinosis. Tohoku J Exp Med. 2006 Apr;208(4):349-54.
 7. Tomaki M, Sugiura H, Koarai A, Komaki Y, Akita T, Matsumoto T, Nakanishi A, Ogawa H, Hattori T, Ichinose M. : Decreased expression of antioxidant enzymes and increased expression of chemokines in COPD lung. Pulm Pharmacol in press
2. 学会発表
1. Toshio Hattori, Min Zhuang, Peng Xiao, Rika Furuta, Hong Ling The inhibitory effect of Chinese herb on SARS pseudotype infection. Lipid rafts and cell function Keystone Symposis March 23-26 2006, Steamboat Springs, Colorado
 2. Usami O, Peng X, Nakasone T, Hattori T, Anti-gp41 immunity of pneumocystis (pc) patients ATS

2006 May 19-25, San Diego

感染症診療の進歩 エイズ・SARS
S・結核 平成18年6月17日

3. Mizusawa M, Kamamura M, Ashino Y, Kashiya T, Fujita A, Hattori T. : The response of IgG anti-TBGL antibody correlates with CRP in mycobacterium tuberculosis patients ATS 2006 May 19-25, San Diego
4. 服部俊夫, Heinner Guio, 宇佐美修、水澤昌子、芦野有悟 結核感染の新しい診断法の基礎 抗体検査法と細胞診断法の基礎 第1回 宮城県呼吸器感染症フォーラム 平成18年2月17日 宮城県医師会館
5. 服部俊夫, Guio Heinner、芦野有悟、水澤昌子、川村みずほ、矢野郁也 GL抗体の多角的検討 第76回実験結核研究会 仙台 平成18年4月26日 ホテル仙台プラザ
6. 水澤昌子、植山太郎、坂根祥裕、和田、成澤恵理子、高森幹雄、天野慎也、檜山鉄夫、藤田明、服部俊夫 結核患者における抗TBGL抗体の検索 第46回日本呼吸器学会東京 平成18年6月1-3 OP236
7. 芦野有悟、西巻雄司、服部俊夫 当院における肺日和見感染を合併した後天性免疫不全症候群(AIDS)発症患者の臨床像の検討 第46回日本呼吸器学会東京 平成18年6月1-3 PP300
8. 服部俊夫 日本内科学会東北支部主催 第47回 生涯教育講演会 最近の感
9. Guio H, Okayama H, Ashino Y, Saitoh H, Xiao P, Miki M, Yoshijara N, Nakanowatari S, Hattori T. Method for efficient storing and transport of sputum specimens for molecular testing of tuberculosis. 第81回 日本結核学会 仙台 4月28日, 2006.
10. Toshio Hattori, Functional role of envelope protein of HIV-1 Educational seminar fro infectious diseases Aug 21, 2006 At Tohoku University Medical School
- H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

症例	性別	年齢	診断	喀痰検査	結核病歴	リスク コン タ クト	BCG 接種	FP D	咳嗽	咯 血	息 切 れ	体 重 減 少	そ の 他
2390	男	73	肺結核四型, 慢性気管支炎, 慢性閉塞性肺気腫, 慢性肺原性心臓病	陰性	2年前肺結核	無	無	無	断続的咳嗽咳痰2年余	有	有	有	近十日高熱
2511	男	48	肺結核三型, 肺内継続感染, 慢性気管支炎, 閉塞性肺気腫	陽性1	肺結核歴12年、喫煙歴20年以上	無	無	無	咳嗽咳痰一週間	有	有	有	発熱1週間
2442	男	38	肺結核三型, 肺内継続感染, 間質性肺炎	陰性	7年前肺結核	無	無	無	半月	有	半月	有	有
2450	男	48	肺結核四型, 肺内継続感染, 自発性気胸, 肺原性心臓病	陰性	9年前肺結核	無	無	無	七年	有	10日	有	有
2526	男	45	肺結核三型, 肺内継続感染, 右側液気胸, 糖尿病二型	陽性1	4年前肺結核	無	無	無	半月前より増悪	有	有	有	有

表: ハルピン医科大学サンプルにみられる薬剤耐性結核の病態

160サンプルのうち、ストレプトマイシン、イソニアジッド、リファンピシン、エタンブトールすべてに耐性を示した5例。