

system lactones do not increase invasiveness of a MexAB-OprM efflux mutant but do play a partial role in *Pseudomonas aeruginosa* invasion. *Microbiol. Immunol.* 50:395-401, 2006.

3. (原著論文) Ohara, M., Kouda, S., Onodera, M., Fujiue, Y., Sasaki, M., Kohara, T., Kashiya, S., Hayashida, S., Kadono, M., Komatsuzawa, H., Gotoh, N., Usui, T., Itaha, H., Kuwabara, M., Yokoyama, T. and Sugai, M. Molecular characterization of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Hiroshima, Japan. *Microbiol. Immunol.*, in press.

2. 学会発表

1. 野口 薫、小川倫洋、石井良和、山口恵三、後藤直正: Multilocus Sequence Typing (MLST)による多剤耐性緑膿菌(MDRP)の分子系統解析. 第80回日本細菌学会総会(大阪). 2007.3.

2. (発表予定) 野口 薫、石井良和、山口恵三、後藤直正: Multilocus Sequence Typing (MLST) 分子系統解析による多剤耐性緑膿菌の発生機序の解析. 第81回日本感染症学会総会(京都). 2007.4.

3. 参考資料

1. 野口 薫、後藤直正: 特集 多剤耐性緑膿菌感染症 2. 緑膿菌における薬剤耐性の分子機構. 化学療法の領域 23:29-34, 2006.

2. 野口 薫、後藤直正: 感染症学総論 VII. 抗菌薬. 薬剤耐性化と対策. 薬剤耐性化. 緑膿菌の多剤耐性化の機序. 日本臨床 65(増刊2):457-465, 2007.

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許出願

なし

2. 実用新案登録、その他

なし

Table 1. Analysis of the 12 loci in the *P. aeruginosa* population sampled.

Gene	Fragment size (bp)	Position ¹		(transl.)		No. of alleles	No. of variable sites	% variable sites	dN/dS	dN	dS
		From	To	From	To						
<i>aroE</i>	549	157	705	53	235	43	65	11.84	0.122	0.00386	0.03170
<i>guaA</i>	672	439	1110	147	370	100	91	13.54	0.134	0.00344	0.02576
<i>nuoD</i>	648	682	1329	228	443	43	32	4.94	0.066	0.00064	0.00971
<i>ppsA</i>	645	802	1446	268	482	46	39	6.05	0.024	0.00048	0.01980
<i>gyrA</i> ²	645	73	717	25	239	48	32	4.96	0.269	0.00256	0.00951
<i>dnaQ</i>	510	130	639	44	213	32	25	4.90	0.045	0.00052	0.01161
<i>mutL</i>	744	766	1509	256	503	86	97	13.04	0.071	0.00204	0.02887
<i>mutS</i>	594	181	774	61	258	45	59	9.93	0.064	0.00129	0.02015
<i>mutT</i>	756	82	837	28	279	46	51	6.75	0.071	0.00225	0.03180
<i>mutY</i>	831	115	945	39	315	34	43	5.17	0.030	0.00037	0.01240
<i>recA</i>	708	208	915	70	305	22	20	2.82	0.002	0.00003	0.01712
<i>uvrD</i>	768	55	822	19	274	47	38	4.95	0.041	0.00054	0.01303

¹ Position were based on genome information of *P. aeruginosa* PAO1.

² Fragment size of strain B016 is 669 bp.

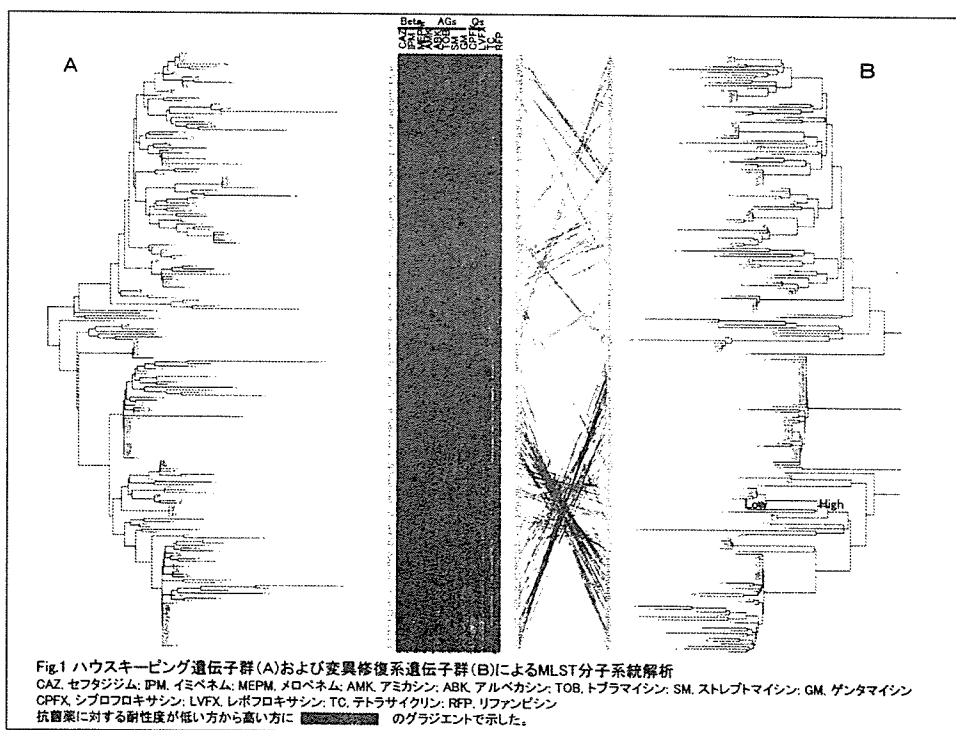


Fig.1 ハウスキーピング遺伝子群(A)および変異修復系遺伝子群(B)によるMLST分子系統解析
 CAZ, セフトジジム; IPM, イミペネム; MEPM, メロペネム; AMK, アミカシン; ABK, アルベカシン; TOB, トブラマイシン; SM, ストレプトマイシン; GM, ゲンタマイシン
 CPFX, シプロフロキサシン; LVFX, レボフロキサシン; TC, テトラサイクリン; RFP, リファンピシン
 抗菌薬に対する耐性度が低い方から高い方に のグラジエントで示した。

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

クラス D に属する β -ラクタマーゼの検出法確立に関する基礎的検討

分担研究者: 山口 恵三 東邦大学医学部微生物・感染症学講座

研究要旨 今回アミノ酸配列を基に作成したクラス D に属する β -ラクタマーゼの系統樹から、本型に属する β -ラクタマーゼは多様な酵素群であることが明らかとなった。3 種類のクラス D 特異的阻害剤を用いて piperacillin の薬剤感受性測定を行ったが、いずれの阻害剤も piperacillin の感受性に影響を与えなかった。しかし、OXA-1 のこれらの阻害剤に対する K_i 値を求めたところ、今回用いた arylketophosphonate 化合物の値が $6\mu\text{M}$ と小さい値を示し、検出試薬としての有用性が示唆された。また、今回対象とした発色基質の中で、OXA-10 に対する HMRZ98 の k_{cat}/K_m 値が $1.56 \text{ s}^{-1}\text{M}^{-1}$ であり、検出用試薬としての有用性が示された。今後は、HMRZ98 などの発色基質を併用した検出法の確立を実施する予定である。

研究協力者: 石井 良和
東邦大学医学部微生物・感染症学講座

A. 研究目的

β -ラクタマーゼは、グラム陰性菌の β -ラクタム系抗菌薬に対する主要な耐性メカニズムである。 β -ラクタマーゼは Ambler によって 4 クラスに分類されている。クラス A、クラス C およびクラス D に属する酵素は活性中心にセリン残基を有するセリンペプチダーゼである。一方、クラス B に属する酵素はその活性に亜鉛を要求するメタロエンザイムである。欧米では、クラス D に属する β -ラクタマーゼを産生する多剤耐性緑膿菌や多剤耐性アシネトバクターに

よる院内感染が発生して社会問題となっている。本邦では基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (Extended-spectrum β -lactamase: ESBL) や IMP-型や VIM-型のメタロ β -ラクタマーゼが衆目されているのに対して、クラス D に属する β -ラクタマーゼはあまり注目されていないのが現状である。ESBL、メタロ β -ラクタマーゼあるいはクラス C に属する β -ラクタマーゼには、それぞれクラブラン酸、キレート剤およびボロン酸化合物といった、特異的阻害剤が存在するため、ディスク法などにより簡便に検出することが可能である。一方、クラス D に属する β -ラクタマーゼにはその特異的阻害剤が存在しない。その検出に PCR や DNA シークエ

ンスなど特殊な機器あるいは煩雑な操作が必要である。したがって、検査業務の一環としてクラス D に属する β -ラクタマーゼを検出することは不可能である。

東邦大学医療センター大森病院において分離された 30 株の多剤耐性緑膿菌を解析したところ、そのうち一株が第三世代や第四世代セフェム系薬を分解する能力を有する OXA-10 産生株であったことや、17 株のメタロ β -ラクタマーゼ産生緑膿菌を解析したところ、そのうち一株が OXA-2 の遺伝子を保有していた。以上のことから分かる通り、本邦でも OXA-型 β -ラクタマーゼ産生株は存在することが分かる。欧米において、OXA-型のカルバペネム系薬分解酵素を産生する多剤耐性緑膿菌やアシネトバクターが蔓延していることを見ても分かる通り、OXA-型酵素産生株の推移を監視することは極めて重要であると考えられる。したがって、簡便且つ迅速な OXA-型 β -ラクタマーゼの検出法を確立することは臨床上極めて重要であると考えている。私どもの研究では、臨床検査の現場で実際に応用可能なクラス D に属する β -ラクタマーゼの検出方法の確立を目的に基礎的検討を実施した。

B. 研究方法

OXA-型 β -ラクタマーゼのアミノ酸配列を基に DNA Data Bank of Japan の ClustalW を用いて多重配列を解析し、さらに系統樹を作成した。

クラス D に属する β -ラクタマーゼのコンピュータ解析を基に、代表的な酵素を選択した。そして、フランスの Laurent Poirel 博士およびシンガポ

ールの Tse Hsien Koh 医師の協力を得て、本邦で入手困難なクラス D に属する β -ラクタマーゼの代表的酵素産生株（緑膿菌およびアシネトバクター）の分与を受けた。本件に関しては、研究者間で事前に文書の取り交わしを行うこととし、法的問題が発生しないように十分な注意を払った。上記、OXA-型 β -ラクタマーゼ産生株は菌種同定、薬剤感受性測定、さらに保有するとされる β -ラクタマーゼ遺伝子を間違いなく保有していることを PCR 法および DNA 塩基配列を決定により確認した。その上で、分与を受けた菌株は、東邦大学医学部微生物・感染症学講座では施錠可能な -80°C の菌株保存専用フリーザーに保管した。

これまでにクラス D に属する β -ラクタマーゼ阻害剤として、sodium chloride、diaroyl phosphate、acyl phosphate あるいは ketophosponate などが報告されている。しかし、いずれの化合物も特異度あるいは感度の問題から実用化にはいたっていない。今回、クラス D に属する β -ラクタマーゼの特異的阻害剤は、米国の Rex Pratt 教授から 3 種類の化合物の分与を受けた。Figure 1 に示す用いた 3 種類の化合物を示した。2 種

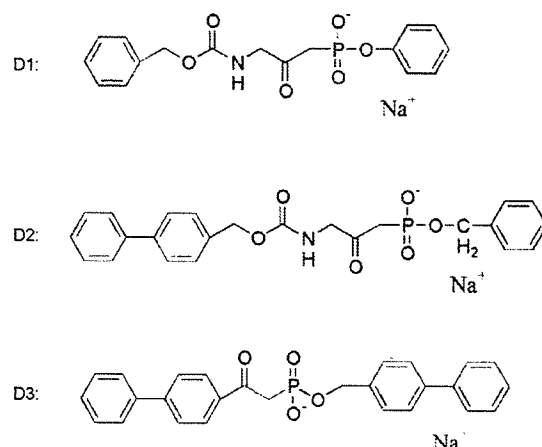


Figure 1. クラスDに属する β -ラクタマーゼの特異的阻害剤の化学構造

類が *arylamidoketophosphonate monoester*、1種類が *arylketophosphonate* である。

上述の菌株および阻害剤を用いて *in vivo* で、阻害剤が効果を発揮するか否かの確認を実施した。すなわち、当該阻害剤が液体微量希釈法による薬剤感受性試験実施時に、3種類の阻害剤が *piperacillin* の感受性試験与える影響について検討を行った。

発色基質である *Nitorofecin*、*HMRZ86*、*HMRZ98* あるいは *HMRZ102* などの各種 β ラクタマーゼに対する酵素学的パラメータを算出した。クラス A に属する酵素として *Toho-1*、*CTX-M-14* およびカルバペネム系薬分解酵素の *KPC-3*、クラス B に属する酵素として *L1* および *VIM-6*、クラス C に属する酵素として *Enterobacter cloacae* が産生する *P99*、クラス D に属する酵素として *OXA-10* を用いて酵素学的パラメータを算

出した。阻害剤である *arylamidoketophosphonate monoester* および *arylketophosphonate* は *OXA-1* に対する酵素学的パラメータを算出した。

なお、今回の酵素学的検討に供した β -ラクタマーゼの標品は、いずれも当教室において精製した 90% 以上の精製度を有する酵素溶液である。

C. 研究結果

今回作成した系統樹からクラス D に属する酵素は、クラス D に属する酵素と比較して、多様な酵素を含む酵素群であることが明らかとなった (Figure 2)。しかし、これまでに報告された、基質特異性が狭い酵素、第三世代や第四世代に属するセフェム系薬を分解する酵素およびカルバペネム系薬を分解する酵素は、それぞれ異なるサブグル

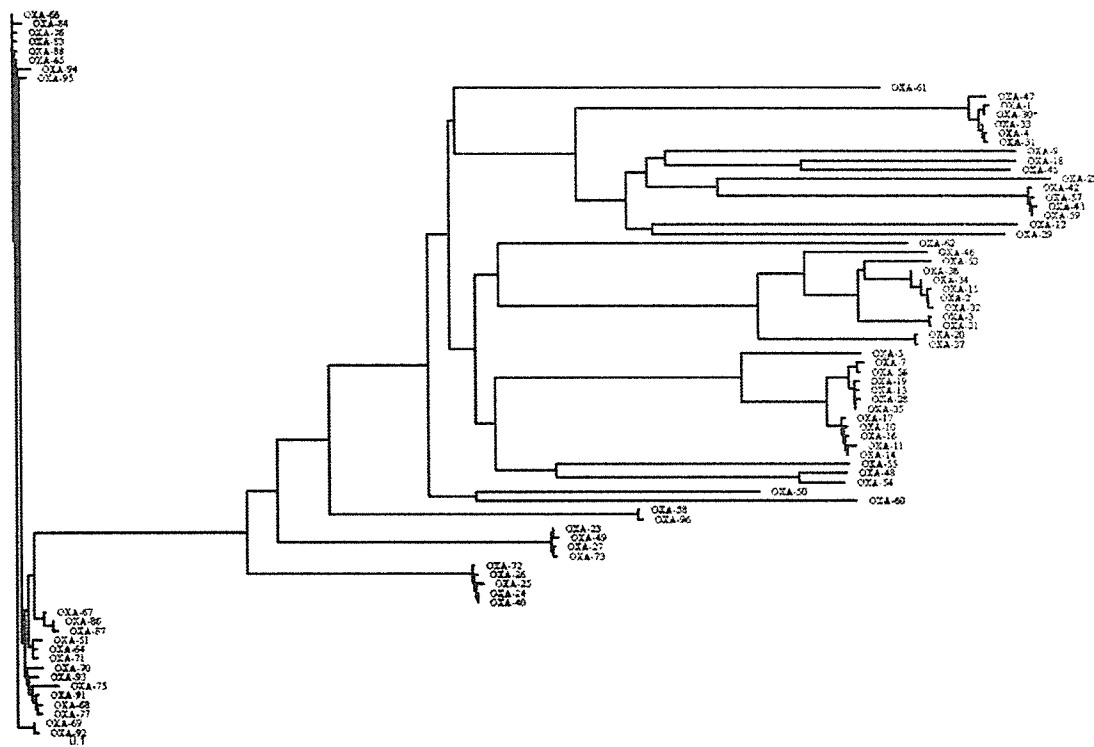


Figure 2. 各種クラスDに属する β ラクタマーゼの遺伝的関係

ープに属していた。したがって、今回の検討ではそれぞれのサブグループに属する代表的な酵素を用いることにより、効率的に研究を進めることが可能であることが明らかとなった。

今回実施した薬剤感受性試験の結果から、いずれのクラス D に属する β -ラクタマーゼを与えなかった (Table 1)。

各種 β -ラクタマーゼの 4 種類の発色基

メータは、 k_{cat} 値が 24 s^{-1} 、 K_m 値が $48 \text{ } \mu\text{M}$ 、 k_{cat}/K_m 値が $0.5 \text{ s}^{-1}\text{M}^{-1}$ であった (Table 2)。

今回対象とした阻害剤である、arylamidoketophosphonate monoester および arylketophosphonate の OXA-1 に対する K_i 値は $6 \sim 130 \mu\text{M}$ であった。

D. 考察

今回作成したクラス D に属する β -ラクタ

Table 1. 各種 β ラクタマーゼ産生菌に対する piperacillin の薬剤感受性に及ぼすクラス D 酵素特異的阻害剤の影響

Tested Strain	β -lactamase	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)			
		PIPC alone	PIPC + D1	PIPC + D2	PIPC + D3
<i>E. coli</i>	TEM-1	128	32	128	128
<i>K. pneumoniae</i>	SHV-2	256	256	512	512
<i>E. cloacae</i>	P99	256	128	128	128
<i>E. coli</i>	OXA-1	64	32	32	64
<i>E. coli</i>	OXA-2	8	8	16	16
<i>E. coli</i>	OXA-3	64	32	64	64
<i>A. baumannii</i>	OXA-23	>512	512	>512	512
<i>P. aeruginosa</i>	OXA-32	32	32	32	64
<i>A. baumannii</i>	OXA-40	>512	>512	>512	512
<i>A. baumannii</i>	OXA-58	512	512	512	No growth
<i>A. baumannii</i>	OXA-69	512	512	512	256

質に対する酵素学的パラメータを算出したところ、OXA-10 は HMRZ98 に対して高い K_m 値を有し、且つ $1.56 \text{ s}^{-1}\text{M}^{-1}$ という高い k_{cat}/K_m 値 (触媒効率) を示した。一方、HMRZ86 および HMRZ102 に対する OXA-10 の k_{cat}/K_m 値はそれぞれ、0.003 および $0.02 \text{ s}^{-1}\text{M}^{-1}$ であり、触媒効率が十分でないことが明らかとなった。さらに、nitrocefin に対する OXA-10 の酵素学的パラ

メータの系統樹から、クラス D すなわち OXA-型と呼ばれていた β -ラクタマーゼは非常に雑多な酵素の集合体であることが明らかとなった。このことは、本酵素群に対して再分類が必要であることを強く示唆していると考えている。

各種 OXA-型 β -ラクタマーゼ産生株の piperacillin の MIC 値に D1 から D3 (Figure 1) の arylamidoketophosphonate monoester および arylketophosphonate といった阻害剤

は全く影響を与えなかった。このデータは、今回の検討に用いた阻害剤を用いて *in vivo* で

また、今回は OXA-10 のみを対象として酵素学的パラメータを求めたが、OXA-型酵素

Table 2. 各種β-ラクタマーゼの発色基質に対する酵素学的パラメータ

	Nitrocefin			HMRZ86			HMRZ98			HMRZ102		
	k_{cat} (s ⁻¹)	K_m (μM)	k_{cat}/K_m (s ⁻¹ M ⁻¹)	k_{cat} (s ⁻¹)	K_m (μM)	k_{cat}/K_m (s ⁻¹ M ⁻¹)	k_{cat} (s ⁻¹)	K_m (μM)	k_{cat}/K_m (s ⁻¹ M ⁻¹)	k_{cat} (s ⁻¹)	K_m (μM)	k_{cat}/K_m (s ⁻¹ M ⁻¹)
Class A												
Toho-1	1.700±21*	64±2.6	27	160±5.8	290±12	0.6	2.100±58	140±5.8	15	2.200±120	120±17	18
CTX-M-14	810±8.4	20±0.4	41	940±11	440±58	2.1	380±6.6	18±0.5	21	990±71	110±10	9
KPC-3	ND**	ND	0.6±0.01	ND	ND	0.6±0.03	ND	ND	0.8±0.04	ND	ND	1.1±0.3
Class B												
L1	2.8±0.02	5.2±0.2	0.5	29±0.8	310±11	0.1	5.4±0.3	15±1.4	0.4	7.3±0.3	34±1.4	0.2
VIM-6	85±9.2	25±2.0	3.5	52±13	152±40	0.3	220±23	20±1.5	11	95±2.4	21±1.4	4.5
Class C												
P99	920±15	58±4.8	1.6	1.1±0.01	16±0.3	0.07	0.08±0.002	2.1±0.15	0.04	0.2±0.003	1.4±0.03	0.1
Class D												
OXA-10	24±1.2	48±0.7	0.5	ND	ND	0.003±0.0001	ND	ND	1.56±0.1	ND	ND	0.02±0.002

* Value ± Standard deviation

** not detected

OXA-型β-ラクタマーゼ産生株を検出することが不可能であることを示している。その原因として、今回用いた3種類の阻害剤が菌体内に侵入することが困難であることを示していると考えられる。

次に酵素学的検討の結果、OXA-10は既存の発色基質である nitrocefin に対して比較的小さい K_m 値を示したことから、今回検討した阻害剤との組み合わせには不向きであることが明らかとなった。供試した発色基質の中で、HMRZ98の k_{cat}/K_m 値が他の発色基質の値と比較して大きく、さらに得られた値が order first パラメータであったことを勘案すると使用する基質として最適であると考えられた。現在、CENTAも当教室で使用可能な発色基質であることから HMRZ98 と共に検討する必要があるものと考えている。

の多様性を勘案すると、他の酵素標品を用いた検討も必須である。今後は、今回入手した酵素産生株から精製酵素を得て、それらに対する酵素学的パラメータを求める予定である。さらに、これらの検討結果を基に、発色基質との最適な混合比率を決定し、臨床分離株を用いて検討を行う予定である。

E. 結論

OXA-型(クラスD)β-ラクタマーゼは多様性のある酵素群であることが明らかとなった。阻害剤を用いて薬剤感受性測定を実施したが、今回用いた阻害剤が piperacillin の感受性に与える影響は認められなかった。今後は、発色基質を用いた検出法の確立が必要であると考えられた。

薬剤耐性菌等に関する研究班
肺炎球菌におけるマクロライド耐性機構の解析

分担研究者 山本 友子 千葉大学大学院薬学研究院 微生物薬品化学講座

研究要旨

肺炎球菌は呼吸器感染症の主要な起因菌であるが、近年多剤耐性化が進行し、なかでも繁用されるマクロライド系抗菌薬に対する高度耐性化が深刻な問題となっている。Telithromycin(TEL)はマクロライド高度耐性菌にも有効なケトライド系抗菌薬で、マクロライド耐性肺炎球菌性肺炎の治療に使用されてきたが、既に欧米では TEL 低感受性肺炎球菌の増加と高度耐性菌が報告されている。わが国においても、耐性菌の出現と増加が懸念されることから、それを防止する為に調査と監視を継続しつつ、さらに実効ある対策を講じる事が急務となっている。本研究では、国内の肺炎球菌のケトライド耐性化の現況を明らかにし、耐性機構の検討を行なった。1 医療機関で 2005 年~2006 年に分離された肺炎球菌 120 株についてマクロライド・ケトライド耐性を調査した結果、88%がマクロライド耐性を示し、その中の 35%が高度耐性菌であった。TEL 低感受性菌が 3 株含まれていた。それらは *ermB*、*mefA/E* を保有していた。他の医療機関で分離された TEL 耐性菌 (MIC4 μ g/ml) は、*ermB* を保有していたが、発現量が増大する変異が起きていた。*mefA/E* 陰性であった。薬剤の標的である 23S rRNA に 2 箇所の変異(A138G, C724T)が生じていた。さらに、人為的に選択した TEL 耐性株の解析により、23S rRNA の変異と riboprotein L22 の変異の蓄積により TEL に高度耐性化することが明らかとなった。

研究協力者：

高屋明子（千葉大学大学院薬学研究院・微生物薬品化学研究室）和田昭仁（国立感染症研究所・細菌第一部）遠藤菊太郎（北海道薬科大学・生命科学分野）

A. 研究目的

肺炎球菌は呼吸器感染症の主要な起因菌であるが、近年多剤耐性化が進行し、なかでも繁用されるマクロライド系抗菌薬に対する高度耐性化が深刻な問題となっている。Telithromycin(TEL)はマクロライド高度耐性菌にも有効なケトライド系抗菌薬で、マクロライド耐性肺炎球菌性肺炎の治療に使用されてきたが、既に欧米では TEL 低感受性肺炎球菌の増加と高度耐性菌が報告されている。わが国においても、耐性菌の出現と増加が懸念されることから、それを防止する為に調査と

監視を継続しつつ、さらに実効ある対策を講じる事が急務となっている。本研究では、国内の肺炎球菌のケトライド耐性化の現況を明らかにし、耐性機構の解明をめざす。さらに、人為的に選択した TEL 耐性株を用いてその耐性機構を解析することにより、既存の Erythromycin (EM)高度耐性菌が TEL 耐性を獲得する機構を明らかにする。又、新型の EM 高度耐性菌の存在を検討する。

B. 研究方法

1. MIC (最小発育阻止濃度)については CLSI 法に準じて測定した。培地は血液寒天培地 (ミューラーヒントン寒天培地+5%馬脱繊維血) を用い、37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 存在下で培養した。

2. 薬剤：TEL は、ケテック錠 (サノフィ・アベンティス) から抽出後、再結晶化した。構造は C-13NMR により確認し、力価は、ATCC29213 株

を用いて MIC 測定とディスク拡散法によって評価した。その他の薬剤は市販のものを用いた。

3. PCR, DNA 塩基配列決定は定法に従った。

C. 研究結果

1) 東京都内の 1 医療機関で 2005 年~2006 年に分離された肺炎球菌 120 株について、マクロライド・ケトライド耐性を調査した結果、88%がマクロライド耐性を示し、その中の 35%が高度耐性菌であった (図 1)。TEL 低感受性菌が 3 株含まれていた (MIC 0.25 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, 0.5 μ g/ml)。EM 高度耐性菌についてマクロライド・ケトライドの標的である 23SrRNA をメチルする酵素 adenine dimethylase の遺伝子 *ermB* と排出ポンプの遺伝子 *mefA/F* の存在を PCR により検討した。図 2 に示したように、EM 高度耐性菌すべてが *ermB* を保有していた。*mefA/F* 保有の 3 株はいずれも TEL 低感受性菌であった。これら 3 株の 23SrRNA は野生株と同様であった。

2) 他の医療機関より分離された TEL 耐性菌 (MIC4 μ g/ml) は、*ermB* を保有していたが、*mefA/E* 陰性であった。*ermB* ORF 上流には発現を抑制する 36 アミノ酸からなるリーダーペプチドがコードされているが、TEL 耐性菌では、リーダーペプチドが 22 アミノ酸へと短くなっていた。さらに *ermB* SD 近傍に形成される stem-loop 構造に変異が起きて、stem-loop 構造が不安定化していた。以上のことから、当該 TEL 耐性菌では、adenine dimethylase が構成的に高産生されていると考えられる。一方、薬剤の標的である 23S rRNA に 2 箇所の変異 (A138G, C724T) が生じていた。C724T はケトライドが結合するドメイン II 内に存在する変異であることから、この変異は薬剤の 23S rRNA への親和性の低下をもたらしたと考えることができる。結果を表 1 にまとめた。

3) 既存の Erythromycin (EM) 高度耐性菌が TEL 耐性を獲得する機構を明らかにするために、TEL 耐性菌 (MIC4 μ g/ml) から、2 x MIC 選択により人為的に TEL 高度耐性株耐性株を得て、23S rRNA 遺伝子と riboprotein L2、L4 遺伝子の上に現れる変異を解析した。その結果 23S rRNA と L22 の変

異の蓄積により TEL に高度耐性化することが明らかとなった。来年度はさらに解析を進め、肺炎球菌のケトライド高度耐性化の予知データを蓄積させる。

E. 結論

肺炎球菌のマクロライド耐性化が急速に進行していることが明らかとなった。さらに高度耐性菌の出現 (35%) も深刻であると考えられる。TEL 耐性菌の分離頻度は、欧米をはじめとする諸外国に比べ低かった。分離された低感受性菌は *ermB*、*mefA/E* を保有していた。他の医療機関で分離された TEL 耐性菌 (MIC4 μ g/ml) は、*ermB* を保有していたが、発現量が増大する変異が起きていた。*mefA/E* 陰性であった。薬剤の標的である 23S rRNA に 2 箇所の変異 (A138G, C724T) が生じていた。さらに、人為的に選択した TEL 耐性株の解析により、23S rRNA の変異と riboprotein L22 の変異の蓄積により TEL に高度耐性化することが明らかとなった。本研究によりマクロライドのみの使用によってケトライドに耐性化することが明らかとなったが、今後も出現する事が予想されるため、その動向に注目する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

Takaya, A., Watanabe, M., Yamamoto, T. Organization of Tn2610 containing two transposition modules. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**: 1143-1147 (2006)

2. 学会発表

1. 平川秀忠、北川奈緒美、高屋明子、遠藤菊太郎、和田俊一、岡崎充宏、山本友子 臨床分離肺炎球菌のマクロライド、ケトライド耐性機構 第 4 回 薬剤耐性菌研究会 2006 年 11 月 伊香保

G. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許出願

なし

2. 実用新案登録、その他

なし

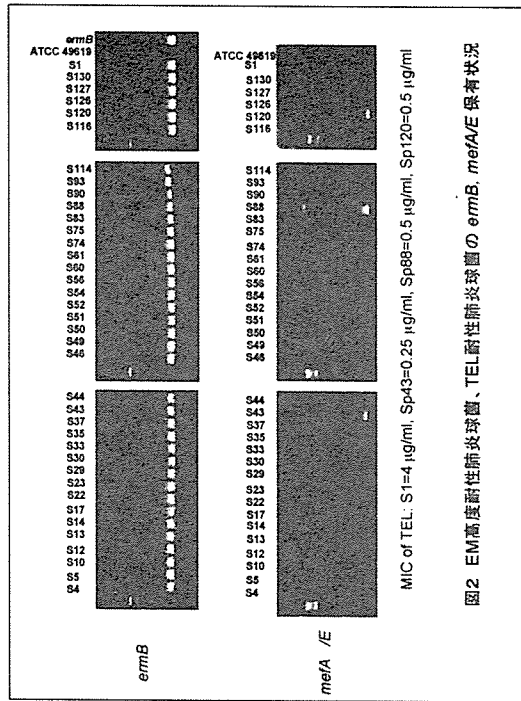
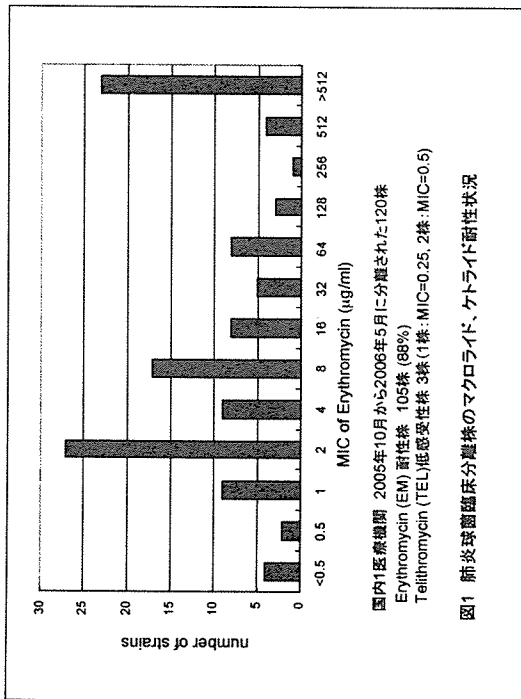


表1 TEL 耐性肺炎球菌S1の耐性関連因子

23S rRNA	A138→G C724 →T
Riboprotein	L4: S20 →N L22: no mutation
<i>ermB</i>	Positive Leader peptide length: 36AA →27AA SD region of <i>ermB</i> : two changed nucleotides
<i>mefA/E</i>	Negative

薬剤耐性菌等に関する研究班

肺炎球菌による急速進行性感染のリスクファクターの評価

分担研究者 和田昭仁 国立感染症研究所細菌第一部

研究要旨

肺炎球菌による侵襲性感染のうち、急速に病態が進行し予後不良の劇症型感染は、近年、複数の報告が見られるようになった。1991年から2006年に検査を依頼された、肺炎球菌による劇症型感染15症例(男性11例 平均年齢59.2歳、女性4例 平均年齢63.0歳)のうち、何らかの免疫異常を示す基礎疾患を持つ例は1例(67歳 男性 原発性マクログロブリン血症)のみであった。死亡は13例(死亡率86.7%)と、予後不良であった。分離された肺炎球菌の血清型は22F(3例), 4(2例), 12F(3例), 3(2例), 6A(1例), 10A(2例), 19F(1例), 23F(1例)であった。ペニシリンGに対する感受性はPRSP 2例、PISP 1例、PSSP 11例、不明1例であった。

研究協力者：東京都老人医療センター
感染症科 稲松孝思

A. 研究目的

肺炎球菌は、小児の中耳炎、肺炎、敗血症、髄膜炎、高齢者の気管支炎、肺炎、敗血症の主要な起炎菌である一方、上咽頭に常在菌叢の一部として存在することもあり、どのような因子が、感染と常在を決定しているのか、詳細は不明のままである。また、薬剤耐性肺炎球菌による侵襲性感染は、近年、ますます重大な問題となっており、米国では国への報告が求められている。海外においては7価の肺炎球菌コンジュゲートワクチンの導入により、ワクチンに含まれる型の肺炎球菌による感染は、小児においても、また、コンジュゲートワクチンを接種していない高齢者においても減少してい

る。一方、ワクチンに含まれていない型の肺炎球菌分離率の上昇がみられている。

肺炎球菌による侵襲性感染のうち、急速に病態が進行し予後不良の重症感染は、近年、日本において複数の報告が見られるようになった。本年度の研究では、1991年から2006年に検査を依頼された、重症感染由来の肺炎球菌の解析を行った。

B. 研究方法

1991年から2006年に検査を依頼された、重症感染15症例由来の20株の肺炎球菌を対象とした。血清型は、Statens Serum Institut 製型別血清およびNY State Dept. Health 製血清(抗血清型3)をもちい、菌体膨潤化法により決定した。薬剤感受性は、ドライプレート(栄研化学)を用い、CLSI M100-S15 に準拠し、ヘモサプリメントを加えたミューラーヒントンブrossをもちい、

大気、 $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ にて20-24培養後判定を行った。墨汁法による莢膜観察は、 $0.8\ \mu\text{m}$ のフィルターに通った細かい粒子からなる墨汁をもちいた。また、メチレンブルーで菌体を染色して、莢膜の観察を容易にした。パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)では、通常の方法でサンプルを調整し、菌の染色体を *Sma*I で消化した後、2-20sec, 20 h, 6 V/cm の条件をもちいた。

C. 研究結果

症例 15 例とその起炎菌 20 株の解析結果を表 1 と表 2 に示す。

内訳は、男性 11 例 平均年齢 59.2 歳、女性 4 例 平均年齢 63.0 歳出会った。このうち、何らかの免疫異常を示す基礎疾患を持つ例は 1 例(67 歳 男性 原発性マクログロブリン血症 表 1)のみであった。死亡は 13 例(死亡率 86.7%)であった。分離された肺炎球菌の血清型は 3 (2 例), 4 (2 例), 6A (1 例), 10A (2 例), 12F (3 例), 19F (1 例), 22F (3 例), 23F (1 例)であり(同一症例由来の複数の株は 1 株と計算)、分離年、地域による特別な傾向は見られなかった。ペニシリン G に対する感受性は PRSP 2 例、PISP 1 例、PSSP 11 例、菌株死滅のため不明 1 例であった。血清型を 2005 年 4 月から 2006 年 3 月に全国で分離された小児中耳炎由来の肺炎球菌 201 株の血清型と比較した結果を図 1 に示す。縦軸は%、横軸に各血清型を示す。(小児中耳炎由来の菌株のデータは神谷 齋らによるデータによる[感染症学雑誌 81:59-66, 2007])

肺炎球菌の持つ莢膜は重要な病原因子であることがわかっている。重症感染症から分離された菌と 1970 年代の分離菌の持つ莢

膜を墨汁法と膨潤法により比較したが、莢膜の厚さに両群で顕著な差は見られなかった。一例を図 2 に示す。

症例 3 と 7 由来の菌株はともに血清型が 22F で、発症地が東京であったため、これらの菌株のゲノムパターンを PFGE にて比較した。また、同じ血清型で 1970 年代に分離された菌と老人ホーム入所者の喀痰から分離された血清型 22F の菌との比較も行った。同じゲルで、症例 6 由来の菌(血清型 4)と 1970 年代に分離された血清型 4 の菌とのゲノムパターンの比較も行った(図 3)

症例 3 と症例 7 由来の菌は白い三角で示す 7 本のバンドが互いに異なっており、同一の菌株であるとは判定できなかった。また、これらの菌は、他の菌株のパターンとも異なっていた。症例 6 由来の血清型 4 の菌も、同じ血清型であるものの 1970 年代に分離された菌とは異なるパターンを示した。

D. 考 察

今回、解析を行った肺炎球菌による重症感染症症例は 15 例であるが、その死亡率は 86.7% (13/15)であり、劇症型レンサ球菌感染症による死亡率(約 50%)よりも、明らかに予後不良であった。また、薬剤感受性は 78.5% (11/14)が PSSP であり、そのうちの 81.8% (9/11)が死亡していた。PISP, PRSP の 3 例は全例死亡していた。15 例の起炎菌の血清型は特定の偏りを示さなかった。PFGE による解析でも、同じ血清型が由来が異なる菌が同一のパターンを示すことはなかった。溶血性レンサ球菌による劇症型感染症においても、複数の血清型の菌が起炎菌となっているが、本邦では、T1/M1

が約 50%をしめていることとは対照的である。また、溶血性レンサ球菌では、特定の時期に小児咽頭炎から多く分離されている菌の血清型と、その時期に起こった劇症型感染症由来の菌の血清型はおおむね一致しているが、肺炎球菌においては、図 1 に示したように、中耳炎由来の菌と重症感染症由来の菌の血清型は必ずしも一致していなかった。ただし、検討した重症感染の症例数は 15 と少なく、また時期、地域も中耳炎由来の菌と一致させた比較ではないため、結論を出すには、より例数を増やした解析が必要である。

肺炎球菌の持つ莢膜は、白血球貪食抵抗性因子として重要であることがわかっている。今回の症例の中でも、抹消血中に肺炎球菌が観察できる症例が含まれていたため、これらの菌の持つ莢膜と、1970 年代に分離された菌の持つ莢膜を、膨潤法と墨汁法で比較したが、重症感染症由来の菌が特別厚い莢膜を持つと判定することはできなかった。

E. 結 論

今後、急速に進行する重症感染症を引き起こす原因が何に由来するかを突き止める必要がある。莢膜の解析においては、菌が産生する莢膜の産生量を定量的速度比濁法で定量すること、莢膜の平均分子量を多角度レーザー光散乱および屈折率検出器つき高速サイズ排除クロマトグラフ法で定量することが必要である。また、重症感染症由来の菌特異的な菌体表面抗原が存在するかどうかを調べるための実験も必要であると考えられる。

F. 健康危険情報

今回の解析でも示したように、症例はすべて散発例であり、症例数を考慮すると、現

時点では公衆衛生上の重大な問題点であるとは考えられない。

G. 研究発表

なし

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許出願

なし

2. 実用新案登録、その他

なし

表1

発生年	発生地	年齢	性別	診断	転帰	検体	DOC陽性率 (%)	年齢
1991	福岡	43	M	急性肺炎	死亡	血液	0.06	22F
1998	千葉	46	M	肺炎球菌肺炎	死亡	不明	NT	24F
2003	京都	26	M	肺炎球菌肺炎	死亡	唾液	0.25	22F
2004	岐阜	42	M	肺炎球菌肺炎	回復	血液	0.09	10A
2004	大塚	97	M	肺炎球菌肺炎 肺炎球菌肺炎 肺炎球菌肺炎	死亡	血液	2	19F
2004	群馬	84	M	肺炎球菌肺炎	死亡	唾液	0.06	4
2004	京都	61	F	肺炎球菌肺炎 肺炎球菌肺炎	死亡	唾液	0.09	22F
2005	新潟	30	F	肺炎球菌肺炎 肺炎球菌肺炎	死亡	血液 子宮頸	0.06 0.06	12F 12F
2006	岐阜	65	M	肺炎球菌肺炎	回復	唾液	0.015	3
2009	岐阜	70	M	肺炎球菌肺炎	死亡	唾液 喉嚨	0.015 0.015	10A 10A

表2

発生年	発生地	年齢	性別	診断	転帰	検体	DOC陽性率 (%)	年齢
1991	福岡	43	M	急性肺炎	死亡	血液	0.06	22F
1998	千葉	46	M	肺炎球菌肺炎	死亡	不明	NT	24F
2003	京都	26	M	肺炎球菌肺炎	死亡	唾液	0.25	22F
2004	岐阜	42	M	肺炎球菌肺炎	回復	血液	0.09	10A
2004	大塚	97	M	肺炎球菌肺炎 肺炎球菌肺炎 肺炎球菌肺炎	死亡	血液	2	19F
2004	群馬	84	M	肺炎球菌肺炎	死亡	唾液	0.06	4
2004	京都	61	F	肺炎球菌肺炎 肺炎球菌肺炎	死亡	唾液	0.09	22F
2005	新潟	30	F	肺炎球菌肺炎 肺炎球菌肺炎	死亡	血液 子宮頸	0.06 0.06	12F 12F
2006	岐阜	65	M	肺炎球菌肺炎	回復	唾液	0.015	3
2009	岐阜	70	M	肺炎球菌肺炎	死亡	唾液 喉嚨	0.015 0.015	10A 10A

図1

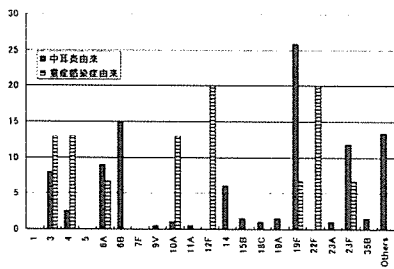


図2

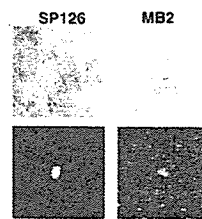
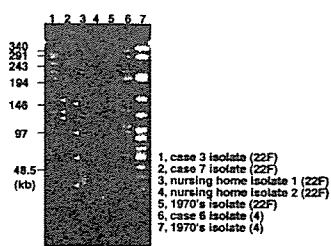


図3



薬剤耐性菌等に関する研究班
市中病院における多剤耐性結核患者管理体制の確立—結核感染における免疫応答に関する研究

分担研究者 京都大学大学院医学研究科 臨床病態検査学 一山 智

研究要旨

ツベルクリン反応（ツ反）は、結核感染を判定できる唯一の検査法として、わが国において広く用いられているが、BCG による偽陽性が判定を困難としている。このため、ツ反結果の利用法など病院感染対策における対応に混乱が見られる。近年結核感染検査法として、感度および特異性に優れたクオンティフェロン（QFT）が開発され、結核患者における高い陽性率や、集団感染事例における感染者の絞り込みに非常に有用であることが示されている。しかし、病院内感染事例に関するデータは少なく、QFT 等の新しい検査法を用いた免疫応答による多剤耐性結核管理体制の確立を本研究の目的とした。

結核患者における免疫応答では、QFT は高い陽性率を示した。免疫抑制者における免疫応答では、QFT は未知の発病者の発見に寄与した。また免疫抑制剤による影響は、ツ反に比べて限定的であることが示唆され、免疫不全者が多数存在する入院患者において、QFT が結核の発病の早期発見のみならず、潜在的感染者の診断および化学予防の適応の判断にも寄与できる可能性が高いと考えられた。感染曝露事例においては、QFT は潜在的感染者および結核既往者の発見に寄与したが、ツ反による判定は困難であった。

以上より QFT を軸とした結核患者管理体制の確立が急務と考えられた。

研究協力者：

飯沼由嗣（京都大学大学院医学研究科 臨床病態検査学）

A. 研究目的

結核患者の管理体制において、感染・発病者の早期発見および適切な化学予防・治療は二次感染防止のために非常に重要である。結核の発病診断では、遺伝子診断などの診断技術の進歩は著しいが、感染の診断に関してはツベルクリン反応（ツ反）のみが利用可能であった。しかし、BCG 接種をほぼ全員が実施しているわが国では、ツ反を利用した感染の診断は集団感染事例を除いてはきわめて困難である。

近年結核感染検査法として、QFT-2G（クオンティフェロン 2G、以下 QFT）が開発された。これは、結核特異抗原をリンパ球に反応させて、産生される IFN- γ を測定し、結核の感染を診断するものである。これまでの報告では、結核患者においてツ反よりも感度が良好であることや、集団感染事例における感染者の絞り込みに有用であるこ

とが報告されている。しかし、病院内感染曝露事例におけるデータは少なく、これからの検討課題である。

本研究は、結核患者、免疫抑制患者や結核曝露リスクの高い職員における結核免疫応答の検討と、感染曝露事例への応用の検討を行い、市中病院における多剤耐性結核患者管理体制を確立することを目的とする。

B. 研究方法

対象：当院入院の結核患者、および、病院内感染曝露において感染の診断が必要となる患者および職員を対象とした。結核患者以外の患者に関しては、感染の診断がより困難と予想され、感染発病のリスクの高い免疫抑制患者を対象とした。職員については、結核患者との曝露があった職員や日常的に結核患者との曝露のリスクが高い職員を対象とした。

方法： 結核免疫応答は、ツベルクリン反応および結核特異抗原刺激後の IFN- γ （QFT）の測定で行った。臨床データでは、結核感染リスクや BCG

歴の確認、抗酸菌検査および画像診断による感染発病の確認を行った。解析は、基本性能の評価（対象：結核患者）、免疫抑制者および院内曝露事例における性能評価を行った。

C. 研究結果

1. 結核患者における免疫応答

17 例の菌陽性結核患者に QFT を実施した。15 名（88%）が陽性となり、1 例は判定保留、1 例は判定不可となった。判定不可の 1 例は、粟粒結核の症例であった。

2. 免疫不全患者における免疫応答

38 例の免疫抑制治療中の膠原病類縁疾患について、QFT を実施した。7 例が陽性、2 例が判定保留となった。陽性例のうち 1 例で菌陽性結核と判明、1 例は臨床的に結核と診断された。平均年齢が 68.9 才と高齢であり、既感染者である可能性が高い患者集団であると考えられた。判定不可はステロイドと免疫抑制剤を使用中の SLE 症例 1 例であった。ツ反の陽性率は 39%（13/33）と低かった。QFT の Mitogen による IFN- γ 産生 (IU/ml, 平均) は、ツ反陽性：陰性=10.4：12.7（ $p=0.33$ ）であり有意差は認めなかった。

免疫抑制療法を受けている患者において、偽陰性の原因となりうる免疫抑制の程度を確認するために、QFT の陽性例と陰性例で、Mitogen による IFN- γ 産生 (IU/ml, 平均) を比較した。陽性例（ $n=7$ ）：陰性例（ $n=28$ ）=8.09：11.59 と陰性例での低下は見られず、免疫応答の低下が偽陰性の原因となっている可能性は低いと考えられた。

3. 結核曝露のリスクの高い部署における免疫応答

2 診療科（医師、①呼吸器内科 $n=35$ 、②呼吸器外科 $n=13$ ）および 2 看護単位（看護師、③結核病棟 $n=19$ 、④呼吸器外科病棟 $n=13$ ）の京大病院職員について QFT を実施した。

① 呼吸器内科医師においては、1 例が陽性となった（陽性率：1/35=2.9%）。この職員には、

明らかな曝露歴および結核の既往はなかった。自己判断で化学予防を行い、その後実施した QFT の再検査では判定保留となった。また、1 例は判定保留となったが、結核の既往がある職員であった。

② 呼吸器外科医師においては、4 例が陽性となった（陽性率：4/12=33.3%）。うち 2 例は最近の結核曝露歴があり、化学予防を推奨した。1 例は結核の既往がある職員であり、1 例は過去に曝露歴があった。また 1 例のみ判定不可となったが、ESAT-6 刺激の結果は、判定保留であった。

③ 結核病棟看護師においては、1 例が陽性となった（陽性率：1/19=2.9%）。この職員は明らかな曝露歴および既往はなかった。また当病棟勤務歴 6 年の中堅看護師であった。また 1 例は判定保留となったが、同様に曝露歴および既往はなかった（勤務半年）。

④ 呼吸器外科病棟看護師においては、2 例が陽性となった（陽性率：2/13=15.4%）。陽性の 2 名は、最近の曝露歴があり、化学予防を実施した。

合計 8 例の陽性例が QFT により検出されたが、うち 4 例は最近の曝露歴があり、この曝露にともなう潜在的結核感染者と考えられ、化学予防が必要と判断された。また陽性の 1 例と判定保留の 1 例は過去に結核の既往のある職員であった。陽性例のツ反の発赤径は、10mm 未満が 2 例、10-19mm が 2 例、40-49mm が 2 例、50-59mm と 60 以上が各 1 例ずつとなり、ツ反径と QFT の結果には明らかな関連は見いだせなかった。

D. 考察

結核患者における QFT の陽性率は高く、発病の診断にも有用である可能性が示唆された。ツ反よりも陽性率が高いことが報告されており、結核発病における感度が良好であることが本研究でも再確認された。

免疫抑制治療中の患者を対象とした、QFT の検

査結果は、7例が陽性となり、うち2例が結核と診断された。この2例はこの検査前には結核が発病していることが知られていなかった患者であり、免疫不全患者に多い再燃型の発病の早期診断に有用である可能性が示唆された。

また、判定不可は1例にとどまり、BCG接種などにより本来高率に陽性となるべきツ反陽性率が38%にとどまった（陰性者は免疫不全に伴う偽陰性の可能性あり）ことを考慮すると、免疫不全者における潜在的結核感染をより正確に診断できる可能性が示唆された。

実際、QFT陽性と陰性例でMitogenによる免疫応答に有意差は見られず、免疫抑制剤による判定不可とならない程度の免疫応答の減弱が、感染者を陰性としてしまう可能性は低いと考えられた。すなわち、免疫抑制薬によるQFTへの負の影響はツ反に比べて限定的である（免疫不全による偽陰性の可能性は低い）と考えられた。

以上より、免疫不全者が多数存在する入院患者において、QFTが結核の発病の早期発見のみならず、潜在的感染者の診断および化学予防の適応の判断にも寄与できる可能性が高いと考えられた。

結核曝露ハイリスク部署におけるQFTは、病棟毎に陽性率に差が見られた。合計8例の陽性例がQFTにより検出されたが、うち4例は最近の結核曝露歴があり、化学予防の必要性が適格に診断された。また、結核の既往のある職員も陽性と判定された。ツ反発赤径とQFT陽性者の関連は明らかではなく、ツ反による感染者の判定は極めて困難であると考えられた。

E. 結論

結核患者における免疫応答は、QFTでは高い陽性率を示した。免疫抑制剤における免疫応答では、QFTは未知の発病者の発見に寄与した。また免疫抑制剤による影響は限定的であることが示唆され、免疫不全者が多数存在する入院患者において、QFTが結核の発病の早期発見のみならず、潜在的感染者の診断および化学予防の適応の判断にも

寄与できる可能性が高いと考えられた。院内曝露事例においては、潜在的感染者および結核既往者の発見に寄与したが、ツ反による判定は困難であった。以上よりQFTを軸とした結核患者管理体制の確立が急務と考えられた。

F. 健康危険情報

ツ反による、結核発病者および感染者の判定は困難であり、偽陽性による本来不必要な化学予防に伴う健康被害、さらには偽陰性による本来必要な化学予防の未実施による発病リスクの増大および発病者の発見遅延による集団感染リスクの増大につながる可能性がある。このため、ツ反に代わる感染判定法であるQFTを軸とした結核患者管理体制の確立が急務である。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1. 飯沼由嗣. 全国アンケート調査から見たわが国における結核院内感染対策の現状と問題点:クオンティフェロンTB-2Gの感染対策への活用. 日本公衆衛生学会、教育セミナー. 2006. 富山.

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許出願

なし

2. 実用新案登録、その他

なし

一般病院における結核対策と QFT-TB

京都大学附属病院検査部・感染制御部助教授 飯沼 由嗣

●わが国の結核の現状●

わが国の結核の新規登録者数は、徐々に減少してはいますが、2004年の年間新規登録患者数は約3万人にも達しています。この数字は、主要先進国の約2～5倍と非常に高い数値であり、しかも、感染性の高い喀痰抗酸菌塗抹陽性患者数はここ数年ほぼ横ばいの状態が続いています。

また我が国の結核の特徴の一つとして、高齢化および都市部での集中が挙げられます。このことはすなわち、人口密度の高い地域での発生の集中を意味し、ひいては大規模な集団感染事例を引き起こす原因ともなっています。

以上のことより、結核は今もなおわが国において最も重要な伝染性感染症であるといえます。

しかし、結核患者数の減少に伴い、結核病棟が相次いで閉鎖され結核患者を受け入れる施設も減少してしまいました。このため、結核病棟のない施設で排菌性結核患者を診療する機会が増す結果となっていますが、結核患者を安全に隔離できる病室を持った病院はまだ限られています。

更に、高度医療の進歩により、これまで救命の困難であった難病を克服することが可能となりましたが、高度医療に伴う免疫力の低下に伴い結核が再燃するケースが増加してきました。しかし、医師の結核に対する意識の低さもあり、診断がどうしても遅れ気味となります。これをドクターズディレイと言います。

以上のことより、結核患者数は確かに減少していますが、一般病院での結核曝露のリスクはむしろ高まっているともいえます。

●結核の感染と発病●

結核の診断の難しさは、その特異な感染発病形式に負うところが大きいのです。結核菌は肺結核患者から咳とともに空中へ放出され長時間空中を浮遊し、ヒトの気道から肺胞内に沈着し感染が成立します。しかし、感染したヒトがすべて結核を発病するわけではなく、発病するのはそのうち約20%と言われています。更に、そのうち約半数すなわち感染者のうち約10%が1年以内に、残り10%は糖尿病や悪性腫瘍などの免疫力低下に伴い年余を経て発病すると言われています。

結核が発病した後の診断は、主に喀痰からの菌の検出によります。従来から行われている塗抹検査や培養検査に加え、最近では遺伝子検査も行われるようになり、より正確により早く診断できるようになってきました。

一方、結核の感染に関しては、長年にわたりツベルクリン反応（ツ反）が唯一の検査法でした。しかし、ツ反の最大の欠点は、結核のワクチンであるBCG接種者でも陽性になってしまう点です。

わが国ではほとんどの国民がBCGを幼少期に接種されているため、結果としてツ反で結核感染を正しく判定することは不可能です。

集団感染を収束させるためには、発病前の感染者を見つけだし、抗結核薬の内服による予防治療すなわち化学予防を行うことが必要不可欠です。しかし薬の副作用に悩まされることも多く、できる限り感染者を特定する必要があります。暫定的にツ反の大きさ等で感染者と非感染者を区別してきましたが、非感染者にも薬が投与されてきていた可能性は否定できません。

●QFT-G 検査法とは●

このようなツ反の問題点を解決できる可能性を持つ検査法が開発されました。それがクオンティフェロン結核検査（QFT）です。

簡単に原理を説明しますと、結核に感染したヒトの血液中には結核菌の抗原に特異的に反応するリンパ球が存在します。その反応をツ反のように人間の体内ではなく、試験管内で検査しようというのがこのキットです。

結核特異リンパ球は結核菌が侵入すると、その抗原に反応してインターフェロン γ という因子を多量に放出します。このキットでは血液に結核菌抗原を混ぜて、その中に存在する結核特異リンパ球の存在をインターフェロンの増加で判定します。現在用いられている第二世代検査キットQFT-GではESAT-6とCFP-10という、結核菌には存在しBCGには存在しない抗原を使用しています。すなわち、BCG接種者では陽性にはならず結核感染者のみが陽性となるということになります。

ツ反のみで結核感染を正確に診断するためにはBCGを打たないことが必要です。しかし、現状のわが国の結核患者数ではまだ早急すぎるとの意見もみられます。BCG接種が必要な国での結核感染の診断にQFTが大変期待されている理由がこれでおわかりになると思います。

●QFT-G とツ反の比較●

では、本当に QFT-G はそのような理想的なキットなのでしょうか。これに関してこれまで数多くの研究成果が出されておりますのでデータを紹介したいと思います。

まず、もっとも問題となるのが感度、すなわち感染者をどのくらい陽性と判定できるかです。じつはこれは正確な比較をすることが困難なのです。というのも結核感染を診断する決定的な方法（ゴールドスタンダード）がないためです。

まず、結核感染が間違いないケースとして結核発病者でのデータからは QFT がツ反に比べて若干感度が良好と報告されています。逆に潜在性結核の状態ではツ反が若干良好ではないかと推定されています。いずれにせよ感度はほぼ同等であると考えてよさそうです。

次に BCG の影響ですが、これは明らかに QFT-G が優ります。BCG の影響をほとんど受けないことが報告されております。また皮膚の副反応がないことや 1 回の採血で検査が実施できるなどの利点もあります。逆に QFT が劣る点としては、まずコスト面が挙げられます。専用の機器が必要であり、試薬コストもツ反の 10 倍以上かかります。また QFT は生きた細胞を使う必要があるので、採血後短時間で検査をおこなわなければなりません。更に開発されたばかりの検査法ですので、臨床データも少なく、その点でもツ反に劣ります。

しかし、BCG をほとんどの国民が接種しているわが国において、ツ反では困難であった結核感染を格段に特異的に判定できる点と感度も見劣りしないという点で、画期的な検査法であることは間違いなさそうです。

●結核集団発生事例におけるツ反と QFT-G 検査●

最後に QFT の実際の臨床現場での評価について紹介します。まず集団感染事例での有用性です。本ケースでは濃厚接触者 220 名中 72 名の QFT 陽性者が発見されました。一方、非濃厚接触者ではわずか 2 名しか QFT 陽性者はいませんでした。

これをツ反発赤径のみで判定しようとする 30mm 前後で感染と非感染を区別することになり、結果としてかなりの非感染者が化学予防をせざるを得なかったと考えられます。更に、従来非感染者として扱われてきたツ反発赤径が 20mm 以下のなかにも QFT 陽性者が発見されており、ツ反では発見できない感染者を発見できる可能性もあることが分かりました。ツ反による判定がさらに困難な病院感染曝露のような少人数の感染曝露事例でも、感染者の判定にこのキットは大いに力を発揮するものと期待されています。加えて、結核病棟勤務や菌検査など結核曝露のリスクに常に晒されているハイリスクの職種では QFT を定期健診に組み入れることにより、結核感染を発病前に検知し、化学予防等適切な対応ができる可能性もあります。

臨床面への応用では、免疫抑制剤を用いるなどハイリスク患者において QFT で結核感染を発見し化学予防や重点的な結核発病のフォローが可能となるのではないかと期待されています。先頃、結核病学会は QFT をツ反にかわりわが国の結核感染判定の標準法とする指針を出しました。この方針の是非はいろいろあるかと思いますが、QFT は病院における結核感染対策には欠かせない検査の一つとなりそうです。