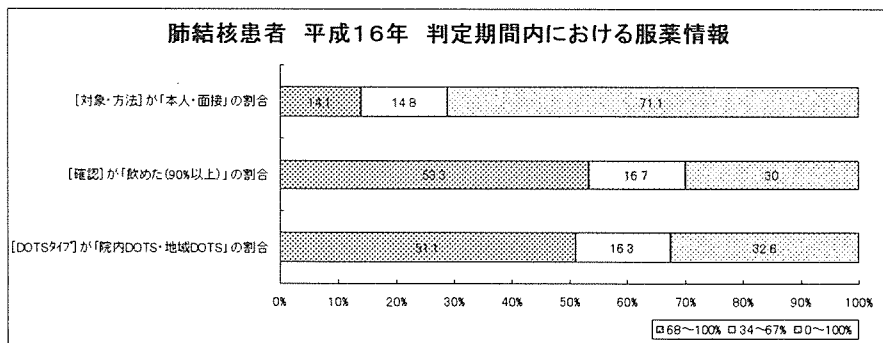


⑮肺結核患者 判定期間内における服薬情報 グラフ



耐性結核の診療システムの確立

分担研究者 坂谷光則

独立行政法人国立病院機構 近畿中央胸部疾患センター

研究要旨

1. 多剤耐性結核患者（国立病院機構政策医療呼吸器ネットワークを利用した）リンパ球を用いた新しい技術 SNPs 解析法、キラーT 細胞分化解析法による多剤耐性結核の診断法を開発するとともに、新しい治療法を開発するプロジェクトを共同研究で行った。すでに国立病院機構東京病院 四元秀毅院長、大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター 松本智成部長、国立病院機構福岡東病院 岩永知秋副院長（田尾義昭医長）、国立病院機構愛媛病院 西村一孝院長、国立病院機構山陽病院 上岡博院長（福永肇博士）、と共同研究で行った。（資料1、表1）
2. 今回は関東信越地域を対象としたものであった。初回治療多剤耐性結核が10名、在宅で外来通院が15名あることが明らかになった。詳しい情報を得ていないが、今後この持続排菌例に焦点をあてて全国調査を行う必要がある。特に在宅の外来通院中の感染対策、長期入院患者の実際と問題点について調査予定である。XDR-TBの検討も必要と考える。平成19年度は国立病院機構政策医療呼吸器ネットワーク（54施設）を活用して、
 - (1)多剤耐性結核の新規入院例の発生頻度、患者背景、治療の調査をおこなう。
 - (2)持続排菌例に関して治療の場、治療、感染対策状況について調査を行う。以上より多剤耐性結核の現状と問題点を明らかにし、今後の方策を検討する。
 - (3)これらを参考にして、耐性結核の診療システムを確立する。耐性結核の外科療法の基準については、外科の専門家を研究協力者として、マニュアル等を作成する。の研究を行う。
3. 多剤耐性結核の疫学・予後・治療（九州地区のすべての国立病院機構）。多剤耐性結核患者。すべて空洞。糖尿病、喘息、呼吸不全等の抵抗減弱因子あり。
4. 四国全県が多剤耐性結核患者を調査解析した。新退院基準以降の在院日数の変化や、DOTS実施状況、患者の不安について解析した。
5. ① 大阪において感染による多剤耐性結核菌発病の概算。受診患者167名において、16組の患者がクラスター形成をしていた。他はクラスター形成していない。治療失敗による多剤耐性結核患者は95名（実際はもっと少ない）、感染による初回多剤耐性結核患者は72名となった。② 全国規模の多剤耐性結核菌データベースを作成するにあたって、九州地区、四国地区、関東地区のそれぞれ一施設の多剤耐性結核菌株を入手し当院における大阪多剤耐性結核菌株群との比較。

福岡東医療センター 8 株、埼玉東病院から提供を受けた 31 株中それぞれ 1 株ずつが当院保有の菌株と一致した。また愛媛病院からの家族内発生した菌株は、大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターのクラスター形成菌株と 16 領域のうち 1 領域のみ異なる類縁菌株であることが判った。③今回、我々の研究にて多剤耐性結核の感染発病が予想以上に多く、しかも九州、関東地方に 16VNTR にて同一株が存在する事がわかった。

6. 多剤耐性結核対策として、単剤加療や、加療中断による新たな耐性獲得を作らないことが重要であるが、今後は多剤耐性結核、特に高度多剤耐性結核(XDR-TB)を感染・蔓延させない対策も非常に重要になる。今回、我々の研究にて多剤耐性結核の感染発病が予想以上に多く、しかも九州、関東地方に 16VNTR にて同一株が存在する事がわかった。MDR-TB, 特に XDR-TB は、感受性結核とは別の強化された対策が必要である。
7. 通常の薬剤感受性結果では RFP 感受性でありながら、臨床経過から RFP 耐性が疑われた 5 症例由来の 5 菌株には全て RFP 耐性遺伝子の変異が認められた。通常の薬剤感受性結果より、遺伝子変異の有無の検討の方が、臨床的な経過とよく関連していた。
8. 多剤耐性結核菌の中にも強毒株が存在することを RFLP 法、Spoligotyping 法で行い、三つのクラスター (クラスター-a、クラスター-b、クラスター-c) 株を見出し、明らかにした。クラスター-a,b は Beijing 株だが、クラスター-c は Beijing 株ではなかった。以上より、多剤耐性結核菌にも流行株が存在することが示唆された。
9. 国立病院機構呼吸器ネットワーク (資料 1、図 1) を利用した患者宿主要因の SNPs 解析、T 細胞免疫機能解析とこれを利用した治療戦略の開発。(a) すでに多剤耐性結核患者末梢血 53 例を解析し、コントロール群 (健康人対照者と薬剤感受性結核) と比較し、MSMD (Mendelian susceptibility to mycobacterial disease) 群の候補遺伝子の解析を行った。その結果、NRAMP1 の SNP パターンに違いが認められる結果を得たが、これを症例を増やして解析中。(b) MDR-TB 患者のキラーT 細胞から分泌される結核菌殺傷蛋白 granulysin の低下を明らかにした。granulysin に対するモノクローナル抗体を作製した。これらを用いヒト血清中の granulysin 及び T リンパ球培養上清中の granulysin の ELISA 診断法を開発した。
10. 多剤耐性結核の外科両方の適用基準等のマニュアル作りの計画を行う。
11. (政策医療呼吸器ネットワークを利用した) 多剤耐性結核と T 細胞免疫機能解析 (結核菌殺傷蛋白等) による新しい多剤耐性結核予防法及び治療法の開発。すでに ELISA 法を用いて、結核菌殺傷タンパク granulysin の定量的アッセイの系を確立した。15K Granulysin Transgenic マウス及び 9K Granulysin Transgenic マウスも作製した。これを用い結核菌に対するキラー活性が示唆された。
12. 政策医療呼吸器ネットワークを利用した、種々の多剤耐性結核菌によるマクロファージ機能調節機構 (TLR 等の発現調節) の解明において、多剤耐性結核菌では TLR 4 の認識からエスケープする可能性を初めて明らかにした。

A. 研究目的

1. 本研究は薬剤耐性結核、とくに多剤耐性結核をより効果的・効率的に予防し、診断・治療するための方法を確立し、またそれを行政サービスとして普及するための方法を検討することを目的としている。本研究の診療システムの確立はこれを目的とする。
2. 具体的には、
 - ① 多剤耐性結核の新規入院例の発生頻度、患者背景、治療の調査をおこなう。
 - ② 持続排菌例に関して治療の場、治療、感染対策状況について調査を行う。以上より多剤耐性結核の現状と問題点を明らかにし、今後の方策を検討する。
 - ③ これらを参考にして、耐性結核の診療システムを確立する。耐性結核の外科療法の基準については、外科の専門家を研究協力者として、マニュアル等を作成する。
3. 主として途上国では DOTS-Plus (質の高い薬剤感受性検査と二次薬の使用を補助するプロジェクト)として普及しつつある。先進国では米国の National Tuberculosis Center 事業 (全米の患者を特定施設に集中し、高度の医療を行う) がひとつのモデルとなっている。すなわち、新しい治療方式の開発が望まれる。
4. 多剤耐性結核の新治療方式の開発:これまで明確な成果の上がない免疫療法や姑息的化学療法に一大進歩を印する可能性がある。また分担研究者の病院は呼吸器疾患の国療ネットワークの全国中核病院として、全国規模で症例にアクセスできる立場にある。したがって、
 - ①政策医療呼吸器ネットワークを利用した多種の多剤耐性結核菌の RFLP 解析等による多剤耐性結核菌院内感染・集団感染の予防・診断法の開発の解明を目的とした。
 - ② (政策医療呼吸器ネットワー

クを利用した)糖尿病合併に伴う多剤耐性結核患者のサイトカインの測定と T 細胞免疫機能解析 (結核菌殺傷蛋白 granulysin 等) による新しい多剤耐性結核予防法及び治療法の開発 ③政策医療呼吸器ネットワークを利用した、種々の多剤耐性結核菌による T 細胞・マクロファージ機能調節機構 (SR や TLR 等の発現調節) の解明とこの作用機序解明による新しい診断法、治療法の開発 ④多剤耐性結核患者 (国立病院機構政策医療呼吸器ネットワークを利用した) リンパ球を用いた新しい技術 SNPs 解析法による多剤耐性結核の診断法を開発するとともに、新しい治療法を開発する。

B. 研究方法

1. 外来にて治療管理中の多剤耐性結核患者を対象に、性、年齢、合併症、病型、排菌状態、入院拒否理由、自宅生活状況、受診手段などを検討した。さらに、今回は国立病院機構関東信越ブロックでのアンケート調査をおこなった。
2. 平成 18 年の入院状況、多剤耐性結核患者数、病床の高齢者結核患者数・その問題、各施設での在院日数・入院短縮化の取り組み、DOTS の実施状況などを検討した。(2) 平成 17 年 4 月から 10 月までに入院した初回治療塗抹陽性症例 30 例 (多剤耐性、死亡例は除く) を平成 16 年 1 月 12 月の同様の症例 36 例と比較した。(3) 愛媛県内の医療機関の内科系医師を中心に A 基準、B 基準で在宅に退院する不安点や B 基準で転院もしくは介護支援のサービスを受けることへの不安点についてアンケートを送り、結果を検討した。また、今回の研究に関しては患者個人の情報を特定できるものは含まれていない。
3. VNTR タイピングを行った多剤耐性菌株でクラスター形成をしている菌株は、

そのうちの一つから他のクラスター構成患者に感染させたと仮定し、治療失敗による多剤耐性患者数と感染により発病した初回多剤耐性結核患者数の概算を求める。国立病院機構呼吸器ネットワークを利用し入手した多剤耐性結核菌株にて分子疫学タイピングを行い全国規模の多剤耐性結核分子疫学データベースを構築する。

4. grgranulysin の測定は抗 granulysin 抗体、モノクローナル抗体を用いて ELISA アッセイで行った。
5. TLR2(-/-)マウス、TLR4(-/-)マウス等を多剤耐性結核菌を用いて解析した。
6. 多剤耐性結核性菌症で、既存の肺病変の有無は問わない。原則、説明と同意の可能な症例を対象とするが、本人に説明と同意が不十分であると客観的に判断される場合、本人とともに代諾者（保護者、家族）の同意を得る。呼吸器ネットワーク関連施設等で試料提供施設を追加していくことにより、最終的に 100 例～200 例の集積を目標とした。説明文書、同意文書を用いて、インフォームド・コンセントを取得し、EDTA 採血にて 7ml 採取した。
7. 多剤耐性結核患者の末梢血リンパ球（PBL）のキラーT細胞分化活性、キラーT細胞分化因子産生能及び granulysin 産生能を解析した。コントロールとして健常人（ボランティア）末梢血 PBL を用いた。
①キラーT細胞分化活性は多剤耐性結核患者 PBL を responder cell として 1×10^6 /well (24 マルチ well plate) にまき、stimulation cell としてヒト・アロ抗原 CESS B 腫瘍細胞株をマイトマイシン C 処理した後 1×10^5 /well～ 0.2×10^5 /well をがん刺激した。またポリクローナル刺激として 0.2% PHA-P 及び $5 \mu\text{g/ml}$ ConA で刺激し、4 日間 37°C

$5\% \text{CO}_2$ インキュベーターで、培養した。4 日後に各 well よりエフェクター細胞を集め、E/T 比 (Effector/Target 比) を同じ条件として、 ^{51}Cr 遊離法 (^{51}Cr CESS) を用いてヒトキラーT 活性を測定した。

②キラーT細胞分化因子活性 (IL-6 活性、IFN- γ 活性、IL-2 活性) に ELISA アッセイで測定した。さらに、ヒト末梢血 T 細胞を responder cell とし紫外線 (U・V) 照射した CESS 細胞を stimulator cell とした MLTC の系に多剤耐性結核患者 PBL の種々の刺激培養上清を加えて、キラーT細胞誘導能を測定した。(Proc Natl. Acad. Sci USA Okada et al 1981 の方法に順じ)

③多剤耐性結核患者 PBL (1×10^6) をこのスーパースプレッダーMDR-TB 菌を用いて種々の TLR ノックアウトマウスに感染させた。TLR とスーパースプレッダーMDR-TB 菌の免疫機構を解よりエスケープする可能性が示唆された。 $20 \mu\text{g/ml}$ PPD、 $20 \mu\text{g/ml}$ ～ $100 \mu\text{g/ml}$ 結核死菌、K562 1×10^6 、CESS_{MHC} 1×10^6 、PWM、PHA-P、ConA、Cowani1 で 4hr、24hr、及び 48hr、96hr 刺激してそれぞれの培養上清を集めた。これらの培養上清を用いて、キラーT細胞分化因子活性、及び granulysin(結核菌殺傷タンパク) 活性を測定した。

8. 2000 年 1 月から 2005 年 12 月までに当院で加療を行った結核患者検体から検出された多剤耐性結核菌株 109 株を対象として、IS6110 による RFLP 法、Spoligotyping 法を行い、クラスター解析を行った。
9. 再感染を含む多剤耐性結核の院内集団感染事例の多剤耐性結核菌の RFLP 解析を行った。

(倫理面への配慮)

個人が特定されないように、症例の番号化

を行っている。

C. 研究成果

1. 多剤耐性結核の疫学・予後・治療（九州地区のすべての国立病院機構）。多剤耐性結核患者。すべて空洞。糖尿病、喘息、呼吸不全等の抵抗減弱因子あり。MDR-TB菌のRFLP解析により、多剤耐性結核菌を多くの人に感染させるスーパースプレッダー多剤耐性結核患者の存在を発見した。
2. 地域の結核医療の現状を以下の3つについて検討した。（1）呼吸器ネットワークを利用して、高知医療センター、東徳島病院、高松東病院、および愛媛病院の4施設の結核病床の現状、問題点を検討した。活動性肺結核病床数は192床、その中で多剤耐性結核病床数は73床である。病床占拠率は全体で55%であり過去3年と著変はなかった。多剤耐性結核患者数は6例であった。平均在院日数は平成15年、16年、17年でそれぞれ78日、71日、67日と減少傾向を示した。入院期間短縮を阻む問題点として、高齢者の問題が挙げられた。（2）新退院基準が平成17年に示され、それ以降の当院（愛媛病院）に置ける在院日数の変化や問題点を検討した。当院における平成17年4月から10月までに入院した初回治療塗抹陽性症例30例（多剤耐性、死亡例は除く）を平成16年1月12月の同様の症例36例と比較した。平均在院日数は16年88±30日（中央値87）で、17年は73±36日（中央値69）で短縮していた。患者背景には変化はなく、在院日数の短縮は新退院基準の効果であると推測された。（3）新退院基準に関する地域の各医療機関の理解・不安をアンケートにより検討した。愛媛県内の医療機関の内科系医師を中心に90人にアンケートを送り、66人から回答を得た

（73.3%）。A基準で退院することへの不安は68%と強く、B基準でも46%であった。B基準での転院や介護サービスの受け入れに関してはやはり60%が不安を示した。不安点の主なものは早期の退院は、他者への感染、治療効果の不安、患者周囲の理解が得られ難いといったものだった。

3. （政策医療呼吸器ネットワークを利用した）多剤耐性結核とT細胞免疫機能解析（結核菌殺傷タンパク等）による新しい多剤耐性結核予防法及び治療法の開発。すでに、結核菌殺傷タンパク granulysin の定量的アッセイの系を確立した。（資料1、表3）その結果、多剤耐性結核患者では granulysin 蛋白発現の低下が示唆された。さらにこれらのTgマウスを作製した。その結果生体内結核菌数の低下が認められた。（資料1、図2）
4. 政策医療呼吸器ネットワークを利用した種々の多剤耐性結核菌によるTLR等の発現調節の解明と、この作用機序解明による新しい診断法、治療法の開発 → 多剤耐性結核菌を岡田に送付 → すでに多剤耐性結核菌ではTLRの認識からエスケープする可能性を初めて明らかにした。
5. 多剤耐性結核患者（国立病院・療養所政策医療呼吸器ネットワークを利用した）リンパ球を用いた新しい技術SNPs解析法による多剤耐性結核の診断法を開発するとともに、新しい治療法を開発するプロジェクトを共同研究で行った。（資料1、表1）
6. ①多剤耐性結核患者PBLをヒトアロ腫瘍細胞CESSで刺激するMLTCにおいて、CESSに対するヒトキラーT細胞分化は、正常人PBLに比較して顕著に抑制された。（1/15—1/20）（資料1、図4）すなわち、多剤耐性結核患者では、エフェクター・キラーT細胞への分化が抑制され

ていることが示された。6例の多剤耐性結核患者で同様の傾向を得た。② 剤耐性結核患者 PBL では、IFN- γ 、IL-6、IL-2、のキラーT細胞分化因子の産生が低下していることを認めた。(資料1、表3)③ 剤耐性結核患者 PBL を CESSMMC や PWM、ConA、PHA で4日間刺激して、その培養上清中の granulysin を測定すると、健常人に比較して、granulysin の産生の著明な低下が認められた。(資料1図4、図5)

7. 主として、昨年度の実験データを本年度は解析した。

C. 結果

1. 候補遺伝子解析:結核感受性遺伝子群では、IL-10, IL-1RA, NRAMP1, IL-8, IL-12, IL-12RB1, MBL, SP, VDR, IFNG, P2X7, 11 遺伝子における 18SNPs について解析を行なった(資料1、表4)。NRAMP1 の Asn543Asp の変異パターンに違いが見られた(odds ratio 1.32, CI 1.02-4.32, p=0.03)。その他の遺伝子における SNP 頻度の差異を認めていない。(資料1、表4)
2. 政策医療呼吸器ネットワークを利用した、種々の多剤耐性結核菌による TLR 等の発現調節の解明とこの作用機序解明による新しい診断法、治療法の開発→多剤耐性結核菌を岡田に送付 すでに多剤耐性結核菌では TLR の認識からエスケープする可能性を初めて明らかにした。
3. 多剤耐性結核菌の中にも強毒株が存在することを RFLP 法、Spoligotyping 法で行い、三つのクラスター(クラスター a、クラスター b、クラスター c) 株を見出し、明らかにした。クラスター a、b は Beijing 株だが、クラスター c は Beijing 株ではなかった。以上より、多剤耐性結核菌にも流行株が存在することが示唆

された。

4. 通常の薬剤感受性結果では RFP 感受性でありながら、臨床経過から RFP 耐性が疑われた 5 症例由来の 5 菌株には全て RFP 耐性遺伝子の変異が認められた。通常の薬剤感受性結果より、遺伝子変異の有無の検討の方が、臨床的な経過とよく関連していた。
5. MDR-TB 菌の RFLP 解析により、多剤耐性結核菌を多くの人に感染させるスーパープレッダー多剤耐性結核患者の存在を発見した。
6. 大阪において感染による多剤耐性結核菌発病の概算。当院受診患者 167 名において、16 組の患者がクラスター形成をしていた。他はクラスター形成していない。クラスター形成していない多剤耐性結核患者は治療失敗による多剤耐性結核と仮定。おのおののクラスターにおいて治療失敗例で多剤耐性結核化(secondary MDR)が1名存在、他は感染により多剤耐性結核発病(primary MDR)と仮定する(実際は全てが Primary MDR の例もある)と治療失敗による多剤耐性結核患者は 95 名(実際はもっと少ない)、感染による初回多剤耐性結核患者は 72 名となった。
7. 全国規模の多剤耐性結核菌データベースを作成するにあたって、九州地区、四国地区、関東地区のそれぞれ一施設の多剤耐性結核菌株を入手し当院における大阪多剤耐性結核菌株群との比較。福岡東医療センター 8 株、埼玉東病院から提供を受けた 31 株中それぞれ 1 株ずつが当院保有の菌株と一致した。また愛媛病院からの家族内発生した菌株は、当院のクラスター形成菌株と 16 領域のうち 1 領域のみ異なる類縁菌株であることが判った。
8. 国立病院機構関東信越ブロック 8 施設での多剤耐性結核

- ① 2006年の結核新規入院の多剤耐性結核：8施設の新規入院は合計1609例で喀痰塗抹陽性肺結核は1167例であった。多剤耐性結核は施設別では0～5例で、計20例。結核新規入院の1.2%、塗抹陽性結核の1.7%であった。初回治療10例、既治療例10例であった。5剤以上に薬剤耐性を認めたのは7例であった。
- ② 持続培養陽性患者について：2006年12月の時点で培養陽性の続く多剤耐性結核例は施設別では0～7名で、合計25名、入院中が10名、外来通院中が15名であった。(資料1、表6)

D. 考察

1. 今後、患者の病院への交通手段や生活上の注意など保健所と連絡を密に取り合っ、指導していかなければならない。多剤耐性結核菌は感染性が長期にわたって続き、感染発症した場合に治療が難渋し、経済的、社会的にも多大な損益をこうむる可能性がある。耐性結核診療システムの確立をおこない、治療管理を円滑に行なう事が求められている。今後は、九州の国立病院機構病院のみならず、全国54施設の国立病院機構呼吸器ネットワークを活用して、多剤耐性結核患者の外来診療システムについてアンケート形式で調査をおこなう。各地域での、患者状態や診療形態などあらゆる問題点について検討を行なう予定である
2. 日本の結核医療を考える際に、地域の現状を踏まえて検討することは重要である。結核患者の高齢化、病床運営の難しさ、在院日数の短縮化への行政、介護サービスや他の医療機関との協力や理解を得る活動など、さまざまな課題が明らかになった。
3. すでに、結核菌殺傷タンパク granulyisin の定量的アッセイの系を確

立した。その結果、多剤耐性結核患者では granulyisin 蛋白発現の低下が示唆された。さらにこれらのTgマウスを作製した。その結果生体内結核菌数の低下が認められた。

4. ①SNPs解析
5. 及び②T細胞免疫機能解析(特に granulyisin)；
6. 良い治療法がないMDR-TBに対し明確な成果が上がっていない免疫療法や新しい治療法の開発に画期的な進歩・貢献を寄与する。すなわち行政施策への活用・貢献が大である。これらの情報や測定法・治療法は本邦のみでなく世界に提供する用意がある。
7. 多剤耐性結核(MDR-TB)患者では NRAMP1のSNPsパターン(Asn 543 Asp)に違いが認められ、MDR-TB患者では菌の細胞内処理の違いが関係する可能性が示唆された。
8. MDR-TB患者のTBリンパ球の結核菌殺傷蛋白 granulyisin の発現測定については、我々が granulyisin に対する種々のモノクローナル抗体をすでに作製し、FACS解析で鋭敏に客観的に測定する方法を開発した。その結果多剤耐性結核患者CD8⁺Tリンパ球の granulyisin 発現の著明な低下が認められた。したがってこのアッセイ系を用いた、新しい多剤耐性結核発症の宿主側の促進要因が解明される可能性がある。
9. 多剤耐性結核菌株のクラスター形成率は44.0%であり、これは同時期に行った多剤耐性でない結核菌株のクラスター形成率41.0%とほぼ同等であった。多剤耐性結核菌にも流行株が存在することが示唆された。また、クラスター形成株は、必ずしも米国で流行株として有名なBeijing株とは限らなかった。
10. MDR-TBのスーパープレッダー(super-spreader)の発見は多剤耐性結

核患者の個室化等の行政施設に貢献している。VNTR 解析は極めて迅速な診断法となり早急に MDR-TB 患者を識別できる方法となる。これらの成果も行政施策への活用・貢献が大である。したがって、これらも本邦のみでなく全世界に提供する用意がある。

11. 初回多剤耐性菌は、多剤耐性結核と判明した時点で耐性度が高く使用出来る薬剤がほとんどない場合が多い。さらに中国、ロシア、東ヨーロッパ、東南アジアにおける多剤耐性結核の広がりや国際化を考慮すると多剤耐性結核菌の外国株の国内流入も予想され、今後ますます増えてくると判断する。今後多剤耐性結核感染ならびにその発病サーベランスが今までに増して要求されると考える。しかも近年では、世界的に見て高度耐性多剤耐性結核菌 (Extensively Drug-Resistance tuberculosis: XDR-TB) が問題となってきた (CDC, 2006)。XDR-TB の場合、有効な治療薬が無く事実上、早期発見による外科的切除しか現時点では治療の可能性はない。今後 XDR-TB も増える可能性がある。国外からの流入を含めた結核感染経路解明ならびに感染拡大防止の新しい手法が求められる。一つの候補として分子疫学解析法があげられる。

E. 結論

1. 多剤耐性結核患者 (国立病院機構政策医療呼吸器ネットワークを利用した) リンパ球を用いた新しい技術 SNPs 解析法、キラーT 細胞分化解析法による多剤耐性結核の診断法を開発するとともに、新しい治療法を開発するプロジェクトを共同研究で行った。すでに国立病院機構 東京病院 四元秀毅院長、大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター 松本智成部長、国立病院機構福岡東病院 岩永知

秋副院長 (田尾義昭医長)、国立病院機構愛媛病院 西村一孝院長、国立病院機構山陽病院 上岡博院長 (福永肇博士)、と共同研究で行った。

今回は関東信越地域を対象としたものであった。初回治療多剤耐性結核が 10 名、在宅で外来通院が 15 名あることが明らかになった。詳しい情報を得ていないが、今後この持続排菌例に焦点をあてて全国調査を行う必要がある。特に在宅の外来通院中の感染対策、長期入院患者の実際と問題点について調査予定である。XDR-TB の検討も必要と考える。

平成 19 年度は国立病院機構政策医療呼吸器ネットワーク (54 施設) を活用して、①多剤耐性結核の新規入院例の発生頻度、患者背景、治療の調査をおこなう。②持続排菌例に関して治療の場、治療、感染対策状況について調査を行う。以上より多剤耐性結核の現状と問題点を明らかにし、今後の方策を検討する。③これらを参考にして、耐性結核の診療システムを確立する。耐性結核の外科療法の基準については、外科の専門家を研究協力者として、マニュアル等を作成する。

2. 多剤耐性結核の疫学・予後・治療 (九州地区のすべての国立病院機構)。多剤耐性結核患者。すべて空洞。糖尿病、喘息、呼吸不全等の抵抗減弱因子あり。
3. 四国全県が多剤耐性結核患者を調査解析した。新退院基準以降の在院日数の変化や、DOTS 実施状況、患者の不安について解析した。
4. ① 大阪において感染による多剤耐性結核菌発病の概算。受診患者 167 名において、16 組の患者がクラスター形成をしていた。他はクラスター形成していない。治療失敗による多剤耐性結核患者は 95 名 (実際はもっと少ない)、感染による初

回多剤耐性結核患者は 72 名となった。
② 全国規模の多剤耐性結核菌データベースを作成するにあたって、九州地区、四国地区、関東地区のそれぞれ一施設の多剤耐性結核菌株を入手し当院における大阪多剤耐性結核菌株群との比較。福岡東医療センター 8 株、埼玉東病院から提供を受けた 31 株中それぞれ 1 株ずつが当院保有の菌株と一致した。また愛媛病院からの家族内発生した菌株は、大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターのクラスター形成菌株と 16 領域のうち 1 領域のみ異なる類縁菌株であることが判った。③今回、我々の研究にて多剤耐性結核の感染発病が予想以上に多く、しかも九州、関東地方に 16VNTR にて同一株が存在する事がわかった。

5. 多剤耐性結核対策として、単剤加療や、加療中断による新たな耐性獲得を作らないことが重要であるが、今後は多剤耐性結核、特に高度多剤耐性結核(XDR-TB)を感染・蔓延させない対策も非常に重要になる。今回、我々の研究にて多剤耐性結核の感染発病が予想以上に多く、しかも九州、関東地方に 16VNTR にて同一株が存在する事がわかった。MDR-TB, 特に XDR-TB は、感受性結核とは別の強化された対策が必要である。
6. 通常の薬剤感受性結果では RFP 感受性でありながら、臨床経過から RFP 耐性が疑われた 5 症例由来の 5 菌株には全て RFP 耐性遺伝子の変異が認められた。通常の薬剤感受性結果より、遺伝子変異の有無の検討の方が、臨床的な経過とよく相関していた。
7. 多剤耐性結核菌の中にも強毒株が存在することを RFLP 法、Spoligotyping 法で行い、三つのクラスター(クラスター a、クラスター b、クラスター c) 株を見出し、明らかにした。クラスター a, b は Beijing 株だが、クラスター c は Beijing

株ではなかった。以上より、多剤耐性結核菌にも流行株が存在することが示唆された。

8. 国立病院機構呼吸器ネットワークを利用した患者宿主要因の SNPs 解析、T 細胞免疫機能解析とこれを利用した治療戦略の開発。(a)すでに多剤耐性結核患者末梢血 53 例を解析し、コントロール群(健常人対照者と薬剤感受性結核)と比較し、MSMD (Mendelian susceptibility to mycobacterial disease) 群の候補遺伝子の解析を行った。その結果、NRAMP1 の SNP パターンに違いが認められる結果を得たが、これを症例を増やして解析中。(b) MDR-TB 患者のキラー T 細胞から分泌される結核菌殺傷蛋白 granulysin の低下を明らかにした。granulysin に対するモノクローナル抗体を作製した。これらを用いヒト血清中の granulysin 及び T リンパ球培養上清中の granulysin の ELISA 診断法を開発した。
9. 多剤耐性結核の外科両方の適用基準等のマニュアル作りの計画を行う。
10. (政策医療呼吸器ネットワークを利用した)多剤耐性結核と T 細胞免疫機能解析(結核菌殺傷蛋白等)による新しい多剤耐性結核予防法及び治療法の開発。すでに ELISA 法を用いて、結核菌殺傷タンパク granulysin の定量的アッセイの系を確立した。15K Granulysin Transgenic マウス及び 9K Granulysin Transgenic マウスも作製した。これを用い結核菌に対するキラー活性が示唆された。
11. 政策医療呼吸器ネットワークを利用した、種々の多剤耐性結核菌によるマクロファージ機能調節機構(TLR 等の発現調節)の解明において、多剤耐性結核菌では TLR 4 の認識からエスケープする可能性を初めて明らかにした。

G. 研究発表

(1) 論文発表

1. Yoshida S, Suzuki K, Tsuyuguchi K, Okada M, Sakatani M.: Molecular Epidemiology of Mycobacterium tuberculosis-Comparision between Multidrug-Resistant Strains and Pan-Sensitive Strains. Kekkaku (in press)
 2. Suzuki K, Yoshida S, Tuuyuguchi K, Minamoto S, Inoue Y, Hayashi S, Okada M, Iuchi K, Sakatani M.: Chemotherapy for pulmonary M.kansasii disease. Kekkaku. 81:80-81, 2006
 3. Tsuyuguchi K, Yoshida S, Suzuki K, Okada M, Sakatani M.: Exogenous re-infection by multidrug-resistant tuberculosis. Kekkaku. 81:41-43, 2006
 4. 鈴木克洋, 吉田志緒美, 露口一成, 岡田全司, 坂谷光則: 多剤耐性結核菌の院内感染の現状と対策. 化学療法の領域. 22 1691-1695, 2006.
 5. 吉田志緒美, 鈴木克洋, 岡田全司, 富田元久, 坂谷光則: 培養陰性, 非結核性抗酸菌混在時における結核菌薬剤耐性遺伝子検査キットの有用性. 臨床検査 50 巻 8 号 Page934-939, 2006.
 6. 吉田志緒美, 鈴木克洋, 露口一成, 岩本朋忠, 富田元久, 岡田全司, 坂谷光則: リファンピシン耐性 Mycobacterium kansasii における rpoB 変異の解明. 結核 81 巻 7 号 Page475-479, 2006.
- ### (2) 学会発表
1. 藤山理世, 河上靖登, 青山博, 白井千香, 樋口純子, 片上祐子, 平岡恭典, 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, 結核定期外健診時に施行した QFT-2G 検査について. 結核 81 巻 3 号 Page279, 2006.
 2. 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 Page276, 2006.
 3. 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 2006.10. 富山
 4. 藤山理世, 田中賀子, 中谷幸子, 河上靖登, 大西理絵, 大福春子, 青山博, 白井千香, 片山裕子, 岩本朋忠, 園部俊明, 田中忍, 鈴木克洋, 岡田全司, 坂谷光則: 神戸市内での小中学生に QFT-2G を併用した定期外健康診断事例について. 第 97 回日本結核病学会近畿地方会. 2006.6. 奈良
 5. 露口一成, 鈴木克洋, 坂谷光則: 肺結核患者の新退院基準 実際の運用と問題点について. 国立病院機構退院基準の実際と運用上における問題点. 結核 81 巻 3 号 Page199(2006.03)
 6. 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, 安藤寛, 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. 日本呼吸器学会雑誌 44 巻増刊 Page225(2006.06)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記なし。

資料 1 :

図 1

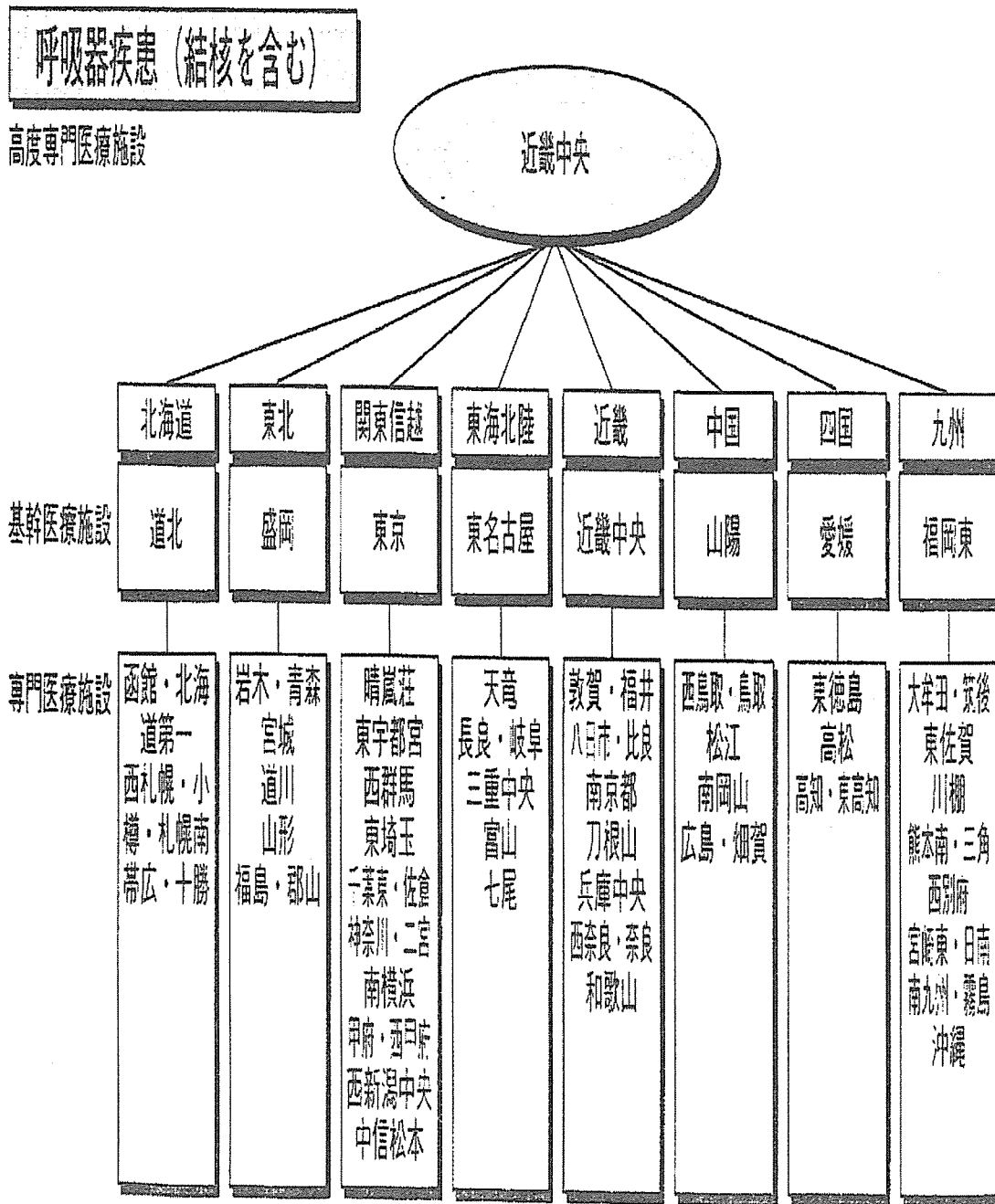


表 1

研究テーマ
 「多剤耐性結核に対する新たな治療方式の開発に関する研究：
 国立病院機構呼吸器ネットワークを利用した患者宿主要因のSNPs
 解析，T細胞 胞免疫機能解析，マクロファージ機能解析とこれを利用
 した治療戦略の開発 」

「耐性結核診療システムの確立」

分担研究者	所属
坂谷光則	NHO近畿中央胸部疾患センター 病院長
研究協力者	
岡田全司	NHO近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター センター長
四元秀毅	NHO東京病院 病院長
松本智成	大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター
田尾義昭	NHO福岡東医療センター
西村一孝	NHO愛媛病院 院長
福永 肇	NHO山陽病院
鈴木克洋	NHO近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター 部長

図 2

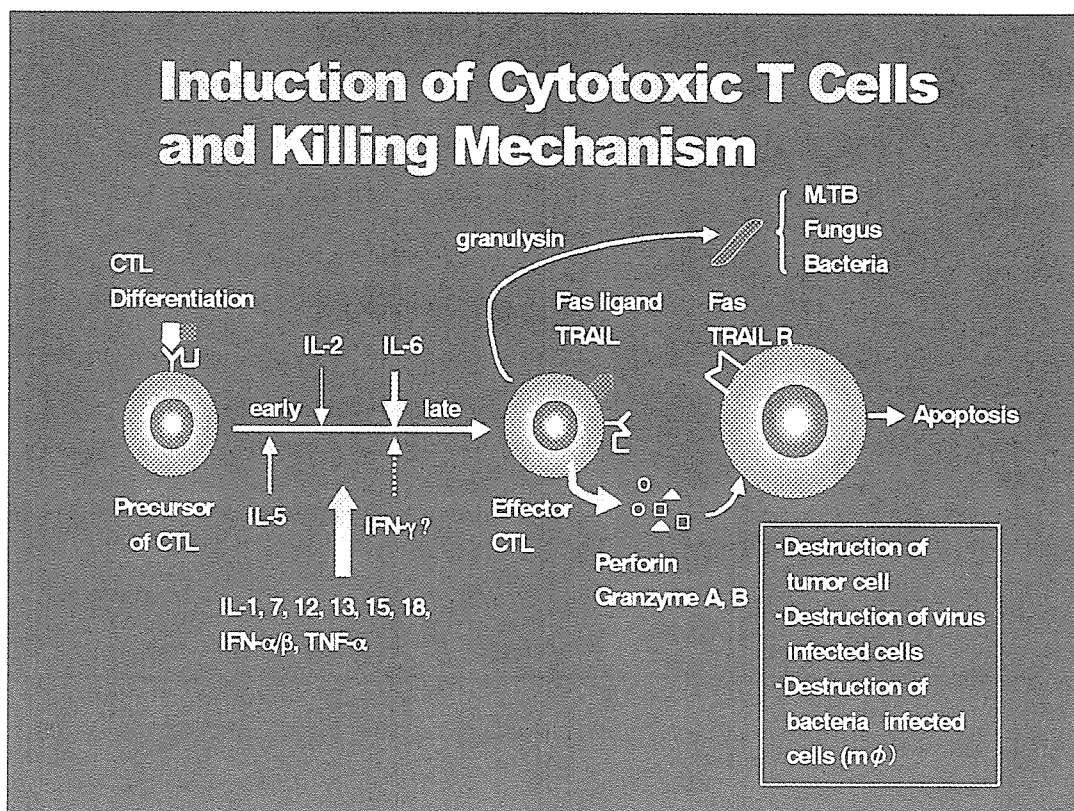


図 3

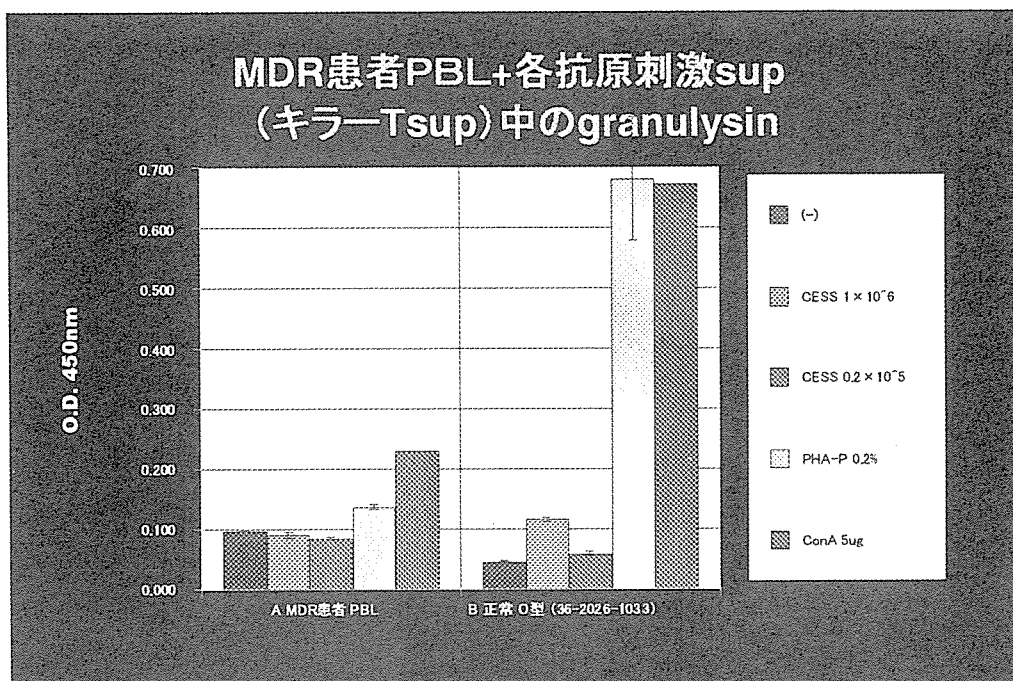


図 4

候補遺伝子解析

(1) NRAMP1

Asn 543 Aspの差異パターンに違いが見られた。

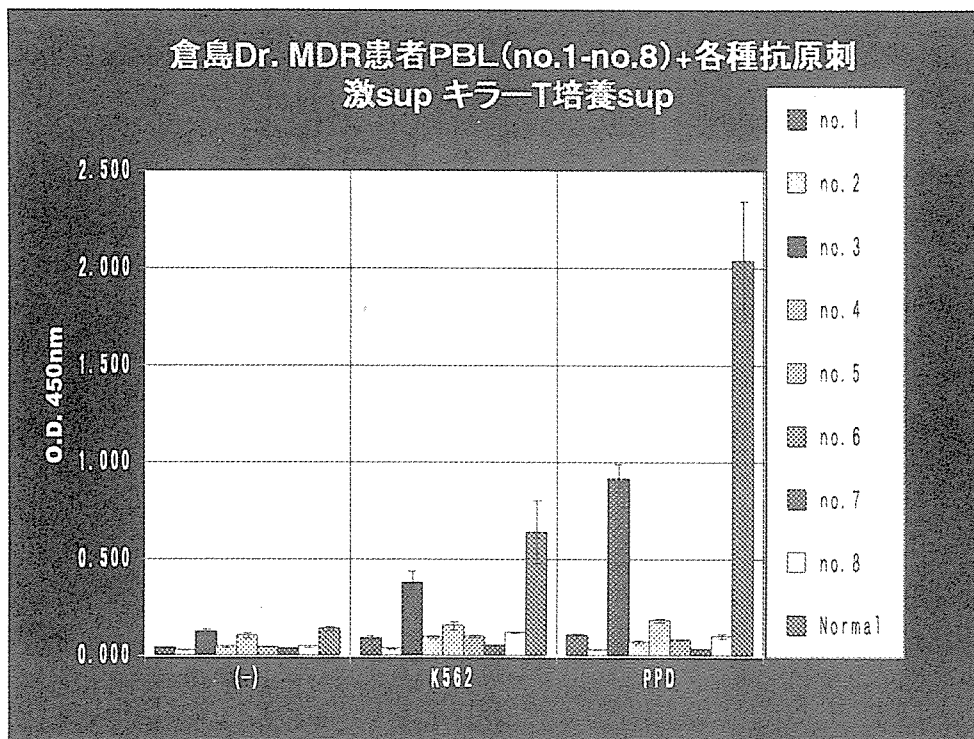
odds ratio 1.32

CI 1.02-4.32

p=0.03

(2) その他の遺伝子には差異を認めていない。

図 5



国立病院機構関東信越ブロックにおける 2006 年結核新規入院と多剤耐性結核

施設	2006 新規結核入院数		MDR 2 0 0 6 新規入院				MDR 現在持続排菌例		
	結核計	塗抹陽性	既治療	初回	計	5 剤以上	入院中	外来	計
A	87	46	0	0	0	0	1	2	3
B	114	114	1	4	5	0			0
C	93	60	1	0	1	0	3	0	3
D	224	164	1	0	1	1	0	1	1
E	162	135	0	1	1	0	0	3	3
F	376	272	2	1	3	2	2	1	3
G	146	92	2	1	3	2	3	1	4
H	172	164	2	2	4	0	0	7	7
I	116	82	0	1	1	1	0	0	0
J	119	38	1	0	1	1	1	0	1
計	1609	1167	10	10	20	7	10	15	25

資料 2 :

多剤耐性結核に関する新しい治療方式の開発に関する研究
多剤耐性結核患者の発生頻度、治療、感染対策、QOL に関する調査

研究協力者 :

四元秀毅 国立病院機構 東京病院 院長
川辺芳子 国立病院機構 東京病院 呼吸器科 医長

研究要旨

今回は関東信越地域を対象としたものであった。初回治療多剤耐性結核が 10 名、在宅で外来通院が 15 名あることが明らかになった。詳しい情報を得ていないが、今後この持続排菌例に焦点をあてて全国調査を行う必要がある。特に在宅の外来通院中の感染対策、長期入院患者の実際と問題点について調査予定である。XDR-TB の検討も必要と考える。

平成 19 年度は国立病院機構政策医療呼吸器ネットワーク(54 施設)を活用して、

- (1) 多剤耐性結核の新規入院例の発生頻度、患者背景、治療の調査を行う。
- (2) 持続排菌例に関して治療の場、治療、感染対策状況について調査を行う。以上より多剤耐性結核の現状と問題点を明らかにし、今後の方策を検討する。
- (3) これらを参考にして、耐性結核の診療システムを確立する。耐性結核の外科療法の基準については、外科の専門家を研究協力者として、マニュアル等を作成する。

A. 研究目的

- (1) 多剤耐性結核の新規入院例の発生頻度、患者背景、治療の調査を行う。
- (2) 持続排菌例に関して治療の場、治療、感染対策状況について調査を行う。以上より多剤耐性結核の現状と問題点を明らかにし、今後の方策を検討する。
- (3) これらを参考にして、耐性結核の診療システムを確立する。耐性結核の外科療法の基準については、外科の専門家を研究協力者として、マニュアル等を作成する。

B. 研究方法

今回は国立病院機構関東信越ブロックでのアンケート調査をおこなった。

倫理面への配慮

症例の報告は個人が特定されないよう匿名とする。

C. 研究結果

国立病院機構関東信越ブロック 8 施設での多剤耐性結核 (表)

① 2006 年の結核新規入院の多剤耐性結核

8 施設の新規入院は合計 1609 例で喀痰塗抹陽性肺結核は 1167 例であった。

多剤耐性結核は施設別では 0~5 例で、計 20 例。結核新規入院の 1.2%、塗抹陽性結核の 1.7%であった。初回治療 10 例、既治療例 10 例であった。5 剤以上に薬剤耐性を認めたのは 7 例であった。

② 持続培養陽性患者について

2006年12月の時点で培養陽性の続く多剤耐性結核例は施設別では0～7名で、合計25名、入院中が10名、外来通院中が15名であった。

D. 考察および結論

今回は関東信越地域を対象としたものであった。初回治療多剤耐性結核が10名、在宅で外来通院が15名あることが明らかになった。詳しい情報を得ていないが、今後この持続排菌に焦点をあてて全国調査を行う必要がある。特に在宅の外来通院中の感染対策、長期入院患者の実際と問題点について調査予定である。XDR-TBの検討も必要と考える。

平成19年度は国立病院機構政策医療呼吸器ネットワーク(54施設)を活用して、

- (1)多剤耐性結核の新規入院例の発生頻度、患者背景、治療の調査をおこなう。
- (2)持続排菌例に関して治療の場、治療、感染対策状況について調査を行う。

以上より多剤耐性結核の現状と問題点を明らかにし、今後の方策を検討する。

- (3)これらを参考にして、耐性結核の診療システムを確立する。耐性結核の外科療法の基準については、外科の専門家を研究協力者として、マニュアル等を作成する。

耐性結核診療システムの確立

研究協力者：

田尾義昭（岩永知秋）国立病院機構福岡東病院 医長（副院長）

A. 研究目的

九州の国立病院機構病院での共同研究により多剤耐性結核の疫学や予後および治療法を平成 10 年から平成 17 年にわたって検討してきた。多剤耐性結核は患者にとっても、治療が長期におよびなおかつ排菌停止が期待できない場合もあり、長期隔離治療ができないことも事実である。今回は、平成 18 年の多剤耐性結核患者で当院の外来治療を受けている症例の検討をおこなった。

B. 研究方法

当院外来にて治療管理中の多剤耐性結核患者を対象に、性、年齢、合併症、病型、排菌状態、入院拒否理由、自宅生活状況、受診手段などを検討した。

（倫理面への配慮）

個人が特定されないように、症例の番号化を行っている。

C. 研究成果

対象症例は男性 4 例、女性 1 例、48 歳から 60 歳までみられた。合併症は糖尿病、喘息、呼吸不全など抵抗減弱因子を有する例がみられた。5 例全例が肺結核であり、結核病学会分類では 5 例とも I 型または II 型の空洞例であった。喀痰塗抹陽性は、手術後排菌陰性化した 1 例をのぞいた 4 例であった。排菌例はいずれも入院生活になじめず自宅生活を希望し、外来治療を行っているものである。病院での診察は一般の患者と分離する形で午後から感染症専用室で行っている。

3 例は 1 人暮らしであるが、日常の買い物など援助してくれる人もいなく、マスク着用し自ら外出している。また、通院には公共機関を利用している例も 1 例ある。保健所や病院からの入院の勧めも、聞き入れない状態である。

平成 19 年 1 月、糖尿病合併症例の 1 名が自宅にて死亡を確認された。死因は不明だが、インスリンによる低血糖が関与した可能性がある。

D. 考察・結論

今後、患者の病院への交通手段や生活上の注意など保健所と連絡を密に取り合って、指導していかなければならない。

多剤耐性結核菌は感染性が長期にわたって続き、感染発症した場合に治療が難渋し、経済的、社会的にも多大な損益をこうむる可能性がある。耐性結核診療システムの確立をおこない、治療管理を円滑に行なう事が求められている。

今後は、九州の国立病院機構病院に多剤耐性結核患者の外来診療システムについて、アンケート形式で調査をおこなう。各地域での、患者状態や診療形態などあらゆる問題点につ

いて検討を行う予定である。

論文：多剤耐性結核の臨床的検討 結核 2006;81:1-5.③