

資料 4 :

耐性結核の診療システムの確立：結核患者の高齢化と新退院基準

研究協力者：

西村一孝 NHO 愛媛病院 院長

阿部聖裕 NHO 愛媛病院 統括診療部長兼呼吸器科医長

研究要旨：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。

A. 研究目的・研究計画：現在の結核医療の問題点は、患者の高齢化、集団感染、多剤耐性結核の治療、入院期間の短縮化、結核病床運営の難しさなどが挙げられる。

(1) 呼吸器ネットワークを利用して、四国の結核病床を有する高知病院、東徳島病院、高松東病院、および愛媛病院の 4 施設の現状、問題点を検討する。

(2) 新退院基準が平成 17 年に示され、それ以降の当院に置ける在院日数の変化や問題点を検討する。

(3) 新退院基準に関して地域の各医療機関はどのように理解し、不安を感じているかをアンケートにより検討する。

B. 研究方法：(1) 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・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) 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。(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。

C&D. 研究結果・考察：(1) 平成 18 年 9 月現在で、活動性肺結核病床数は 192 床、その中の多剤耐性結核病床数は 73 床である。入院患者の病床占拠率は全体で 55%であり過去 3 年間も 47~64%程度で推移しており著変はなかった。全体で多剤耐性結核患者数は 6 例であった。新退院基準が設けられ、4 施設全体の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。4 施設で 70 歳以上の高齢者は約 80%であり、介護の問題があり退院後の受け入れ先がみつからないことに各施設とも苦勞している。病院・結核病棟の取り組みとして、クリニカルパスの使用、外の医療機関・施設への啓蒙など工夫が見られている。四国呼吸器ネットワークを通して、私達は結核患者の診断・治療・管理・病棟運営などの現状や問題点に対して、新しい対応の必要性が求められていることを認識させられた。

(2) 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。患者背景には大きな変化はなく、在院日数の短縮は新退院基準の効果であることが示唆された。また退院の妨げる因子として、年齢、排菌量、病型があり、また家族や転院先の施設・医療機関の受け入れの問題は残された。(3) 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%)。アンケートの内容は 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であった。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 60%が不安であると回答した。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。DOTS カンファレンスの充実、確実な実践や他の医療機関などへの啓蒙などの活動がさらに必要と思われる。

E. 結論：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。

F. 研究発表：

第 81 回日本結核病学会総会 仙台 (4 月 27・28 日)

「当院結核病棟における新退院基準導入後の変化」阿部聖裕、市木拓、加藤亜希、渡邊彰、西村一孝

第 46 回呼吸器学会総会 東京 (6 月 1-3 日)

「新しい結核退院基準の問題点－愛媛県内の医師に対するアンケート調査から－」NHO 愛媛病院 渡邊彰、加藤亜希、阿部聖裕、市木拓、西村一孝

「成人市中肺炎診療ガイドライン改定による治療への影響の検討」愛媛大学第二内科、市立八幡浜総合病院呼吸器科、国立病院機構愛媛病井呼吸器科 (阿部聖裕、西村一孝、含む)

第 41 回日本呼吸器学会地方会 松山 (7 月 14-15 日)

「当院におけるアスベスト外来の現状」NHO 愛媛病院 佐藤千賀、加藤亜希、渡邊彰、市木拓、阿部聖裕、西村一孝、江原秀実、安原美文

第 45 回肺癌学会地方会 松山 (7 月 14-15 日)

「FDG-PET の検査が片側のみ陽性であった同時重複性肺癌の 1 例」NHO 愛媛病院 渡邊彰、加藤亜希、佐藤千賀、市木拓、阿部聖裕、西村一孝、坪田典之、阪口全宏、中村憲二

第 95 回日本内科学会四国地方会 (11 月 5 日、松山)

「特発性肺線維症の診断 11 年後に増悪した MPO-ANCA 関連血管炎の 1 例」愛媛大学大学院病態情報内科学 戸井孝行、伊東亮治、濱口直彦、門脇徹、酒井希美子、濱田泰伸、大塚知明、檜垣實男、国立病院機構愛媛病院呼吸器科 阿部聖裕

資料 5 :

多剤耐性結核に対する新しい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 細胞免疫機能解析、機能解析とこれを利用した治療戦略の開発

研究協力者：

岡田全司 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター長

研究要旨

1. (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。結核菌殺傷タンパク granulyisin の定量的アッセイ系 ELISA 法を確立した。15K Granulyisin Transgenic マウス及び 9K Granulyisin Transgenic マウスを作製した。これらを用い結核菌に対するキラーT 活性を介した生体内での結核菌、さら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)、と共同研究で送付された多剤耐性結核患者の末梢血リンパ球 (PBL) のキラーT 細胞分化因子、granulyisin 産生能を解析した。(資料1、表1)
2. さらに多剤耐性結核患者では健常人に比較して著明にキラーT 分化因子産生の低下とキラーT 細胞の granulyisin 産生が低下していることが示された。
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。さらに、スーパー・スプレッター多剤耐性結核菌 TLR4 のみでなく TLR2 の認識からエスケープすることが示唆された。
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、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。
5. SNIP 解析において多剤耐性結核 (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。

A. 研究目的

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）多剤耐性結核患者の結核菌殺傷蛋白である granulysin やサイトカインの測定と T 細胞免疫機能解析（結核菌殺傷蛋白等）による新しい多剤耐性結核予防法及び治療法の開発 ②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. granulysin 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。（資料、表 2）
2. 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。
3. 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。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。
4. 本年度は送付された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康人（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、stimulator 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 $\sim 0.2 \times 10^5$ /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% 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 $20 \mu\text{g/ml}$ PPD、 $20 \mu\text{g/ml} \sim 100 \mu\text{g/ml}$ 結核死菌、K562 1×10^6 、CESS_{MHC} 1×10^6 、PWM、PHA-P、ConA、Cowani 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。

C. 研究結果

1. 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、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 T g 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。

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。さらに、スーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌 TLR4 のみでなく TLR2 の認識からエスケープすることが示唆された。
3. 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。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 福永肇博士、研究協力者としての呼吸器ネットワークを作製した（資料1、表1）。さらに、これらの拠点施設を中心に全国 54 政策医療呼吸器ネットワーク、特に国立病院機構兵庫中央病院（黒須功医師）国立病院機構奈良病院（田村猛夏副院長）国立病院機構和歌山病院（駿田直俊医師）国立病院機構南京都病院（佐藤敦夫医師）につなげた（資料1、図1）。
4. 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) 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多剤耐性結核患者 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2)
③多剤耐性結核患者 PBL を CESS_{MHC} 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表3、図2、図3、図4)
多剤耐性結核患者 DNA の SNP 解析：候補遺伝子解析
5. 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 18 SNPs について解析を行なった。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)

D. 考察

1. 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。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 T g 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。
2. ①SNPs 解析及び②T 細胞免疫機能解析（特に granulysin）；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。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

E. 結論

1. (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。結核菌殺傷タンパク granulysin の定量的アッセイ系 ELISA 法を確立した。15K Granulysin Transgenic マウス及び 9K Granulysin Transgenic マウスを作製した。これらを用い結核菌に対するキラーT 活性を介した生体内での結核菌、さら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 松本智成医長、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)、と共同研究で送付された多剤耐性結核患者の末梢血リンパ球(PBL)のキラーT 細胞分化因子、granulysin 産生能を解析した。(資料1、表1)
2. さらに多剤耐性結核患者では健常人に比較して著明にキラーT 分化因子産生の低下とキラーT 細胞の granulysin 産生が低下していることが示された。
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。さらに、スーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌 TLR4 のみでなく TLR2 の認識からエスケープすることが示唆された。
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、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。
5. SNIP 解析において多剤耐性結核(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。

F. 健康危機情報

特になし。

G. 研究発表

(1) 論文発表

1. Suzuki K, Yoshida S, Tuyuguchi K, Minamoto S, Inoue G, Hayashi S, Okada M, Iuchi K, Sakatani M.: Chemotherapy for pulmonary M. kansasii disease. Kekkaku. 81:41-43, 2006
2. Tuyuguchi K, Yoshida S, Suzuki K, Okada M, Sakatani M.: Exogenous re-infection by multidrug-resistant tuberculosis. Kekkaku. 81:80-81, 2006
3. 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.
4. 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.

5. 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、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)
2. 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)
3. 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)
4. 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.
5. 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(2006.03)
6. 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 Page244(2006.03)
7. 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

1. 特許取得

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、金田安史、松本真

「結核ワクチン HVJ-liposome/Hsp65

DNA+IL-12 DNA」

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

「移植免疫制御剤」 2005 年

資料 6 :

当院での多剤耐性結核の分子疫学的検討

研究協力者 :

露口一成 NHO 近畿中央胸部疾患センター臨床研究センター室長
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

研究要旨

当院で検出された多剤耐性結核菌株に対して分子疫学的手法によるクラスター解析を行った。クラスター形成率は 44.0% で多剤耐性でない結核菌株と同等であり、大きなクラスターもみられた。多剤耐性結核菌でも流行株の存在が示唆された。

A. 研究目的

多剤耐性結核は、従来は本人のコンプライアンス不良による耐性誘導によるものが主であり、病原性も弱く感染性はあまりないと考えられていた。しかし近年の多くの報告により、多剤耐性結核菌の中にも強毒株が存在することが明らかとなってきた。我々は、多剤耐性結核菌株に対して分子タイピングによるクラスター解析を行い、強毒株であるかどうかの検討を行った。

B. 研究方法

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。

(倫理面への配慮) 当研究ではヒト由来の試料は扱っていない。患者の個人情報保護については匿名化等の配慮を行った。

C. 研究結果

RFLP 法によりクラスター形成が判明したのはうち 61 株 (クラスター形成率 44.0%) であった。Spoligotyping 法では、76.1% が Beijing 株であった。大きなクラスターとしては、クラスター a (13 株)、クラスター b (12 株)、クラスター c (8 株) があり、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。

D. 考察

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。

E. 結論

多剤耐性結核菌でもクラスターを形成する流行株が存在することが示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 鈴木克洋、吉田志緒美、露口一成、源誠二郎、井上義一、林清二、岡田全司、坂谷光則 肺カンサシ症の治療 結核 81 : 41-43, 2006
2. 露口一成、吉田志緒美、鈴木克洋、岡田全司、坂谷光則：第 80 回総会ミニシンポジウム II. 結核の外來性再感染 1. 多剤耐性結核の再感染 結核. 2006; 81: 80-81
3. 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. 2006; 81: 475-479
4. 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：*Mycobacterium kansasii* 株における分子疫学的解明 結核. 2007; 82: 103-110
5. 露口一成、鈴木克洋、坂谷光則：第 81 回総会シンポジウム III. 肺結核患者の新退院基準 -実際の運用と問題点について- 2. 国立病院機構退院基準の実際と運用における問題点 結核. 2007; 82: 129-132

2. 学会発表

1. 露口一成: 結核院内感染の実状と問題点. 第 21 回日本環境感染学会総会シンポジウム 4. 「医療現場における結核対策の盲点」. 東京、2006 年 2 月 24 日
2. 新井徹、井上義一、鈴木克洋、露口一成、源誠二郎、大塚淳司、深水玲子、北市正則、林清二、坂谷光則、服部英喜：シクロスポリンが有効と考えられた肺結核による血球貪食症候群の 1 例. 第 97 回日本結核病学会近畿地方会、奈良、2006 年 6 月 24 日
3. 露口一成、鈴木克洋、岡田全司、井上康、林清二、坂谷光則：血液透析を必要とする腎不全に合併した結核患者の臨床的検討. 第 60 回国立病院総合医学会、京都、2006 年 9 月 23 日
4. 吉田志緒美、鈴木克洋、露口一成、岡田全司、富田元久、坂谷光則：薬剤感受性検査で RFP 感受性、耐性遺伝子検査で RFP 耐性となる結核菌の検討. 第 98 回日本結核病学会近畿地方会、神戸、2006 年 12 月 9 日
5. 露口一成、吉田志緒美、鈴木克洋、源誠二郎、井上義一、岡田全司、北市正則、新井徹、林清二、坂谷光則：肺結核治療中に閉塞性細気管支炎を生じその後肺 *M. avium* complex 症を生じた 1 例. 第 98 回日本結核病学会近畿地方会、神戸、2006 年 12 月 9 日
6. 新井徹、井上義一、大塚淳司、林清二、坂谷光則、露口一成、源誠二郎、鈴木克洋、

北市正則:組織学的に OP pattern を呈し、難聴を合併した ANCA 関連血管炎の 1 例. 第 68 回日本呼吸器学会近畿地方会、神戸、2006 年 12 月 9 日

Ⅱ. 知的財産権の出願、登録状況

なし。

資料 7:

大阪における多剤耐性結核の分子疫学解析
-全国規模の XDR-TB を含む多剤耐性結核菌データベース構築に関する研究 -

研究協力者:

松本智成 大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター 臨床研究部 部長

要旨 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。

A. 研究目的

IS6110 RFLP が発表されて以来、結核菌の分子疫学解析は感染経路解明のための接触者検診、疫学解析に多大な貢献をしてきた。現在、IS6110 RFLP から PCR を利用した解析法である MIRU-VNTR, スポリゴタイピングが中心となりつつある。VNTR は、結核菌遺伝子に存在する多型反復配列を利用した解析法であり結果が数値データなので各データ間の比較がしやすい。

本年度は、以下の点にて検討を行った。

#1 大阪において感染による多剤耐性結核菌発病の概算

#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。

B. 研究方法

当院で得られて既に 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、そのうちのひと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行な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。

C. 研究結果

1) 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。

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、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。

D. 考察

結核の感染、発病は年単位で起こる事が多く、十年以上たってから発病する事も報告されている。なるほど IS6110 RFLP には、過去の膨大なデータの蓄積がある。しかしながら再現性の低さならびにそれから派生する解像度の高さを考慮すると IS6110 RFLP では、過去のデータの中から目的とする菌株を抽出出来ない可能性がある。従って結核菌データベース構築する際、デジタルデータである VNTR の方が過去の膨大なデータからのスクリーニング比較という点で IS6110 RFLP よりも優れていると考えられる。また、全国規模の結核菌データベース構築も IS6110RFLP から 16VNTRへ切り替えを考えなければならない時が来ていると思われる。

多剤耐性肺結核は、感受性結核菌に比べ適切な治療法が無いばかりではなく治療費が高く、さらに入院日数も長い。また、治療終了後も社会復帰が難しく、患者本人だけではなく社会的にも経済的損失が大きい。従って、現時点では治療法よりもいかに感染を防ぐかという公衆衛生学的手法に依存することの大きい疾患である。多剤耐性結核は不適切な治療にて作らない事が大前提の一つであるが、四剤による標準化学療法の提唱ならびに啓蒙にて新たな耐性化は減少している。それよりも今後は多剤耐性結核そのものの感染による初回多剤耐性結核が問題になってくると予想される。不適切な加療による多剤耐性結核菌は耐性度も低い事が多く、まだ加療が成功する可能性があるが、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と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)が問題となってきている(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

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。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。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。

F. 健康危険情報

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り全国規模での多剤耐性結核の分子疫学解析を含めた監視・感染防止体制が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. **Matsumoto T**, Tanaka T, Kawase I. Infliximab for rheumatoid arthritis in a patient with tuberculosis. *N Engl J Med*. 2006 Aug 17; 355(7):740-1
2. Takashima T, Danno K, Tamura Y, Nagai T, **Matsumoto T**, Han Y, Ano H, Yoshida H, Kawahara K, Tsuyuguchi I. [Treatment outcome of patients with multidrug-resistant pulmonary tuberculosis during pregnancy]. *Kekkaku*. 2006 Jun; 81(6):413-8.
3. Ano H, **Matsumoto T**, Yoshida H, Nagai M, Tamura Y, Nishimori K, Kawahara K, Takashima T, Tsuyuguchi I. [Molecular epidemiology of tuberculosis by the use of IS6110 restriction fragment length polymorphism: a study from 2001 to 2003]. *Kekkaku*. 2006 Apr; 81(4):321-8.

2. 国際学会発表

Tomoshige Matsumoto, Hiromi Ano, Kei Nishimori, Takayuki Nagai, Yoshitaka Tamura, Yuki Han, Isamu Takamatsu, Kunimitsu Kawahara, Izuo Tsuyuguchi, and Tetsuya Takashima. MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF MULTI-DRUG RESISTANT TUBERCULOSIS IN OSAKA, JAPAN, 2001-2006. **US-Japan Corporative Medical Science Meeting**, Kagoshima, Japan, July 2006.

3. 国内学会発表

1. 阿野裕美, **松本智成**, 田村嘉孝, 永井崇之, 河原那光, 高嶋哲也, 露口泉夫. INH 予防内服後, 同じ遺伝子型の結核を発症した 2 症例. 結核 81 巻 10 号 641.
2. **松本智成**, 永井崇之, 田村嘉孝. レミケード投与により結核発症した関節リウマチ患者への世界初のレミケード再投与(その理論と実際). 感染症学雑誌 80 巻 5 号 628.
3. **松本智成**, 永井崇之, 田村嘉孝, 阿野裕美, 西森敬. 多剤耐性結核菌の VNTR 解析 ETR と MIRU の他に QUB 領域は必要か? 感染症学雑誌 80 巻 5 号 598-599

4. 山口統彦, 西岡克泰, 石井泰子, **松本智成**. 膠原病治療中の結核発症のリスクについて. 日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 291.
5. **松本智成**. レミケード投与により結核発症した関節リウマチ患者へのレミケード再投与(世界初の試み,その理論と実際:経過報告). 日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集. 255.
6. **松本智成**. レミケード投与で結核発症した関節リウマチ患者への世界初のレミケード再投与(その理論と実際). 日本呼吸器学会雑誌 44 巻増刊 167.
7. 山口統彦, **松本智成**, 永井崇之, 田村嘉孝, 高嶋哲也, 鳥羽宏和. 膠原病治療中の結核発症のリスクについて 関節リウマチの治療に抗結核薬の予防投与は必要か否か. 結核 81 巻 3 号 297.
8. **松本智成**, 阿野裕美, 西森敬, 永井崇之, 田村嘉孝, 河原邦光, 高嶋哲也, 露口泉夫. 大阪における多剤耐性結核菌の VNTR 解析 ETR と MIRU の領域の他に QUB 領域は必要か?. 結核 81 巻 3 号 285.
9. 永井崇之, 田村嘉孝, **松本智成**, 山口紀彦, 高嶋哲也, 露口泉夫. 当院における結核菌薬剤耐性率の推移について. 結核 81 巻 3 号 273.
10. 阿野裕美, **松本智成**, 吉多仁子, 永井崇之, 田村嘉孝, 河原邦光, 高嶋哲也, 露口泉夫. INH 判定保留域結核菌における,薬剤耐性遺伝子変異の検討. 結核 81 巻 3 号 272.
11. **松本智成**, 永井崇之, 田村嘉孝, 山口統彦, 高嶋哲也, 露口泉夫. レミケード投与により結核発症した関節リウマチ患者への世界初のレミケード再投与 その後の経過(その理論と実際). 結核 81 巻 3 号 266.
12. **松本智成**, 阿野裕美. 結核分子疫学の新展開 VNTR の臨床応用とその成果(シンポジウム). 結核 81 巻 3 号 190.
13. **松本智成**, 永井崇之, 田村嘉孝. レミケード投与により結核発症した関節リウマチ患者への世界初のレミケード再投与(その理論と実際). 感染症学雑誌 80 巻臨増 208.
14. **松本智成**, 永井崇之, 田村嘉孝, 阿野裕美, 西森敬. 多剤耐性結核菌の VNTR 解析 ETR と MIRU の他に QUB 領域は必要か?. 感染症学雑誌 80 巻臨増 167.
15. **松本智成**, 韓由紀, 團野桂, 永井崇之, 高嶋哲也, 露口泉夫. 繰り返し積極的に採痰することにより早期発見できた感染経路が不明な初回多剤耐性肺結核患者の症例. 結核 81 巻 2 号 104.
16. **松本智成**, 山口統彦, 韓由紀, 團野桂, 永井崇之, 高嶋哲也, 露口泉夫. レミケード投与中に腹膜結核が発症した関節リウマチ患者の診断・加療および考察. 結核 81 巻 2 号 104.

II. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

該当なし。

多剤体制結核菌の発生メカニズムに関する研究

研究協力者 :

福永 肇 山口大学大学院 ゲノム・機能分子解析学

研究要旨 : 多剤耐性結核菌発生の試験管モデルを構築し、多剤耐性誘導は 2 ステップの変異が必要であることがわかった。これを証明するため結核性肉芽腫の病理組織を用いて結核菌薬剤耐性遺伝子の検索を実施した。

薬剤耐性遺伝子は多くの病理組織標本から検出されたが、分離培養された結核菌からは薬剤耐性遺伝子を検出することができなかった。このことは薬剤耐性遺伝子検出法に起因することが考えられるため、現在、新たな検出法の開発を行っている。

A. 研究目的

再興感染症としての結核は、多剤耐性結核菌の蔓延や院内感染としての発生などの要因で注目されている。なかでも多剤耐性菌である場合には、適切な治療がなく早期に隔離することが必要である。しかし、多剤耐性結核菌の発生にはいくつかの不明な点が存在している。一つには、水平感染するような多剤耐性結核菌排菌患者が周囲に存在しないにも関わらず、ある日突然、多剤耐性菌に変化すること。二つ目は、糖尿病などの基礎疾患に結核を併発した患者から検出されることが多く認められることである。このことは、多剤耐性結核菌は、水平感染だけではなく内因性に起因したメカニズムによって発生する可能性を有しているものと考えられる。我々は、肉芽腫中に閉じ込められた結核菌が MIC 以下の抗結核薬に接することにより耐性化することを試験管モデルで証明してきた。これが生体病巣で起こりうるかを病理組織標本で検索を実施した。

B. 研究方法

H.E. 染色標本において肉芽腫形成等により抗酸菌症と診断され、尚且つ培養検査より結核菌が分離された 8 症例の薄切標本の肉芽腫組織中から DNA 抽出し、real time PCR で結核菌 (16S ribosomal RNA cording gene) の存在を確認した。また、同じ DNA 抽出サンプルを用いて抗結核薬 4 剤 (REF, INH, SM, KM) のそれぞれの薬剤耐性遺伝子 primer で遺伝子増幅を行った。増幅した遺伝子の変異を検出するため薬剤耐性遺伝子 DNA チップ[®] (オリゴ・アレイ) 上で Hybridization させ、標識 HRP を TMB で発色させた。得られた DNA チップの画像を OA スキャナでコンピューターに取り込み遺伝子解析を行った。

(倫理面への配慮)

研究対象として結核菌薬剤耐性遺伝子と分離培養菌の薬剤感受性であるため、直接的な倫理面の問題は生じてこないと思われる。しかし、患者情報の守秘義務の励行に努めた。

C. 研究結果

結核菌遺伝子が検出される組織切片においては、いくつかの結核菌薬剤耐性遺伝子も検出されることが判明した。一剤のみの耐性遺伝子が検出されたもの 4 例、二剤の耐性遺伝子を検出されたもの 1 例、全く検出されなかったものが 3 例あった。しかし、陰性対象で

は全く耐性遺伝子は検出されなかった。ただし、INH 耐性遺伝子は遺伝子増幅が全く行われなかった。

一方、分離菌の薬剤感受性データ及び薬剤耐性遺伝子データより培養分離された菌は、すべての薬剤にたいして耐性でないことが判明した。

D. 考察

組織と培養菌の薬剤耐性遺伝子の検出の相違はいかなる理由で生じているかは、いくつかのことが考えられる。ひとつは培養菌として検出される結核菌は様々な薬剤耐性遺伝子を含んだ複合体であるが、人工培地での発育速度の違いから感受性菌のみが優勢に発育し選択されてしまう説。二つ目は耐性遺伝子検出法において遺伝子増幅 (PCR) したものをマイクロアレイで検出するものであるが量的違いを検出できないという問題点も存在する。このような遺伝子定量には real time PCR を用いて検出すべきと考えられるが大量な遺伝子を同時検出には不向きである。現在、このような問題点を解決するために定量検出マイクロアレイの開発を進めている。

資料 9 :

培養法による RFP の薬剤感受性検査では感受性、しかし薬剤耐性遺伝子検出キットでは耐性であった症例の検討

研究協力者:

鈴木克洋 近畿中央胸部疾患センター 感染症研究部長

研究要旨

RFP は結核短期化学療法 of 要となる薬剤であり、結核菌が RFP に感受性か否かは治療法や予後に大きな影響を及ぼす。今回我々は通常の薬剤感受性検査では RFP が感受性であるが、臨床経過から RFP 耐性が疑われ、RFP の耐性遺伝子変異を認めた 5 症例を経験した。また RFP の薬剤感受性検査に変動があり、臨床的にも RFP 耐性が疑われ、遺伝子変異から RFP 耐性が確定できた 3 症例も経験した。全 9 例中 8 例は INH も耐性で、耐性遺伝子変異の検出により多剤耐性結核と判定された。培養法を用いた薬剤感受性検査では過大評価や過小評価が避けられない。RFP の感受性検査結果と臨床経過に齟齬がある場合、積極的に薬剤耐性変異の検討を行い、RFP 耐性の有無を確定すべきである。

A. 研究目的

結核が克服されたのは強力な化学療法が発達したためで、薬剤耐性菌の存在はその状況を脅かす事態である。特に現在の短期化学療法 of 要である INH と RFP 両剤耐性（多剤耐性結核）は現在でも難治であり、その対策は急務となっている。結核菌の薬剤感受性は薬剤含有培地上での培養状況により決定する方法が従来から用いられている。現在世界的に標準となっているのは、卵培地上でのコロニー数を比較する比率法である。他に液体培地を用い迅速に薬剤感受性を判定する方法もある。しかし培養法を用いる薬剤感受性検査は生物学的アッセイ系であるため、過大評価（本当は感受性なのに耐性と判定する）と過小評価（本当は耐性なのに感受性と判定する）が避けられない。我々は小川比率法（ウエルパック）と液体培地法（MGIT960）では RFP 感受性であるが、臨床経過から RFP 耐性が疑われた症例、ウエルパックや MGIT960 の結果が動揺する例の RFP 感受性を確定するため、RFP 耐性遺伝子（*rpoB*）の変異の有無を検討した。

B. 研究方法

ウエルパックと MGIT960 による薬剤感受性検査は、説明書に従い通常の方法で実施し判定した。*RpoB* 変異は、市販の line probe assay キット（フィノス Lipa Rif TB）を用いて判定した。その概略は以下の通り：*rpoB* の変異が集中しているホットスポットに重なり合う 5 個の野生型のプローブ（S1-S5）と代表的な耐性パターンの 4 プローブ（R2-R5）を設定する。結核菌 DNA を PCR で増幅し、先述したプローブとの結合の有無を発色反応で検出するものである。全ての S プローブが発色し、R プローブが一切発色しない場合が RFP 感受性と、それ以外の場合（S の欠損または R の存在）が RFP 耐性と判定される。

C. 研究結果

発端となった3症例はほぼ同時期に当院に入院となった結核症例で全員が男性で大阪南部の同一市の居住者であった。INHを含む複数薬剤に耐性を示したが、RFPを含む複数の薬剤に感受性があり、入院DOTS下に有効薬による多剤併用療法を実施したにも関わらず、排菌が続き画像上の改善もないためRFP耐性が疑われた。RFP感受性はウエルパック、MGIT両法で複数回確認した。フィノスLipa Rif TBでは、全例S4欠損パターンでRFP耐性が証明された。住所が同じ市であったため、IS6110によるRFLPを実施したところ同一パターンを示し同一菌株であった。その後RFP感受性でありながら排菌が停止しない2症例で、やはりrpoBの変異を認めた（一例はS1欠損、一例はS2欠損）。これら2症例由来結核菌のRFLPは前3症例ともまた互いにも異なるものであった。次いでウエルパックとMGITによる薬剤感受性結果に変動がある3症例の異なる時期にとられた複数菌株に対してフィノスLipa Rif TBを実施したところ、全菌株でRFP耐性が証明された（それぞれS1、S3、S4欠損）。

D. 考察

多剤耐性結核の克服にとって、正しい薬剤感受性検査が迅速に得られることは必須の項目である。今回の症例は従来の培養法を用いる薬剤感受性結果に重大な疑義を投じるものであった。しかし今回のような例が多い訳ではなく、ほとんどの症例で従来の薬剤感受性結果と臨床経過はよく相関している。培養法による薬剤感受性検査は、どのような方法論を用いるにせよ、生物学的アッセイであるため、過大評価と過小評価が避けられない。その点薬剤耐性遺伝子の変異の有無の検討は遺伝子工学的的方法論により比較的安定した結果が得られるものと考えられる。実際今回の検討でも、臨床経過とよく相関する結果が全例で得られている。しかしなが耐性遺伝子が1個のRFPと異なり、耐性遺伝子が複数存在しているINHなどでは、耐性遺伝子変異を検討するキットの開発が難しいのが現状である。今後一般臨床で使用できる主要薬剤に対する耐性遺伝子変異の検出キットが開発・普及することが望まれる。

E. 結論

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。

G. 研究発表

1. 論文発表
1. 鈴木克洋、吉田志緒美、露口一成、源誠二郎、井上義一、林清二、
2. 岡田全司、坂谷光則 肺カンサシ症の治療 結核 81:41-43, 2006
3. 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、
4. リファンピシン耐性 *Mycobacterium kansasii* における rpoB 変異の解明 結核