

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 学会発表

1. 森 亨: 検証地域 DOTS. 平成 16 年度 全国結核対策推進会議. 2007 年 3 月, 東京.
2. 小林典子: 日本版 DOTS の取り組み 結核 81(3): 218
3. 山内祐子, 永田容子, 小林典子, 山下武子, 森 亨: 日本版 DOTS 推進における「服薬支援看護システム」の活用 I: 保健所における本システムの活用と『医療機関服薬支援看護システム』の概要について 結核 81(3): 252 2006
4. 永田容子, 山内祐子, 小林典子, 山下武子, 森 亨: 日本版 DOTS 推進における「服薬支援看護システム」の活用 II: 『医療機関服薬支援看護システム』の活用について 結核 81(3): 253 2006
5. 土屋厚子, 小林典子, 森 亨: 日本版 DOTS 推進における「服薬支援看護システム」の活用 III: 県としての取り組み (1) コホート検討会開催について 結核 81(3): 253 2006
6. 竹島ゆり, 林 正男, 小林典子, 森 亨: 日本版 DOTS 推進における「服薬支援看護システム」の活用 IV: 県としての取り組み (2) 医療機関との連携 結核 81(3): 254 2006
7. 今 明美, 小林典子, 森 亨: 日本版 DOTS 推進における「服薬支援看護システム」の活用 V: 県としての取り組み (3) DOTS 推進事業に組み込んだ本システムの活用について 結核 81(3): 254 2006
8. 山内祐子, 永田容子, 小林典子: 日本版 DOTS 推進における: I. 「服薬支援看護システム」の拡充について 日本公衆衛生学会誌 53(10): 907 2006
9. 永田容子, 山内祐子, 小林典子: 日本版 DOTS 推進における: II. 「医療機関服薬支援看護システム」の活用について 日本公衆衛生学会誌 53(10): 907 2006
10. 山内祐子, 永田容子, 小林典子, 山下武子, 森 亨: 質の高い患者支援をめざして・・・「服薬支援看護システム」の展開; その 1 結核 82(4): 363 2007
11. 永田容子, 山内祐子, 小林典子, 山下武子, 森 亨: 質の高い患者支援をめざして・・・「服薬支援看護システム」の展開; その 2 結核 82(4): 364 2007
12. 小林典子, 山内祐子, 永田容子, 『結核看護』DOTS 拡大にむけて-I: 「服薬支援看護システム」と試行その総括. 日本公衆衛生学会誌 54(10): 584 2007
13. 永田容子, 山内祐子, 小林典子: 『結核看護』DOTS 拡大にむけて-II: 「医療機関服薬支援看護システム」の活用 日本公衆衛生学会誌 54(10): 584 2007
14. 山内祐子, 永田容子, 小林典子: 『結核看護』DOTS 拡大にむけて-III: 新「結核看護システム」について 日本公衆衛生学会誌 54(10): 584 2007
15. 山内祐子, 永田容子, 小林典子, 山下武子, 加藤誠也, 森 亨: 質の高い患者支援をめざして (その 2)・・・「結核看護システム」の活用 結核 83(3): 94 2008
16. 山内祐子, 永田容子, 小林典子, 加藤誠也, 森 亨: 『結核看護』DOTS 拡大にむ

- けて-IV:「結核看護システム」の活用を通して 日本公衆衛生学会誌 55 (10): 583 2008
17. 永田容子、山内祐子、小林典子、加藤誠也、森 亨:『結核看護』DOTS 拡大にむけて-V:「結核看護システム」を医療機関で試行して 日本公衆衛生学会誌 55(10): 584 2008
18. 永田容子、山内祐子、小林典子、山下武子、加藤誠也、森 亨:質の高い患者支援をめざして(その1)・・・「服薬支援看護システム」5年間のまとめ 結核 83(3): 324 2008
19. 成田友代・小林典子:地域DOTSの展開. 第83回総会シンポジウムV. 題84回日本結核病学会. 東京、2008
2. 論文発表
1. 森 亨:新しい結核対策. 感染症学雑誌 80(4): 345-352, 2006
2. 森 亨:日本版DOTSの拡大と今後への展望.(第81回総会公開シンポジウム. Let us DOTS -"治したい"看護の思いをDOTSに込めて-. 追加発言) 結核 82(1): 47-49, 2007
3. 森 亨:いまだ忍び寄る感染症結核. Medical Digest 55(6): 36-43, 2006
4. 森 亨:古くて新しい呼吸器感染症. 結核. 最近の動向と新しい対策技術. Animus 45: 7-23, 2006
5. 森 亨:骨・関節結核の現況:最近の結核の動向. 整形・災害外科 50(2): 101-109, 2007
6. Mori T, Kobayashi N: Tuberculosis treatment in Japan: problems and perspectives - How to expand the Japanese version of DOTS. JMA (accepted)
7. 森 亨:結核の現状-課題と新たな対策. 臨床と研究 84(4):474-478, 2007
8. 森 亨:結核疫学の動向と輸入感染症としての結核. 呼吸器科 11(4): 428-434, 2007
9. 森 亨:改正感染症法に基づく結核対策の課題と展望. 公衆衛生 71(10): 831-835, 2007
10. 森 亨:日本における結核の現状と将来. 呼吸器科 13(1): 7-12, 2008
11. 森 亨:超多剤耐性菌. 心とからだの健康. 12(122): 76-79, 2008
12. 森 亨:結核(特集「新興再興感染症」). 最新医学 63(6): 1312-1328, 2008
13. 森 亨・内村和広:第83回総会教育講演. I. 疫学の課題-モデルから見た結核疫学の話題. 結核 83: 803-809, 2008
14. 森 亨:結核感染-近年の疫学研究における展開と意義.(第83回総会シンポジウムII. 結核感染の実態に迫る. コメント). 結核 84(1): 43-45, 2009
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

耐性結核の診療システムの確立

研究分担者：

坂谷 光則 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 院長

研究要旨

1. 2006年に発症した年間多剤耐性結核患者数と調査時点での多剤耐性菌持続排菌患者数を全国結核施設にアンケート調査した。前者は93例、後者は103例で、2002年療研の薬剤感受性検査から推定された数値（約100例および200例）と概ね一致していた。多剤耐性中の超多剤耐性結核患者数は12例および44例で、全体的には療研の割合（30%）と同等であった。
 - ① 218施設のうち15施設はすでに無床となっており、全結核病床は6022床であった。
 - ② 2006年に新規入院となった多剤耐性結核症例は93例（男性71、女性22）、このうち12例がXDRであった。新規に多剤耐性と診断された76例のうち31例が初回治療、45例が再治療で、治療開始約1年後の時点で、MDRでは菌陰性化64%、死亡率7.2%だが、XDRでは菌陰性化率も死亡率も43%と治療は困難である。
 - ③ 調査時点で持続排菌がみとめられている103例では43%がXDR、77%が発症2年以上の慢性排菌者である。これらの持続排菌者のうちの19症例が外来治療をしており、約半数は菌量が少ない症例であるが、半数は入院拒否している患者であり、感染コントロールの上で問題が大きい。
 - ④ 年間の多剤耐性結核発症者数は93人、持続排菌している多剤耐性結核患者数は103例で、トータル196例中XDRは56例で28.6%となった。
 - ⑤ これらの患者は近畿地方、関東地方に多く分布しており、66%は国立病院、28%は公立病院、11%は民間病院で治療されていた。
 - ⑥ 50才以上に多いが、初回治療に限れば30才にピークがある。
2. 多剤耐性結核診療システムガイドラインを作成した。
 - ① 外来診療体制；
排菌患者は入院治療が原則であるが、入院を拒否している患者に対しての外来治療は一般患者と別の時間帯や場所を確保しなければならない。患者にはマスク着用、排菌患者用陰圧室で診察を行い、レントゲンなどは排菌専用の検査室が望ましい。保健所とも協議し、入院指導を行い、自宅生活での他人への感染予防の確認、指導など行う。また外来までの交通手段は自家用車などを使い、公共交通機関は避けなければならない。
 - ② 入院診療体制；
MDR-TB患者は感染防止のための設備を備え、かつ長期の生活に適した設備をもった個室を備え、DOTを実施し、適応があれば外科治療も可能な専門医療機関で治療すべきである。医療チームは、副作用の発現に細心の注意を払うとともに、治療期間が長期に及ぶこと、治療の成功率が必ずしも高くないこと、副作用の早期発見方法、排菌の推移、治療効果など患者やその家族に繰り返し説明し、治療が完了できるように、保健所などとも協力し、観察していくことが大切である。

3. 多剤耐性肺結核に対する外科療法のガイドラインを作成した。
 - ① 外科療法の対象
外科療法の対象は空洞性病巣である。また可能ならば径 2cm 以上の結核結節も切除をした方がよい。
 - ② 外科療法の適応
適応は以下の 3 項目を満たす場合と考える。①空洞性病巣が切除可能範囲内に限局している。②心肺機能上耐術である。③使用可能抗結核薬が多く残っている。さらに補足的事項として、1)排菌源病巣を含む一側荒蕪肺は全切すべきである、2)径 1cm 以下程度の散布性結核病巣を遺残させても空洞病巣を切除すれば排菌を停止させることは十分可能、3)両側空洞例に対しても肺機能上耐術であれば 2 期的に両側手術を考慮して良い、4)低肺機能で肺切除におけるリスクが高い肺尖部空洞性病巣に対しては胸郭成形術を検討する、5)大量排菌例では空洞切開により排菌量を減少させることも選択枝の一つである、の諸点を挙げておきたい。
4. 結核診療における迅速 RFP 耐性遺伝子検査の有用性を明らかにした。
RFP は結核短期化学療法の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。また RFP 耐性遺伝子を調べることで 1 週間以内に多剤耐性結核を疑い、陰圧個室に隔離する体制の構築を行った。
5. 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、国立病院機構山口宇部医療センター 江田良輔統括診療部長、と共同研究で行った。
6. ①高齢者結核の現状および結核標準治療の副作用と在院日数に与える影響を検討した。PZA を含む 3 剤治療群と含まない 3 剤治療群の副作用に差はなかった。しかし両群で薬を中止または変更した約 40%は標準治療法に戻せなかった。また副作用のあった症例の平均在院日数は 84 日と延長した。次に当院での平成 18 年—19 年の 2 年間の新規肺結核患者の 70 歳以上の割合が 70%と高い。高齢者ほど、また副作用や、介護・受け入れ先などの理由で入院期間が延長する。②四国の結核病床を有する国立病院機構施設の現状・問題点を検討した。四国 4 施設での多剤耐性結核患者数は 2 例と少数であった。合計平均患者数、平均在院に数はそれぞれ減少した。入院期間短縮を阻む問題点では高齢者で、排菌量、病型、家族や転院先の施設・医療機関の受け入れなどがある。施設で対応困難な場合や対応施設を探す場合に、排菌症例を受け入れる施設が場合によっては同県になく他の県に依頼することが現実に行き起きている。また、緊急時の受け入れができないところが多くを占めている。緊急に受け入れ可能機関の整備が必要である。
7. 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。

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。

上記結果より、MDR-TB ならびに XDR-TB は、治療の失敗により個々に作られるのみならず、感染により発病拡大していることが推測され早急な感染防止対策が望まれることが判明した。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。

8. 15-optimized MIRU VNTR は、大阪における多剤耐性結核の分子疫学解析に充分な解像度を有しており有用な方法である。
9. 多剤耐性結核の感染様式を明らかにする目的で、当院で検出された多剤耐性結核菌株を対象に分子タイピングによるクラスター解析を行ったところ、感受性結核菌株と同等のクラスター形成率を示し、また、多剤耐性結核菌株の中にも大きなクラスター形成が認められた。多剤耐性結核菌株の中にも強毒株が存在することが示唆された。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。
10. 国立病院機構呼吸器ネットワーク(図1)を利用した患者宿主主要因の 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 80 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。さらに、Granulysin DNA 治療によりマウスの系で結核菌に対する治療効果を得た。
11. 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。

さらにリコンビナント 15K Granulysin をマウス生体内 i.p 投与により強力な結核治療効果を得た。また in vitro のキラーT細胞誘導の系で 15K Granulysin は IL-6 や IL-2 と相乗的にキラーT細胞の分化を誘導した。granulysin は結核菌を直接殺傷する効果以外に、キラーTの分化誘導を介して抗結核作用を発揮することが示された。

A. 研究目的

1. 多剤および超多剤耐性結核の全国調査(2006年新規入院例と持続排菌例について)：
2000年以降、多剤耐性菌に加えさらに広

範な薬剤に耐性を示す超多剤耐性結核が注目されるようになった。2002年療研による全国結核菌株薬剤感受性検査では3122株のうち60株が多剤耐性(MDR)、そのうち17株が超多剤耐性(XDR)で

あった。多剤耐性菌の割合 1.9%は諸外国に比較すると中等度であるが、そのうちの XDR の割合 28.3%は非常に高値で、しかも半数が初回耐性であったという。これは全国から収集した結核菌ベースの薬剤感受性調査に基づくものであるが、大きな危惧を抱かざるを得ない結果である。臨床ベースの実態と合致するものであるかを確認するため、全国結核医療施設の情報を収集し検討した。

2. 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。
3. 具体的には、
 - (ア) 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。
 - (イ) 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。
 - (ウ) 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、ガイドライン等を作成する。
の研究を行う。
4. 多剤耐性結核患者の新たな発生の抑制、また二次感染予防のために、外来および入院治療管理についての耐性結核診療システムのガイドライン作りは必要である。
5. 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の要である 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（ウエルバック）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、ウエルバックや 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。また院内感染対策の一環として、ガフキー陽性かつ PCRTB 陽性例に同法を応用し、多剤耐性結核を疑い、早期に陰圧個室に隔離する制度を構築した。

6. 多剤耐性肺結核に対する外科治療・肺切除術の治療成績の検討。

図 1



表 1

研究テーマ

「耐性結核診療システムの確立」

「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」

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
江田良輔	NHO山口宇部医療センター 統括診療部長
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

7. 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。

8. 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。
9. 多剤耐性結核に対する外科治療は有効であり、全国の病院に普及させる。多剤耐性結核外科治療ガイドライン作成が必要である。
10. 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際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。(図1)(表1)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. 全国に結核病床を有する医療施設 (270 施設) に対して、2007 年 7 月調査票 1) 及び 2) を送付し、2007 年 12 月までに回収した。調査の内容は、1)、2006 年 1 月から 12 月に新規に入院し、多剤耐性結核と診断された症例数と各症例について年齢、性別、過去の結核治療歴、薬剤感受性結果、治療内容、転帰等、2)、1) の該当症例以外に調査時点 2007 年 7 月時点で、排菌が止まらない症例 (概ね 3 ヶ月 1 回以上培養陽性となるものとした) 数と各症例について 1) と同様な調査項目に加え、発症からの期間、入院治療か外来治療か等についてであった。上記の調査票は 218 施設から得られた (回収率 80.7%)。今年度は得られた調査票を集計し、解析した。持続排菌症例 103 例のうち 19 例が外来治療していたので、

この 19 例についてはその背景や事情について追加調査を行った。(表 2)

調査票の個別症例は施設と報告者の整理番号で取扱い、個人情報とは可及的に回避するよう工夫した。

また年齢、性別、薬剤感受性パターン等を照合して登録の重複を避けた。

2. ウェルパックと 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 (ジェノスカラー 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。
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。
4. 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。

5. 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。
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. 結核予防会複十字病院呼吸器外科において 1985 年以降に施行された、多剤耐性肺結核 83 症例に対する 93 回の肺切除術について、背景因子、術式、術後合併症、治療成績、再排菌因子などを診療録にて後ろ向きに検討した。
8. 15K Granulysin DNA をベクターに組み込みこれを 50 μ g C57BL/6 マウス及び BALB/C マウスの M.tibic anterior と大腿筋に i.m 投与して治療した。5 \times 10⁵ 人型結核菌 H37RV を i.v 投与した後、15K granulysin DNA で治療した。
さらに、リコンビナント 15K Granulysin 蛋白を 4 μ g/マウス(20g)に i.p 投与し、結核治療ワクチン効果を解析した。
9. リコンビナント 15K Granulysin 蛋白を in

in vitro のキラーT細胞分化誘導後、(1)マウス spleen cells (C57BL/6)+P815_{MMC}にリコンビナント 15K Granulysin を溶かし5日間培養し、⁵¹Cr法でキラーT活性を測定した。キラーT活性増強効果でキラーT分化活性を測定した。(2)ヒトPBL(末梢血リンパ球)+CESS(アロ腫瘍細胞)_{MMC}の系にリコンビナント 15K Granulysin を添加し5日間培養し、⁵¹Cr法でキラーT活性を測定した。

10. 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 $\sim 2 \times 10^5$ /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 μ g/ml ConAで刺激し、4日間37 $^{\circ}$ C 5%CO₂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、⁵¹Cr遊離法(⁵¹Cr 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 μ g/ml PPD、20 μ g/ml \sim 100 μ g/ml結核死菌、K562 1×10^6 、CESS_{MMC} 1×10^6 、PWM、PHA-P、ConA、Cowan1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。

(倫理面への配慮)

該当症例については、氏名、生年月日その他個人情報などの調査票への記載はなく、施設の整理番号のみで取り扱っている。

C. 研究結果

1. ①218施設のうち15施設はすでに無床となっており、全結核病床は6022床であった。
②2006年に新規入院となった多剤耐性結核症例は93例(男性71、女性22)、このうち12例がXDRであった。新規に多剤耐性と診断された76例のうち31例が初回治療、45例が再治療で、治療開始約1年後の時点で、MDRでは菌陰性化64%、死亡率7.2%だが、XDRでは菌陰性化率も死亡率も43%と治療は困難である。

(図2)(表3)(図3)(図4)

- ③調査時点で持続排菌がみとめられて

いる 103 例では 43%が XDR、77%が発症 2 年以上の慢性排菌者である。これらの持続排菌者のうちの 19 症例が外来治療をしており、約半数は菌量が少ない症例であるが、半数は入院拒否している患者であり、感染コントロールの上で問題が大きい。(表 4)

④年間の多剤耐性結核発症者数は 93 人、持続排菌している多剤耐性結核患者数は 103 例で、トータル 196 例中 XDR は 56 例で 28.6%となった。(表 5) (表 6) (表 7)

⑤これらの患者は近畿地方、関東地方に多く分布しており、66%は国立病院、28%は公立病院、11%は民間病院で治療されていた。(図 5)

2. 多剤耐性結核診療システムガイドラインを作成した。

① 外来診療体制；

排菌患者は入院治療が原則であるが、入院を拒否している患者に対しての外来治療は一般患者と別の時間帯や場所を確保しなければならない。患者にはマスク着用、排菌患者用陰圧室で診察を行い、レントゲンなどは排菌専用の検査室が望ましい。保健所とも協議し、入院指導を行い、自宅生活での他人への感染予防の確認、指導など行う。また外来までの交通手段は自家用車などを使い、公共交通機関は避けなければならない。

② 入院診療体制；

MDR-TB 患者は感染防止のための設備を備え、かつ長期の生活に適した設備をもった個室を備え、DOT を実施し、適応があれば外科治療も可能な専門医療機関で治療すべきである。医療チームは、副作用の発現に細心の注意を払うとともに、治療期間が長期に及ぶこと、治療の成功率が必ずしも高くないこと、副作用の早期発見方法、

排菌の推移、治療効果など患者やその家族に繰り返し説明し、治療が完了できるように、保健所なども協力し、観察していくことが大切である。

(別添 1) 多剤耐性結核診療システムガイドライン

多剤耐性結核診療システムの確立

1. 研究の意義：

毎年結核発症者の約 1%が多剤耐性である。過去の不確実な服薬や中断による耐性獲得であったが、外来性再感染や初回感染発病例が増加してきている。

設備をもった個室を備え、DOT を実施し、適応があれば外科治療も可能な専門医療機関で治療すべきであるが、入院すら同意しない患者もいる。

そのような患者の治療管理については外来管理ガイドラインなどが必要と考えられる。

2. 研究の目的

多剤耐性結核患者の新たな発生の抑制、また二次感染予防のために、外来および入院治療管理についての耐性結核診療システムのガイドライン作りは必要である

3. 研究成果：

MDR 治療、予防法：

治療は、結核菌に有効とされるフルオロキノロン薬を含めた感受性のある抗結核薬を 4 剤（できれば 5 剤）以上併用して治療することが望まれる。

早期発見、早期治療に努める。入院管理においては、感受性検査が判明するまでは個室管理を行い院内感染を予防する。

RFP 耐性菌の迅速診断：

MDR-TB 接触者、結核治療歴、外国人入国者などリスクがあると思われる対象者は、液体培地による感受性検査や結核菌 rpo 遺伝子の変異検出を早期に行い、MDR-TB としたの処置が遅れないことが望まれる。

外来診療体制：

排菌患者は入院治療が原則であるが、入院を拒否している患者に対しての外来治療は一般患者と別の時間帯や場所を確保しなければならない。

患者にはマスク着用、排菌患者用陰圧室で診察を行い、レントゲンなどは排菌専用の検査室が望ましい。

保健所とも協議し、入院指導を行い、自宅生活での他人への感染予防の確認、指導などを行う。

また外来までの交通手段は自家用車などを使い、公共交通機関は避けなければならない。

入院診療体制：

MDR-TB 患者は感染防止のための設備を備え、かつ長期の生活に適した設備をもった個室を備え、DOT を実施し、適応があれば外科治療も可能な専門医療機関で治療すべきである。

医療チームは、副作用の発現に細心の注意を払うとともに、治療期間が長期に及ぶこと、治療の成功率が必ずしも高くないこと、副作用の早期発見方法、排菌の推移、治療効果など患者やその家族に繰り返し説明し、治療が完了できるように、保健所などとも協力し、観察していくことが大切である。

4. 新たな課題：

長期入院の可能な病室、病棟設計等、患者の環境整備が不可欠である。

種々の合併症のある患者においてはそれに対応できる医療施設が非常に限られている。

5. 行政施策への貢献の可能性：

耐性結核診療システムにおける耐性結核患者外来および入院ガイドラインは耐性結核患者の診療をスムーズに行う指標となる。

3. 剤耐性肺結核に対する外科療法のガイドラインを作成した。

③ 外科療法の対象

外科療法の対象は空洞性病巣である。また可能ならば径 2cm 以上の

結核結節も切除をした方がよい。

④ 外科療法の適応

適応は以下の 3 項目を満たす場合と考える。①空洞性病巣が切除可能範囲内に限局している。②心肺機能上耐術である。③使用可能抗結核薬が多く残っている。さらに補足的事項として、1)排菌源病巣を含む一側荒蕪肺は全切すべきである、2)径 1cm 以下程度の散在性結核病巣を遺残させても空洞病巣を切除すれば排菌を停止させることは十分可能、3)両側空洞例に対しても肺機能上耐術であれば 2 期的に両側手術を考慮して良い、4)低肺機能で肺切除におけるリスクが高い肺尖部空洞性病巣に対しては胸郭成形術を検討する、5)大量排菌例では空洞切開により排菌量を減少させることも選択枝の一つである、の諸点を挙げておきたい。

(別添 2) 多剤耐性結核に対する外科療法のガイドライン

多剤耐性結核に対する外科療法のガイドライン

耐性肺結核(特に多剤耐性肺結核)に対する外科療法の評価

1. 作製者(中島由槻)の前任施設結核予防会複十字病院における外科治療成績

① 多剤耐性肺結核

1) 1985 年～2005 年 3 月の多剤耐性肺結核 83 症例に対する 93 回の肺切除について検討。

1. 症例の背景因子

- ・ 男 73 回切除(66 例)、平均 45 歳(22～66 歳)
- ・ 女 20 回切除(17 例)、平均 38 歳(23～59 歳)
- ・ 術前画像所見(N=93)
学会病型 1～2 型 94%、3 型 6%
両側空洞 18%、

両側結核病巣 69%、片側病巣 31%

- 耐性薬剤数(N=92) 平均 5.4 剤(2~11 薬剤)
- 手術時喀痰内結核菌陽性(N=73) 陽性 63%

術前合併症

糖尿病 38%、肝障害 13%

2. 切除術式(N=93)

- 右 50 回、左 43 回
- 上葉切除±S6 区部切除 57%
中葉または下葉切除 2%
区域切除 12%
全切除 29%

3. 術後合併症

- 手術死亡 無し
- 術後遷延気腫 20%(うち気管支断端瘻 2%)
- 術後膿胸 9%
- 術後急性呼吸不全 2%
- 術後多量出血 2%
- 乳び胸 3% 術後肝障害 3%

4. 切除成績

- 術後排菌継続 83 例 93 回切除のうち 2 例 2 回切除後
術後 1 ヶ月以内排菌陰性 81 例 91 回の切除後
- 排菌陰性 81 例 91 切除後の再排菌 9 例 10 切除後
肺切除後再排菌率 11.0%(10/91)
最終的治癒率
肺切除後排菌継続 2 例 2 回切除+
切除後再排菌 9 例 10 切除、合わせて 11 例 12 切除後のうち、再切除 5 例と他の薬剤追加 2 例で最終的に排菌が停止。排菌停止が得られなかったのは 4 例 5 切除後。切除後 1 年以上追跡可能な 80 例中 76 例で最終的に排菌が停止し、最終的治癒率は 95%(76/80)。

5. 肺切除後再排菌に関与した因子の検討(χ^2 検定)

術前排菌継続(p<0.01)、術後膿胸合併(p<0.01)、耐性薬剤 6 剤以上(p<0.05)、残存肺空洞性病変遺残(p<0.05)、術後気腫遷延(p<0.05)

肺内遺残病巣については、肺切除後少なくとも最大径 1 cm 以下の被包化病巣からの再燃は、最長 10 年以上の追跡例を含め全く経験していない。いっぽう径 2 cm 以上の被包結核結節遺残例では、2 症例で結節の洞化を認め、そのうちの 1 例は明らかに洞化により再排菌が生じた。また肺葉切除、肺区域切除に際し、遷延性気腫と肺実質切断面結核病巣露出が原因と考えられる膿胸→再排菌例も経験した。

6. 切除病巣内結核菌の検索結果

術前喀痰結核菌塗抹および培養陰性 32 例中切除空洞性病巣内結核菌塗抹または培養陽性 17 例(53%)。喀痰塗抹または培養陽性 53 例中病巣内塗抹または培養陽性 43 例(81%)

7. 両側肺切除例

両側肺葉切除 1 例、肺葉切除・区域切除 4 例。5 例中 4 例で治癒。

2) その他の外科療法

1. 胸郭成形術

肺切除を施行し得なかった 7 例の胸郭成形術施行例中 6 例で治癒。これら症例では術前の抗結核化学療法で菌量の減少が大幅にみられ、かつ胸郭成形により十分な空洞の虚脱が得られていた。

2. 空洞切開術

空洞切開術施行 5 例中 3 例で術後 3 ヶ月以内に喀痰塗抹が陰性化。

② 多剤耐性結核性膿胸

多剤耐性結核性膿胸、特に慢性膿胸のみの外科療法に関するまとまった報告はない。筆者

は肺結核症例と膿胸症例の外科療法は分けて検討すべきだと考えている。その理由は、病巣が肺胸膜に包まれた状況では、肺胸膜（癒着している壁側胸膜も含まれるが）を目標に切除することで切除後の死腔の汚染を極力回避することが出来るが、膿胸（胸腔内感染）では壁側胸膜から胸膜外結合織を目標にしても膿胸嚢を損傷することなく完全に摘出することが困難な場合が多く、摘出後の死腔汚染は免れないからである。

1) 1985年～2005年3月の多剤耐性慢性結核性原発性膿胸12例の検討 術式と治療成績のみ検討した。

1. 術式

膿胸腔開窓術後間質性肺炎の悪化で4ヶ月後に死亡し、何らかの根治手術を為しえなかった1例を除いた11例では、6例で根治手術前に菌量の減少や感染状態の改善、対側吸引の防止等の理由で膿胸腔開窓術が施行され、2例でドレーン留置洗浄が施行された。上記11例の根治術式は、胸膜肺全切除5例、胸膜下葉切除または中下葉切除に剥皮・筋肉充填

・胸郭成形等を組み合わせるのが4例、開窓後結核菌が消失しかつ膿胸腔が縮小したため、気管支瘻閉鎖＋有茎広背筋弁充填＋胸郭成形を施行したのが1例であった。

2. 治療成績

おそらく術中食道筋層の損傷に気付かず、術後早期の摂食で食道破裂が生じた胸膜肺全切除1例を術後29日目に失った。その他の10例では最終的には結核性膿胸の根治が得られている。しかしこれら11例の術後合併症について根治手術前の処置によって検討すると、何らかの菌量減少処置をしなかった3例では全例術後に創感染、食道破裂・

膿胸、胸腔内出血等の重大な合併症が見られており、胸腔ドレーン留置の2例では1例に一過性の呼吸不全と化膿菌による膿胸が合併した。これに対し根治手術前処置として開窓をした6例では、根治術後1例に気管支断端瘻・膿胸、1例に胸膜皮膚瘻が生じたがそれぞれ再手術にて治癒し、その他の4例は特に大きな合併症もなく順調に経過した。すなわち少数例の検討ながら多剤耐性慢性結核性膿胸症例でも、まず開窓術、少なくともドレーン誘導術にて膿胸腔内菌量の減少（と対側吸引の防止）を図ることで、胸膜肺切除術、膿胸嚢摘出・肺剥皮術、気管支瘻閉鎖・筋肉大網充填・胸郭成形術等の複合術式による根治手術等侵襲の大きな手術でも、術後良好な経過が得られることが示唆された。

2. 文献的検討

多剤耐性肺結核症に対する外科療法、肺切除術の有効性について、厳密に内科化学療法との比較検討した報告はない。しかしながらいままで報告されている外科療法の報告(表1)は、対象が化学療法の難治例ばかりでかつ治癒率も79%以上と、化学療法の治癒率50%前後に比して極めて良好であり、外科療法が有効であることはほぼ間違いない¹⁻¹⁵⁾。それらをまとめると、肺全切除、肺葉切除および肺区域切除が大部分で、全切除は1/4～1/2を占めている。その治癒率は79%～98%、手術死亡率も0～4.3%と外科療法としては十分受け入れられる治療成績である。その他に胸郭成形術^{13),16)}、充填球の短期間充填による肺虚脱療法¹⁷⁾、既に放棄された治療法の復活である人工気胸¹⁸⁾、空洞切開後結核菌消失を待つて空洞内筋肉弁充填を行う方法¹⁹⁾、などの外科療法の有効性が報告されている。

ただし肺切除以外の外科療法については、胸郭成形術の一部に長期的にも有効であったとの報告はあるが¹³⁾、その他では長期的

follow up は為されておらず、あくまで病巣は局所にあるが機能的に肺切除が困難な症例における参考程度のものであろう。

3. 多剤耐性肺結核に対する外科療法のとめ (ガイドライン)

上記複十字病院外科療法例の検討や文献報告から見ても、多剤耐性肺結核に対する外科療法・肺切除術は極めて有効であり、今後外科療法の再評価が世界的な規模で行われて良い。以下外科療法の対象、適応、手術術式、手術時期、術前後の化学療法について述べる。

外科療法の対象

外科療法の対象は空洞性病巣である。また可能ならば径2 cm以上の結核結節も切除をした方がよい。

外科療法の適応

適応は以下の3項目を満たす場合と考える。

- ①空洞性病巣が切除可能範囲内に局限している。
- ②心肺機能上耐術である。
- ③使用可能抗結核薬が多く残っている。さらに補足的事項として、1)排菌源病巣を含む一側荒蕪肺は全切すべきである、2)径1 cm以下程度の散布性結核病巣を遺残させても空洞病巣を切除すれば排菌を停止させることは十分可能、3)両側空洞例に対しても肺機能上耐術であれば2期的に両側手術を考慮して良い、4)低肺機能で肺切除におけるリスクが高い肺尖部空洞性病巣に対しては胸郭成形術を検討する、5)大量排菌例では空洞切開により排菌量を減少させることも選択枝の一つである、の諸点を挙げておきたい。

手術術式

肺切除術:術式は肺結核に対しては空洞性病巣をターゲットとした肺切除術である。結核の経気道的な広がりやを考慮すれば、切除は病巣を含めた区域、肺葉単位で切除すべきであり、肺全切除、肺葉切除、区域切除が選択される。なお切除に際しては、胸腔内汚染を防止すべく術中空洞損傷を極力避ける切離線を選択し、肺実質切断に際しては小結節であっても結核性病巣が露出しないような肺実質切断面を選び、かつ残存肺切断面からの遷

延性気腫を避けるため切断にはステープラーを使用すべきである。

胸郭成形術:胸郭成形術に際しては、空洞の虚脱が十分得られるよう肋骨の切除範囲を決める。

膿胸根治術:膿胸の根治術式としては膿胸の大きさ、膿胸側残存肺の状況等で胸膜肺切除(肺全切除・肺葉切除)術、膿胸嚢摘出・肺剥皮術、気瘻閉鎖土筋肉・大網充填土胸郭成形術などの複合術式による腔縮小術等が根治術式として選択される。ただし根治手術前に膿胸腔開窓術を行い、結核菌量が十分減少してから根治手術を行った方が、高い成功率が得られると考えている。

手術の時期

手術の時期に関して明快な指針はない。ただし自件例の検討、Goble²⁰⁾、永井²¹⁾、Mohsen¹⁰⁾の報告では、化学療法のみで多剤耐性肺結核が治癒する場合は、新しい有効薬剤によるレジメに変更後、多くが4ヶ月以内に排菌が停止している。従って新レジメ開始後少なくとも4ヶ月を超えて排菌停止が得られないような場合、積極的に外科療法を検討すべきであろう。

術前術後の抗結核化学療法

対象が感染症病巣である以上、術前後の化学療法の役割は重要である。ただしそれぞれの期間に関する明確な指針はない。先に述べたように3~4ヶ月の化学療法による排菌量の推移を外科学療法の目安と考えると、術前少なくとも3~4ヶ月程度の化学療法は施行されていることになる。感染症手術の原則からすれば、根治手術前に可及的に菌量の減少を図ることは重要で、その意味でも術前の化療期間は少なくとも3~4ヶ月間が望ましいと考える。

術後の化療期間に関しては、根治術後再排菌の大部分は半年以内でかつ化学療法継続中であり、術後化療期間と再排菌の関連は不明である。非切除例については排菌停止後2年間の化学療法が推奨されているが^{21, 22)}、排菌源を除去した後の化療期間の短縮は可能であろう。筆者は少なくとも術後1年以上、

1年～1年半の化療期間で良いのではないかと考えている。

終わりに

多剤耐性肺結核に対する外科療法について概説した。多剤耐性結核菌による膿胸は病態が異なるので、別なアプローチが必要である。

4. 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感受性はウエルバック、MGIT両法で複数回確認した。ジェノスカラー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。次いでウエルバックと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ジェノスカラー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)。さらに平成19年9月より同法をルーチンに応用し、ガフキー陽性結核患者から7日以内に多剤耐性結核患者をスクリーニングする耐性を構築した。
5. 結核診療における迅速RFP耐性遺伝子検査の有用性を明らかにした。RFPは結核短期化学療法の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。またRFP耐性遺伝子を調べることで1週間以内に多剤耐性結核を疑い、陰圧個室に隔離する体制の構築を行った。

6. さらに、結核菌殺傷タンパク *granulysin* (図6)の定量的アッセイの系を確立した。(図7)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。(図8)(図9)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。C57BL/6マウスにH37RV結核菌を投与した後、15K *granulysin* DNAを投与した群においては、*granulysin* に対する強力な抗体産生が血清中に認められることを明らかにした。さらに *granulysin* DNAで治療後4～8週後のマウスにおいて、肺臓・肝臓・脾臓中の結核菌数が非投与群に比較して著明に減少した。(表8)
7. 国立病院機構呼吸器ネットワーク(図1)を利用した患者宿主主要因の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80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。①候補遺伝子解析 結核感受性遺伝子群では、IL-10, IL-1RA, NRAMPI, IL-8, IL-12, IL-12RB1, MBL, SP, VDR, IFNG, P2X7,

1 1 遺伝子における 1 8 SNPs について解析を行なった。NRAMP 1 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)。(図 10) その他の遺伝子における SNP 頻度の差異を認めていない。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 granulyisin の低下を明らかにした。granulyisin 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 granulyisin 及び T リンパ球培養上清中の granulyisin の ELISA 診断法を開発した。さらに、granulyisin DNA 治療によりマウスの系で結核菌に対する治療効果を得た。

さらにリコンビナント 15K Granulyisin をマウス生体内 i.p 投与により強力な結核治療効果を得た。(表 9) また in vitro のキラーT 細胞誘導の系で 15K Granulyisin は IL-6 や IL-2 と相乗的にキラーT 細胞の分化を誘導した。granulyisin は結核菌を直接殺傷する効果以外に、キラーT の分化誘導を介して抗結核作用を発揮することが示された。(図 1 1) (図 1 2)

8. 大阪府立呼吸器アレルギー医療センターで得られた多剤耐性結核菌株に対して 15/24-optimized MIRU 領域で VNTR を行い既に得られている 16VNTR ならびに IS6110 RFLP の結果と H.G.I.にて比較した。

研究結果

	H.G.I.
•12MIRU-VNTR	0.940
•16VNTR	0.965
•15-optimized MIRU VNTR	0.986
•24-optimized MIRU VNTR	0.986
•IS6110 RFLP	0.997

optimized MIRU VNTR は、15 および 24

領域とも、16VNTR よりも優れている。また、15 と 24 領域では MDR-/XDR-TB の解析において差が無かった。(表 12 ~ 表 15)

9. 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。
10. 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。
11. 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。
- ③多剤耐性結核患者 PBL を CESSMMC や PWM、ConA、PHA で 4 日間刺激して、その培養上清中の granulyisin を測定すると、健康人に比較して、granulyisin の産生の著明な低下が認められた。(図 8、図 9)
12. 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。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

1. 多剤耐性結核は結核対策の重要な課題である。世界結核薬剤サーベイランスのネットワークが整備されて地域別にMDR患者数と割合が推定され、その治療成績は低く死亡が多いことが示された。さらに2000~2004年にCDCとWHOが実施した49カ国の17690株の解析では、2次薬にも広範囲に耐性を示すXDR-TBが広がっていることが報告された。全検体の20%がMDRで、MDR中のXDRの割合は10%で、国別では米国4%、ラトビア19%、韓国15%となっており、先進諸国でもXDR検体率が年次上昇している。日本では2002年療研(結核療法研究会)が行った3122株の調査で60例(1.9%)がMDRで低いが、うちXDR17例の割合は31%と諸外国に比べると著しく高

く、しかも半数が初回治療であったことが注目された。鹿住らは1999年に慢性排菌結核であった1234例から得られた434株の薬剤感受性検査を行い、321株がMDR、うち180株がXDRでさらにXDRの半数が初回登録患者であったと報告している。今回の我々の調査では、持続排菌症例が初回耐性か否かの区別は出来なかった。

今回のアンケートによる全国調査で、2006年1月から12月で新規入院したMDRおよびXDR-TBは93例、12例、その他の持続排菌患者103例、44例と合わせて196例、56例の多剤耐性および超多剤耐性結核患者を認めた。2006年の新規登録菌陽性肺結核患者数15315人と比較すると、おおよそ1.3%、0.4%程度となる。

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。しかしながら耐性遺伝子が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。の割合は31%と諸外国に比べると著しく高く、しかも半数が初回治療であ

ったことが注目された。鹿住らは 1999 年に慢性排菌結核であった 1234 例から得られた 434 株の薬剤感受性検査を行い、321 株が MDR、うち 180 株が XDR でさらに XDR の半数が初回登録患者であったと報告している。今回の我々の調査では、持続排菌症例が初回耐性か否かの区別は出来なかった。

今回のアンケートによる全国調査で、2006 年 1 月から 12 月で新規入院した MDR および XDR-TB は 93 例、12 例、その他の持続排菌患者 103 例、44 例と合わせて 196 例、56 例の多剤耐性および超多剤耐性結核患者を認めた。2006 年の新規登録菌陽性肺結核患者数 15315 人と比較すると、おおよそ 1.3%、0.4%程度となる。

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。しかしながら耐性遺伝子が 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。

表 2

対象施設	
NHO	51施設 回答 43 施設
センター	1施設 回答 1 施設
結核予防会	3施設 回答 3 施設
公立病院	回答 135 施設
民間病院	回答 34 施設
回答率 218/270 (80.7%)	
回答施設の結核病床数 6022床	

図 2

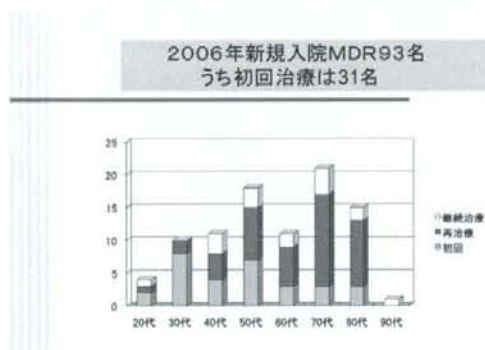


図 4

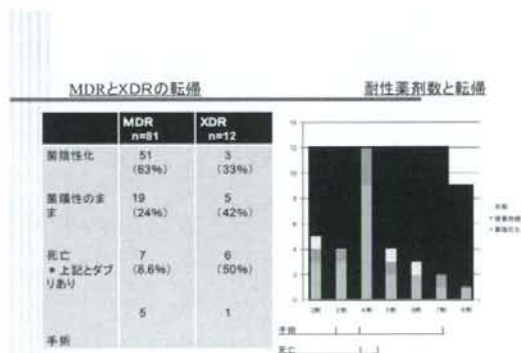


表 3

	2006年新規入院MDR93名					XDR
	人数	初回	再治療	継続	不明	
20代	4	2	1	1	0	0
30代	10	8	2	0	0	0
40代	11	4	4	3	0	1
50代	19	7	8	3	1	4
60代	11	3	6	2	0	2
70代	21	3	14	4	0	5
80代	15	3	10	2	0	0
90代	1	0	0	1	0	0
不明	1	1	0	0	0	0
	93	31	45	16	1	12

図 3

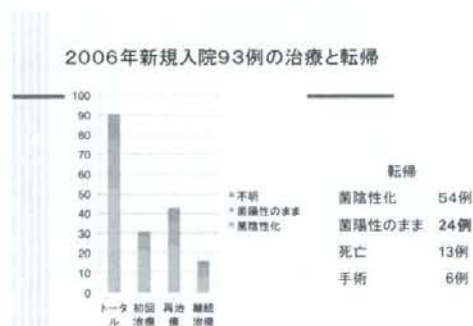


表 4

	持続排菌103名 (年数は不明を除く人数)					XDR
	人数	～2年	～5年	～10年	10年～	
20代	0	0	0	0	0	0
30代	1	1	0	0	0	0
40代	6	5	0	1	0	1
50代	22	5	1	8	6	8
60代	30	4	3	5	16	17
70代	23	4	4	3	8	12
80代	20	5	4	6	5	5
90代	1	0	0	0	1	0
	103	24	12	23	36	43