

図 2

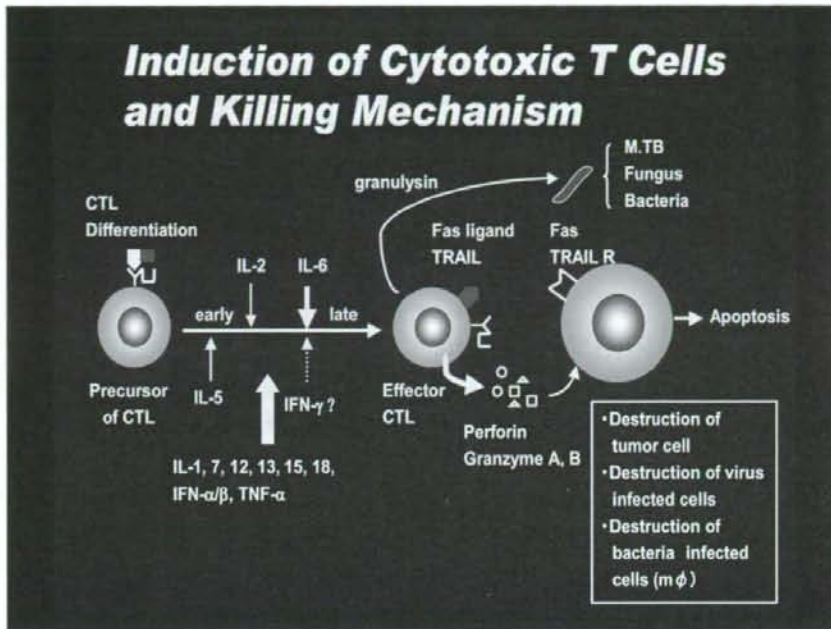


図 3

多剤耐性結核患者末梢血リンパ球 (PBL)

| | |
|---------------------|----|
| 1. Granulysin mRNA | ↓↓ |
| 2. TRAIL mRNA | ↓↓ |
| 3. キラーT細胞分化因子産生 | ↓↓ |
| 1) IL-2 産生 | ↓ |
| 2) γ -IFN 産生 | ↓ |
| 3) IL-6 産生 | ↓ |
| 4. Granulysin 蛋白発現 | ↓↓ |

図5

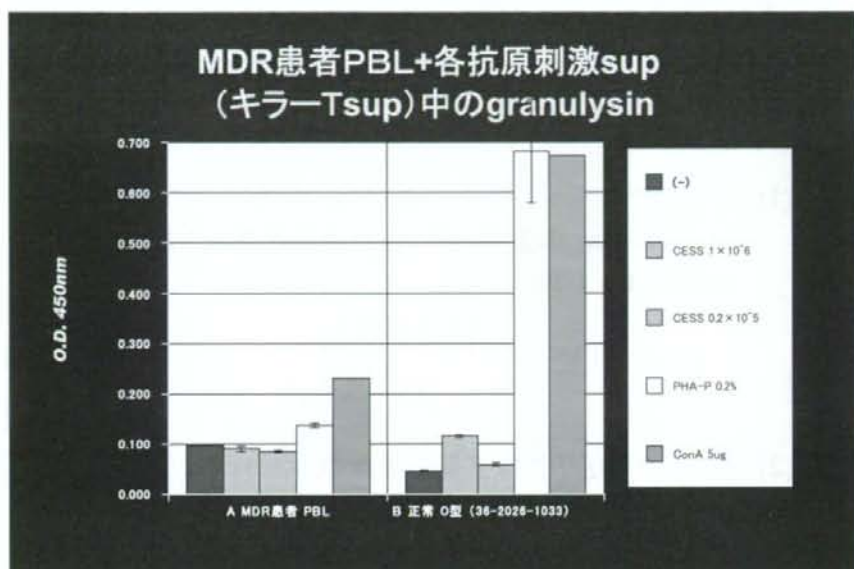


図6

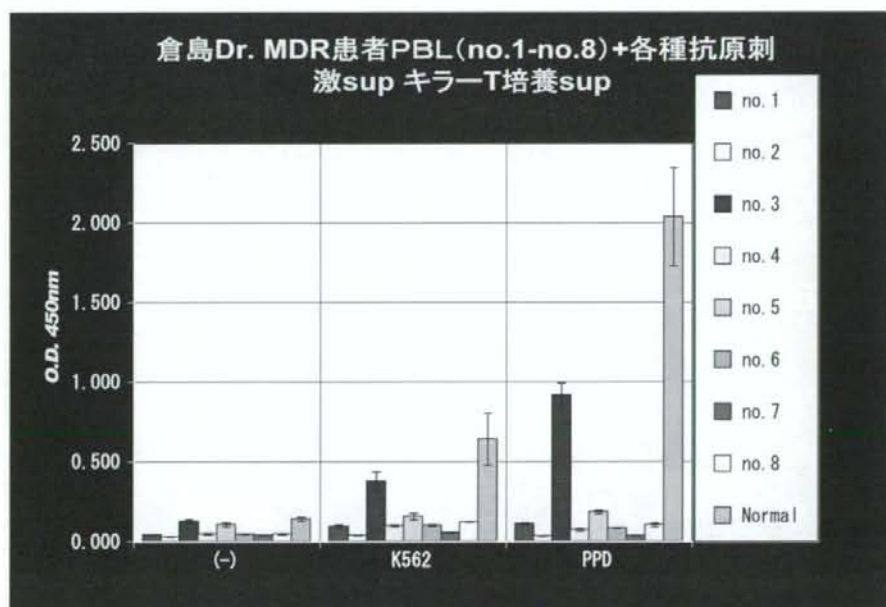


図 7

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 8

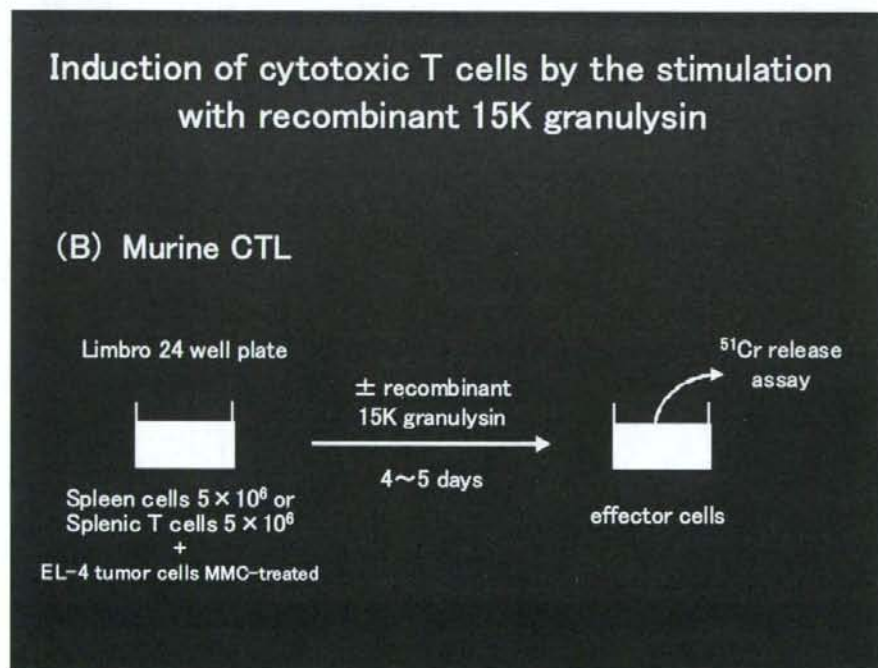


図 9

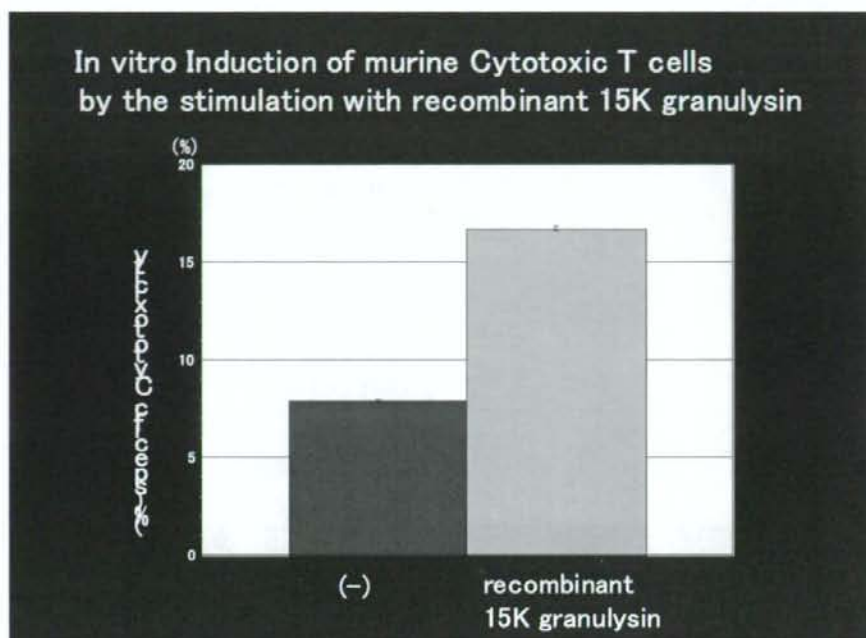


図 10

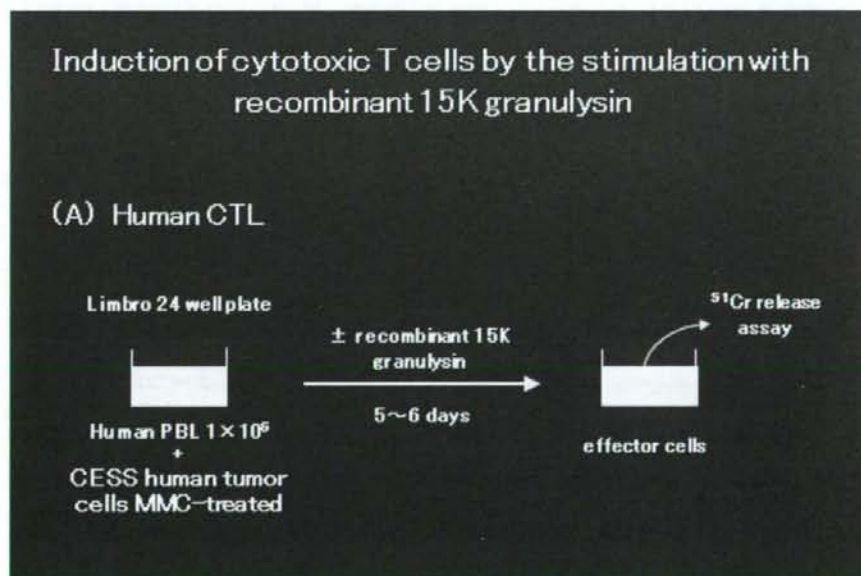
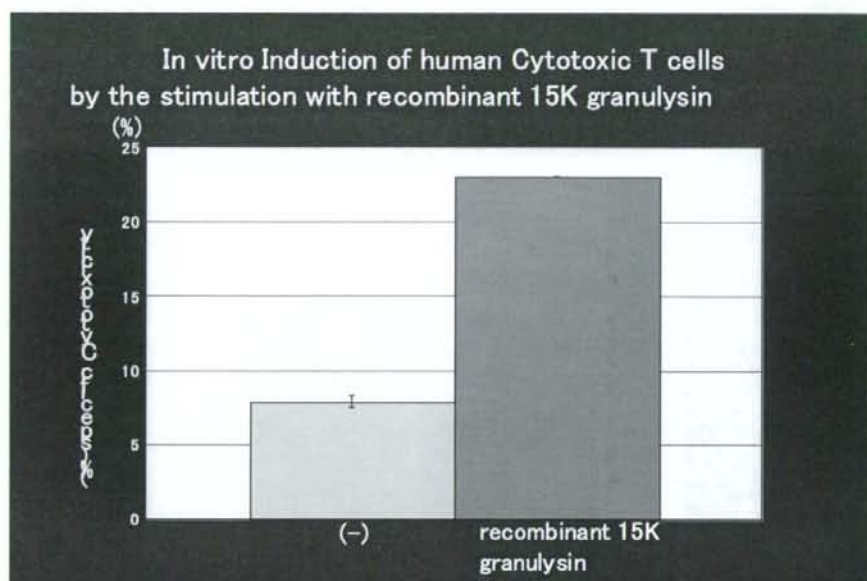


図 1 1



D. 考察

1. リコンビナント 15K Granulysin タンパク治療及び 15K Granulysin DNA 治療により生体内で抗結核作用が認められることより、granulysin は将来的に治療ワクチンとして強力な武器を提供するであろう。
2. 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。
3. 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。

4. 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. 本年度はリコンビナント 15K Granulysin タンパクで治療することにより、抗結核治療効果を得た。画期的な成果であり、治療ワクチンとなる可能性を示した。
2. 15K Granulysin DNA で治療することにより抗結核治療効果を得た。
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 松本智成部長、国

立病院機構福岡東病院 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。

4. リコンビナント 15KGranulysin を *in vitro* のマウス・キラーT 細胞誘導系に添加し、15K Granulysin タンパクはキラーT 細胞の分化を誘導することを明らかにした。さらに、*in vitro* のヒト・キラーT 前駆細胞からエフェクター・キラーT 細胞への分化にも 15K Granulysin タンパクはキラーT 分化因子とした作用することを明らかにした。また、15KGranulysin は IL-6 や IL-2 と相乗効果的にキラーT 細胞の分化を誘導した。すなわち、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。
5. 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。
6. 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。
7. 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。
8. 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。

耐性結核診療システムの確立

研究協力者：

田尾 義昭 国立病院機構福岡東医療センター 医長

研究要旨

- (1) 多剤耐性結核診療ガイドラインの作成。すなわち、外来診療体制ガイドライン及び入院診療ガイドラインを作成した。(添付資料1)
- (2) 平成19年度は各施設での多剤耐性結核患者の診療状況について、アンケート形式で調査をおこない問題点をさぐった。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無く他の県に依頼することが現実に起きている。
- (3) 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なう予定である。

A. 研究目的

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症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. 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18年にわたって検討してきた。平成19年度は各施設での

多剤耐性結核患者の診療状況について、アンケート形式で調査をおこない問題点をさぐった。

4. 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

(1) 多剤耐性結核診療ガイドラインの作成

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 としての治療、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はないこと、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。

(2) 多剤耐性結核の診療状況

| | 透析症例 | 精神疾患 | 外科的処置 | 乳児 | 排菌外来 |
|------------|------|------|-----------|--------|------|
| NHO 福岡東 | 可能 | 不可能 | 可能（婦人科なし） | 小児科医相談 | いる |
| NHO 大牟田 | 不可能 | 不可能 | 科による | 小児科医相談 | いない |
| NHO 長崎神経医療 | 不可能 | 不可能 | 呼吸器外科いない | 小児科医相談 | いない |
| NHO 東佐賀 | 不可能 | 不可能 | 科による | 小児科医相談 | いない |
| NHO 西別府 | 不可能 | 不可能 | 呼吸器外科いない | 小児科医相談 | いない |
| NHO 熊本南 | 不可能 | 不可能 | 整形いない | 小児科医相談 | いない |
| NHO 宮崎東 | 不可能 | 不可能 | 整形いない | 小児科医相談 | いる |
| NHO 南九州 | 不可能 | 不可能 | 科による | 小児科医相談 | いない |
| NHO 沖縄 | 不可能 | 不可能 | 科による | 小児科医相談 | いない |

上記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。

(3) 多剤耐性結核患者の症状、入院拒否理由及び自宅生活状況

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、外来治療を行な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なっている。

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

1. 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。

2. 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。

E. 結論

- (1) 多剤耐性結核診療ガイドラインの作成。
すなわち、外来診療体制ガイドライン及び入院診療ガイドラインを作成した。
- (2) 平成 19 年度は各施設での多剤耐性結核患者の診療状況について、アンケート形式で調査をおこない問題点をさぐった。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無く他の県に依頼することが現実に行っている。
- (3) 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なう予定であ
る。

「多剤耐性肺結核に対する外科治療成績の検討」

研究協力：

中島由槻 国立病院機構東京病院 副院長

研究要旨

[目的]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。[対象と方法]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。[結果]男66例で73回の切除(平均45歳)、女17例20回切除(平均38歳)。画像上両側肺結核病巣ありが69%、有空洞例が94%(両側空洞18%)。一例当たりの耐性薬剤数は平均5.4剤(超多剤耐性2例を含む)。手術時排菌陽性が60%。術式では右対左は50:43、上葉切除±他葉部区切除が57%、区域切除(主として左)12%、肺全切除29%。術後合併症としては難治気腫が20%に、膿胸が9%に生じ、気腫・膿胸・呼吸不全の主要合併症が全体の25%で見られたが、手術死亡は皆無。治療成績は、切除後排菌持続2切除(2/93)、2ヶ月以上排菌停止後の再排菌10切除(再排菌率11%(10/91))、当初不成功12切除のうち5例は再切除、2例はその後の化学療法にて排菌停止し、最終的に治療不成功は4例5切除。その結果術後1年以上追跡死得た80例中76例で排菌停止、治癒となり治癒率は95%となった。術後再排菌の関与因子のうち残存肺空洞遺残が重要と評価された。なお術前菌陰性化例の53%で病巣内結核菌陽性。[考察と結論]多剤耐性肺結核症に対する肺切除術の治療成績は極めて良好で、積極的に施行されるべきである。その際空洞性結核病巣を遺残させないことが重要である。多剤耐性結核に対する外科療法のガイドライン(別添2)を作製した。

A. 研究目的

少なくともINH、RFP両剤耐性の多剤耐性結核症では抗結核化学療法による治療成績が悪く、近年その肺結核症に対する外科治療の有効性が内外において再評価されつつある。筆者は過去にその治療成績について報告しているが^{1,2)}、本研究では多剤耐性肺結核症に対する外科治療肺切除術の治療成績について、改めて詳細に検討した。

B. 対象と方法

対象は筆者の前任施設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回の肺切除術である。これらの手術症例についてその患者背景因子、術式、術後合併症、治療成績等を診療録にて後ろ向きに調査し、外

科治療の不成功因子や適応について検討した。症例の追跡期間は1年以内の死亡例以外12ヶ月から113ヶ月、平均40.4±23.6ヶ月であり、少なくとも術後1年以上再排菌無しが追跡確認され、なおかつ調査時に再燃再排菌の情報がない場合を外科治療成功例と評価した。多剤耐性結核の定義は少なくともINHおよびRFP両剤に耐性があり、耐性の濃度基準は

、わが国で新結核菌検査指針が出た2000年以前では小川培地でINH0.1μg/ml、RFP50μg/ml、以後はINH0.2μg/ml、RFP40μg/mlとし、2000年以前の症例では不完全耐性も結局耐性菌が生き残る事を考慮して対象に含めた。また統計処理は χ^2 検定を行った。なお多剤耐性結核性膿胸の外科治療については、外科治療の戦略が基本的に異なるので検

討の対象から除いた。

C. 研究結果

背景因子：83 症例 93 回の肺切除のうち、男性 66 例で 73 回の切除(21~66 歳、平均 45.2 ± 13.2 歳)、女性 17 例 20 回切除(23~59 歳、平均 37.5 ± 10.3 歳)。術前の画像所見では両側肺結核病巣ありが 69%、片側 31%、有空洞例が 94%(両側空洞 18%)。一症例当たりの耐性薬剤数は 2~11 剤で平均 5.4 剤(超多剤耐性 2 例を含む)。手術時塗抹または培養で排菌陽性が 60%、糖尿病合併が 38%、肝障害合併が 13%。

術式：表 1 に示す如く手術側は右 50 回左 43 回、上葉切除±他葉部区切除が 57%、区域切除(主として左) 12%、肺全切除 29%であった。術後合併症：難治気腫が 20%に、膿胸が 9%に、呼吸不全が 2%に生じ、気腫・膿胸・呼吸不全の主要合併症のいずれかが全体の 25%で見られたが、手術死亡は皆無であった(表 2)。

治療成績：治療成績を切除後も排菌持続例、2ヶ月以上排菌停止後の再排菌例、最終的に排菌が停止した成功(治癒)例について検討した。排菌持続は 2 切除(2/93)、排菌停止後の再排菌が 10 切除(再排菌率 11%(10/91))であり、再排菌例のうち 1 切除例(17ヶ月後)を除いて他は全て術後 1 年以内(1 例は 11 ヶ月後に対側遺残空洞から、残り 8 例は術後半年以内)に再排菌が認められた。これらの当初不成功 12 切除のうち 5 例は再切除、2 例はその後の化学療法にて排菌停止が得られ、最終的には 4 例 5 切除のみが治療不成功となった。その結果術後 1 年以上追跡死得た 80 例中 76 例で排菌停止、治癒が得られ、成功率(治癒率)は 95%であった。

術後再排菌に関与する因子：検討の結果表 3 に示す 5 因子が再排菌に有意に関与することが判明した。このうち手術適応に直接関与する重要な因子は残存肺空洞遺残と評価され

た。なお術後の追跡において画像上径 2cm 以上の遺残結節性病巣が洞化して再排菌を来した例が数例認められたが、径 1~1.5cm 程度までの結核病巣の再燃再悪化は皆無であった。

切除病巣内結核菌：大多数の切除肺空洞病巣の細菌学的検査を施行した。その結果(表 4)術前菌陰性化例の 53%で病巣内結核菌が塗抹または培養で陽性であった。

D. 考察

近年の報告において多剤耐性肺結核症に対する肺切除術の治療成績はその合併症も含めて極めて良好で(表 5)、今回の自験例の検討においてもその結果は支持された。したがって難治性である多剤耐性肺結核症例に対する肺切除術は、より積極的に検討されかつ施行されるべきである。しかしながらその背景因子を含めた適応について、具体的に十分な検討がされているとは言い難い。今回の検討の結果、切除の対象は主として空洞性結核病巣であり、小散布性病巣は遺残させても構わないこと、可能であれば耐性薬剤数が増えないうちに切除を行うこと、術前 3 ヶ月以上の有効な化学療法で菌量の減量を図っておくこと、術後断端瘻、膿胸等の防止目的に気管支断端は筋弁等で被覆しておくこと、術前に喀痰の排菌が停止しても安易に治癒を期待せず、その時こそ切除の良いタイミングであると考えざるべき事などが示唆された。なお今回の検討において再排菌は全て術後の抗結核化学療法中に認められており、ゆえに化学療法の期間の術後再排菌への関与はないと思われる。また化学療法のレジメの関与についてはレジメ内容が多岐にわたり検討できなかった。したがって術後抗結核化学療法の内容および期間については明らかな結論が得られず、現在筆者は経験的に術後治療期間を 1 年~1 年半としている。

E. 結論

多剤耐性肺結核症に対する外科治療、肺切除術により95%の成功率(治癒率)が得られることが判明した。したがってその適応を充分考慮した上で、同症に対する外科治療はより積極的に行われるべきであると考えられる。

<参考文献>

- 1) 中島由槻:耐性肺結核の外科治療. 結核. 1997; 72: 25-34.
- 2) 中島由槻:多剤耐性結核の治療. 結核. 2002; 77: 805-813.
- 3) Leuven MF, Groot MD, Shean KP, et al: Pulmonary Resection as an Adjunct in the Treatment of Multiple Drug-Resistant Tuberculosis. Ann Thorac Surg 1997;63:1368-1373.
- 4) Kir A, Tahaoglu K, Hatipoglu T: Role of Surgery in Multi-drug-Resistant Tuberculosis: Result of 27 Cases. European J Cardio-thorac Surg 12:531-534, 1997
- 5) Sung SW, et al: Surgery Increased the Chance of Cure in Multi-drug Resistant Pulmonary Tuberculosis. European J Cardio-thorac Surg 16:187-193, 1999.
- 6) Pomerantz B, Cleveland J, Olson H, et al: Pulmonary Resection for Multi-drug Resistant Tuberculosis. J Thorac Cardiovasc Surg 2001;121: 448-453
- 7) Chiang CY, Yu MC, Bai KJ, et al: Pulmonary Resection in the Treatment of Patients with Multidrug-resistant Tuberculosis in Taiwan. Int J Tuberc Lung Dis 2001;5:272-277
- 8) Tahaoglu K, Torun T, Sevim T, et al: The treatment of multidrug-resistant tuberculosis in Turkey. N Engl J Med. 2001;345:170-174.
- 9) Mohsen T, Zeid AA, Haj-Yahia S: Lobectomy or pneumonectomy for multidrug-resistant pulmonary tuberculosis can be performed with acceptable morbidity and

mortality. J Thorac Cardiovasc Surg 2007;134: 194-198

表1. 93肺切除術の切除部位と術式

| 切除術式 | 右 | 左 | 計 | |
|-----------------------------------|----|----|------------|---------------|
| 上葉切除 | 18 | 8 | 26 | 53 (57.0%) |
| 上葉切除 + S ⁴ 区・部切 | 14 | 9 | 23 | |
| 上 & 中葉切除 ± S ⁴ 区・部切 | 2 | 0 | 2 | |
| 上葉切除 + 他葉部切 | 2 | 0 | 2 | |
| 中 & 下葉切除 | 1 | 0 | 1 | 2 |
| 下葉切除 | 1 | 0 | 1 | |
| 区域切除 | 1 | 10 | 11 (11.8%) | |
| 全切除 | 11 | 16 | 27 (29.1%) | |
| 計 | 50 | 43 | 93 | |

NHO Tokyo National Hospital, Japan

表2. 93肺切除における術後合併症

| 手術死亡 | 無し |
|-------------------------|------------|
| 遷延性気管支・肺癆 (気管支断端瘻 2) | 19 (20.3%) |
| 膿胸 | 8 (8.6%) |
| 急性呼吸不全 | 2 (2.2%) |
| 術後出血 | 2 |
| 乳び胸 | 3 |
| 肝障害 | 3 |
| その他 | 5 |

(創感染, 気管支結核による気管支壁穿孔, MRSA 肺炎, 72h⁺ A⁺ ロシス, 十二指腸潰瘍)

NHO Tokyo National Hospital, Japan

表3. 肺切除後再排菌に関与した因子 (単変量解析)

| | |
|-----------------|------------|
| ・耐性薬剤数 ≥ 6 | $p < 0.05$ |
| ・術前痰結核菌陽性 | $p < 0.01$ |
| ・残存肺内空洞性病巣遺残 | $p < 0.05$ |
| ・術後膿胸発生 | $p < 0.01$ |
| ・術後遷延性気管支・肺癰合併 | $p < 0.05$ |

NHO Tokyo National Hospital, Japan

表4. 術前痰結核菌排菌状況と切除病巣内結核菌検出状況

| 術前痰内結核菌 | 症例数 | 切除病巣内結核菌 | 症例数 |
|----------------|-----|----------------|-------------|
| 塗抹(-) 及び 培養(-) | 32 | 塗抹(-) 及び 培養(-) | 15 |
| | | 塗抹(+) 又は 培養(+) | 17 (53%) |
| 塗抹(+) 又は 培養(+) | 53 | 塗抹(-) 及び 培養(-) | 10 |
| | | 塗抹(+) 又は 培養(+) | 43 (81%) |

NHO Tokyo National Hospital, Japan

表5. 多剤耐性肺結核に対する外科治療・肺切除術の治療成績報告

| 報告者 | 症例数 | 術式 | 成功率 | 手術死 |
|--|-----|------------|-----|------|
| Pomerantz(2001,US A) ⁴¹ | 180 | 全88 葉93 区5 | 98% | 3.3% |
| Leuven(1997, South Africa) ²¹ | 62 | 全35 葉26 区1 | 80% | 1.4% |
| Kir(1997, Turkey) ⁴¹ | 27 | 全20 葉7 | 96% | 0% |
| (Tahaoglu(2001, Turkey) ⁴¹) | 36 | | 89% |) |
| Sung(1999, Korea) ³¹ | 27 | 全9 葉16 区2 | 96% | 0% |
| Chiang(2001, Taiwan) ¹¹ | 27 | 全10 葉13 区4 | 89% | 4% |
| Mohsen(2007, Egypt) ⁹¹ | 23 | 全11 葉12 | 91% | 4.3% |
| 中島由禎* (1996, 複十字病院症例) | 37 | 全14 葉22 区1 | 89% | 0% |
| 中島由禎* (2000, 全国調査) | 112 | 全32 葉71 区9 | 87% | 0% |

全:肺全切除, 葉:肺葉切除, 区:肺区域切除 *:肺部分切除を含む

NHO Tokyo National Hospital, Japan

「結核診療における迅速 RFP 耐性遺伝子検査の有用性」

研究協力者：

鈴木克洋 NHO 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。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。

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、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。

B) 研究方法

ウエルバックと 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 of 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。

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。

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。

「多剤耐性結核の分子疫学的検討」

研究協力者：

露口一成 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
感染症診断・治療研究室長

研究要旨

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。

A. 研究目的

結核菌の薬剤耐性は、菌の遺伝子の突然変異により生ずる。耐性菌は野生株である感受性菌に比較してその病原性は弱いと従来考えられてきた。しかし、近年多剤耐性結核菌による集団感染事例や再感染事例の報告が相次ぎ、耐性菌といえども必ずしも病原性が弱いとはいえないと考えられるようになった。我々は、多剤耐性結核菌の感染病態を明らかにする目的で、分子タイピングによるクラスター解析を行った。

B. 研究方法

対象は、当院で2000年1月から2005年12月までに当院で検出された多剤耐性結核菌株109株と、同時期に検出された全剤感受性結核菌株226株である。これらの菌株に対して、IS6110をプローブとしたRFLP法と、Spoligotyping法を施行し、クラスター解析を行った。

C. 研究結果

RFLP法では、多剤耐性結核菌株のクラスター形成率は43.1%、感受性結核菌株のクラスター形成率は43.8%であり、また、Spoligotyping法では、Beijing株の占める割合は、多剤耐性結核菌株で77.1%、感受性結核菌株で84.5%であり、いずれも有意な差を認めなかった。多剤耐性結核菌株のRFLP解析では、クラスター形成株は47株であり、12のクラスターが認められ、うち5株以上からなるクラスターが3つ存在した(クラスターa: 11株、クラスターb: 7株、クラスター

c: 7株)。クラスターaとクラスターbはBeijing株であり、クラスターcはBeijing株ではなかった。クラスターbには1名、クラスターcには2名の再感染発病者を含んでいた。また、クラスターcのうち5名は明らかに疫学的関連があり集団感染と考えられた。

D. 考察

多剤耐性結核菌株のクラスター形成率は感受性結核菌株と有意差を認めず、また、3つの大きなクラスターを含んでおり、多剤耐性結核菌にも伝搬しやすい蔓延株が存在することが示唆された。

E. 結論

多剤耐性結核菌の中にも、伝搬力の強い、強毒株と考えられる株が存在することが示唆された。今後は、耐性結核菌も感受性結核菌と同等の感染性を有するとの前提で感染対策を行っていくことが必要である。

「大阪における MDR/XDR-Tb の分子疫学解析に関する研究」

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

研究要旨

- (1) 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) 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。
- (3) 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十分な解像度を有しており有用な方法である。

A. 研究目的

- (1) MDR-TB に対しては、感受性がある薬剤でも治療効果が INH, RFP に比較して劣り、しかも毒性が強く副作用の為に服用できない場合がある。さらに薬が高価でもある。MDR-TB は、診断時点で社会隔離のための入院が必要となり、入院期間も長く患者本人のみならず社会的にも大きな損失を引き起こす。しかも最近、より治療困難な XDR-TB が問題となってきている。従って、MDR-TB/XDR-TB の感染経路ならびに菌株間の類似性を分子疫学解析にて評価し、MDR-TB/XDR-TB の蔓延防止策を開発する事は重要である。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らる。

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。

- (2) 近年、高度多剤耐性結核 (eXtensively Drug Resistance- Tuberculosis: XDR-TB) が報告され世界的に問題になっている。XDR-TB とは、当初は INH, RFP 耐性以外に、主要な 2 次抗結核薬 6 グループ (aminoglycosides, polypeptides, fluoroquinolones, thioamides, cycloserine, and para-aminosalicylic acid) のうち少なくとも 3 グループが耐性の MDR-TB と定義され (1)。最近になって INH, RFP 耐性以外に、Fluroquinolone 耐性と注射薬である capreomycin, kanamycin, amikacin のうち一つ耐性を満たす耐性結核菌と新たに定義された (2)。結核菌分子疫学解析は、多剤耐性結核菌蔓延防止の為にサーベランスに重要な道具の一つである。我々は ETR および