

ンケート調査を実施した保健師の話によると、「特に感じない」と答えた協力者ですら「でも生きててよかったと思うよ」などと、肯定的な心境を口頭では語っていた事がわかった。そのようなコメントは自由記入欄でも見られた。更に「自分を大事にしようと思うか」、「自分の体を大事にしようと思うか」などという、具体的な行動がイメージし易い質問に対しては「とても感じる」、「まあまあ感じる」と肯定的に答えた協力者が多かった。結果にもあるように、「野菜を食べる」、「早寝早起きをする」など、その行動の具体例を挙げた者も少なくなかった。

生活面に関する変化については DOTS 終了後、6ヶ月以上経っている協力者（11名）に関しては、1名を除いた残り全員（10名）が生活保護を受けている状態であったが、受けながらも就職したり生活環境を変えたりと何らかの変化を経験していた者が10名中8名いた。DOTS 終了後6ヶ月未満の協力者（4名）に関しては、仕事に就いて生活環境を変えたい、という意志を全員が持っている事がわかった。実際に彼らの希望が実現するか否かは別問題として、何らかの変化を望んでいるという事実には留意するべきである。

対人関係に関する変化については、15名中9名が結核と罹患する前と比べて他人との会話が「とても」あるいは「ちょっと」できるようになったと答えており、日常生活において必要なコミュニケーション能力の向上が伺えた。説明や反論をするなど、日常会話よりは多少高度なコミュニケーション能力についても、5名が以前と比べてできるようになったと答えていた。集団行動をとることや規則、約束を守るなどといった社会的行動に関しては、以前と比べて「できるようになった」と答えた協力者はいずれも半数以下であった。しかし「あまり変わらない」と答えた者の中には「もともとできるから」と答えた者もあり、今後、回答の選択肢には「以前からできる」を加える必要性が示唆された。

社会との関りに関する変化については「責任を感じる」、「何か返したい」と答えた協力者がいずれも15名中9名おり、具体的に何をしたいかを述べている協力者が多かったのが印象的であった。「ホームレス」という支援を受ける側にいる、あるいはいた者が、結核に罹患し、DOTS を通して完治するという経験を通して、同じような立場の人間や障害者といった他の社会的弱者を、助けたいと思うようになったことは有意で顕著な変化といえよう。また、結核に対する活動に現在参加していると答えた者は2名に留まったが、いずれは参加したいと答えた者は7名いた。その内の1名は後日、結核予防会結核研究所が結核予防教育を目的としてホームレス支援機構と共同で実施している、ホームレスの元結核患者によるホームレスを対象とした人形劇に後日参加したということ、本研究者は保健師から聞かされている。

これまでの分析によって明らかになった、DOTS によってもたらされた変化と類似した経験は、他の研究者らによっても報告されている。例えば長弘らは横浜市寿地区において DOTS を受療した「不安定就労・生活者」の結核患者を対象に聞き取り調査を行い、DOTS は「結核治療完遂のみならず、彼らの生活を立て直すきっかけをも与えることが示唆さ

れた」と結論付けている²⁵。また逢坂らは大阪におけるホームレスへの健康支援に関する実践的研究の報告の中で、当初は治療になげやりであったホームレスの結核患者が DOTS を通して結核を治しただけではなく、「・・・生活保護を受けて生活も安定し、同時にわれわれとの人間関係も豊かになり、ボランティアとして、われわれと共に健康支援活動に加わり、そのことが生きがいになっている」という事例を紹介している²⁶。これらの報告は本研究のこれまでの結果を裏付けているように思われる。つまり DOTS のエンパワメント効果は決して場当たりの、単発の現象ではなく、人為的に創出し且つ持続させることが可能な効果なのである。

結論

これらの結果から DOTS は全ての患者をエンパワーする、と結論することは不可能であり、また、そうすることが本研究の目指すところでもない。また、現段階ではデータ収集も分析も途中であることから最終的な結論は出せない。しかし 15 名の協力者の体験を垣間見ても、DOTS が彼らの人生に何らかの変化をもたらしていたことは明白である。もちろん変化が顕著ではない者もいれば、結核治療はその後の人生になんの影響も与えなかった、と答えた者もいた。しかし DOTS が一人でも多くの患者の人生に影響を及ぼしているのであれば、その効果を記述し、分析することには意義がある。今後は更なるアンケート調査の結果と、インタビューの内容分析を深化させ、ホームレスの元結核患者がエンパワーされていくプロセスを詳細に考察し、ホームレスに対する今後の結核対策に資することは何なのかを探っていく。

〈研究協力者〉

佐藤奈央 新宿区保健所 健康部保健予防課保健相談係 保健師
小柳淳 新宿区保健所 健康部保健予防課保健相談係 保健師
田口万紀子 新宿区保健所 健康部保健予防課保健相談係 保健師
島史子 新宿区保健所 健康部保健予防課 課長
福内恵子 新宿区保健所 所長
高尾良子 新宿区保健所 健康部保健予防課保健相談係 前係長

²⁵長弘佳恵、小林小百合、他：「不安定就労・生活者にとっての Directory Observed Treatment, Short-course (DOTS) 受療の意味」日本公衆衛生誌、54(12)、2007、p. 864

²⁶逢坂隆子、高鳥毛敏雄、黒川渡、他：「逢坂におけるホームレスへの健康支援－社会医学を学ぶ者たちの実践的研究」社会医学研究、25、2007、p. 22

菌バンク機能の活用及び病原体サーベイランスの構築

分担研究者

御手洗 聡 （財）結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンス部細菌検査科

研究要旨

結核菌に関する病原体サーベイランスシステムを構築することを目的として、衛生検査所と地方衛生研究所のシステム構成上の可能性を検討し、併せてこれを集約する施設としての結核研究所結核菌検査・保管施設の有用性等を検討した。

結核研究所結核菌検査・保管施設は国内外で抗酸菌検査のレファレンス機能を持っており 2009 年に 666 株の抗酸菌検査を実施した。また、薬剤感受性検査の精度管理用標準株を用いて 88 施設（国内 85・海外 3）にパネルテストを実施した。さらには廃棄予定の多剤耐性結核菌 384 株について譲渡・保管を行っており、病原体サーベイランスあるいは将来の研究上重要な菌株の保存にも有用であることが示された。

全国から抗酸菌検査を受託する衛生検査所（検査センター）として、株式会社ミロクメディカルラボラトリー、株式会社ビー・エム・エル及び株式会社三菱化学メディエンスに協力を依頼し、3,406 株分の薬剤感受性検査データが得られた。これらは地域分布を補正して地域別の薬剤耐性頻度解析を行うには十分であり、他の全国調査（サーベイ）と比較してもほぼ差異のない結果が得られた。結核菌株と付随する臨床情報（年齢・性別）が完全でなく、さらに検体の重複の可能性が示唆されたが、サーベイランス情報としての有用性があるものと考えられた。また、2008 年に収集された菌株について Variable Numbers of Tandem Repeat (VNTR; JATA15)による解析を実施したところ、いくつかの流行株あるいは地域的な拡がり確認でき、分子疫学解析上の有用性も示唆された。

兵庫県では結核対策の一環として、新登録患者から分離される結核菌について、病原体サーベイランスを構築して菌株の収集を行った。収集された菌株は、抗結核薬 (INH, RFP, Streptomycin, Ethambutol, Kanamycin) 及び Fluoroquinolone (LVFX, SPFX, CFX) に対する薬剤感受性検査を行い、最小発育阻止濃度 (MIC) を調べた。分離された薬剤耐性株は、INH, RFP, Streptomycin (SM), Ethambutol (EB) の各薬剤について、耐性に関与する遺伝子の変異を調べた。薬剤感受性試験の結果、耐性株の頻度 (%) は、INH; 5.5、RFP; 3.7、SM; 10.1、EMB; 3.7、KM; 2.8、および Fluoroquinolone (LVFX, SPFX, CFX); 2.8 であった。薬剤耐性株は *rpoB*: S531L; S531V, *katG*: V1A, *inhA*: C-T, *ahpC*: -48G-A, *rpsL*: K43R, *rrs*: A-C, *embB*: M306L; M306I の変異がみられた。

A. 研究目的

結核の低まん延化に伴う、都市化や社会的弱者への集中化等の疾病構造の変化に対応するため、従来の地域的対応を集約強化し、国家として結核菌の情報を迅速に管理し、対策に応用する必要がある。そのため、これまで地域毎に分散的に利用されていた結核菌情報を集約し、効果的病原体サーベイランスを実施する方法を検討する。

B. 研究方法

【結核研究所結核菌検査・保管施設の活用】

結核研究所にて 2008 年 7 月より運用を開始している結核菌検査・保管施設（通称：菌バンク）について、この運用による有用性、効果的・効率的運用を検証する。

【病原体サーベイランスシステム】

結核菌病原体サーベイランスについて、民間検査機関からの検査データ収集・解析及び地方衛生研究所のネットワークの2つの方向から検討する。

全国から結核菌検査を受託している民間衛生検査所（以降検査センター）である株式会社ミロクメディカルラボラトリー（ミロク）、三菱化学メディエンス株式会社（三菱化学）、及び株式会社ビー・エム・エル（BML）における薬剤感受性検査データを収集し、同時に遺伝子タイピング等の情報を集約するシステムを検討する。なお、薬剤感受性データは基本的に Isoniazid (INH)、Rifampicin (RFP)、Streptomycin (SM) 及び Ethambutol (EB) について収集することとするが、検査センターが使用する薬剤感受性キットによっては最初から二次抗結核薬が含まれており、そのため一部の検体については Ethionamide (ETH)、Kanamycin (KM)、Enviomycin (EVM)、Para-aminosalicylate (PAS)、Cycloserine (CS) 及び Levofloxacin (LVFX) のデータの解析も実施する。さらに、結核罹患状況を反映させるよう検体数を調整して無作為にサンプリングを行い、前田らが提唱している JATA12 (+3) を用いた Variable Numbers of Tandem Repeat (VNTR) による Genotype 解析を実施する。

地方衛生研究所（地衛研）のネットワークを基盤にして、結核菌以外の病原体サーベイランスで培われた地域レファレンス機能の結核への応用について検討する。サーベイランスモデル施設として兵庫県立健康環境科学研究所センターに協力を依頼し、薬剤感受性検査や遺伝子タイピング有用性の検討を行う。また地衛研が地域に於いて結核菌病原体サーベイランスを実施するにあたって問題となる事柄を明らかにし、解決の方法を検討する。

（倫理面への配慮）

結核菌サーベイランス研究に関しては、基本的に患者から分離された結核菌株のみを対象とする。また臨床情報については年齢、性別、分離地域のみを付随させ、個人を特定しうる情報との連結を不可能とする。個人情報との連結が不可欠な場合は、各研究機関での倫理委員会の承認を得た上で対象者に十分な説明を行い、インフォームド

コンセントを得ることとする。

C. 研究結果

【結核研究所結核菌検査・保管施設の活用】

2009 年度には国内および海外から多剤耐性結核菌を含む抗酸菌（結核菌）が、合計 1,084 株菌バンクに持ち込まれた。同時に 943 株が増菌されて国内外の他の施設に送付された（表 1）。

搬出の主な目的な薬剤感受性検査精度保証のパネルテスト株、あるいは標準株として使用するものであり、国内 85 施設に 10 株ずつ送付した（実施プロトコールは資料 1 を参照）。この結果として、対象薬剤（INH, RFP, SM, EB）の全てについて一致率 90%以上を示すことを合格基準とした場合、85 施設中 52 施設（61.2%）がこの基準に達した。資料 2-1 に使用した菌株に対する薬剤別判定一致率を、資料 2-2 に感受性検査キット別・薬剤別精度評価結果を示した。これらの結果から、使用した菌株のうち SM について参加施設での結果と標準判定との一致率が 80%を下回る株が 2 株認められたものの、全般には高度の一致率を維持しており、パネルテストサンプルとしての精度に問題はないと思われた。しかしながら、資料 2-2 に示されているように、EB の感度 0%という施設が存在した。全ての薬剤に対して 100%の一致率を示した施設が 31 施設あることから、このような精度の低さは基本的に技術的な問題と考えられた。

表 1 菌バンク入出結核菌

利用目的	病原体分類	株数
詳細検査	四種・その他	25
長期保存	三種	388
検査精度保証（国内）	四種	850
検査精度保証（輸入）	四種	30
国際協力（輸出）	三種・四種	93
国際協力（輸入）	三種・四種	641

同様に薬剤感受性検査外部精度評価を目的として、カンボジア王国及びモンゴル国のそれぞれの National Reference Laboratory (NRL) に対して 41 株、フィリピンに 11 株の結核菌を送付した。現時点でモンゴル国から結果を得ているが、感度・

特異度・一致率ともに 100%であった。

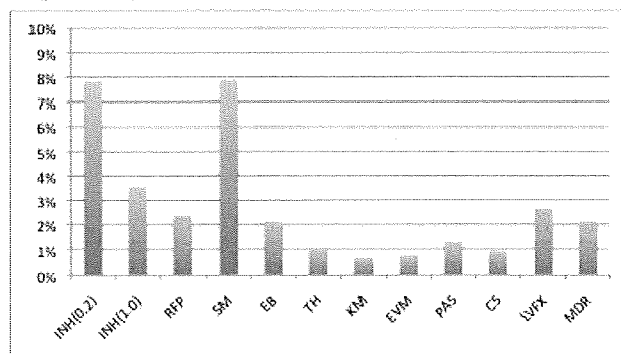
今年度は、長期保存を目的とした多剤耐性結核菌株の譲渡が 2 施設から合計 388 株実施された。このうち 1 施設では 12 名の患者から数年の範囲で連続的に採取された多剤耐性結核菌 384 株が含まれていた。また、病院等で検査が困難であった抗酸菌の詳細な検査（薬剤感受性検査及び菌種同定）を目的として菌バンクに送付された株は 25 株（件）であった。

【病原体サーベイランスシステム】

検査センターにおける薬剤感受性検査データ

2009 年中にミロクメディカルラボラトリー、三菱化学メディエンス及びビー・エム・エルにて実施された結核菌の薬剤感受性検査結果について、それぞれ 1,546 株、288 株及び 1,572 株分のデータの供与を受けた。基本的にそれぞれの施設において結核菌 1 株について患者 1 名の対応となるよう処理されているが、番号によって判断された株の中には同じ患者から提出された可能性を示唆するものがあつた。検査検体の総数は 3,406 株であり、これらの検体を提出した患者は男性 1,965 名（57.7%）、女性 995 名（29.2%）、性別不明 446 名（13.1%）であった。また同じ患者の年齢は 66.0 ± 19.0 歳であり、年齢不明の患者は 770 名（22.6%）であった。図 1 にこれら全ての患者から分離されたデータをグラフ化して示した。このデータからは、INH、RFP、SM 及び EB の耐性頻度が、それぞれ 7.8%、2.4%、7.9%、2.1%となった。

図 1 検査センター3 社から収集された薬剤感受性検査結果



註：INH、RFP、SM 及び EB については 3,406 株の結果であるが、他の薬剤については検査されていない検体が含まれており、薬剤によって検体数が

異なる。（TH; 3,051, KM; 3,106, EVM; 3,049, PAS; 3,049, CS; 3,076, and LVFX; 3,047）

3,406 株のデータは地域的なバランスを欠いていると考えられたため、2009 年の結核登録者情報調査月報報告（12 月）による新登録患者数の分布を基準として、表 2 のように地域ごとに必要と考えられる検体数を算出した。なお、対象のうち九州からの結核菌株が最も少なかったため、九州分の結果を全て使用した場合の地域検体数を計算している。

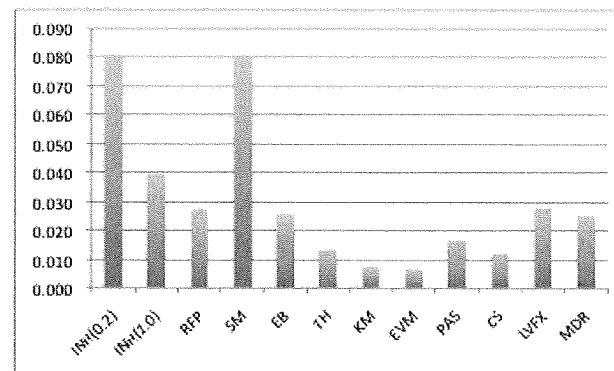
表 2 結核登録者情報調査月報報告（12 月）による 2009 年新登録患者数に基づいた地域別検体数

地域	検体数	抽出数	新登録数
北海道東北	195	158	1,851
関東甲信	1436	709	8,298
中部北陸	499	316	3,694
近畿	711	456	5,338
中国四国	323	171	2,002
九州	242	242	2,832
計	3,046	2,052	24,015

Chi-square test: 検体数 vs 抽出数; p=1

3,406 株から表 2 に従って地域ごとに検体を無作為に抽出（九州のみ全数使用）し、計 2,052 株について解析を行った（図 2）。この抽出検体からの結果は、INH、RFP、SM 及び EB の耐性頻度が、それぞれ 8.1%、2.8%、8.0%、2.6%となった。抽出操作前の検体によるデータと比較した結果、全てのデータと抽出データとの間に有意差は認められなかった（Chi-test）。

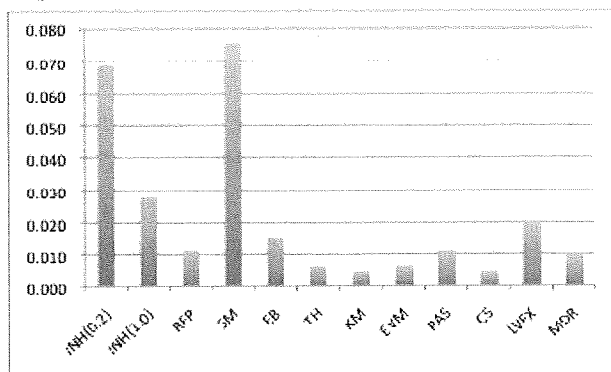
図 2 検査センター3 社から収集された薬剤感受性検査結果（地域差修正）



註：INH, RFP, SM 及び EB については 2,052 株の結果であるが、他の薬剤については検査されていない検体が含まれており、薬剤によって検体数が異なる。(TH; 1,837, KM; 1,879, EVM; 1,835, PAS; 1,835, CS; 1,858, and LVFX; 1,834)

収集された 3,406 株分の感受性検査結果は、前述の通り一人の患者から 1 株収集されていることが前提となっているが、3 社のうち 1 社のデータについて患者の年齢、性別、分離地域、分離時期などから重複が疑われる例が複数検体含まれていた。当該検査センターに問い合わせたところ、病院から検査依頼がある段階で既に患者名が番号化されているため、確実に別人であるか否かは不明とのことであった。この考えられる重複について、患者の年齢、性別、分離地域、分離時期を参照して削除し、さらに図 2 のように地域分布を考慮して検体を抽出した結果を図 3 に示した。この結果、INH, RFP, SM 及び EB の耐性頻度は、それぞれ 6.9%、1.1%、7.6%、1.5%となった(資料 3-1)。

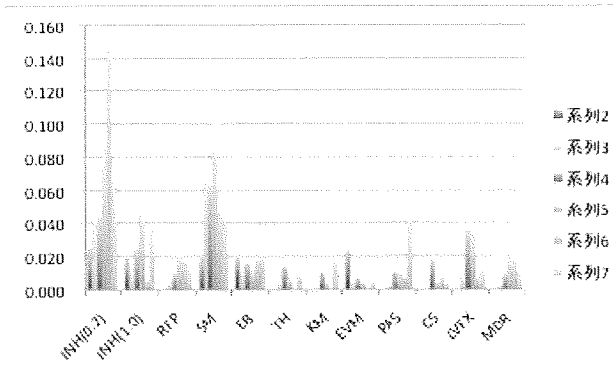
図 3 検査センター3 社から収集された薬剤感受性検査結果(地域差修正・重複削除)



註：INH, RFP, SM 及び EB については 2,052 株の結果であるが、他の薬剤については検査されていない検体が含まれており、薬剤によって検体数が異なる。(TH; 1,811, KM; 1,857, EVM; 1,809, PAS; 1,809, CS; 1,834, and LVFX; 1,808)

さらに地域差修正・重複削除したデータを用いて、性別(資料 3-2)、地域別(図 4、資料 3-3)、年齢別(資料 3-4)の解析を実施した。

図 3 検査センター3 社から収集された薬剤感受性検査地域別結果(地域差修正・重複削除)



系列 2：北海道東北 系列 3：関東甲信
 系列 4：中部北陸 系列 5：近畿
 系列 6：中国四国 系列 7：九州

註：INH, RFP, SM 及び EB については 2,052 株の結果であるが、他の薬剤については検査されていない検体が含まれており、薬剤によって検体数が異なる。(TH; 1,811, KM; 1,857, EVM; 1,809, PAS; 1,809, CS; 1,834, and LVFX; 1,808)

上記のデータ(総合、地域差修正、地域差修正・重複削除)について、2007 年度に実施された結核療法研究協議会(療研)による耐性結核菌全国調査における暫定データと主要 4 薬剤の組み合わせ別に比較すると資料 4 のようになった。重複削除する以前のデータでは Any resistance と INH 耐性について療研 2007 年のデータと有意差が認められたが、重複を削除した結果 INH に関する有意差が認められなくなった。Any resistance について有意差が残ったが Chi-test による p value は 0.048 であった。

今回、2008 年にミロクメディカルラボラトリーより供与された結核菌株を用いて、日本全国をカバーするように検体を選択し、JATA15 による VNTR 解析を実施した。先の解析と同様に 2008 年の結核統計に従って地域ごとに検体数の重み付けを行い、表 3 のように 200 株を抽出した。

表 3

	検体数	新登録	比率	抽出
北海道東北	60	1,980	0.081	16
関東甲信	505	8,143	0.333	67
中部北陸	177	3,982	0.163	33
近畿	117	5,485	0.224	45
中国四国	16	1,937	0.079	16
九州	87	2,957	0.121	24
計	962	24,484		200

表3のように選択した200株の内、現在までに96株の解析が終了しており、89のVNTR型が得られた。VNTR型が完全に一致したのは4クラスター、11株であり（クラスターサイズ；2~4）、クラスター形成率は11.5%であった。VNTR Locusの違いを1個まで許容した場合は、22株によって8クラスター（サイズ2~6）形成された。完全一致した遺伝子型のうち、4株によって形成されたクラスターは関東甲信及び近畿由来各1株と中部北陸由来2株によって形成されており、比較的広範な広がり認められた。同様に関東甲信由来2株と近畿由来1株によるクラスターと、北海道東北由来及び中部北陸由来各1株によるクラスターも認めた。また、関東甲信由来の3株が一つのLocusのコピー数の違いでクラスターを形成しており、全ての株にSM耐性が認められた。

地方衛生研究所のネットワーク

兵庫県における2008年の結核罹患率は21.4で、全国平均の19.4に比べて高いが、年々順調な低下傾向を示している。しかし、30歳代で罹患率が一部増加しており、若年層における新たな感染が示唆される。結核の治療には抗結核薬の適切な使用が必要であるが、治癒率は耐性薬剤数が増加するに従って低下することが示されており、特に多剤耐性結核は治療が困難であるとされる。兵庫県における2001年から2005年の薬剤耐性株に関する調査では、初回治療において抗結核薬のいずれかに耐性を有する株の割合は20.3%から11.8%と減少しており、INHおよびRFPに耐性をもつ多剤耐性株の割合も3.1%から1.2%に減少している。しかしながら、1997年度の結核療法研究協議会の研究によると、初回治療における多剤耐性株の割

合は0.9%であることが示されており、兵庫県においては調査年のいずれもこの割合を上回ることから、県内の薬剤耐性株の分離頻度について、継続的な調査が必要であり、特に多剤耐性株については、厳重な対策が必要である。また、薬剤感受性検査の迅速化へ向けた検討も課題とされる。これらのことから我々は、県内の新規登録患者から分離される結核菌について、薬剤耐性株の頻度や抗結核薬に対する濃度分布を調査し、さらに薬剤耐性株の遺伝子変異との関連性を調べることを目的とした。

薬剤感受性検査については、2007年度から2008年度の期間に、県内の健康福祉事務所において、接触者等から分離された62株、及び2008年度に結核菌病原体サーベイランスによって収集された60株の計122株を検査の対象にした。そのうち、結核菌が単離された109株について、薬剤感受性検査を実施した。使用薬剤はINH、RFP、SM、EB、KM、LVFX、Sparfloxacin (SPFX)、Ciprofloxacin (CPFAX)であり、BrothMIC MTB-I（極東製薬工業）により、最小発育阻止濃度（MIC）を測定した。なお、MIC判定カテゴリーのI（Intermediate）の株については、標準法（1%小川培地による比率法）により耐性を判定した。

薬剤感受性検査を行った109株のうち、INH、RFP、SMおよびEBのいずれかに耐性が認められた15株について、耐性に関与する遺伝子の変異を調べた。遺伝子解析はINH耐性については*katG*、*inhA*、*ahpC*、RFP耐性は*rpoB*、SM耐性は*rpsL*、*rrs*、EB耐性は*embB*の各遺伝子を対象にして、ダイレクトシーケンス法で行った。

分離株109株について行った薬剤感受性検査の結果を資料5-1に示した。MIC幅(μg/ml)は、INH; 0.06~32以上、RFP; 0.03以下~32以上、SM; 0.5~128以上、EMB; 0.25~4、KM; 0.5~8、LVFX; 0.06~2、SPFX; 0.125~1、CPFAX; 0.25~2の範囲であった。薬剤耐性株の頻度(%)はINH; 5.5、RFP; 3.7、SM; 10.1、EB; 3.7、KM; 2.8、Fluoroquinolone (LVFX, SPFX, CPFAX); 2.8であり、SMに対する耐性株の出現頻度が高かった。また、菌株の抗結核薬に対する耐性化の傾向を調べるため、各薬剤のMIC₅₀とMIC₉₀を調べた結果、SMのMIC₅₀とMIC₉₀は、それぞれ1および8であり、濃度に3管（薬剤の8倍濃度）の差がみられた。これは今回の調査に

において、SM に対する耐性株の出現頻度が高いことが影響していると思われるが、県内分離株の SM に対する耐性株の頻度や耐性化について、注意が必要であると思われた。他の薬剤の MIC₅₀ と MIC₉₀ の差はいずれも 1 管（薬剤の 2 倍濃度）以内であり、これらの薬剤に対しては耐性化の傾向はみられなかった。

薬剤耐性遺伝子の解析結果を資料 5-2 に示した。RFP 耐性 4 株のうち、高度耐性 3 株の *rpoB* 遺伝子変異は、いずれも S531L (TCG→TTG) であった。また、低度耐性株の変異は S531V (TCG→GTG) であった。INH については、INH 耐性 6 株のうち MIC 値 32 以上を示す高度耐性の 3 株のなかで、1 株は *katG* 遺伝子に V1A (GTG→GCG) 変異、1 株は *ahpC* 遺伝子に -48G-A の変異がみられた。他の 1 株はこれらの領域に変異はみられなかった。また、MIC 値 2 の低度耐性の 1 株は *inhA* に C-T 変異がみられた。SM 耐性 11 株のうち、MIC 値 128 以上を示す高度耐性 8 株は、すべて *rpsL* 遺伝子に K43R (AAG→AGG) の変異がみられた。また、MIC 値 32 の 1 株は *rrs* 遺伝子に A-C の変異がみられたが、MIC 値 16 の 2 株にはこれらの遺伝子領域に変異はみられなかった。EMB 耐性に関しては、EMB 耐性株 4 株のうち 2 株は *embB* 遺伝子の M306I (ATG→ATA) の変異であり、1 株は M306L (ATG→CTG) の変異であった。他の 1 株には変異はみられなかった。

D. 考察

結核研究所結核菌検査・保管施設の活用について、昨年同様に検討した。国内の抗酸菌検査施設で検査困難であった菌株のレファレンス検査は National Reference Laboratory としての重要な機能であり、臨床的な意味が大きいものと考えられた。また薬剤感受性検査の外部精度保証活動の中心として標準結核菌株の管理とパネルテスト株の準備を行っており、今年度も日本国内で 85 施設、海外 3 施設についてパネルテスト検体を送付し、精度管理に貢献した。また、ある病院で廃棄される予定であった多剤耐性結核菌 384 株を保管することで、さらになる結核研究の可能性を確保した。さらに世界保健機関西太平洋地域の Supra-national Reference Laboratory としてカンボジア王国とモンゴル国の薬剤耐性サーベイの精

度保証を実施しており、国際協力の観点からも機能していると考えられた。

昨年に引き続き、結核菌病原体サーベイランスにおける検査センターの有用性について検討を行った。昨年度は検体の地理的代表的確保に困難があったため、今年度は協力施設を 3 社に増やし、検体数も昨年度の 907 株から 3,406 株に大幅に増加した。データのみで薬剤耐性を評価するにあたっては薬剤感受性検査精度が問題になるが、ミロクメディカルラボラトリー、三菱化学メディエンス及びビー・エム・エルは結核病学会が実施する薬剤感受性検査外部精度評価に参加しており、検査精度は十分と考えられた。

今回も全てのデータを総合しただけでは地域的なバランスが得られなかったため、2009 年 12 月の結核登録者情報調査月報報告に基づいて、地域ごとの重み付けと検体の選択（無作為）を行い、全国を代表するよう調整した。その結果、療研が 2007 年に実施した薬剤耐性調査（暫定）結果に極めて近いデータが得られ、検査センターから収集された薬剤感受性データのサーベイランス上の有効性が示唆された。

昨年度も検査センターデータの問題点として示したが、基本的にこれらのデータは日常の受託検査を基礎とするため、年齢・性別などの臨床データが必ずしも揃っておらず、今回も全体として約 13% で性別が、約 23% で年齢が不明であった。また分離地域を検査機関の所在地あるいは医療機関所在地から推定しているが、患者が必ずしもその地域にいるとは限らない。さらに今回、医療機関から臨床検体が提出される際に必ずしも同一患者で同一の ID が使用されていない可能性が示唆され、検査センターからのデータを使用する際の障害になると考えられた。

今回新たに、検査センターにて分離された結核菌の分子疫学上の有用性について検討した。検討した 96 株のうち、いくつかの地域にまたがってクラスターを形成する株が 3 株あり、いくつかの流行株あるいは何らかの接触が示唆された。さらに関東甲信地域では SM 耐性の株がクラスターを形成しており、これは大角らが提唱している M 株であろうと推測された。これによって一般検査室からも M 株の流行が確認されたことになり、データ価値を高めるものと考えられた。今回のデータ

については、200 株全ての分析を終了後に同一研究班内部の他の分担研究で得られた結果との相同性を検討する予定であり、病原体サーベイランス検体としての代表性を相互に検証することとなる。

地方衛生研究所を主体として病原体サーベイランスを実施する場合のモデルとして、兵庫県立健康環境科学研究センターにて研究を行った。薬剤感受性検査で得られた MIC 値と薬剤耐性遺伝子解析の結果、RFP、SM の高度耐性株には、いずれも標的とした遺伝子に変異がみられた。これらの薬剤については、遺伝子解析によって薬剤耐性株を把握できる可能性が考えられたが、INH の高度耐性株や、INH、SM および EB の低度耐性株において、解析した遺伝子領域に変異がみられない株があり、MIC 値と薬剤耐性遺伝子との関連性等についてさらなる検討が必要である。また、県内から分離される結核菌について、薬剤耐性株の分離動向や、薬剤耐性遺伝子との関連性を明らかにするため、今後も継続して調査を実施する必要がある。

E. 結論

結核菌病原体サーベイランスシステムを構築する上での結核研究所結核菌検査・保管施設の有用性と、検査センターあるいは地方衛生研究所の活用について検討した。

結核研究所結核菌検査・保管施設は、国内においては抗酸菌レファレンス検査や貴重な菌株の保存機能を持ち、将来における検査精度保証や研究の可能性のために有用と考えられ、さらに国際協力の観点からも重要と考えられた。

検査センターにおいて収集された結核菌株から得られた薬剤感受性検査結果は、複数の検査センターから広範囲に情報を収集することで、耐性サーベイランス上の有効性が示唆された。また、分子疫学上の有用性も示されたが、検査データに付随する臨床データの精度に問題がある可能性も同時に示された。地方衛生研究所については、特に耐性結核菌の遺伝子解析の分野での有用性が示唆された。

F. 健康危惧情報

多剤耐性菌を含む結核菌の取扱に関してバイ

オハザード上の危険があるが、GMT を基礎とした適切な実験・検査施設 (BSL3) を用いて研究を実施しており、危険は最小限と考えられる。

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

<研究協力者>

- 水野和重・近松絹代・山田博之：結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンス部細菌検査科
- 辻 英高・齋藤悦子・近平雅嗣：兵庫県立健康環境科学研究センター感染症部
- 玉井清子・柳沢英二：株式会社ミロクメディカルラボラトリー
- 霜島正浩：株式会社ビー・エム・エル
- 渋谷俊介：三菱化学メディエンス株式会社

資料1 薬剤感受性検査外部精度保証（パネルテスト）2009年度プロトコール

はじめに

現代医療では Evidence based medicine は基本概念であり、結核の領域でも当然適応される。結核の治療は基本的に「定型化された標準療法」であるが、治療成功を確実にするためには、「感受性のある薬剤を3剤以上」投与する事が極めて重要である。ここで薬剤感受性検査の信頼性が重要な問題となる。

検査精度保証には内部精度管理と外部精度評価の二つの方法があり、一般に精度管理という場合には機器のメンテナンスやマニュアルの整備などを含む内部精度管理を指す。一方、外部精度評価とは、当該検査室の能力（パフォーマンス）を他の上位の検査室と比較する事によって評価する方法とされており、この方策として Proficiency Testing（技術評価試験）、Cross re-checking（再検査試験）および On-site evaluation（検査室立ち入り評価）の三つの要素がある。いずれも検査室の総合的な効率性を評価するために有用であるが、なかでも Proficiency testing は一般に多くの施設を対象とした外部精度評価に利用される。

日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会では2002年より毎年薬剤感受性検査の外部精度評価を実施しているが、評価結果を通じて検査精度の問題点を発見し、維持改善に有用であることが示されている。今回引き続いて2009年の薬剤感受性検査外部精度評価を実施する。

目的

パネルテストにより、結核菌の薬剤感受性検査精度を評価する。

参加要件

結核菌薬剤感受性検査を実施している病院検査室あるいは検査センター全てを対象とする。基本的には参加は任意であり、「日本結核病学会理事長」および「抗酸菌検査法検討委員会委員長」名による本調査への参加依頼を実施プロトコールとともに送付し、諾とした施設のみに試験用の検体を送付する。尚、検体の送付やデータの取りまとめ・解析は結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンスセンター細菌検査科・御手洗聡が行う。

送付する検体（結核菌株）

結核菌10株を液体培地中に懸濁した状態で送付する。今回送付する菌株は Supra-national Reference Laboratory Network (SRLN) で毎年実施されている薬剤感受性検査外部精度保証プログラムに使用された菌株を用いる。これらの株については、既に SRLN にて評価が定まっており、その最終的な評価を基準として感受性・耐性を判定する。それぞれの施設に配付される検体には、一検体ずつ異なる番号が割り振られており、全ての結果はこの番号によって分類される。送付する菌株の中には薬剤耐性株が含まれているが、感染症法の改正に伴って多剤耐性結核菌の運搬の条件が極めて厳格になったため、多剤耐性結核菌を使用しない。しかしながら、他の耐性は存在するため、取り扱いには十分なる注意を要する。なお、被験菌は国連容器を用いて三重包装とし、ゆうパックにて郵送する。

尚、発送開始は平成21年10月初旬を予定している。

試験薬剤

検査薬剤は、結果の安定性を考慮して Isoniazid (INH)、Rifampicin (RFP)、Ethambutol (EB) および Streptomycin (SM) とする。尚、INH については基準濃度の結果のみでよい。

感受性検査方法

基本的に各施設で日常実施している方法で感受性検査を行う。調査用紙（別紙）に感受性検査に関するいくつかの事項を記入し、検査結果とともにコーディネーター宛報告する。

結果の返送

薬剤感受性検査のコーディネーターへの報告は被験菌受領から3ヶ月以内とする。やむを得ず3ヶ月を越える場合には前以てコーディネーターへ連絡する。

結果の評価

それぞれの菌株の薬剤感受性検査の結果は「耐性」あるいは「感受性」のいずれかとして判定する。MICを用いて測定する場合は、各施設にて感受性・耐性の基準を定める事とする。尚、報告用紙に記入する際は、感受性にはS、耐性にはRを用いて表記する（MICにてIとする場合はRかSかのどちらか各施設にて判定する）。また、複数の方法について評価を希望する場合は、それぞれの結果を別々の用紙に記載する。

結果の解析

データについては「感度」、「特異度」、「耐性的中率」、「感受性的中率」および「一致率」を計算し評価する。ここで感度とは、SRLNで耐性と判定した株を正しく耐性と判定する割合であり、特異度とは同様にSRLNで感受性とした株を正しく感受性と判定する割合である。耐性的中率とはある菌株を「耐性」と判定した時、その判定が正解である確率であり、同様に感受性的中率とはある菌株を「感受性」とした時の正解率である。一致率はSRLNとの判定の一致の割合を示す。

解析結果については個々の解析が終了した時点（結果報告直後）で各施設に個別に通知する他、委員会報告/論文として報告する。委員会報告および論文報告においては施設名を匿名化し、個々の施設が特定されないよう配慮する。

経費

本活動に関して参加施設から費用として一回5,000円を徴収する（試供菌とともに請求書・振込用紙を送付予定）。また、各施設での薬剤感受性検査と結果の送付に掛かる費用は各施設の負担とする。

試供検体の処理

試供検体については、各施設にて検査終了後廃棄する。

参加証の交付

日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会名にて、薬剤感受性検査外部精度評価パネルテストに参加したことを認める証明書を発行する。尚、参加証の発行は結果の報告を受けた時点で行うものとする。

その他

検査の安全性に配慮し、感染症法の定める結核菌取扱基準を満たしている施設のみ参加可能とする。

資料 2-1

菌株別に見た対象施設の結果と標準判定との一致率

菌株	ID	NH		H+		SM		EB	
		標準判定	一致率	標準判定	一致率	標準判定	一致率	標準判定	一致率
IV-62	1	S	1.000	S	1.000	S	1.000	S	1.000
IX-3775	2	S	0.988	S	1.000	S	1.000	R	0.988
IX-5328	3	S	1.000	S	0.988	R	0.588	R	0.894
X-1649	4	S	1.000	S	1.000	S	0.988	R	0.988
X-2100	5	S	0.976	R	1.000	R	1.000	S	0.988
X-3249	6	S	0.988	S	1.000	R	0.588	S	0.976
XI-113	7	S	0.988	R	1.000	S	1.000	S	0.965
XI-1451	8	S	1.000	R	0.988	R	0.988	S	0.976
XI-1859	9	S	0.988	S	0.988	R	1.000	R	0.929
XI-3030	10	S	0.988	R	1.000	S	0.976	S	0.941

JUD: Judicial Judgement (S/L/Nでの標準判定)

資料 2-2

パネルテストによるパネルテストによる薬剤感受性検査外部精度評価の薬剤・方法別結果

菌株	方法別成績(平均値・最小値・最大値)																	
	ヒットスペクトルSR (n=31)			ウエルバックS (n=28)			MGITAST (n=11)			BrothMIC/MTB-I (n=12)			1% Ogawa (n=3)			統計		
	Mean	最大値	最小値	Mean	最大値	最小値	Mean	最大値	最小値	Mean	最大値	最小値	Mean	最大値	最小値	Mean	最大値	最小値
PHI																		
感度	1.000	1.000	1.000	0.982	1.000	0.750	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.994	1.000	0.750
再現度	1.000	1.000	1.000	0.988	1.000	0.833	0.970	1.000	0.833	0.986	1.000	0.833	1.000	1.000	1.000	0.990	1.000	0.833
同じの中率	1.000	1.000	1.000	0.986	1.000	0.800	0.964	1.000	0.800	0.983	1.000	0.800	1.000	1.000	1.000	0.988	1.000	0.800
感受性的中率	1.000	1.000	1.000	0.990	1.000	0.857	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.997	1.000	0.857
一致率	1.000	1.000	1.000	0.986	1.000	0.900	0.982	1.000	0.900	0.992	1.000	0.900	1.000	1.000	1.000	0.992	1.000	0.900
※指数	1.000			0.970			0.962			0.983			1.000			0.983		
RFP																		
感度	0.992	1.000	0.750	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.997	1.000	0.750
再現度	1.000	1.000	1.000	0.994	1.000	0.833	0.985	1.000	0.833	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.996	1.000	0.833
同じの中率	1.000	1.000	1.000	0.993	1.000	0.800	0.982	1.000	0.800	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.995	1.000	0.800
感受性的中率	0.995	1.000	0.857	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.998	1.000	0.857
一致率	0.997	1.000	0.900	0.996	1.000	0.900	0.991	1.000	0.900	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.996	1.000	0.900
※指数	0.993			0.993			0.981			1.000			1.000			0.993		
SM																		
感度	0.690	1.000	0.400	0.979	1.000	0.800	0.873	1.000	0.600	0.817	1.000	0.600	0.867	1.000	0.600	0.833	1.000	0.400
再現度	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.950	1.000	0.800	1.000	1.000	1.000	0.993	1.000	0.800
同じの中率	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.953	1.000	0.800	1.000	1.000	1.000	0.993	1.000	0.800
感受性的中率	0.777	1.000	0.625	0.982	1.000	0.833	0.903	1.000	0.714	0.854	1.000	0.714	0.905	1.000	0.714	0.876	1.000	0.625
一致率	0.845	1.000	0.700	0.989	1.000	0.900	0.936	1.000	0.800	0.883	1.000	0.800	0.933	1.000	0.800	0.913	1.000	0.700
※指数	0.690			0.979			0.873			0.767			0.867			0.826		
EB																		
感度	1.000	1.000	1.000	0.982	1.000	0.750	0.659	1.000	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.950	1.000	0.000
再現度	0.962	1.000	0.667	0.994	1.000	0.833	1.000	1.000	1.000	0.931	1.000	0.333	1.000	1.000	1.000	0.975	1.000	0.333
同じの中率	0.957	1.000	0.667	0.993	1.000	0.800	1.000	1.000	1.000	0.942	1.000	0.500	1.000	1.000	1.000	0.973	1.000	0.500
感受性的中率	1.000	1.000	1.000	0.990	1.000	0.857	0.834	1.000	0.600	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.975	1.000	0.600
一致率	0.977	1.000	0.800	0.989	1.000	0.900	0.864	1.000	0.600	0.958	1.000	0.600	1.000	1.000	1.000	0.965	1.000	0.600
※指数	0.953			0.978			0.699			0.915			1.000			0.926		

資料 3-1 衛生検査所データ全国集計（無作為抽出重複削除済）（n=2,052; Male 1,178, Female 608, Unknown 266）

Category	Result	INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	MDR
Combined	Resistant	141	57	23	156	31	20
	Susceptible	1911	1995	2029	1896	2021	2032
	Proportion	0.069	0.028	0.011	0.076	0.015	0.010

資料 3-2 衛生検査所データ性別集計（無作為抽出重複削除済）

Sex	Result	INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	MDR
Male (n=1,178)	Resistant	88	31	13	97	19	11
	Susceptible	1090	1147	1165	1081	1159	1167
	Proportion	0.075	0.026	0.011	0.082	0.016	0.009
Female (n=608)	Resistant	39	20	9	44	9	9
	Susceptible	569	588	599	564	599	599
	Proportion	0.064	0.033	0.015	0.072	0.015	0.015
Unknown (n=266)	Resistant	14	6	1	15	3	0
	Susceptible	252	260	265	251	263	266
	Proportion	0.053	0.023	0.004	0.056	0.011	0.000

資料 3-3 衛生検査所データ地域別集計（無作為抽出重複削除済）

Block	Size	Result	INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	MDR
北海道 東北		Resistant	4	3	0	3	3	0
		Susceptible	154	155	158	155	155	158
		Proportion	0.025	0.019	0.000	0.019	0.019	0.000
関東甲信		Resistant	40	13	4	68	10	2
		Susceptible	669	696	705	641	699	707
		Proportion	0.056	0.018	0.006	0.096	0.014	0.003
中部北陸		Resistant	14	8	3	20	5	3
		Susceptible	302	308	313	296	311	313
		Proportion	0.044	0.025	0.009	0.063	0.016	0.009
近畿		Resistant	41	23	10	46	5	9
		Susceptible	415	433	446	410	451	447
		Proportion	0.090	0.050	0.022	0.101	0.011	0.020
中国四国		Resistant	26	1	3	8	3	3
		Susceptible	145	170	168	163	168	168
		Proportion	0.152	0.006	0.018	0.047	0.018	0.018
九州		Resistant	16	9	3	11	5	3
		Susceptible	226	233	239	231	237	239
		Proportion	0.066	0.037	0.012	0.045	0.021	0.012

資料 3-4 衛生検査所データ年齢階級別集計（無作為抽出重複削除済）

Age	Samples	Result	INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	MDR
≤19	10	Resistant	2	1	0	2	0	0
		Susceptible	8	9	10	8	10	8
		Proportion	0.200	0.100	0.000	0.200	0.000	0.000
20-29	90	Resistant	4	2	1	10	1	1
		Susceptible	86	88	89	80	89	89
		Proportion	0.044	0.022	0.011	0.111	0.011	0.011
30-39	114	Resistant	11	4	2	17	2	2
		Susceptible	103	110	112	97	112	112
		Proportion	0.096	0.035	0.018	0.149	0.018	0.018
40-49	126	Resistant	5	3	1	8	1	0
		Susceptible	121	123	125	118	125	126
		Proportion	0.040	0.024	0.008	0.063	0.008	0.000
50-59	184	Resistant	26	2	1	15	4	1
		Susceptible	158	182	183	169	180	183
		Proportion	0.141	0.011	0.005	0.082	0.022	0.005
60-69	235	Resistant	27	11	3	27	3	3
		Susceptible	208	224	232	208	232	232
		Proportion	0.115	0.047	0.013	0.115	0.013	0.013
70-79	340	Resistant	16	8	7	26	10	6
		Susceptible	324	332	333	314	330	334
		Proportion	0.047	0.024	0.021	0.076	0.029	0.018
80-89	416	Resistant	14	10	3	17	4	3
		Susceptible	402	406	413	399	412	413
		Proportion	0.034	0.024	0.007	0.041	0.010	0.007
90<	75	Resistant	8	3	1	4	1	1
		Susceptible	67	72	74	71	74	74
		Proportion	0.107	0.040	0.013	0.053	0.013	0.013
不明	462	Resistant	28	13	4	30	5	3
		Susceptible	434	449	458	432	457	459
		Proportion	0.061	0.028	0.009	0.065	0.011	0.006

資料4 療研 2007 薬剤耐性全国調査データ（暫定）と検査センターデータとの比較

薬剤	耐性比率			
	療研		検査センター	
	療研 2007 (n=2,722)	総合 (n=3,406)	地域差修正 (n=2,052)	地域差修正・重複削除 (n=2,052)
All Susceptible	0.904	0.862	0.860	0.868
Any Resistance	0.096	0.138	0.140	0.132
INH	0.041	0.078	0.081	0.069
RFP	0.014	0.024	0.028	0.011
SM	0.065	0.079	0.080	0.076
EB	0.011	0.021	0.026	0.015
Mono Resistance	0.072	0.099	0.097	0.102
INH	0.019	0.040	0.039	0.039
RFP	0.004	0.001	0.001	0.001
SM	0.048	0.049	0.047	0.052
EB	0.001	0.009	0.010	0.009
Multi-DRug Resistance	0.009	0.021	0.026	0.010
INH + RFP	0.003	0.004	0.002	0.003
INH + RFP + EB	0.002	0.005	0.007	0.002
INH + RFP + SM	0.001	0.007	0.008	0.001
INH + RFP + EB + SM	0.003	0.006	0.008	0.003
Poly Resistance	0.014	0.018	0.017	0.019
INH + EB	0.001	0.001	0.000	0.000
INH + SM	0.008	0.016	0.016	0.019
EB + SM	0.002	0.000	0.000	0.000
INH + EB + SM	0.000	0.000	0.000	0.000
RFP + EB	0.001	0.000	0.000	0.000
RFP + SM	0.000	0.000	0.000	0.000
RFP + EB + SM	0.001	0.001	0.000	0.000

註：耐性頻度の有意差検定 (Chi-test)：療研 2007 vs 検査センター総合 (Any resistance)； p=0.015, 療研 2007 vs 検査センター地域差修正 (Any resistance)； p=0.013, 療研 2007 vs 検査センター地域差修正・重複削除 (Any resistance)； p=0.048, 療研 2007 vs 検査センター総合 (INH resistance)； p=0.038, 療研 2007 vs 検査センター地域差修正 (INH resistance)； p=0.029, その他については療研 2007 データに対して有意差なし

資料 5-1 抗結核薬に対する MIC 分布 (109 株)

薬剤	MIC 分布幅 (μg/ml)	MIC ₅₀ (μg/ml)	MIC ₉₀ (μg/ml)	耐性株数	耐性株頻度 (%)
Isoniazid	0.06~32 以上	0.25	0.25	6	5.5
Rifampicin	0.03 以下~32 以上	0.03 以下	0.03 以下	4	3.7
Streptomycin	0.5~128 以上	1	8	11	10.1
Ethambutol	0.25~4	1	2	4	3.7
Kanamycin	0.5~8	2	4	3	2.8
Levofloxacin	0.06~2	0.25	0.5	3	2.8
Sparfloxacin	0.125~1	0.25	0.25	3	2.8
Cyprofloxacin	0.25~2	0.5	0.5	3	2.8

資料 5-2 薬剤耐性遺伝子の解析

Strain I.D.	Susceptibility pattern	MIC (μg/ml)				Mutations in specific resistant gene						
		INH	RFP	SM	EB	<i>inhA</i>	<i>ahpC</i>	<i>rpoB</i>	<i>rpsL</i>	<i>rrs</i>	<i>embB</i>	
1	INH ^R	32<	0.03>	2	1	wt	wt					
2	INH ^R	32<	0.03>	8	1	wt	wt					
3	INH ^R /SM ^R	4	0.04>	32	1	wt	wt			wt	A-C	
4	INH ^R /RFP ^R /EB ^R	32<	32<	128<	8	wt	-48G-A	S531L				M306I
5	INH ^R /RFP ^R /SM ^R /EB ^R	2	32<	128<	8	C-T	wt	S531L	K43R	wt		M306I
6	INH ^R /SM ^R /EB ^R	4	0.125	16	4	wt	wt		wt	wt	wt	
7	RFP ^R	1	32<	2	2			S531L				
8	RFP ^R /SM ^R /EB ^R	2	1	16	4			S522V	wt	wt		M306I
9	SM ^R	0.25	0.03>	128<	1				K43R	wt		
10	SM ^R	0.25	0.03>	128<	1				K43R	wt		
11	SM ^R	0.25	0.03>	128<	1				K43R	wt		
12	SM ^R	0.25	0.03>	128<	2				K43R	wt		
13	SM ^R	0.25	0.03>	128<	1				K43R	wt		
14	SM ^R	0.25	0.03>	128<	2				K43R	wt		
15	SM ^R	0.25	0.03>	128<	1							

医療機関からの病原体サーベイランス
及び
薬剤感受性結核の分子遺伝子学的解析

分担研究者

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. 結核入院治療において日本の 40%以上の結核患者を診療している国立病院機構呼吸器研究ネットワーク施設（中核の近畿中央胸部疾患センター、東京病院、福岡東病院、愛媛病院、山口宇部医療センター）で当院にサンプルを送付してもらい大阪府立呼吸器アレルギーセンターと共同で結核菌遺伝子タイピングを行った。
2. 近畿中央胸部疾患センター262 株、大阪府立呼吸器アレルギー医療センター295 株、東京病院 100 株、山口宇部医療センター21 株、愛媛病院 43 株、福岡東医療センター60 株、合計 781 株の薬剤感受性結核菌をすでに当院に集めた。これを遺伝子タイピング解析中である。
3. これらの菌株のうち 521 株（近畿中央 111 株、大阪府立呼吸器 267 株、愛媛 29 株、山口 20 株、東京 94 株）に対して、supply 等の 15 Optimized MIRU-VNTR を行った。
134 名がクラスターを形成し、クラスター形成率は 25.7%であった。東京、大阪を含む複数地域にまたがる 18 名からなるクラスター1 組、11 名からなるクラスター2 組、8 名からなるクラスター1 組、7 名からなるクラスター1 組、4 名からなるクラスター1 組、3 名からなるクラスター9 組、2 名からなるクラスター24 組が認められた。おのおのの居住地等の接点はなかった。東京にて大規模集団感染をおこし日本各地で報告されつつある M 株は、今回の調査では 3 株であった。
この結果より、共通の菌株が東京、大阪間を含む広域地域に分布していることが明らかになった。これらの菌の感染力が強いのか、公衆衛生的な要因で菌が感染しているのかは不明であるが今後の更なる検討が望まれる。
4. 結核菌送付について、呼吸器疾患研究ネットワークグループにアンケート調査を行った。33 施設中 28 施設より回答があった。薬剤感受性結核菌を他の国立病院機構施設に送付（共同研究として）は 93%可の答えを得た。自分の施設で薬剤感受性検査実施 86%。将来自分の施設で行う 85%、検査会社に委託 15%を得た。以上の調査より薬剤感受性結核菌の移送に協力的で、感受性検査は自施設で今後も行う施設が多いことが判明した。
5. 九州・四国・中国では若年結核が減少し、高齢者結核増加。山口ではアジアからの外国人結核増加。

A. 研究目的

- (1) 病原体サーベイランスについて医療機関のネットワーク（国立病院機構呼吸器ネットワーク等）を活用した有用性の検討を行うことを目的とした。
- (2) 全国の国立病院機構施設及び結核病床を有する公立病院等の薬剤感受性結核菌の分子遺伝子学的解析（VNTR、RFLP、スポリゴタイピング等）の研究を行うことを目的とした。

B. 研究方法

1. 近畿中央胸部疾患センター262 株、大阪府立呼吸器アレルギー医療センター295 株、東京病院 100 株、山口宇部医療センター21 株、愛媛病院 43 株、福岡東医療センター60 株、合計 781 株の薬剤感受性結核菌をすでに当院に集めた。これを遺伝子タイピング解析中である。
2. Supply 等が提唱した 15 optimized MIRU -VNTR を行った。

(倫理面への配慮)

現在は、結核患者と結核菌が連結不可能であるための匿名化を行っているが、将来連結して結核の病態像と結核菌の分子遺伝パターンを解析する時にはIRB（臨床試験審査委員会、倫理委員会）の許可が必要となる可能性が考えられる。したがって、当国立病院機構近畿中央胸部疾患センターでは臨床試験審査委員会に申請書を提出し、承認を得た。

C. 研究結果

1. 国立病院機構呼吸器研究ネットワーク 65 施設（図 1）（表 1）を束ねている当近畿中央胸部疾患センターに薬剤感受性結核菌株を送付してもらい、集積した。
2. 結核入院治療において日本の 40%以上の

結核患者を診療している国立病院機構呼吸器研究ネットワーク施設（中核の近畿中央胸部疾患センター、東京病院、福岡東病院、愛媛病院、山口宇部医療センター）で当院にサンプルを送付してもらい大阪府立呼吸器アレルギーセンターと共同で結核菌遺伝子タイピングを行った。

3. 近畿中央胸部疾患センター262 株、大阪府立呼吸器アレルギー医療センター295 株、東京病院 100 株、山口宇部医療センター21 株、愛媛病院 43 株、福岡東医療センター60 株、合計 781 株の薬剤感受性結核菌をすでに当院に集めた。これを遺伝子タイピング解析中である。（表 2）（表 3）（表 4）

図 1

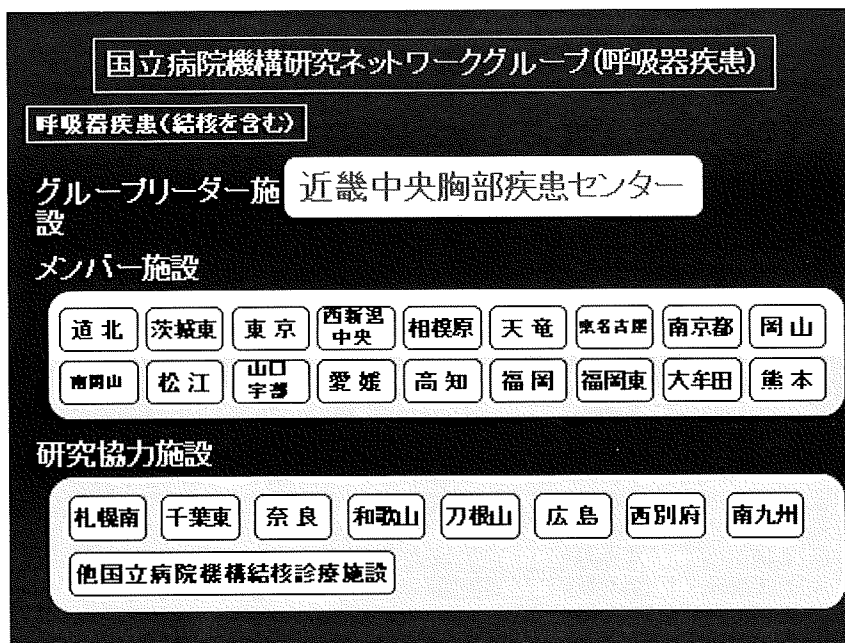


表 1A

No.	氏名	所属	備考
1	岡田全司	近畿中央肺疾患センター	●
2	鎌田有隆	西札幌病院	
3	元谷豊和	函館病院	
4	藤内 智	道北病院	
5	八掛 浩	青森病院	
6	坂本桂禎	青森病院	
7	杉江琢典	盛岡病院	
8	福池豊博	仙台医薬センター	
9	寺下京子	山形病院	
10	通原雅夫	水戸医薬センター	
11	斎藤晋文	茨城県病院	◎
12	岡田壮幸	千歳宮病院	
13	原本 充	高崎総合医薬センター	
14	渡辺 豊	西群馬病院	
15	中村利彦	西埼玉中央病院	
16	朝戸裕子	埼玉病院	
17	藤澤昌英	筑波病院	
18	佐々木結花	千葉東病院	
19	小山田吉孝	東京医薬センター	
20	赤川志のぶ	東京病院	◎

表 1B

No.	氏名	所属	備考
21	谷口正英	相模原病院	◎
22	大平敬郎	西新潟中央病院	
23	小山隆雄	まつもと医薬センター	
24	北 毅之	金沢医薬センター	
25	山下 隆	七尾病院	
26	加藤進雄	長良医薬センター	
27	三輪清一	天童病院	
28	坂 英雄	名古屋医薬センター	
29	小川寛二	名古屋東病院	
30	筒井清行	三豊病院	
31	井嶋英憲	三豊中央医薬センター	
32	佐々木義行	京都医薬センター	
33	佐藤敏夫	南京都病院	
34	三木啓貴	刀根山病院	
35	上野清伸	大阪南医薬センター	
36	留月吉郎	姫路医薬センター	
37	秋山裕由	南和歌山医薬センター	
38	山本光博	鳥取医薬センター	
39	小勝良智明	米子医薬センター	
40	矢野裕一	松江医薬センター	
41	佐藤利雄	岡山医薬センター	
42	多田敏彦	南岡山医薬センター	
43	中野喜久夫	兵庫医薬センター	

表 1C

No.	氏名	所属	備考
44	丸川賢臣	榑山区医療センター	
45	松本浩男	山口宇部医療センター	
46	朝田完二	京飯山病院	
47	山口真哉	高松区医療センター	
48	阿部豊裕	愛媛病院	
49	篠原 勉	高知病院	
50	日高幸子	小倉区医療センター	
51	一木昌朗	九州区医療センター	
52	吉田 誠	榑田病院	◎
53	加治本章	大牟田病院	
54	富田昇平	榑岡区医療センター	
55	榑島佳文	榑野区医療センター	
56	木下明敏	榑崎区医療センター	
57	川上禮司	榑崎川口区医療センター	
58	柏原光介	熊本区医療センター	
59	山中 敏	熊本南病院	
60	仲間 隆	大分区医療センター	
61	澤部良之	別府区医療センター	
62	杉崎勝敏	西川府病院	
63	伊井敏彦	宮崎県病院	
64	川畑政治	南九州病院	
65	久保隆夫	沖縄病院	

●:グループリーダー ◎:メンバー

表 2

2. 近畿中央胸部疾患センター**262株**、
 大阪府立呼吸器アレルギーセンター**295株**、
 東京病院**100株**、
 山口宇部医療センター**21株**、
 愛媛病院**43株**、
 福岡東医療センター**60株**、
 合計**781株**の薬剤感受性結核菌をすでに
 当院に集めた。これを遺伝子タイピング解
 析中である。