

いて発表してもらい、今後進める共同研究について議論した。(資料参照)

和田らの研究から、日本、中国、韓国で広まっている結核菌は、進化の段階つまり遺伝的背景が異なること明らかにされた。この結果からVNTRの最適ローカスが異なること示唆されたため、すべて共通なシステムではなく各国で利用できる共通のコアとなるVNTRシステムを共同で構築することとした。この分析システムなら必要であれば、それぞれの国で独自にローカスを追加することにより、人口ベースの分子疫学調査に応用できるシステムに発展させることも可能である。

### C. 研究結果

1. 台湾における結核菌遺伝型の解析：東アジア諸国では、北京型結核菌の割合が70-90%と高いことが知られている。しかし、台湾では、北京型結核菌の割合が44.4%、次いでEast-African-Indian (EAI) が33.8%を占めており、他の国と大きく異なる。そのため、効率よく型別可能なVNTRのローサイは、他の国とは異なることが示唆された。台湾国内で分離された53株の北京型結核菌について、IS6110のNTF領域への挿入の有無でAncient型とModern型に区分すると、37株(約70%)はModern型であった。

2. 香港における結核菌遺伝型の解析：香港では、Ancient型とModern型の区分等の結核菌遺伝型解析は行われていない状況だった。また、香港周辺はユーラシア東南部なので北京型結核菌の比率は低いに対して香港特別区では、なぜ結核菌の7割が北京型なのか、という疑問が残されている。今後の結核菌遺伝子型解析により解決可能であると考えられる。

3. 韓国国内で広まっているK-strainの型別：韓国では、特徴的なRFLPパターンを持つK-strainとその類似度が70%以上であるK-familyが、国内全結核のそれぞれ4%、19%を占めている。IS6110 RFLP分析では、類似度が高いため型別することが難しいが、JATA(12)-VNTR分析システムを利用することで、さらに小さなサブグループへと区分することが可能であった。このようにVNTR法による型別は、非常に有用であることが再確認できた。

4. VNTR分析における精度管理の重要性：中国国内の上海の研究室からのVNTR型別データと北京の研究室から論文として報告されているデータをminimum spanning tree (MST)解析で比較したところ、全くそれぞれのデータが一致しないことが判明した。この結果は、上海と北京では全く異なる結核菌が広まっていることを意味する。しかし、ローカス毎のデータを精査すると上海のデータはコピー数への換算が、3箇所で誤っていることがわかった。このように、異なる研究室で出した型別結果を比較

する際には、前もってデータの精度管理の必要があり、この点は非常に重要であることが確認された。

5. 共通VNTRシステムにおけるローサイの選択：VNTR分析では、ローカスの選択が非常に重要で、どのローカスを何箇所、解析するかで本型別法の分解能は大きく左右される。各国で現在利用しているローサイをまとめて共通なローサイを選択すれば、効率よく共有可能なVNTRシステムを構築することができる。

中国(北京、上海)、香港、台湾、韓国、日本の6箇所の研究室すべてで、共通に利用しているローサイは、MIRU 10 (VNTR0960)とMIRU 26

(VNTR2996)の2箇所だけだった。そこで、6箇所の研究室の内、5箇所採用している7箇所のローサイ [ MIRU 31 (VNTR3192)、ETR A (VNTR 2165)、QUB 26 (VNTR4052)、QUB 11b (VNTR 2163b)、Mtub 04 (VNTR0424)、Mtub 21 (VNTR 1955)、VNTR4156 ]及び将来的なMST解析のためにQUB15 (VNTR3155)を加えて、合計10ローサイを選択した(表1)。

結核研究所から各施設に結核菌DNAを送付し分析することによって、これらのローサイの精度管理を行うことにした。

表1. 各国(都市)の研究施設でVNTR分析に利用しているローカス

VNTR locus	Alias	国あるいは都市名					
		北京	上海	香港	台湾	韓国	日本
0154	MIRU 2	O			O		
0580	MIRU 4	O			O	O	
0980	MIRU 10	O	A	O	O	O	O
1644	MIRU 16	O	A		O		
2059	MIRU 20	O			O		
2531	MIRU 23	O			O		
2687	MIRU 24	O			O		
2996	MIRU 26	O	O	O	O	O	O
3007	MIRU 27	O			O		
3192	MIRU 31	O	A		O	O	O
4348	MIRU 39	O	A	O	O		
0802	MIRU 40	O		O	O	O	
2165	ETR A	O		O	O	A	A
2461	ETR B	O			O		
0577	ETR C	O			O		
3239	ETR F		A				
3155	QUB 15			O	A	O	O
1982	QUB 18		O	O		A	A
1612	QUB 23						
4052	QUB 26	O	O	O		O	O
2163a	QUB 11a		O	O			A
2163b	QUB 11b	O	O	O	A	O	O
0424	Mtub 04	O	A		A	O	O
1955	Mtub 21	O	O		A	O	O
2074	Mtub 24		A		A	O	O
2347	Mtub 29	O					
2401	Mtub 30	O				A	
3171	Mtub 34	O					
3690	Mtub 39	O				A	
1895			A				
2372					A	O	O
3336				O	A	O	O
4156		O	A		A	O	O
3232		O		O			A
4120		O					A
3820		O	O				A

O: 通常分析; A: 追加分析  
背景がグレー: 選択したローカス

#### D. 考察

次年度の研究計画としては、選択した10箇所のローサイについて、研究室間でVNTR分析の精度管理を行った後、それぞれの国で広まっている結核菌のVNTR分析を行う。そのために、(1)結核研究所は必要な試薬等を送付し、また技術援助を行う、

(2)結核菌DNAを送付してコピー数換算の定義を統一する、等で合意している。

今回、台湾からの研究者が参加したことにより、台湾では中国、米国及びヨーロッパと同様に北京型結核菌はModern型の割合が高いことが明らかになった。香港の結核菌型は不明であるが、日本と韓国だけは他の北京型結核菌が広まっている地域とは異なりAncient型の割合が高いという事実は非常に興味深い。日本あるいは韓国で開発された結核菌の型別や分析法は、お互いの国で直接利用できる可能性が高いと推定される。

次年度、分析精度の統一を図った10箇所のローカスについてそれぞれの国から分離された結核菌を用いてMST解析を行う予定である。このような解析から各国で広まっている結核菌の遺伝的背景の同異を客観的に評価することができる。各国における結核菌の特徴を明らかにできれば、将来的に感染した国(結核菌由来)を特定することも可能となる。

#### E. 結論

近年、人の移動が活発になり、感染症が流入する可能性が高まっている。それぞれの国で広まっている結核菌の特徴を明らかにすることにより、共有できる型別法の開発が可能となる。近隣諸国で問題となっている病原性の高い結核菌や多剤耐性結核菌などの遺伝子型情報を共有することができれば、注意すべき高病原性結核菌の流入を早期に把握するためのシステムの確立が可能となる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Ohkado A, Murase Y, Mori M, Hasegawa N, Otsuka G, Nagamine M, Maeda H, Uchimura K, Ohmori M, Yamada N, Maeda S, Kato S, Mori T, Ishikawa N: Transmission of specific genotype streptomycin resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* in the Tokyo Metropolitan Area in Japan.: BMC Infect Dis., 9: 138, 2009

#### 2. 学会発表

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし
3. その他  
該当なし

# 国立国際医療センターにおける外国人結核の臨床像および患者由来株の分子疫学解析

研究分担者 小林信之 国立国際医療センター戸山病院 呼吸器科医長

研究協力者 切替照雄 国立国際医療センター研究所 感染症制御研究部長

## 研究要旨

わが国の結核患者における外国人結核の割合は増加傾向にあり、結核蔓延国からの薬剤耐性菌とくに多剤耐性結核 (MDR-TB) 菌の国内への持ち込みが懸念されている。外国人結核の臨床的特徴、菌の薬剤感受性を知る目的で、国立国際医療センターで診療した外国人結核と日本人結核の臨床像および薬剤感受性について比較検討した。2007年以降に診療した85例の外国人結核の国籍は、以前の報告と同様に中国・韓国・フィリピンなどアジア諸国が多く、日本人結核と比較して年齢が低く、女性の割合が高いことが統計学的に示された。基礎疾患や肺結核の有空洞率、排菌量に関しては日本人結核と有意な差はみられなかった。薬剤耐性に関しては、外国人結核でRFP耐性およびMDRの率が有意に高いことが明らかとなり、今後わが国においてMDR対策を進めていく上で外国人結核対策は重要な課題であると考えられた。外国人結核由来菌株の分子疫学解析を開始し、RFLP解析の結果、高い相同性を持つ2つのクラスターが同定された。とくにクラスターIは20株から構成されており、中国人患者由来菌株と韓国人患者由来菌株が過半数を占めていた。特定の菌株が特定の集団に蔓延している可能性が示唆された。

## A. 研究目的

わが国の外国人結核は、先進諸国の場合と同様に増加傾向にあり、低い治療完遂率、高い薬剤耐性率などの問題が指摘されている。一般に結核蔓延国では薬剤耐性率が高く、多剤耐性の率も高いため、外国人由来結核菌の国内への持ち込みは新たな脅威として認識されている。これに対して様々な対策がとられてきたが、本年度の研究では、外国人結核の発病と治療の現状を把握することを目的に、当センターにて最近2年間に経験した外国人結核の臨床的特徴について検討する。これまでの研究では入院患者を対象としてきたが、今回の研究では外来患者も対象に含めて検討する。また、外国人結核の臨床像や菌の薬剤耐性における特徴を明らかにするために、日本人結核との比較を行う。さらに、外国人結核患者由来の菌株を取得し、分子疫学的解析を行い、特定の菌株が特定の集団に蔓延しているかどうかを明らかにする。

## B. 研究方法

当センターにおいて2007年1月から2009年9月の間に診療した85名(そのうち入院42名)の外国人結核患者を対象として、性別、年齢、国籍、社会背景、基礎疾患、合併症、塗抹、培養、薬剤耐性、転帰などの臨床的特徴について調査し、日本人結核患者(最近1年間に診療した271名)との比較検討を行った。結核菌の薬剤感受性に関しては、2004年1月～2009年11月に得られた外国人由来結核菌135株と日本人由来結核菌1613株について比較検討した。

多剤耐性結核に関しては、外国人と日本人における臨床像の違いを検討した。

比較結核菌の解析には、RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) 解析、VNTR (Variable Numbers of Tandem Repeats)解析、薬剤感受性試験、薬剤耐性遺伝子のシーケンス解析といった分子疫学的及び分子生物学的手法を用いる。2000年1月から2008年12月までに診療した外国人結核患者に由来する菌株を単離培養する。ゲノム抽出後、IS6110プローブを用いるRFLP解析とMycobacterial Interspersed Repetitive Unit (MIRU)を用いるVNTR解析を実施する。薬剤感受性試験はビットスペクトルSR (極東) もしくは1%小川培地を用いる比率法によって実施する。シーケンス解析は、各薬剤耐性遺伝子をPCR増幅した後、ダイレクトシーケンス法によって塩基配列を同定し、変異の有無を確認する。クラスター解析を実施し、特定の菌株が特定の集団に蔓延しているかどうかを明らかにする。

## C. 研究結果

調査期間中の外国人結核は85名であった。年齢は20～30歳代の若年層が多く(20代47.1%、30代27.1%)、性別は女性が43.6%を占めていた(図1)。国籍は以前の報告と同様に、中国・韓国・フィリピンといったアジア諸国が多いが、欧州出身の患者の増加が注目された(図2)。入国後1年以内の発症は22.5%であった。肺結核は68名で結核全体の82.3%を占め、そのうち排菌陽性は80.9%、塗抹陽性は55.9%、有空洞率は44.1%であった。肺外結核では頸部リン

パ節結核と胸膜炎が多かった。日本人結核と比較した結果、外国人結核では年齢が有意に低く ( $p < 0.001$ )、女性が有意に多かった ( $p < 0.001$ ) が、糖尿病、HIVの合併率、排菌陽性率、塗抹陽性率、有空洞率では両者の間に差はみられなかった (表1)。結核菌の薬剤感受性に関しては、最近6年間に得られた外国人由来株と日本人由来株について解析した結果、外国人由来株ではRFP耐性および多剤耐性が有意に高く、性・年齢で補正後のオッズ比は、RFP耐性で6.34、多剤耐性では7.31であった (表2)。治療中断例は以前と比べて少なくなっており、病院と保健所の連携、DOTSの徹底、通訳・パンフレットなどのツールの使用が外国人結核の治療脱落の防止に寄与したことが示唆される。しかし、発見できず、死亡してしまった症例 (27歳男性、中国人、不法滞在) があり、上記対策からすり抜けてしまう例のあることが問題となった。MDR-TB症例の臨床像について外国人と日本人の比較を行った。例数は日本人6名、外国人5名 (外国人は2003年以降) と少ないため検定はしていないが、外国人では若年で女性に

多い傾向がみられた (表3)。初回MDRは外国人1名、日本人2名、HIV陽性は外国人で1名、日本人0名、塗抹陽性は外国人1名、日本人3名であった。

2000年1月から2008年12月までに入院加療した外国人結核患者は150名 (男性97名、女性52名、不明1名) であった。患者リストに従って菌株を移送し、疫学解析を開始した。これまでに87株の植菌が完了している。薬剤感受性試験の結果、74株は全ての第一選択薬に感受性であった。87株のうち、ゲノムを抽出することができたのは86株、RFLP解析が可能であったのは75株、さらに1患者1株としてクラスター解析できたのは67株であった。67株のうち、相同性70%以上の明確なクラスターは2つ形成された (図3)。クラスターIは20株から成り、クラスターIIは5株から成っていた。特定の菌株が蔓延している可能性が示唆され、引き続き解析を続ける。また、VNTR解析も導入し解析を始める予定である。さらに、薬剤感受性試験と薬剤耐性遺伝子のシーケンス解析も実施し、特定の菌株が特定の集団に蔓延しているかどうかを明らかにしていく。

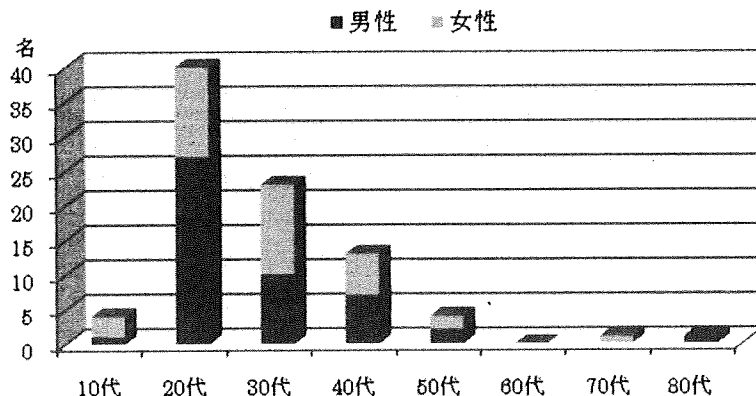


図1 外国人結核の年齢・性別

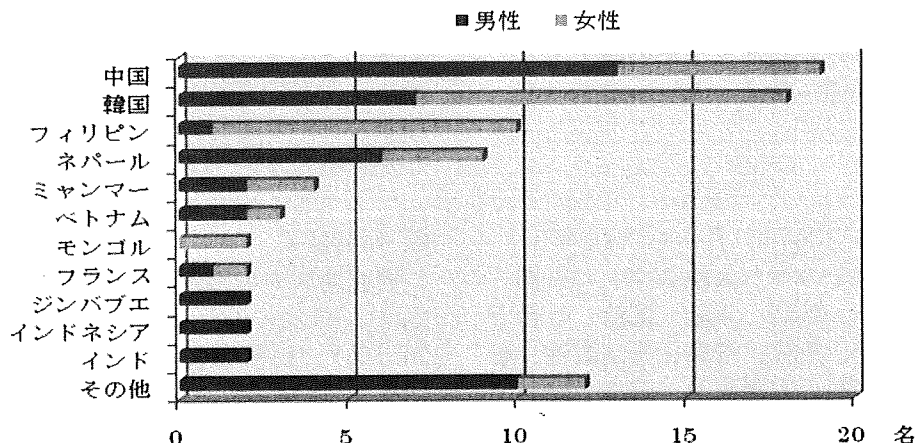


図2 外国人結核の国籍

表1 外国人結核と日本人結核の臨床像の比較

		日本人 (n=270)		外国人 (n=85)		P- value
		人数	(%)	人数	(%)	
性	男性	209	(77.4%)	48	(56.4%)	<0.001
	女性	61	(22.6%)	37	(43.5%)	
年齢 中央値		58 (38-70)		38 (26-39)		<0.001
肺結核		249 (92.2%)		68 (80%)		0.001
肺外結核		77 (28.5%)		25 (29.4%)		0.874
糖尿病		18 (8.6%)		2 (2.4%)		0.179
HIV		8 (2.7%)		3 (3.5%)		0.729
肺結核	培養陽性	218 (87.6%)		55 (80.9%)		0.159
	塗抹陽性	135 (54.2%)		38 (55.9%)		0.807
	空洞あり	109 (43.8%)		30 (44.1%)		0.96

表2 外国人結核と日本人結核の薬剤耐性

薬剤	薬剤耐性の割合 (耐性/総数)				オッズ比 (95%信頼区間)	性・年齢補正後 オッズ比 (95%信頼区間)
	総数	日本人	外国人			
INH 0.2	94/1720	54.1×10 <sup>-3</sup> (86/1589)	61.1×10 <sup>-3</sup> (8/131)	1.14 (0.46-2.41)	0.97 (0.44-2.12)	
RFP 40	16/1721	7.5×10 <sup>-3</sup> (12/1590)	30.5×10 <sup>-3</sup> (4/131)	4.14 (0.96-13.9)*	6.34 (1.58-25.6)**	
SM 10	141/1721	81.8×10 <sup>-3</sup> (130/1589)	88.3×10 <sup>-3</sup> (11/132)	1.02 (0.48-1.96)	0.73 (0.37-1.43)	
EB 2.5	14/1718	7.6×10 <sup>-3</sup> (12/1586)	15.1×10 <sup>-3</sup> (2/132)	2.02 (0.22-9.21)	3.47 (0.6-20.1)	
KM 20	9/1722	5.7×10 <sup>-3</sup> (9/1590)	0 (0/132)	0	0.99 (0.96-1.03)	
LVFX1.0	9/1721	5.0×10 <sup>-3</sup> (8/1589)	7.6×10 <sup>-3</sup> (1/132)	1.51 (0.03-11.4)	1.0 (0.11-9.0)	
MDR	9/1711	3.8×10 <sup>-3</sup> (6/1589)	22.9×10 <sup>-3</sup> (3/131)	6.18 (0.99-29.3)*	7.31 (1.3-41.2)*	

\* P<0.05 \*\* P<0.01

† 補正前の2群の比較にはFisher正確検定を行った。補正後のオッズ比はロジスティック回帰分析で求めた。

表3 外国人の多剤耐性結核

症例	性/年齢	国籍	来日年数	職業	治療歴	学会分類	HIV	喀痰塗抹	治療	経過
1	30/F	中国	3年 (不法)	学生	有	bⅢ2	-	G10	入院 1w	逃亡
2	37/M	ミャンマー	7年 (不法)	アルバイト	有	bⅢ3	+	G8	入院 4m	帰国
3	25/F	中国	3年	学生	なし	lⅢ2	-	G2	治療12m	完遂
4	44/F	中国	不明	主婦	不祥	lⅢ1		-		帰国
5	24/F	中国	3ヵ月	主婦	有 服薬中	rⅢ1	-	-	HRE	転医

# IS6110-probed fingerprinting

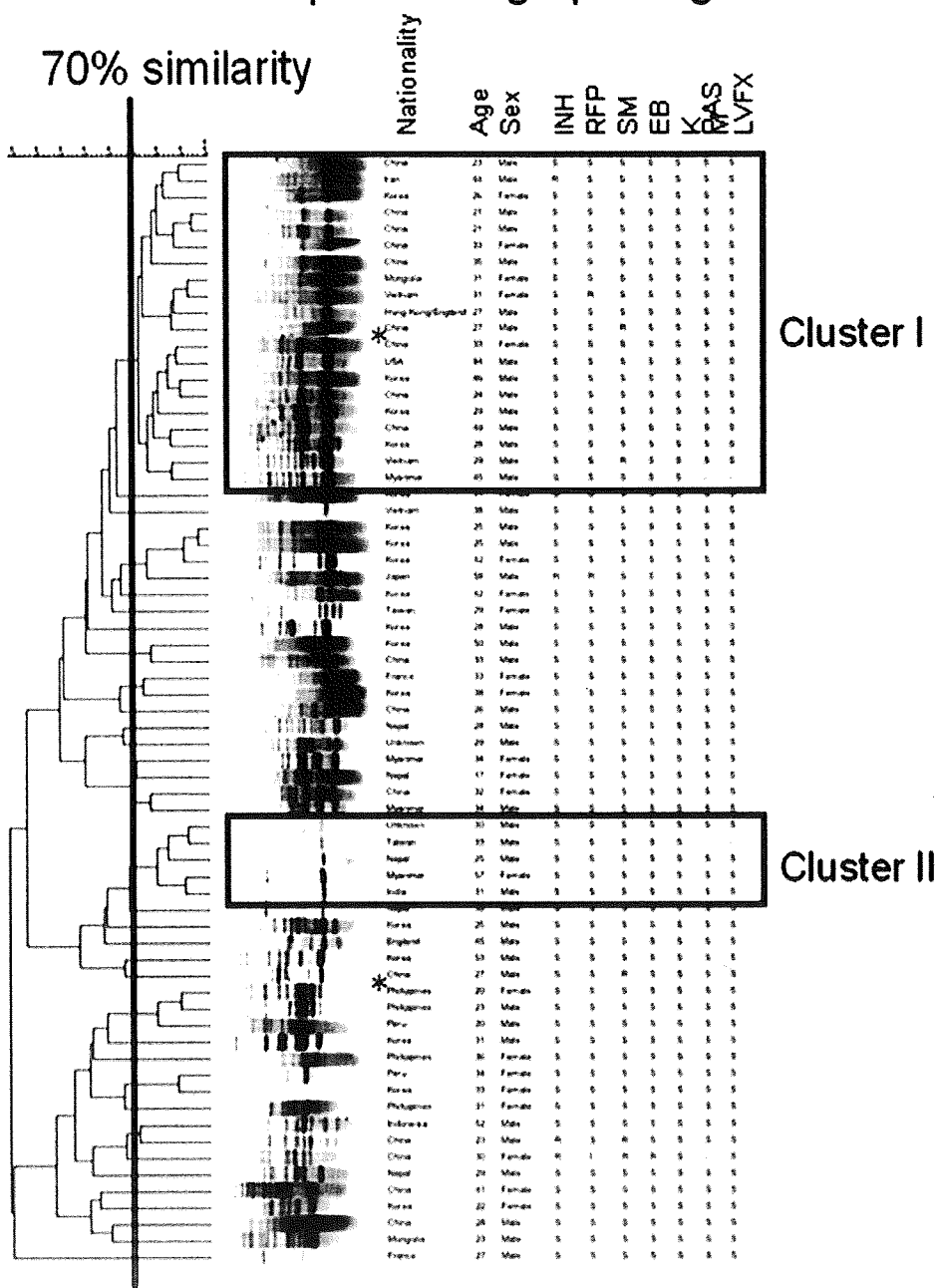


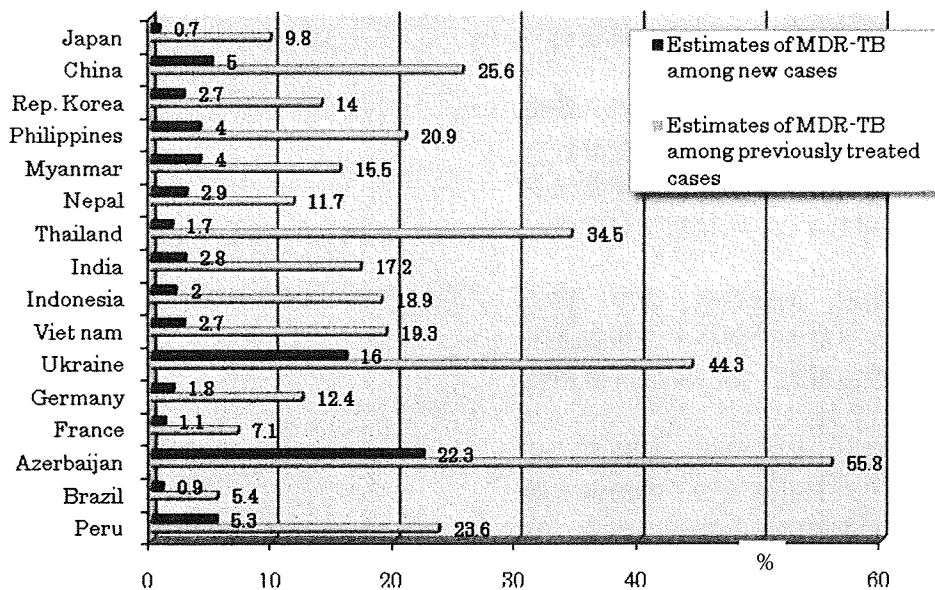
図3 外国人結核患者由来株のRFLP解析

## D. 考察

当センターの外国人結核に関するこれまでの研究は入院患者を対象としてきた。しかしこれでは外国人結核の全体を捉えられていないため、本年度は外来患者を含めて検討を行った。さらに、日本人結核との相違点について統計学的な解析を行った。その結果、外来患者を含めると患者数は約2倍に増加し、当然のことながら排菌のない、あるいは菌量の少ない患者の割合が増加し、肺外結核の例も多くカウントされる傾向にあった。外国人結核は日本人結核と比べて、有意に年齢が低く、女性に多いことが

統計学的にも明らかとなった。合併症については外国人でHIVが多く、糖尿病が少ないことが予想されたが、結果としては日本人と差はみられなかった。排菌量についても両者に差はみられなかった。薬剤耐性に関しては最近6年間の菌株について検討した結果、外国人株では日本人株と比べてRFP耐性とMDRが有意に高率であることが明らかとなった。

図4は、わが国の外国人結核として多くみられる「輸入」国のMDR-TBの率を、WHOの“Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance 2002-2007”から引用して作成したものであるが、



WHO, "Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance 2002-2007"

図4 各国のMDR-TB率

その大半の国では日本よりもMDR率が高い。外国人結核のMDR率が日本人結核よりも高いという今回の研究結果は、今後のわが国における「輸入感染症」としてのMDR-TBの脅威について懸念される場所である。

結核菌の分子疫学解析には、IS6110をプローブとしたRFLP解析に加えてVNTR解析を実施する予定である。VNTR解析に関しては、米国疾病管理センターで採用されている方法と、日本独自のJATA(12)-VNTR法がある。後者は、日本及び北京型結核菌の割合が高い地域で前者よりも優れた識別能を有するという報告(結核研究所・前田伸司)がある。本研究においてどちらの方法を採用するのか、プロトコル作成も含めて検討していく。RFLP解析は現在進行中であるが、既にクラスターが2つ形成されている。当センターでは、これとは別にベトナム・ハノイ市の結核患者由来株の解析を実施している。その結果、ハノイ市で流行しているクラスターHを同定した。このクラスターと今回見出したクラスターI、IIは異なっていた。今後、クラスター数、各クラスターを構成する菌株数が増えると予想される。2009年に入院加療した外国人結核患者由来株の解析も含め検証を続ける。

#### E. 結論

国立国際医療センターにおける外国人結核患者は、日本人結核と比較して年齢が低く女性が多いことが統計学的に明らかとなった。肺結核の画像、排菌量に関しては両者の間に有意な差はみられな

かった。薬剤耐性に関しては、外国人結核でRFP耐性およびMDRの率が有意に高く、今後わが国においてMDR対策を進めていく上での重要な課題を提示していると考えられた。分子疫学(RFLP)解析の結果、高い相同性を持つ2つのクラスターが同定された。特にクラスターIは20株から構成されており、中国人患者由来菌株と韓国人患者由来菌株が過半数を占めていた。特定の菌株が特定の集団に蔓延している可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Pyrazinamide resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Japan. Ando H, Mitarai S, Kondo Y, Suetake T, Sekiguchi J, Kato S, Mori T, Kirikae T. *Clin. Microbiol. Infect.*, DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.03078.x, in press, 2009.

##### 2. 学会発表

1. 中道真司、小林信之、高崎 仁、吉澤篤人、放生雅章、杉山温人、工藤宏一郎、森野英里

子、豊田恵美子。当センターにおける在日外国人の多剤耐性結核。第84回日本結核病学会総会。東京、2009年7月。

2. 安藤弘樹、加藤誠也、森亨、切替照雄。新規イソニアジド耐性遺伝子の同定と機能解析ならびにラインプローブ法を用いた迅速遺伝子診断法の開発。第84回日本結核病学会総会、2009年7月。
3. 安藤弘樹、近藤裕司、加藤誠也、森亨、切替照雄。イソニアジド耐性に関する新規遺伝子変異の同定と機能解析。第79回実験結核研究会、2009年7月。
4. 安藤弘樹、末竹寿紀、切替照雄。結核菌における新規イソニアジド耐性遺伝子の同定と機能解析ならびに迅速遺伝子診断法の開発。第82回日本細菌学会総会、2009年3月。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 国内特許

結核菌の薬剤耐性を判定するための方法および試験片

特許出願人： 国立国際医療センター総長、ニプロ株式会社 佐野實

発明者： 切替照雄、安藤弘樹、末竹寿紀、近藤裕司

出願番号： 特願2009-241023

出願日： 2009年10月19日

##### 国際特許

結核菌におけるイソニアジド感受性を検出するための方法および試験片(*furA*主体)

特許出願人： 国立国際医療センター総長、ニプロ株式会社 佐野實

発明者： 切替照雄、安藤弘樹、末竹寿紀、中村友彦

出願番号： PCT/JP2009/062033

出願日： 2009年7月1日

結核菌におけるイソニアジド感受性を検出するための方法および試験片(*fabG1*主体)

特許出願人： 国立国際医療センター総長、ニプロ株式会社 佐野實

発明者： 切替照雄、安藤弘樹、末竹寿紀、中村友彦

出願番号： PCT/JP2009/062033

出願日： 2009年7月1日



## 外国人結核の現状と今後の対応に関する研究

研究分担者 豊田恵美子 国立病院機構東京病院 呼吸器科医長

### 研究要旨

当院における外国人結核患者の臨床検討を継続している。東京都特別区外にある当院では、外国人結核患者数は全国平均で多くはないが、HIVや多剤耐性結核は同年代の日本人と比べて頻度が高い。日本も低蔓延に向かっているため、今後外国人結核の割合が増加すると考えられる。諸先進国の外国人結核対応や対策はどのようななされているかを、情報検査を実施し検討を進めている。

#### A. 研究目的

日本の20才代の新規登録結核患者の1/5は外国人結核患者であり、その割合は増加傾向である。医療領域でも外国人スタッフを導入する計画が進められている。当院で治療している外国人結核は少数であるが、外国人の医療スタッフの研修が行われている。活動性結核治療ばかりでなく、今後に向けて潜在性結核治療や感染、発病予防を考える必要がある。

#### B. 研究方法

当院治療中の外国人結核患者数は少ないが、年間10人前後で、HIVやMDRの症例も認める。当院2004年以降の結核患者データベースより外国国籍の結核患者を抽出して、データを収集解析した。

また外国人医療スタッフの潜在性結核感染治療の是非も含めて、諸先進国の外国人結核対策について情報収集を開始した。

(倫理面への配慮)

個人情報やプライバシーの侵害にならないようデータは施設内整理番号で取り扱い情報保護を念頭において取り扱っている。

#### C. 研究結果

国立病院機構東京病院では2009年の外国人結核は9人(全結核患者の2.4%)で、全国平均より少なかった。また2004-2009年の6年間に当院で結核治療を行った外国人結核患者数は64名であった。この間の全結核患者入院数は2411人の2.7%をしめており、2008年の全国新規登録外国人結核は468人で3.8%で全国平均よりも低い。男性31人、女性33人で、20代が41%であった。主な国籍は中国、フィリピン、韓国で肺結核52、肺外結核12例であった。HIV陽性者3例、多剤耐性4例あり、標準治療は52例(81.3%)うちPZAを含むA法は39人に60.9%に実施した。当院では高齢者結核に比較すれば臨床的困難性は低く、大体横ばいであり目立たぬ問題である。

#### D. 考察

日本の結核は、低蔓延に向かっており、欧米諸先

進国の結核状況からは、今後日本の結核における外国人の割合の上昇が予測される。

現在20才代では外国人結核が25%を超えたが、全体としては一部の地域を除いてはインパクトは少ない。通訳の派遣や制度の整備など日本人と同様な診断・治療が出来るような配慮の服薬支援を重点に対策を行っている。また日本語学校や企業などでの入学・入職時健診も日本人と同様に奨められ、発病への防止対策がとられている。

しかしわが国の低蔓延化、地球レベルの結核対策を視点とすると高蔓延国からの移住はハイリスクグループとして対策をとるべきと考える。QFTや結核ワクチン、北京株の研究などの他、すでに低蔓延国で、半数以上が外国人結核である欧米先進国の知見から学ぶことは有益と思われる。今年度後半から、結核研究所疫学統計部伊藤邦彦博士に外国人結核対策に関する情報収集を委託している。

#### E. 結論

国立病院機構東京病院の外国人結核を過去6年間にわたり検討した。年間の患者数、重症度、治療内容も日本人結核患者と変わらず、問題点は言語くらいであるがどうか切り抜けられている。全国ではとくに若年層の外国人結核は徐々に上昇しているが、現状では日本全体の結核問題のうちではあまり目立たぬ問題である。しかし今後低蔓延化を考えるならば重要な課題であることは確かである。現に低蔓延となり、50%以上が外国人である欧米先進国の現状と対策から、よりよい対策を模索すべきと考えた。

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

# 我が国における外国人結核の発生状況と治療の実態把握及び必要な対策の検討 大阪市の場合

研究分担者 下内 昭 結核研究所  
研究協力者 加藤仁一 大阪市保健所  
富原亜希子 大阪市保健所  
和田崇之 大阪市立環境科学研究所  
長谷 篤 大阪市立環境科学研究所

## 研究要旨

大阪市における在留外国人の結核患者は、年々増加傾向にある。2006-2009年に新規登録された在留外国人結核患者に関して、患者票に記載されている項目から患者の特性、結核の病態、治療結果について調査した。患者の特性として若年者の学生や常勤者が多かった。定期健診によって早期発見ができ、軽症例を多く認めた。来日初期の発病が多いため、外国人が多く集まる学校や職場での、来日直後およびその後の定期的な健診を実施することが重要である。結核菌の耐性率が高く多剤耐性を6.1%に認め、早期の感受性検査が必要である。治療途中の中断・転出の症例が多いため、これらを防ぐためには、母国語の冊子の配布や通訳の依頼などにより、コミュニケーション問題を解決し、治療完了に導く患者教育を強化する必要がある。結核菌株のVNTR解析のデータ集積と解析の高精度化により、患者の出身国での感染を証明することや、日本国内で感染・発症した可能性のある症例を絞り込むことができるようになった。

## A. 研究目的

### 1. 背景

海外からの渡航者の増加に伴い、日本滞在中に結核を発症する外国人結核患者が増加しており、大阪にに登録される在留外国人の結核患者数も年々増加している。対策として従来の早期発見早期治療、治療脱落を防ぐための患者支援の強化に加え、最近開発された分子疫学手法、VNTR解析法を用いることによって、感染源、感染経路の検討も可能になっている。

### 2. 目的

在留外国人(日本国以外で出生した外国籍の者)の結核患者の発生状況と治療、患者管理の実態、菌情報を把握・分析し、適切な対策を検討した。

## B. 研究方法

患者情報については、2006-2009年に新規登録された在留外国人結核患者に関して、患者票に記載されている項目から患者の特性、結核の病態、治療結果について調査した。

菌情報については、2007-2009年にかけて大阪市内で分離され、環境科学研究所に搬入した在留外国人結核患者の菌株36株を、JATA-VNTRによる型別解析を行った。これを2006年以降に解析された市内患者由来株(550株)と比較解析を行い、同一パターンを示す株を抽出し、さらに詳細なHV領域解析を行った。また、外国人結核患者由来株を北京型お

よび非北京型に分類した。

## C. 研究結果

大阪に新規登録された在留外国人結核患者数は、2006-2009年の4年間で、127名であった。登録患者数は年間平均30名程であり、徐々に増加してきている。患者の年齢層は20歳代にピークがあり、全体の50.4%、10-39歳で75.2%であった。職業別では、学生(33.1%)と常勤者(19.7%)の割合が高かった。臨時雇用者や接客業者、自営業者は少なかったが、無職(21.3%)も多く見られたが、多くは主婦や高齢者であった。出身国では中国と韓国が多く、両国で66.1%を占めた。それにフィリピン、その他の東南アジア等が続いた。アフリカ出身の結核患者は2名であった。

結核患者の発病時期について、来日してから6カ月以内が12.6%、1年以内25.2%、2年以内42.5%、5年以内64.6%であった。患者の発見方法は、医療機関受診が66.9%、定期健診が26.8%であった。定期健診での発見割合は、大阪市全体の2倍近くであった。また定期健診発見のうち、70.6%は学生であった。また、健康保険に加入している者は85.8%と大半を占めていた。

新規登録患者のうち、肺結核患者は83.5%(106名)であった。喀痰塗抹陽性者は46.2%、多量排菌と考えられる「2+以上」の者が18.9%であった。また、肺野に空洞なしが81.1%、「空洞なく」かつ「拡がり1」の早期病状が55.7%であり、「空洞あり」

かつ「拡がり2以上」の進行病状は18.9%であった。

肺結核患者の77.4% (82名) に薬剤感受性検査を実施できた。多剤耐性結核を6.1% (5名) 認めた。INH耐性結核の割合は9.8% (8名) であった。

治療成績は、治癒29.0%、治療完了36.6%で、治療成功率は65.6%であるが、中断9.7%と転出20.4%が高かった。

JATA-VNTRによる12ヶ所のVNTR解析で市内解析株と完全に一致した在留外国人患者由来株は6株あった。韓国の1名を除いて、全て中国出身であり、6株全てが北京型結核菌であった。この6株にHV領域での比較解析を行ったところ、国内由来株データとの差異が、(1) 3箇所以上含んでいた2株と、(2) 1箇所のみ含んでいた3株と、(3) 1箇所のみ含んでおり、かつ「大規模拡散型結核菌」のVNTRと完全一致であった1株に分類できた。

今回の36株解析のうち、非北京型結核菌は11株 (30.6%) であった。中国・韓国以外の外国人結核患者で、非北京型結核菌による感染は7名 (77.8%) であった。これらの事例については、出身国での感染および入国後の日本国内発症が強く疑われた。

#### D. 考察

在留外国人の結核患者は、学校や職場での定期健診の機会に恵まれ、健診発見の割合が高い。その結果、結核の早期発見が可能となり、排菌が無く、軽症例の割合が高いものと思われる。

いずれにせよ、日本の周辺の国々では結核罹患率が高いため、感染を広げないためにも早期発見早期治療が重要である。そのためには、外国人が多く集まる学校や職場での定期健診が、在留外国人の結核対策にとって重要であり、今後さらに、学校や職場、地域での健診を強化し、結核の高蔓延国からの1年以上の滞在者に対しては、結核健診の制度化を検討すべきである。特に6カ月以内の発病者の割合が12.6%であることを考えると、来日直後の健診を徹底することが重要である。

患者の出身国では、中国と韓国の出身が全体の3分の2を占めているが、結核菌の薬剤耐性も、中国や韓国等の出身国の状況を反映していた。初回治療再治療患者を合わせた多剤耐性率6.1%は2006-2008年大阪市新登録塗抹陽性肺結核患者の多剤耐性率1.4% (25/1769) より明らかに高く、母国の耐性率を反映していると考えられる。従って、在留外国人の治療に関しては、出身国の薬剤耐性率を考慮して、できるだけ液体培地やline probe assayなどDNA分析法などにより早期に感受性を把握する必要がある。治療結果に関しては、治療成功率の65.6%は、成功率が高いのは若い患者が多く死亡率が低いためである。しかし、中断9.7%と転出20.4%は高く、大阪市全体よりも悪い結果であった。その理由

として、言語の障害 (コミュニケーションの問題) が考えられる。そのため大阪市では、結核についての多言語 (英語・中国語・ハンガール語・フィリピン語・ポルトガル語) による小冊子を作成し、各々の母国語で外国人が「結核の基礎知識」を理解できるようにしている。また、通訳者を通じてコミュニケーションの改善も図っている。治療途中に帰国を希望する者に対しても、できる限り日本で治療を完了させるために、患者教育を充実していきたい。

結核の発病時期が来日6カ月以内や1年以内など、初期に見られること、また、菌分析でも非北京型結核菌が認められた場合など、在留外国人の結核患者の多くは、母国で既に結核に感染し、日本に来てから発病したものと考えられる。しかし一方では、外国人患者由来株が国内由来株と1箇所のみ異なっていた4名のうち2名は、来日後1~2年の発病であったが、その他の2名は来日から10年以上に発病しており、日本国内で感染・発症した可能性が高い。特に、「大規模拡散型結核菌」のVNTRと完全一致であった1株は、国内での広域伝播が示唆されている株であった。しかし、国内株と相同性が認められた6株はすべて北京型結核菌であり、中国・韓国においても広く定着している系統群である。従って、その由来については今後国際比較を含めた抜本的な調査研究が必要である。中国・韓国以外の外国人結核患者で、「非北京型結核菌」による感染は、出身国で感染して来日後に発症したと考えられるけれども、日本に多いとされる「祖先型北京株」による発症は、出身国での感染か否かの判断は困難である。外国人結核患者における国内での結核感染の可能性について、あるいは外国人から国内の患者への拡大について、今後も監視を続ける必要がある。

#### E. 結論

在留外国人の結核患者は、若年者が多く、定期健診による早期発見のために、軽症例が多く認められた。また、来日初期の発病者が多いため、来日直後および定期的健診が大きな役割を果たす。そのため、外国人が多く集まる学校や職場での健診強化が重要である。

また、出身国の薬剤耐性の状況を考慮してできるだけ液体培地やline probe assayなどDNA分析法などにより早期に感受性を把握する必要がある。治療の中断や転出率を下げるために、コミュニケーションの問題を解決し、治療完了まで導く患者教育が大切である。

VNTR解析で「非北京型結核菌」を同定できるようになり、出身国での感染を推定できるようになった。また、HV領域も加えた高精度な解析により、「北京型結核菌」でも、日本国内で感染・発症した

可能性のある症例を絞り込むことができるようになった。

F. 研究発表

41<sup>st</sup> Union World conference on Lung  
Health, Berlin, 11-15 November 2010 に提出中

# 我が国における外国人結核の発生状況と治療の実態把握及び必要な対策の検討 大阪市の場合

研究協力者 富原亜希子 大阪市保健所  
加藤 仁一 大阪市保健所

## 【目的】

大阪市に登録される在留外国人の結核患者数は年々増加している。そのため、在留外国人（日本国以外で出生した外国籍の人）の結核患者の発生状況と菌情報、治療、患者管理の実態を把握・分析し、適切な対策を検討した。

## 【方法】

2006-2009年の4年間に新規登録された結核患者について、在留外国人を対象として、患者票に記載されている項目について調査した。

## 【結果】

大阪市内にて新規登録された在留外国人の結核患者は、2006年から2009年の4年間で、127名あった。その年次推移は、表1のとおりである。年間30名程度を認めるが、徐々に登録患者数は増加してきている。年齢別に見ると、20歳代にピークがあり、全体の50.4%（64名）を占める。10から39歳までを加えると全体の75.2%（96名）にもなる。このことより、在留外国人では、若年の結核患者が多数を占め、日本の状況と対照的であることが分かる。職業別に見ると（表3）、学生の割合が高く、33.1%（42名）あった。常勤者も19.7%（25名）あった。来日してから、日本語学校で日本語を習得する者が多く、日本語学校を終えて、就学や就職をしている。臨時雇用（6名）や接客業（5名）、自営業（4名）の者は少なかった。一方で、無職の者も21.3%（27名）と多く見られた。出身国別では（表2）、中国（48名）と韓国（36名）が多数であり、両国で66.1%（84名）を占めた。それにフィリピンの13名（10.2%）が続き、その他の東南アジアから15名（11.8%）、南アジアから5名（3.9%）を認めた。大阪市では、ブラジル人の結核患者は4名（3.1%）と少なかった。アフリカ出身の結核患者も2名（1.6%）みられた。

来日してから結核を発病するまでの月・年数を見ると（表5）、1年以内が25.2%（32名）、2年以内では42.5%（54名）を認めた。5年以内になると、64.6%（82名）を占めた。さらに、6か月未満で発病している者も12.6%（16名）あった。患者の発見方法別では（表6）、医療機関での発見が66.9%（85人）、定期健診による発見が26.8%（34名）であった。定期健診による発見は、大阪市全体の

13.9%よりも2倍近く高かった。その中でも学生（24名）の割合が高く、定期健診の中の70.6%、全体の18.9%を占めることが特徴であった。個別健診も加えると、健診発見は約3割になった。また、健康保険については、加入している者が85.8%（109名）を占め、加入していない者は12.6%（16名）のみで、在留外国人の結核患者の間では、ほとんどの者が何らかの保険に加入していることが分かった（表4）。

新規登録患者127名のうち、肺結核患者は106名（83.5%）あった。肺結核患者における喀痰塗抹検査で、陰性の者は50.0%（53名）あり、多量排菌と考えられる「2+以上」の者は18.9%（20名）あった（表7）。また、肺病変に空洞形成のない症例が81.1%（86名）あり、「空洞なく」かつ「拡がり1」の早期病状の症例も55.7%（59名）あった。一方、「空洞形成があり」かつ「拡がり2以上」の進行した病状の症例は18.9%（20名）であった（表8）。以上より、在留外国人の肺結核患者は、比較的早期に発見されているものと考えられる。

結核患者127名のうち、82名（64.6%）に対して薬剤感受性検査を実施でき（表9）、多剤耐性結核を6.1%（5名）認めた。上記の5名は中国または韓国から出身の患者であり、出身国の多剤耐性結核の罹患率を反映しているものと考えられる。INH耐性結核の割合9.8%（8名）も、日本のINH初回耐性（4.4%）の2倍以上であった。

在留外国人の治療成績を見ると（表10）、治癒29.0%（27名）、治療完了36.6%（34名）であり、治療成功率65.6%は、大阪市全体（54.2%、2008年）よりも優秀な成績であった。しかし、中断9.7%（9名）と、転出20.4%（19名）も高く、両者を合わせた30.1%は、大阪市全体（8.6%、2008年）と比較して、極めて悪い結果であった。

## 【考察】

在留外国人の結核患者は、大半が若年者であり、学生や常勤者の割合も大きかった。よって、学校や職場での定期健診の機会に恵まれ、その結果、健診発見の割合が高くなったと考えられる。また、肺結核患者の50%が喀痰塗抹陰性であり、空洞病変等の進行例も少ないことから、患者を早期に発見していることも分かった。在留外国人において、定期健診

が結核の早期発見を可能とし、排菌が無く、軽症の患者の割合を高くしたのであろう。

発病時期を見ると、42.5%が来日から2年以内に発病していた。その中には6か月未満の発病も含まれる。彼らの多くは、母国で既に結核に感染し、日本に来てから発病したと考えられる。日本における生活様式の違いや言語の問題など様々なストレスが発病に影響しているのではないだろうか。

以上より、外国人が多く集まる学校や職場での定期健診が、在留外国人の結核対策にとって重要であり、すでに成果も見られることが分かる。今後さらに、学校や職場での健診を強化していく必要がある。特に、来日直後の健診を徹底することが重要である。定期健診が年に1回で、次の健診までの期間が長い場合、来日以前から発病している患者や来日後間もなく発病する患者の発見が遅れてしまう。早期発見によって、二次感染の機会を少なくするためにも、来日直後の健診は必要である。また、その後の定期的な結核健診の継続もすべきである。結核の高蔓延国から来日し、1年以上の滞在者に対する結核健診の制度化も検討していきたい。

出身国は、中国と韓国の2国が全体の3分の2を占めており、結核菌の薬剤感受性検査の結果も、初回治療再治療患者を合わせた多剤耐性率6.1%は2006

-2008年大阪市新登録塗抹陽性肺結核患者の多剤耐性率1.4%(25/1769)より明らかに高く、母国の耐性率を反映していると考えられる。治療において、各々の出身国の薬剤耐性率を考慮し、薬剤耐性の可能性を加味した治療計画を立てる必要があるだろう。

治療成績では、治療成功率も高いが、転出・中断の率も高い。転出・中断の理由として、①言語の障害(コミュニケーションの問題)、②医療費の問題、③早期の帰国希望、④不法滞在などが考えられる。今回の調査結果によると、ほとんどの患者は保険に加入しているので、医療費の問題が脱落中断の第一の理由とは考え難いだろう。また、不法滞在者も認められなかった。来日間もない患者の多くは、日本語での意思疎通が難しい。そのため、各々の母国語によって結核の基礎知識を提供する必要がある。大阪市では、結核についての多言語(英語・中国語・ハングル語・フィリピン語・ポルトガル語)による小冊子を作成し、外国人およびその結核患者対して、健康教育・患者教育を実施している。また、NPOとの連携により、通訳者を通じて結核患者とのコミュニケーションの問題を解決するように努力している。治療途中に帰国を希望する者に対して、できる限り日本で治療を完了させるために、患者教育を充実していきたい。

表1. 年別・年齢分布

男：女 = 59：68

年齢	2006年	2007年	2008年	2009年	合計 (%)
10~19	2	2	3	2	9 (7.1%)
20~29	16	17	13	18	64 (50.4%)
30~39	6	6	7	4	23 (18.1%)
40~49	3	4	5	1	13 (10.2%)
50~59	1	1	3	3	8 (6.3%)
60~69	0	0	0	1	1 (0.8%)
70~79	1	1	2	1	5 (3.9%)
80~	0	0	0	4	4 (3.1%)
総数	29	31	33	34	127

表2. 国別・登録患者数

中国	48 (37.8%)
韓国	36 (28.3%)
フィリピン	13 (10.2%)
タイ	7 (5.5%)
ベトナム	4 (3.1%)
ブラジル	4 (3.1%)
インドネシア	3 (2.4%)
インド	3 (2.4%)
ネパール	2 (1.6%)
モンゴル	2 (1.6%)
台湾	1 (0.8%)
ミャンマー	1 (0.8%)
ロシア	1 (0.8%)
ナイジェリア	1 (0.8%)
カメルーン	1 (0.8%)
総数	127

表3. 職業別・登録患者数

学生	42 (33.1%)
常勤者	25 (19.7%)
臨時雇用	6 (4.7%)
接客業	5 (3.9%)
自営業	4 (3.1%)
家事従事者	17 (13.4%)
無職	27 (21.3%)
不明	1 (0.8%)
総数	127

表4. 保険加入の有無

健康保険	
あり	109 (85.8%)
なし	16 (12.6%)
不明	2 (1.6%)
総数	127

表5. 来日から発病までの月・年数（累積数）

月・年数		累積	
～ 6か月	16 (12.6%)	～ 6か月	16 (12.6%)
6か月 ～ 1年	16 (12.6%)	～ 1年	32 (25.2%)
1 ～ 2年	22 (17.3%)	～ 2年	54 (42.5%)
2 ～ 5年	28 (22.0%)	～ 5年	82 (64.6%)
5 ～ 10年	13 (10.2%)	～ 10年	95 (74.8%)
10年 ～	20 (15.7%)	all	115 (90.6%)
不明	12 (9.4%)		
総数	127		

表6. 発見方法別・登録患者数

医療機関受診	85 (66.9%)
定期健診 (全体)	34 (26.8%)
定期健診 (学校)	24 (18.9%)
定期健診 (職場)	9 (7.1%)
定期健診 (施設)	1 (0.8%)
個別健康診断	4 (3.1%)
接触者健診	4 (3.1%)
総数	127

表7. 肺結核患者106名中の診断時の喀痰塗抹結果

塗抹陰性	53 (50.0%)
塗抹陽性	49 (46.2%)
塗抹 2+ 以上	20 (18.9%)
不明	4 (3.8%)
総数	106

表8. 肺結核患者106名中の病型分類

拡がり	1	2 or 3	合計 (%)
空洞なし	59 (55.7%)	27 (25.5%)	86 (81.1%)
空洞あり	2 (1.9%)	18 (17.0%)	20 (18.9%)
総数	61 (57.5%)	45 (42.5%)	106

表9. 薬剤感受性検査のできた82名の感受性結果

全剤感受性	65 (79.3%)
MDR	5 (6.1%)
H 耐性	8 (9.8%)
R 単独耐性	1 (1.2%)
SM or KM 耐性	3 (3.7%)
総数	82

表10. 2006年～2008年の93名の治療結果

治癒	27 (29.0%)
治療完了	34 (36.6%)
死亡 (結核外)	1 (1.1%)
中断	9 (9.7%)
転出	19 (20.4%)
治療中	3 (3.2%)
総数	93



## 大阪市内で分離された在日外国人結核患者由来菌のVNTRプロファイル追跡

研究協力者 和田 崇之 大阪市立環境科学研究所  
長谷 篤 大阪市立環境科学研究所

### 【目的】

(1) 日本国内で分離される結核菌株は、国内での用途に最適化された反復配列数多型 (VNTR) 解析法であるJATA-VNTRが普及しつつあり、全国的な分子疫学体制の構築が期待されている。また、一部の研究施設では超可変 (HV) 領域によるVNTRマッチング解析手法が確立し、菌株の高精度な異同判定が可能となってきた。このような結核分子疫学の進展に伴い、固有の菌株の遺伝型別を指標にすることにより、これまで未知であった結核伝播ルートの解明、集団発生事例の把握が期待されている。

わが国の結核罹患率は人口10万人に対して約20人となっており、緩やかな減衰傾向で推移しているが、世界的には中蔓延国として分類される。近年は海外からの渡航者の急増に伴って、入国後に日本国内で結核を発症する外国人結核患者が増加しており、その感染源推定が重要視されている。

(2) 大阪市内で分離された外国人結核患者由来株のVNTR型別解析を行い、一致株の有無を既存のデータと比較することを目的とする。また、日本を含めた東アジア地域 (中国・韓国) では北京型結核菌の蔓延・定着が著しい一方、それ以外の地域では他系統が優位であることから、同菌株について非北京型・北京型の分類を行い、その分離傾向と出身国を確認することを目的とする。

### 【方法】

2007年から2009年にかけて大阪市内で分離され、当研究所に搬入された結核菌のうち、外国人結核患者由来であることが確認された計36株について、JATA-VNTRによる型別解析を行った。同じくJATA-VNTRによって2006年以降に解析された市内患者由来株 (550株) と比較解析を行い、同一パターンを示す株を抽出し、さらに詳細なHV領域解析を行った。また、外国人結核患者由来株は、北京型結核菌の遺伝的特徴であるRD207領域の欠失を確認し、北京型および非北京型に分類した。同領域の欠失は、北京型結核菌の定義として一般的なスポリゴタイピング法における1-34番オリゴDNAのシグナル欠失とほぼ同義である。

### 【結果および考察】

(1) JATA-VNTRによる12ヶ所のVNTR解析で

市内解析株と完全に一致した外国人患者由来株は6株 (07年: 2株, 08年: 1株, 09年: 3株) であった。07年の1名 (韓国) を除いて、全て中国出身であり、6株全てが北京型結核菌であった。この6株について詳細な検討を行うため、HV領域での比較解析を行ったところ、以下の3パターンに分類された。[1] HV4領域において3箇所以上に国内由来株データとの差異を含んでいたもの (2株)。[2] HV4領域において、1箇所のみ国内由来株データとの差異を含んでいたもの (3株)。[3] HV4領域において、1箇所のみ国内由来株データとの差異を含んでいたが、現在当研究所で「大規模拡散型結核菌」として監視中のVNTRと完全一致であったもの (1株)。[2] および [3] のケースについては国内での結核菌伝播によって感染し、発症した可能性が示唆される。特に [3] のケースについては、周辺自治体 (大阪府、神戸市など) においても検出歴のあるVNTRパターンである。国内での広域伝播が発生している可能性が示唆されている株であり、国内での感染・発症の可能性は [2] のケースよりも高いと考えられる。しかしながら、今回国内株とのVNTR型別での相同性が認められた6株はすべて北京型結核菌であり、中国・韓国においても広く定着している系統群であることから、その由来については今後国際比較を含めた抜本的な調査研究が必要である。

(2) 一方、今回解析された外国人結核患者由来株 (36株) のうち、非北京型結核菌は11株 (30.6%) であった。中国・韓国以外の国籍の外国人結核患者 (9名) の中で、非北京型結核菌による感染であったのは7名 (77.8%) であった。これらの事例については、出身国での感染および入国後の日本国内発症が強く疑われる。しかしながら、残る2名は日本に多いとされる祖先型北京株による発症であったことから、出身国での感染か否かの判断は困難である。以上の結果から、外国人結核患者における国内での結核感染の可能性については今後も監視を続ける必要があると考えられた。

## タイから日本への伝播の検討も含めた難治性結核の疫学的研究

(Molecular epidemiology study on recurrence TB in Thailand including the issue on disease transmission to Japan)

研究分担者 野内 英樹 財団法人結核予防会複十字病院 臨床検査部臨床検査診断科長

### 研究要旨

北タイ・チェンライ県において、難治性結核患者（多剤耐性・再発・治療失敗例）の検体バンクとコホート研究を立ち上げ、結核症に対するフィールド研究開発を実施してきた。得られた疫学情報、臨床情報、細菌学的情報と共に、血液サンプルを活用して、結核の感染・発病と治療転帰のモデルに基づき、難治化していない新規の結核患者、及び結核症を発症していない正常タイ人と比較する事により、多角的に難治化に関する因子の同定を進めている。今年度は、倫理委員会の承認にて実施されている患者の stage や治療を詳細に解析する前向きコホート研究で、PPD-tuberculin と結核死菌（H37Ra）で Stimulation し培養した検体を活用して検討を進めた。結核患者 PBMC を H37Ra 刺激した In vitro 培養上清中グラニューライシン濃度では、正常タイ人コントロール(n=10)では中央値が 0.27、新規結核患者では 1.11 であったが、再発例(n=17)で 0.87、治療失敗例(n=26)で 0.80、慢性排菌例(n=4)で 0.56 であり、グラニューライシン産生能が低下しているという知見が得られた。PPD-tuberculin で刺激した群でも同様であった。これは、岡田班長が日本において発見した、特に多剤耐性結核患者で CD8 陽性キラーT リンパ球内のグラニューライシンの低下等の知見と矛盾しない。

また、輸入感染症としての側面を検討するため、複十字病院で保存されている菌体も活用して、日本どタイの結核菌 DNA 解析の比較検討を進めている。

### A. 研究目的

多剤耐性結核、難治性結核患者の前向きコホートを含めた人と菌の検体バンクを活用し、日本への伝播も検討した疫学研究を目的とする。

岡田班本体が掲げる、①日本における外国人結核の発生状況と診断・治療の実態把握及び対策・制御、②アジア地域との研究ネットワークの活用、③多剤耐性結核の制御、④新しい結核ワクチン・診断法の開発という全体目標への貢献を目指し、①に対しては、タイの結核患者の菌が来ていないかどうか、外国人結核患者を含む菌体を 10 年以上保存している複十字病院等の菌体バンク等を活用し分子疫学的検討する。②-④については、タイ NIH という日本が建設してアジアの中心研究機関に育ててるネットワークの基に、前岡田班時代より進めている多剤耐性結核と難治性結核患者の正常治癒例と比較した検体バンクとコホートを、日本には少ない HIV 感染毎の情報も持ちながら補強し、疫学研究を遂行する。

### B. 研究方法

図 1 の結核の感染・発病と治療転帰のモデル示されるが、難治性の結核患者(再発例、治療失敗例、慢性排菌例等)の要因に関して研究をする事は、多剤耐性を含めた結核症の制御に通じる。

結核予防会結核研究所が設立母体となり、現在は

タイ NIH等とコンソーシアムを組んで運営しているタイ国チェンライ県の結核研究フィールドに参画して、(1)難治性結核患者（多剤耐性・再発・治療失敗例）の検体バンクとコホート研究を前回の岡田班より継続している。(1)の群に関しては、菌側の RFLP 等の標準タイピングを活用して、厳格に内因性の再燃と外来性再感染を区別している。(2)結核治療に反応が良く再発をしなかった群、(3)結核に罹患していない正常タイ人のコントロール群を設定し、比較の対象としている。(現在まで、HIV陰性例においての詳細な42例の経時的検討が終了し、40例(95%)が RFLPパターンが一致し、同じ菌による再燃、2例(5%)が、RFLPが異なり違う菌による再感染と考えられた。)取り込み時にケース・コントロール研究の形態にて、(1)と(2)の比較により結核症の難治に関しての種々の要因検討、(3)と結核症群(1-2)の比較により結核自体の発症に関連する様々な疫学的因子の検討を進めている。

菌体は、比較しやすい様に、タイ国の新規結核患者の RFLP 分類法[Dhanida Rhentong et al, 2005]に寄った。基礎データとして、タイでは北京株(Beijing family)が 20.8%と 17.7%、タイ国に特有として報告されたノンタブリ株(Nonthaburi group)が 14.3%と 8.8%、この2つに属さないが 6 バンド以上の多型群(Heterogeneous group)が 17.6%と 17.7%、

2-5 バンド群が 20.1%と 26.5%、1 バンド群が 27.3%と 29.4%と報告されている(表 2)。

患者コホート研究で、患者サンプルは末梢血から血漿とPBMCに分離し、ツベルクリンや、結核死菌の刺激前後で血漿中のインターフェロンガンマ量とグラニューライシン量の測定した。測定法は岡田班長の実験室で指導を受けて同じELISA法のプロトコールにて、タイNIHの協力を得て実施した。

(倫理面への配慮)

タイ国側については、タイ保健省倫理委員会の定める倫理規定に沿って研究を実施している。参加研究者全員の合意を得た研究プロトコールを作成し、タイ国保健省倫理委員会および関連研究施設の倫理委員会に提出し、今回のプロトコールも正式な研究として承認を得た。

また、日本の臨床研究に関する倫理指針(平成20年厚生労働省告示第415号)、疫学研究に関する倫理指針(平成19年文部科学省・厚生労働省告示第1号)、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成16年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)に従った。

本研究に参加する患者については、担当医師による十分な説明の後、書面によるインフォームドコンセントを得た。研究を通して得られた個人情報厳密に管理し、参加研究者以外のものが内容を知り得ることはない。現在までの日泰間の共同研究でこれらの基本原則を遵守し、更に、検体等の日泰間の移動等に関しては文書での Material Transfer Agreement 等を結び、知的財産権(パテント)等の問題も含め国際共同研究に関連した倫理的な問題に配慮してきた実績がある。コホートの参加者にはインフォームド・コンセントに基づく自発的な参加を実施し、参加者のフォローアップにも強制は加えなかった。なるべく、医療的な利益が参加者に得られる様に、タイ保健省の発行する国民健康保険への参加の支援等を行っている。

### C. 研究結果

倫理委員会の承認にて実施されている患者の stage や治療を詳細に解析する前向きコホート研究で、PPD-tuberculin と 結核死菌(H37Ra)で Stimulation し培養した検体を活用して検討を進めた。現在までの解析した人数を表 1 に示したが、正常タイ人 20 人、通常非難治性の初回結核 23 例、難治性結核 47 例(再発例 17 例、治療失敗例 26 例、慢性排菌例 4 例)が解析されている。図 2 に結核患者 PBMC を H37Ra 刺激した In vitro 培養上清中グラニューライシン濃度を示した。正常タイ人コントロール(n=10)では中央値が 0.27、新規結核患者では 1.11 であったが、再発例(n=17)で 0.87、治療失敗例(n=26)で 0.80、

慢性排菌例(n=4)で 0.56 であり、グラニューライシン産生能が低下しているという知見が得られた。PPD-tuberculin で刺激した群でも同様であった。これは、岡田班長が日本において発見した、特に多剤耐性結核患者で CD8 陽性キラーTリンパ球内のグラニューライシンの低下等の知見と矛盾しない。後ろ向きコホートの検体バンクでの測定では、岡田班で結核患者の血漿中グラニューライシン値は正常人よりも難治性結核で高値であった。尚、グラニューライシンのみならず、インターフェロン $\gamma$ においても同様な解析をしているが、すべての群で統計学的に有意な所見は得られていない。PPD-tuberculin の群を図 3 に示す。

表 2 に難治性結核症における北京株の割合とタイ国の新規結核菌の全国レベルの 20.8% [Dhanida Rhienthong et al, 2005] に比したオッズ比を求めた。難治性結核患者の結核菌は北京株(Beijing family) が 52.7% と高く、オッズ比は再発例 OR=5.5(95%信頼区間 2.5-13.1)、治療失敗例 OR=2.5(95%信頼区間 1.02-6.3) と有意に高かった。多剤耐性結核菌の北京株は更に高く 66.7% であった。バンコクでの結核性髄膜炎からの症例でも北京株が有意に比率が高いことから、タイにおいて北京株はより病原性が高い可能性がある。

### D. 考察

岡田班長は CD8 陽性キラーT で in vitro で発見した現象(TB 患者や MDR-TB 患者ではキラーTリンパ球内のグラニューライシンや in vitro 培養上清中 Gra が低下) と矛盾しない、慎重な考察が必要である。岡田班長の志向する「免疫賦活療法」の研究開発には、研究開発のボランティアの対象となる難治性結核患者で、指標となる免疫マーカーが変化しているかどうか突き止めて、次に免疫賦活療法がそれを指標として活用できるか検討するステップが必要と指摘された。今後は、今回測定した免疫マーカーがその様な意義に活用できるか検討を進めたい。

日本の輸入感染症としての結核対策の為、これらの菌の薬剤耐性・DNA指紋分析パターンの日本での結核例、特にタイ人を含む外国人発症事例との比較検討を過去10年間の結核菌株を保存(結核菌は年500-600検体、2007年は592検体、2008年は512検体)している複十字病院臨床検査部の保存検体から採し比較検討を始めている。逆に少数であっても、日本人のタイからの輸入例がないか上記の過程で同定する。日本でも、VNTRでの分子疫学研究が中心となりつつあるが、タイでもVNTRの有効性が証明された[Thong-On A, et al 2010 in press]。結果を日本、特に日本での外国人結核症例と比較して、輸入感染症としての結核の可能性を検討する。

本岡田班は、前回と継続してアジア地域との研究ネットワーク活用による研究開発を志向しており、現地での研究基盤が欠かせない。タイ国では、タイ赤十字が製造しているBCGは東京株を使用しており、2009年に供給不足が予想された際は、最終的には回避できたが、いち早く日本BCG研究所に購入を申し込んでいる。またBCGリコンビナントにてHIVワクチンを開発してきた事より、結核ワクチンの開発に関して興味を持っている。岡田班長はアジアにおける数少ない結核ワクチンの開発者であり、共同研究の意義は深い(図4)。

E. 結論

北タイ・チェンライ県において、難治性結核患者(多剤耐性・再発・治療失敗例)の検体バンク、コホート研究を継続している。輸入感染症としての側面を検討するため、結核菌側のDNA解析を進めている。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表  
該当なし
2. 学会発表
  1. 野内英樹、山田紀男、吉山崇結核症再登録42例における初回発症時とのRFLPパターンと薬剤耐性状態の経時的分析 第84回日本結核病学会総会(要望演題 多剤耐性結核 演題番号41)、札幌、2009年7月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他  
該当なし

図1 結核の感染・発病と治療転帰

