

休眠期発現蛋白質による持続性潜在結核菌感染を検出する診断法の開発

方法 酵素抗体法 (EIA) による血清IgG抗体検出

抗原 増殖期に発現が増大する結核菌蛋白質: ESAT6, CFP10, Antigen 85A, Antigen 85B

休眠期に発現が増大する結核菌蛋白質: MDP1, Acr, HBHA, HrpA

血清 健常対象者: 大阪市立大学医学部・学生 (n=17)
活動性肺結核患者: 刀根山病院ならびに大阪社会医療センターの結核患者 (n=18)
治癒後陳旧性 (潜在性) 肺結核: 刀根山病院の結核治療歴のある患者 (n=31)

ヒト肺結核肉芽腫における結核菌蛋白質の発現 -抗MDP1抗体は潜伏結核菌 (特に、乾酪壊死) を検出する-



HE染色



抗酸性 (Ziehl-Neelsen) 染色



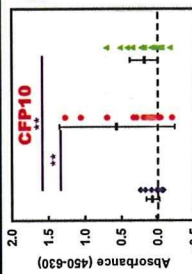
抗MDP1-IgG抗体



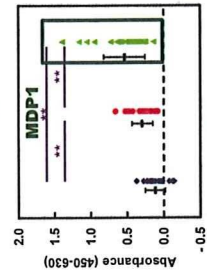
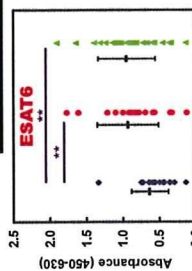
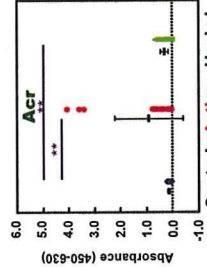
抗Acr-IgG抗体

結核菌蛋白質に対する血清抗体応答

分裂増殖期結核菌: ESAT6, CFP10

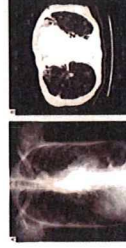
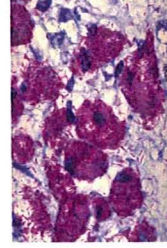


休眠期結核菌: MDP1, Acr



非結核性抗酸菌 (NTM) 感染症の概要

- 結核を含む抗酸菌感染症の約 10-20% を占める
- NTM感染症で最頻は *M. avium complex* (MAC) である、約70-80%
- MACは環境菌であり、水、土壌や動物に普遍的に存在する
- ヒト-ヒト感染はほとんどない
- 病変: 肉芽腫炎症、気管支拡張、播種性、部位では肺に多い
- MACは薬剤耐性であり、治療は難渋
- 診断はアメリカ合衆国胸部疾患学会・感染症学会の診断基準 (2007) によるが、臨床 (症状や画像所見) と微生物学的所見 (培養) を加味するため、確定診断に少なくとも1ヶ月を要する



迅速・簡便な診断方法の開発が希求されている

MAC由来糖ペプチド脂質 (GPL) 核抗原



GPL 核: 31血清型MACに共通な主要抗原部分

GPL保有: **MAC** および *M. scrofulaceum* (MAIS)
遅発発育菌; *M. chelonae* や *M. fortuitum*
迅速発育菌

GPL非保有: 結核菌群 (BCGを含む)

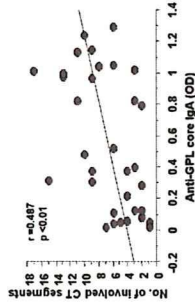
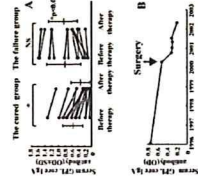
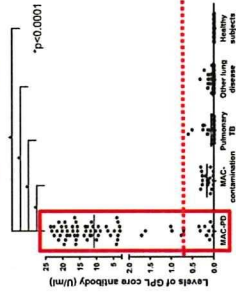
抗GPL核抗体検出によるMAC感染症の血清診断の開発



活動性肺MAC感染症の血清診断 (国内多施設) -血清GPL抗体価-

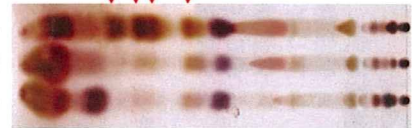
所要時間: 約3時間
Cut off値: 0.7 U/mL
感度: 84.3%
特異度: 100%

診断 疾患活動性 病変の広がり



休眠性環境とMAC-GPL生合成

Glucose (%)
2 0.2 0



Glucose 非存在下: GPL 増加
低酸素状態: GPL 減少

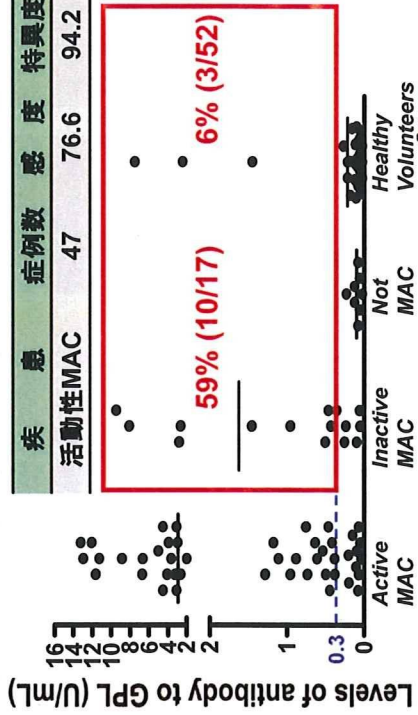
GPL は休眠環境状態への移行により発現
が変化する

非結核性抗酸菌の休眠性・潜在性にGPLの
存在が影響を与えている可能性

肺MAC感染症の多民族・地域評価

Participants: 124 (54.2 ± 16.9 y.o., F/M = 96/28), HIV-negative
Races: 110 Caucasians, 8 Asians, 3 African Americans, 3 others

疾患	症例数	感度	特異度
活動性MAC	47	76.6	94.2



研究結果の総括

#13/14

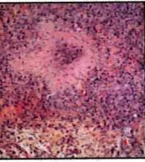
- ・基礎研究：
 - 低酸素休眠期抗酸菌に発現する遺伝子群を網羅的解析（マイクロアレイ）・同定し、休眠期発現蛋白質抗原を精製した。
 - 休眠期結核菌が発現する遺伝子群及び再活性化に関与する遺伝子のDNAライブラリーを完成し、宿主免疫応答の解析を開始した。
 - MAC細胞壁糖ペプチド脂質（GPL）合成の制御を解明した。
- ・橋渡し研究：
 - 休眠期発現抗原を用い、持続潜在性結核菌感染の診断について予備的臨床評価を実施した。
 - MAC-GPLを抗原とした迅速血清診断キットは国内外・多民族・多地域活動性MAC感染症の診断に有用であった。しかし、持続潜在性MAC感染に関する有用性は今後の検討課題である。
 - MAC感染症-迅速診断キット（酵素抗体法）の承認申請した。



今後の課題

#14/14

- ・基礎研究：
 - 性抗酸菌感染の動物実験モデルの確立
 - 休眠期抗酸菌の発現遺伝子・分子の解析
 - 休眠期遺伝子に対する宿主免疫応答の解析
 - 休眠期遺伝子・分子を用い、ワクチン候補を探索
 - 持続性MAC感染における遺伝子・分子制御の解明
- ・橋渡し研究：
 - 持続潜在性結核菌・MAC感染者（50症例）を登録し、新規診断による免疫診断法（抗体および細胞性免疫）を開発
 - 関節リウマチ患者（50症例）における持続性抗酸菌感染を検出
 - MAC感染症-迅速血清診断キット（酵素抗体法）の承認



平成 21 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：罹患構造の変化に対応した結核対策の構築に関する研究

課題番号：H20-新興-一般-011

研究代表者：石川信克

I. 研究の意義

今後の日本での結核低まん延化によって起こる罹患構造の変化に対応した有効かつ効果的な結核対策を、患者/菌/医療/行政の多面的観点から考察し、新たに構築提案を行う。

II. 研究の目的、期待される成果

医療・対策評価と実施体制整備・リスク集団対策・病原体サーベイランス体制の運用確立をめざした研究を行い、今後の厚生労働行政に直接的に役立つ成果が得られるものと期待される。

III. 2 年間の研究成果

・研究代表者(石川信克)：研究全体の推進・調整・統括を総合的な視点から行った。当事者情報の収集や、対策専門家の育成に関する検討も行った。

・研究分担者

(1) 御手洗 聡：①病原体サーベイランス構築のため、私企業検査センターの臨床分離結核菌株と付随情報を収集して解析し、サーベイランスデータとして応用できる可能性を示した。②地方衛生研究所のネットワークを基に、地域レファレンス機能の結核への応用について検討。兵庫県の分離結核菌について病原体サーベイランスの構築を試み、情報の収集に有用であることを示した。③結核菌検査・保管施設の運営を開始し、これを利用して日本国内での標準的 VNTR 法の開発や、日本国内での多剤耐性結核菌に対する二次抗結核薬や Rifabutin の効果の評価、日本国内での *M. bovis* 感染の頻度の解析、Solid Phase Line Probe assay キットの精度評価などを実施した。

(2) 坂谷 光則：①全国国立病院機構の臨床分離結核菌株を VNTR 遺伝子タイピング（現在合計 781 株）し、解析中。うち 521 株中 134 名 (25.7%) がクラスターを形成した。また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。②結核菌送付/検査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い、薬剤感受性結核菌送付可 93%可、自施設で薬剤感受性検査実施 86%等の結果であった。

(3) 阿彦 忠之：①山形県の最近 3 ヶ年の菌陽性肺結核患者全例を対象に背景因子/発見の遅れを分析し、低まん延かつ高齢者への偏在化が進む状況下での結核早期診断と施設内感染予防の方策を提案した。②「結核の接触者健診の手引き第 3 版」の再改訂と「質疑応答集」の作成中である。

(4) 伊藤 邦彦：①今後の結核病棟制度検討の資料とするため、モデル病床運営の問題点を明らかにし米国における結核医療の総合病院への統合過程について調査した。②治療に協力的で

ない患者に対する法的強制力の必要性をアンケート調査を基に明らかにした。また米国での法規を医学的観点から調査中。③新しい予防内服方式 3HR で予想される副作用調査のため、過去の 6HR 症例について検討中。④医療の質の指標として各自治体の RFP 永久中断率を指標とする方針の予備的検討を行った。

(5) 重藤 えり子：①結核病床では診療が困難な合併症について医療現場での現状を明らかにした。②専門施設と地域医療機関の治療連携を強化する目的で連携パスの作成して地域で施行を開始した。③結核病床の運営上の問題点や保険診療で結核診療を行う時の問題点を明らかにした。④結核の治療困難者について、特に多剤耐性患者/慢性排菌者の療養についての現状と担当者の考え方を明らかにした。

(6) 大森 正子：①わが国の結核疫学サーベイランスについて分析し今後のサーベイランスのあり方について提言した。②平成 20 年結核登録者情報調査年報を分析し、罹患構造の変化/死亡の実態/外国人結核の動向を明らかにし、薬剤感受性情報把握への提言を行った。③結核登録者情報調査年報を罹患構造の変化を分析し、その結果を結核対策に迅速にフィードバックする方法を確立した。④都市結核対策の視点で患者のリスクアセスメント方法を開発し患者の服薬支援に応用、中リスク群の支援方法・頻度の選択に効果を示した。

(7) 吉山 崇：①結核対策について 4 つの県・自治体のレビューを行い、レビューの原案に変更を加えた。②同じ程度の問題の自治体との比較により、自治体での結核対策優先策の提言を行った。

(8) 加藤 誠也：①ノルウェー、米国ニューヨーク及びニュージャージーの視察を行い、低まん延下の対策に関する有用な知見を得た。②前年、本年ともに結核対策指導者養成研修(結核研究所)の修了者のワークショップを開催、最新情報提供と今後の対策の議論を行った。

(9) 下内 昭：米国が行っているブロック別自治体結核担当官会議に参加し、低まん延下の地域で、目標設定とその達成を検討するワークショップの有効な情報を収集した。

(10) 吉田 英樹：①大阪市でホームレスを対象に、あいりん健診および外来患者への結核検診を実施、結核発見率はそれぞれ 0.79%および 2.6%であった。②診断前日にシェルターに宿泊していたホームレス結核患者の 1/3 が塗抹陽性であり集団感染のリスクが明らかになった。④ホームレスで結核入院治療中自己退院者の検討を行った。自己退院なしと比べ、治癒・治療完了者が少なく、脱落中断例、病気の理解の欠如、入院生活上の不満が有意に多かった。彼らを退院後の DOTS に導入することは困難であった。

IV. 22 年度の課題

過去二年間の成果を基に最終年度では各研究の最終的結果を総合し今後の低まん延状況下におけるわが国の今後の結核対策の青写真を描くことが可能となるような総括を行う。

V. 行政施策への貢献の可能性

今後の低まん延下における結核対策構築に向けた様々な提案や有用な資料の発表が多数なされており、病原体サーベイランス構築に関する検討試行も開始され、今後の結核対策に直接寄

与し得るものと思われる。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

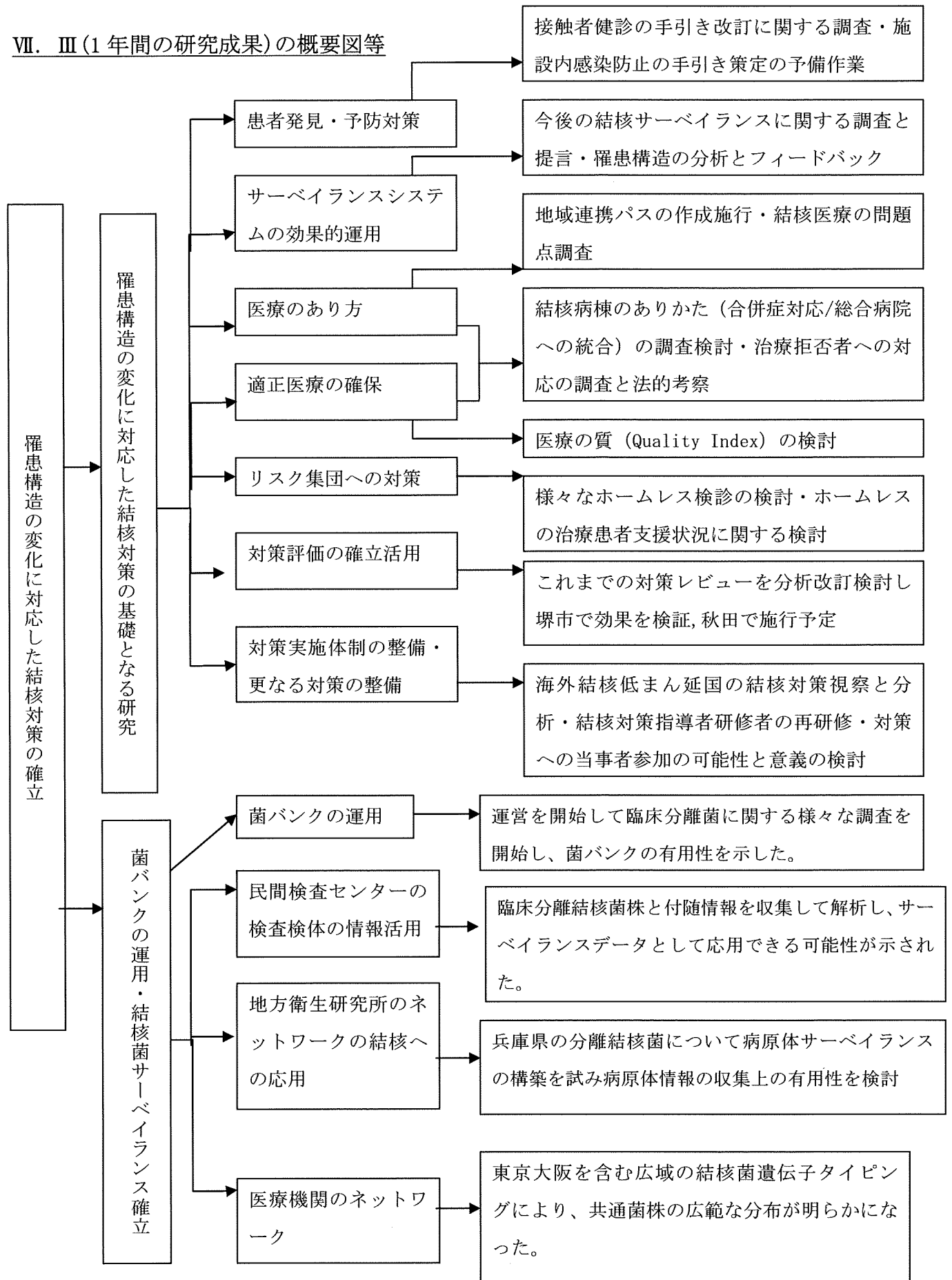
石川信克：①石川信克. 社会的弱者の結核. 結核 2009;84:545-550, ②石川信克. 世界の結核の現状と日本の役割. 日本胸部臨床 2009 ; 68:389-394. ③Rony Zachariah, Anthony D Harries, Nobukatsu Ishikawa, et al. Operational Research in Low-income Countries: What , Why, and How?, Lancet. 2009; 9:711-717.

御手洗聡：①前田伸司, 御手洗聡. 結核菌の分子疫学研究の現状と課題. 公衆衛生学会雑誌 2009; 56: 48-51.

②Yamada H, Mitarai S, et al. Novel freeze-substitution electron microscopy provides new aspects of virulent *Mycobacterium tuberculosis* with visualization of the outer membrane and satisfying biosafety requirements. J Microbiol Methods. 2009 Sep 29. [Epub ahead of print]. ③Ando H, Mitarai S, et al. Pyrazinamide resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Japan. Clin Microbiol Infect. 2009 Oct 14. [Epub ahead of print]. ④水野和重, 御手洗聡, 他. 発光ダイオードを使用した蛍光顕微鏡による抗酸菌塗抹検査精度. 結核 2009 ; 84 : 627-628. ⑤近松絹代, 御手洗聡, 他. 多剤耐性結核菌における Rifampicin と Rifabutin の交差耐性の検討. 結核 2009 ; 84 : 631-633. 坂谷光則：

①松本智成, 坂谷光則, 他. 大阪・東京・宇部・愛媛における薬剤感受性結核菌の分子疫学解析. 実験結核 2009; 79, 24-26. ②吉田志緒美, 鈴木克洋, 坂谷光則, 他. 結核. 2009; 84: 15-21. 阿彦 忠之：阿彦 忠之・森亨(編), 石川信克(監修). 感染症法に基づく結核の接触者健康診断の手引きとその解説(平成21年改訂版). 結核予防会, 東京, 2009年1月. 伊藤邦彦：①伊藤邦彦. 病院看護師に対する定期的QFT-2G検査の発病予防効率. 結核. 2009; 84(11) : 709-712. ②伊藤邦彦. 米国における結核医療の総合病院への統合. 結核(投稿中). 重藤 えり子：①重藤えり子. 連携パスによる地域DOTSの展開. 結核(印刷中). 大森正子：①大森正子：わが国の結核対策の現状と課題(11)「結核の発生動向調査-これまでとこれから」. 日本公衛誌 56. 530-534; 2009. ②大森正子：結核の統計2009を読む-わが国の結核の現状と課題-. 複十字 329. 4-7; 2009. ③山田万里, 大森正子, 他新宿区保健所におけるリスクアセスメント表を用いた服薬支援. 結核 85. (In press) 2010. 加藤誠也：①加藤誠也. 低蔓延時代の結核対策の保健・医療組織と人材育成の課題. 日本公衆衛生学会雑誌 2009; 56 (7) : 481- 484. ②加藤誠也. 現場を支える結核対策指導者養成研修の現状と課題. 公衆衛生 2009; 73: 180- 183. ③加藤誠也, 他. 低まん延下に向けた結核対策のあり方. 結核 2009; 84: 91-94. 下内昭：①下内昭, 甲田伸一, 廣田 理, 松本健二. 大阪市の結核集団接触者健診の評価, 2009;84. 491-497. ②松本健二, 福永淑江, 門林順子, 有馬和代, 下内昭. 「受診の遅れ」に関する検討, 結核, 2009;84:523-529. ③Takayuki Wada, Sami Fujiwara, Akira Shimouchi, Makoto Harada, Hisashi Ogura, Sohkiichi Matsumoto, Atsushi Hase. High transmissibility of the modern Beijing *Mycobacterium tuberculosis* in homeless patients of Japan, Tuberculosis, 2009; 89: 252-255. ④下内昭. 大阪市における都市結核問題への闘いと成果, 結核, 2009; 84: 727-735.

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等



○研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

*過去に所属した研究機関の履歴

- ・結核予防会結核研究所 (1967-現在)
- ・東京大学医学部公衆衛生学教室 (非常勤講師: 1986-2007)
- ・London School of Hygiene and Tropical Medicine (1974-76)

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- ・岩崎龍郎 (故人: 元結核予防会結核研究所所長)、島尾忠雄 (結核予防会結核研究所所長、現エイズ予防財団会長)、青木正和 (元結核予防会結核研究所所長、現同会会長)、森亨 (結核予防会結核研究所名誉所長)
- ・J. N. Morris (LSHTM、ロンドン大教授 1974-76), Ian Sutherland (BMRC 医学統計ユニット長 1974-76)
- ・Kenneth Casstro (米 CDC 結核制圧課長)
- ・Lee Reichman (米ニュージャージー大教授国家結核センター長)
- ・Martin Schweiger (英 HPALeeds 地区感染症専門官)
- ・Donald Enarson (IUATLD 研究部長 1990-現在)
- ・Mustaque Chawdhry (バングラデシュ BRAC 大学公衆衛生学教授 1990-現在)
- ・Akramul Islam (バングラデシュ BRAC 結核対策部長、1984-現在)
- ・Jacob Kumaresan (元 WHOHQ 結核部、現 WHO 神戸センター長 2000年~現在)
- ・小野崎郁史 (WHOHQ StopTB 部医官 2007~現在)

・主な研究課題

- ・結核病学 (結核の疫学及び対策)
- ・国際保健学 (住民参加と地域 DOTS)

・これまでの研究実績

1. 石川信克: 社会的弱者の結核—人間の安全保障の視点から 結核. 2009;84:545-550.
2. 石川信克: 世界の結核の現状と日本の役割. 日本胸部臨床 2009; 68:389-394.
3. Rony Zachariah, Anthony D Harries, Nobukatsu Ishikawa, et al.: Operational Research in Low-income Countries: What, Why, and How? : Lancet. 2009; 9:711-717.
4. 石川信克: わが国の結核対策の現状と課題 〈3〉『世界、日本の結核の疫学と課題』. 日本公衆衛生雑誌 55(11): 791-794, 2008
5. Ngamvithayapong-Yanai J., Ishikawa N.: The role of social science research in reducing the burden of tuberculosis in high HIV prevalence settings: Tropical Medicine and Health. 34(1), 7-13, 2006.
6. 石川信克: 公衆衛生の及びにくい人々の結核対策: 公衆衛生 70(2): 96-100, 2006.

7. Ohkado A., Williams G., Ishikawa N. et al.: The management for tuberculosis control in Greater London in comparison with that in Osaka City: Lessons for improvement of TB control Management in Osaka City urban setting. Health Policy 73, 104-123, 2005.
8. 石川信克:世界の結核問題にいかに関わるべきか—国際協力の課題と実践—:結核 80(2):89-94, 2005.
9. Islam M.A., Wakai S., Ishikawa N., et al.: Cost-effectiveness of community health workers in tuberculosis control in Bangladesh: Bull. World. Health Org. 80 : 445-450, 2002.
10. Ishikawa N. : Ethics of tropical medicine: people-centered health promotion, reflections from 20 years experiences of medical cooperation in Bangladesh” , Jpn. J. Trop. Med. Hyg. , 2000, Vol. 28, No.3 (第40回日本熱帯医学会会長講演:住民主体の健康づくり:熱帯医学の知のモラル— Bangladesh医療協力20年の経験より—) .
11. Islam M.A., Nakamura Y., Wonghkomthong S., Ishikawa N.: Involvement of community health workers in tuberculosis control in Bangladesh. Jpn. J. Trop. Med. Hyg. 27(2) : 167-173, 1999
12. 石川信克:日本の結核対策に学ぶもの:公衆衛生 63(3) : 170-174, 1999
13. 石川信克:外国人結核の背景と対策:結核 70(12) : 691-703, 1995
14. 石川信克:移住と結核:医学のあゆみ 123(10) : 905-914, 1982

主な著書 (共著)

1. (翻訳)保健と医療の人類学 調査研究の手引き (A. ハルドン他著) 世界思想社, 2004.
2. 国際保健の現代的課題. :「国際保健医療学 (日本国際保健医療学会編) 第2版」, 杏林書院 2005.
3. グローバルな視点から見た結核対策・国際協力. 「結核 (光山正雄編)」, 医薬ジャーナル, 2001.
4. 参加型アクションリサーチを用いた結核対策システムの開発:「小規模社会開発評価 (アユス NGO プロジェクト評価法研究会編)」. pp122-131, 国際開発ジャーナル, 1995.
5. “Go to the People”: 地球規模で考える健康と環境-国際保健への道 (土井陸雄編), 恒星社厚生閣, 1993.

罹患構造の変化に対応した 結核対策の構築に関する研究

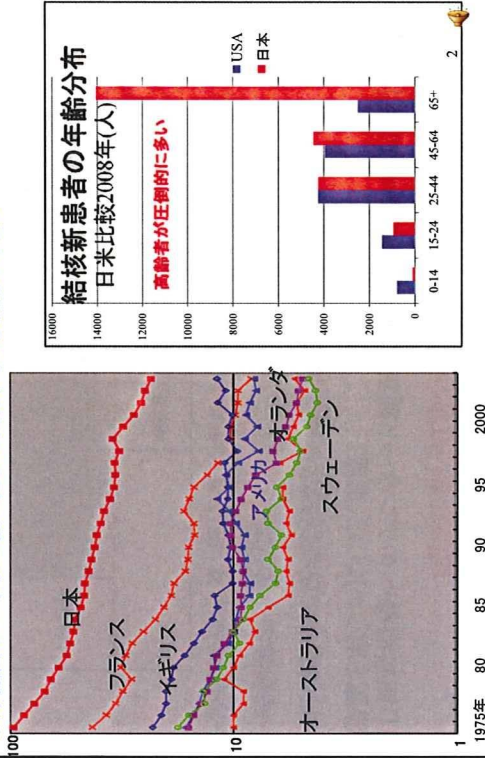
研究代表者：結核予防会結核研究所 石川信克

共同研究者：結核研究所

- (10名)
- ・抗酸菌シニアレンス部 (御手洗)
 - ・臨床疫学部 (伊藤、大森)
 - ・対策支援部 (加藤、下内)
 - ・結核予防会複十字病院 (吉山)
 - ・国立病院機構 (坂谷)
 - ・近畿中央病院 (重藤)
 - ・東広島医療センター (阿彦)
 - ・山形県健康福祉部 (吉田)
 - ・大阪市保健所

背景：日本の結核は2020年頃低まん延化(<10/10万)

欧米諸国は30年以上前に低まん延化、その後減少が鈍化



研究の目的

結核低まん延化に伴い様々な罹患構造の変化が起り、

新しい対策のあり方が必要



患者/菌/医療/行政等の多面的観点から
新たな結核対策の構築提言を行う

二つの柱

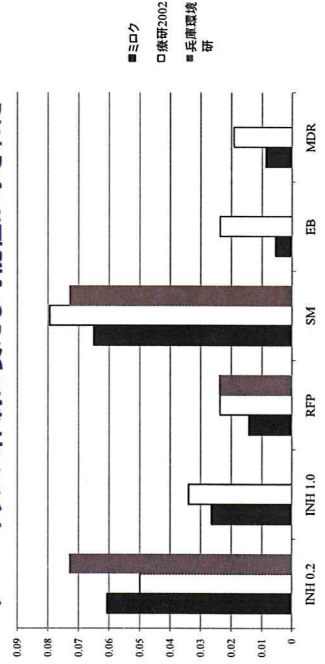
1. 病原体サーベイランス確立
2. 医療のあり方/体制全体のあり方

結核菌病原体サーベイランス体制のあり方

①薬剤耐性サーベイランス体制 (御手洗)

私企業検査センター/地方衛生研究所からの感受性検査情報

⇒サーベイランス体制に使える可能性が示された



結核菌病原体サーベイランス体制のあり方

② 医療機関ベースでの広域結核菌サーベイランス体制
(分子疫学)(坂谷)

・VNTR遺伝子タイピング分析による感染動態把握で

⇒計781株を分析

⇒クラスター形成率25.7%

⇒東京大阪間等広域地域に分布する共通菌株の
存在(特定強毒株まん延の可能性)

5

病原体サーベイランスに必要な 菌バンクのあり方

① 結核菌検査・保管施設(菌バンク)の運営施行(御手洗)

1万株を超える本邦臨床分離菌を収集し様々な研究に使用:

⇒標準的VNTR法の開発

⇒MDRR中XDR率調査

⇒*M.bovis*感染頻度解析

⇒検査キットのパフォーマンス解析 etc.

② 病原体サーベイランス/菌バンク運営上の(菌株輸送など)
問題の調査/提言(御手洗/坂谷)。

⇒多剤耐性菌輸送コスト:41,000~310,000円/1株

6

患者発見・予防のあり方

① 低まん延地域山形県の3年間の菌陽性肺結核患者全例の背景
因子/発見の遅れを分析(阿藤)

・若年者結核が大都市圏を經由している可能性

・介護医療サービスマス受給者からの発病/診断の遅れが目立つ。
⇒結核早期診断と施設内感染予防のガイドライン作成

	全体	59歳以下	60~69歳	70~79歳	80歳以上
菌陽性肺結核 新登録患者数	236	50	25	57	104
うち介護保険 サービス利用中 の発病・診断例	50	1	1	10	38
	(21.2)	(2.0)	(4.0)	(17.5)	(36.5)

2005-06年: 山形県 菌陽性肺結核新登録患者

② 接触者検診

・接触者検診のわが国における基準的「結核の接触者健診の手
引き第3版」の再改訂と「質疑応答集」作成

7

結核病棟制度のあり方 I

① 結核病棟へのアンケート調査により現行の結核病棟制度の
課題を明らかにした(重藤)

・結核病棟で診療困難な合併診療の実態

・保険診療上の問題点

・多剤耐性患者/慢性排菌者の療養についての現状調査

	施設数	病床数			
		10床以 下	11~20 床	21~50 床	51以上 床
実態あり	19	1	4	11	3
可能だが 症例なし	39	11	9	14	4
可能な体制 なし	56	21	9	21	3
合計	114	33	22	46	10

病床規模別多剤耐性結核の外科治療体制

8

慢性(感染性)細菌者に対する自宅療養/外出/外泊許可の実情

多剤耐性患者数別/重藤による

	施設数 合計	年間多剤耐性患者数			
		なし	1~4	5~	不明
自宅療養患者あり	21	4	13	4	0
外出・外泊を認めている	14	4	9	1	0
自宅療養も外出・外泊も認める	6	2	3	1	0
いずれも認めない	55	34	17	3	1
合計	96	44	42	9	1
自宅療養患者あり	27	6	16	5	—
外出外泊を認める	20	6	12	2	—

治療/治療の見込みの無い慢性細菌への対応は様々

9

結核病棟制度のあり方Ⅱ

- ② 総合病院への結核医療統合可能性の予備調査
- ・米国における結核医療の総合病院への統合過程についての文献レビュー(伊藤)

Date of survey	Types of facilities used for the hospitalization of TB patients			Total
	TB hospital only	General Hospital only	Both	
1971/Sep	20	5	23	48
1973/Sep	17	15	14	46
1981/May	0	35	15	50

米国における結核医療の統合/全米で10年程度を要している

- ・モデル病床事業全国調査(伊藤)
- ・結核対策指導者養成研修修了者のワークショップによる今後の結核病棟制度討議と提案(加藤)。

10

治療に非協力的な患者への対応

- ① 治療中断者全国調査 (伊藤)
- ・多剤耐性を含む治療中断者が多く存在

登録時の状況	N	DST(薬剤感受性試験結果)	N	薬剤耐性			
				MDR	INH-R	RFP-R	Pan-R
培養陰性・培養陽性	125	DST known DST unknown	110 15	10 3	7 3	1 3	92 34
培養陰性・培養陽性	53	DST known DST unknown	40 13	3 1	1 1	6 6	
その他の菌陽性	32	DST known DST unknown	7 25				
菌陰性	51						
不明	7						

薬剤耐性菌結核菌多剤耐性菌患者(110人)9.1%が多剤耐性結核、16.4%がINH and/or RFPに耐性

- ② 診療担当者の対応の実情調査(重藤)。
- ・有効な法的強制力の必要性
- ③ 法学的考察(伊藤)

・結核医療における法的強制力の米国法文学文献レビュー

11

治療の質確保

- ① 結核医療の地域連携パス(重藤)
- ・作成と施行および評価
- ② 結核医療におけるQuality Index of Clinical Care (QI)作成(伊藤)
- ・サーベイランスデータを基にRFP投与断念率のばらつきを調査中
- ③ 結核医療全般のガイドライン作成(伊藤)
- ・ガイドラインのたたき台を作成発表(『結核診療プラクティカルブック』南江堂)

12

自治体の対策の質確保 結核対策レビュー(外部評価)

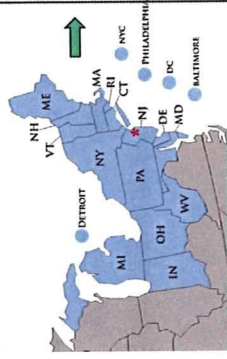
- ① 地方地自体における結核対策評価手法を作成(吉山);
- 5個所の県・自治体(大阪市・山形県・台東区・堺市・秋田県)の結核対策レビューを行い、レビュー方法原案を改定。
- 自治体の結核対策向上の有用なツールとなり得る。
- ② 米国の対策評価手法の調査(下内)

13

対策実施体制のあり方

低まん延状態のノルウェー／ニューヨーク市／ニュージャーシー州の視察(加藤)

・低まん延下の対策実施体制を、法規／医療体制／行政の役割等について詳細な情報を得た



医療相談

- ・ 北東部の結核対策担当者及び医療提供者を対象
- ・ 電話またはメール: 24時間ワンキングデーの中に返信
- ・ 相談件数は年間600-700件、毎週相談を受ける事例もある。
- ・ 研修と技術支援
- ・ 研修コース、web研修、現場研修、技術支援(研修教材、資源、講師、計画)
- ・ 多くの研修資料を作成してwebで公開

Regional Training and Medical Consultation Center (北東部地域)

リスク集団への対策のあり方

- ① 大阪市のホームレスを対象(吉田)
- あいりん健診および外来患者への結核検診を実施し、患者発見率=0.79%~2.6%と高く有効な方法が証明された。
- ホームレス結核患者の調査で、シエルターが感染まん延の場になっている可能性が示唆された

	簡易宿泊所	野宿	シエルター	ケアセンター
診断時培養状況	塗抹陽性培養陽性 17(57)	塗抹陽性培養陽性 3(10)	塗抹陰性培養陽性 5(13)	塗抹陰性培養陽性 1(10)
	塗抹陰性培養陰性 10(33)	塗抹陰性培養陰性 15(40)	塗抹陰性培養陰性 6(60)	塗抹陰性培養陰性 6(60)

ホームレス患者の診断前日居住場所 (括弧内%)

15

最終年の課題

多角的な研究成果を統合し、低まん延化に伴う結核の罹患構造の変化に対応した、総合的な今後の新しい結核対策のあり方への提言をまとめる。

16

平成 21 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：COPD 等における難治性感染症の病態把握等に関する研究課題番号：H20-新興-一般-012研究代表者：宮崎 義継**I. 研究の意義**

- (1) COPD 等における慢性壊死性肺糸状菌感染症は、ときに致死的な慢性の難治性感染症の一つであり、適正な治療等を検討するための明確な臨床診断指針を確立する。
- (2) 慢性肺アスペルギルス症は、治療開始と終了の目安となる客観的検査法がないため、適切な検査方法を構築する。
- (3) 本症の真菌学的、かつ、病理組織学的な病態を明らかにする。

II. 研究の目的、期待される成果

研究の目的および期待される成果

- (1) 診断基準の策定 → 臨床研究の推進。
- (2) 治療適応に使用できる診断法の開発 → 治療対象の明確化、予後・生活の質の改善、医療の効率化
- (3) 病態を解明し疾患概念の明確化により、新規診断法の開発・新規治療法の開発を促進。

III. 2年間の研究成果

・ 現在までの全体の成果。慢性壊死性肺アスペルギルス症の診断基準案を作成し、それに基づくレトロスペクティブ臨床研究を行い、細菌性肺炎との比較において有意に高率に認められる患者背景と症状に関する項目を見いだした。さらに、現行の基準案を用いたプロスペクティブ臨床研究が開始された。また、新規のアスペルギルス属の表面抗原と分泌抗原を同定し、診断応用を目的とした ELISA キットを作成し、来年度に臨床研究に供する。病態解明に関する成果も得た。

・ 研究代表者(宮崎義継)

(1) 慢性肺糸状菌感染症の診断基準案の策定

- 本邦と欧米における慢性肺糸状菌感染症に関して、慢性壊死性肺アスペルギルス症の臨床診断骨子案を作成した。

(2) 慢性壊死性肺アスペルギルス症の新規治療法開発

- *Aspergillus fumigatus* の細胞表面抗原に対するモノクローナル抗体を作成し、マウス感染症で延命効果を示した（特許申請準備中）。

臨床小班

・研究分担者（河野 茂）

(1) 患者背景因子に関する研究

- 基準案に合致した慢性肺アスペルギルス症は、60歳代に好発し、男女比2:1で、全例肺に基礎疾患を有し、肺結核後遺症とCOPDが多く、欧米とやや異なる傾向にあった。
- 白血球数は低い傾向にあり、CRP値、血沈は中等度であり、治療による変動が認められた。
- 遺伝的背景は、コーカサス人とはやや異なっている可能性が示唆された。

・研究分担者（二木芳人）

(1) 血清診断の評価

- β -Dグルカンの測定において、改良型MK法の有効性が示唆された。

(2) 画像診断の評価

- アスペルギローマ、慢性壊死性肺アスペルギルス症の画像比較では、新たなconsolidation出現は有意にCNPAに多かった。

・研究分担者（小川賢二）

(1) 慢性壊死性肺アスペルギルス症の症状と病原性に関する検討

- レトロスペクティブに59例の慢性肺アスペルギルス症の症状を調査し、40例（68%）に気道出血症状（血痰・喀血）を認めた。
- 出血症状の原因として菌産生エラスターゼの関与が示唆された。

(2) 細菌性肺炎（BP）との比較による慢性壊死性肺アスペルギルス症（CNPA）、アスペルギローマ（AP）の比較

- 血痰・喀血：CNPA群とAP群では、BP群と比較して有意に多かった。
- 発熱症状：AP群では、BP群およびCNPA群と比較して、有意に少なかった。

基礎小班

・研究分担者（安藤常浩）

(1) 手術例と剖検例における慢性壊死性肺アスペルギルス症の病態の病理組織学的検討

- 侵襲性肺アスペルギルス症と比較して、病変の中心（空洞あるいは菌糸塊）の周囲の組織において器質化巣を認め、菌糸の直接的な侵襲による進展は認めなかった。
- 器質化が、慢性壊死性肺アスペルギルス症の病態を修飾している可能性が示唆された。

(2) 剖検例における侵襲性真菌感染症の後方視的発生動向の解析

- 1990年頃までは、侵襲性真菌感染症（IFI）の原因真菌として *Candida* が主であったが、その後減少し、*Aspergillus* や接合菌による IFI が増加していることが確認された。血液疾患においては接合菌、呼吸器疾患においては *Aspergillus* が増加傾向にあった。

・研究分担者（亀井克彦）

(1) 血清成分が原因真菌の病原因子に及ぼす影響

- 宿主血清成分の添加が、*Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) の生育と、バイオフィルム様の、厚く強固な菌塊の形成・菌体外マトリクスの産生を促進することを見いだした。
- そのような病原因子に影響する血清成分として fetuin を同定した。

・研究分担者（渡邊 浩）

(1) 肺炎球菌のバイオフィルムと難治化要因に関する研究

- 肺炎球菌のバイオフィルムと関連した遺伝子として TIGR4 を同定した。

(2) *A. fumigatus* のバイオフィルムと難治化要因に関する研究（研究協力者 亀井克彦）

- 血清成分 fetuin が、*A. fumigatus* のバイオフィルムの促進に影響することを明らかにした。

・研究分担者（泉川公一）、研究協力者（掛屋弘）

(1) プロテインチップシステム・プロテオミクスによるアスペルギルス由来の新規抗原の検索

- 診断マーカーとなりうる新規抗原の候補蛋白として、ユビキチン様タンパクを同定し、当該蛋白の抗体の開発に成功した。

・研究分担者（山越 智）

(1) シグナルシーケンストラップ法を用いた *A. fumigatus* の分泌蛋白質の網羅的同定

- SST 法を用いて、10種類の新しい分泌蛋白質候補をスクリーニングした。
- 当該蛋白質に対する抗体を作製し、ELISA系を作製した。
- *A. fumigatus* において当該遺伝子 Y 1 のノックダウン株を作成した。

IV. 22年度の課題**(1) 診断基準の策定**

- ・ 患者背景、画像所見、症状、検査法に関する研究成果に基づき、診断基準案の見直しと策定を行う。

(2) 診断系の改良および開発

- ・ 作成したELISAキットの有用性を臨床検体により評価する。
- ・ β -Dグルカンの有用性について、改良型MK法による測定法で臨床研究する。
- ・ 慢性肺アスペルギルス症におけるガラクトマンナン抗原のcut-off値に関する検討

(3) 治療の有用性等の評価や、新規の診断系・治療の開発を目的とした病態解明

- ・ 病理学的解析では、気質化肺炎像を認め、病巣局所における菌の存在は必須ではないことが示され、アレルギー等の病態関与が示唆された。
- ・ バイオフィルムが難治性病態に及ぼす影響を検討し、新規の診断法・治療の開発に活用する。
- ・ 今年度作成した慢性壊死性肺アスペルギルス症マウスモデルの病理学的評価。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) ガイドラインへの成果反映による、COPD患者等での感染予防や生活の質の向上。
- (2) 効率的な診断系・治療の開発による、難治性真菌症の患者への利益。
- (3) 臨床研究の促進と治療ガイドラインへの発展により、医療資源の有効な活用に結びつく。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)**研究代表者**

1. 宮崎義継、河野茂、山口英世、芦澤和人、井内敬二、岡慎一、上昌広、亀井克彦、竹末芳生、田村和夫、戸塚恭一、前崎繁文、榎村浩一、三嶋廣繁、森雅亮、安岡彰、吉田浩一郎、吉田稔、渡辺彰. 抗真菌薬使用ガイドライン. 日本化学療法学会. 2009
2. Kaneko Y, Ohno H, Fukazawa H, Murakami Y, Imamura Y, Kohno S, **Miyazaki Y**. Anti-*Candida*-biofilm activity of micafungin is attenuated by voriconazole but restored by pharmacological inhibition of Hsp90 related stress responses. *Medical Mycology*, (in press)
3. Ohno H, Ogata Y, Suguro H, Yokota S, Watanabe A, Kamei K, Yamagoe S, Ishida-Okawara A, Kaneko Y, Horino A, Yamane K, Tsuji T, Nagata N, Hasegawa H, Arakawa Y, Sata T, **Miyazaki Y**. An outbreak of histoplasmosis among healthy young Japanese women after traveling to Southeast Asia. *Inter. Med* (in press)
4. Kaneko Y, Ohno H, Imamura Y, Kohno S, **Miyazaki Y**. The effects of an hsp90 inhibitor on the paradoxical effect. *Jpn J Infect Dis*. Sep;62(5):392-3. 2009
5. Kakeya H, **Miyazaki Y**, Senda H, Kobayashi T, Seki M, Izumikawa K, Yanagihara K, Yamamoto Y, Tashiro T, Kohno S. Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in comparison with amphotericin B, liposomal amphotericin B, and micafungin against murine pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 52(5):1868-70, 2008
6. Kakeya H, **Miyazaki Y**, Senda H, Kobayashi T, Seki M, Izumikawa K, Yamamoto Y, Yanagihara K,

Tashiro T, Kohno S. Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in a murine model of systemic cryptococcosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 52(5):1871-2, 2008

研究分担者

・河野茂

1. Saijo T, Miyazaki T, Izumikawa K, Mihara T, Takazono T, Kosai K, Imamura Y, Seki M, Takeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, **Kohno S**. Skn7p Is Involved in Oxidative Stress Response and Virulence of *Candida glabrata*. *Mycopathologia*. 2009
2. **Kohno S**. High mortality in invasive aspergillosis: what we need to know for determination of poor prognosis and next countermeasures. *Clin Infect Dis*. 47: 1185-1187, 2008
3. Niki Y, Hanaki H, Yagisawa M, **Kohno S**, Aoki N, Watanabe A, Sato J, Hattori R, Koashi N, Kozuki T, Maruo A, Morita K, Ogasawara K, Takahashi Y, Watanabe J, Takeuchi K, Takahashi M, Takeda H, Ikeda H, Kaneda H, Niitsuma K, Saito M, Koshihara S, Kaneko M, Itabashi S, Miki M, Nakanowatari S, Honda Y, Chiba J, Takahashi H, Utagawa M, Kondo T, Kawana A, Konosaki H, Aoki Y, Chonabayashi N, Ueda H, Sugiura H, Ichioka M, Goto H, Aoshima M, Okazaki M, Ozawa T, Horiuchi F, Yoshida T, Tsukada H, Kobayashi S, Yoshikawa H, Imai Y, Aoki N, Honma Y, Yoshida K, Takaya M, Kurokawa Y, Kuwabara M, Fujiue Y, Ishimaru T, Matsubara N, Kawasaki Y, Tokuyasu H, Masui K, Shimizu E, Yoneda K, Negayama K, Ueda N, Ishimaru M, Nakanishi Y, Fujita M, Honda J, Kadota J, Hiramatsu K, Aoki Y, Nagasawa Z, Suga M, Muranaka H, Kohno S, Yanagihara K, Fujita J, Tateyama M, Totsuka K: The first nationwide surveillance of bacterial respiratory pathogens conducted by the Japanese Society of Chemotherapy. Part 1: a general view of antibacterial susceptibility. *J Infect Chemother* 14: 279-290, 2008
4. Saijo T, Izumikawa K, Takazono T, Kosai K, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Seki M, Takeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Fukushima K, **Kohno S**: A case of Legionella pneumophila pneumonia followed by invasive aspergillosis. *Jpn J Infect Dis* 61: 379-381, 2008
5. Izumikawa K, Zhao Y, Motoshima K, Takazono T, Saijo T, Kurihara S, Nakamura S, Miyazaki T, Seki M, Takeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Hayashi T, **Kohno S**: A case of pulmonary cryptococcosis followed by pleuritis in an apparently immunocompetent patient during fluconazole treatment. *Med Mycol* 46: 595-599, 2008
6. Nakamura S, Izumikawa K, Seki M, Fujimoto K, Mishima K, Takeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Mizuta Y, Kitaoka T, **Kohno S**. Reversible visual disturbance due to cryptococcal uveitis in a non-HIV individual. *Med Mycol*. 46: 367-70, 2008.

・二木芳人

1. K Takemoto, Y Yamamoto, Y. Ueda, K. Kanazawa, K. Yoshida, **Yoshihito Niki**. Comparative Study on the Efficacy of Liposomal Amphotericin B and Voriconazole Pulmonary Aspergillosis Model. *Chemotherapy* 55:105-113, 2009
2. 吉田耕一郎・小司久志・二木芳人。(1→3)- β -D-グルカン測定の問題点と進歩。日本医真菌学会雑誌 第49巻:75-80. 2008

・小川賢二

1. 小川賢二：真菌感染症診療の実際。深在性真菌症 5(2):34-35, 2009

・安藤常浩

1. Greene R, Shibuya K, **Ando T** : Aspergillus fumigatus and Aspergillosis. Chapter 27 Histology and

Radiology 353-362 Edited by J.-P. Lage and W. J. Steinbach ASM Press, Washington, DC. 2009

2. 安藤常浩. アスペルギルス症. 日本臨床 ; 第66巻・第12号 2345-2349. 2008
3. 安藤常浩. 「慢性壊死性糸状菌感染症、とくにアスペルギルス感染症における病理組織学的研究、文献上の病態の解析の変遷とともに」厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業 COPD等における難病性感染症の病態把握等に関する研究 平成20年度総括・分担研究報告書 29-31 平成21年3月

・ 亀井克彦

1. Takayama A, Itano EN, Sano A, Ono MA, **Kamei K**: An atypical *Paracoccidioides brasiliensis* clinical isolate based on multiple gene analysis. *Med Mycol* 19: 1-9. 2009
2. Toyotome T, Adachi Y, Watanabe A, Ochiai E, Ohno N, **Kamei K**: Activator protein 1 is triggered by *Aspergillus fumigatus* beta-glucans surface-exposed during specific growth stages. *Microb Pathog*, 44(2): 141-150, 2008.
3. Toyotome T, Adachi Y, Watanabe A, Ochiai E, Ohno N, **Kamei K**: Activator protein 1 is triggered by *Aspergillus fumigatus* beta-glucans surface-exposed during specific growth stages. *Microb Pathog* 2008, 44(2): 141-150. Oarada M, Tsuzuki T, Gono T, Igarashi M, Kamei K, Nikawa T, Hirasaka K, Ogawa T, Miyazawa T, Nakagawa K, Kurita N: Effects of dietary fish oil on lipid peroxidation and serum triacylglycerol levels in psychologically stressed mice. *Nutrition* 24(1): 67-75, 2008.
4. Takahashi H, Takahashi-Kyuhachi H, Takahashi Y, Yarita K, Takayama A, Inomata T, Sano A, Nishimura K, **Kamei K**: An intrafamilial transmission of *Arthroderma benhamiae* in Canadian porcupines (*Erethizon dorsatum*) in a Japanese zoo. *Med Mycol* 46(5): 465-473, 2008.
5. Sugiyama K, Sano A, Murakami M, Ogawa T, Mishima H, Otake H, **Kamei K**, Sugiyama: Three isolations of *Chaetomium globosum* from erythematous epilation of canine skin. *Med Mycol* 46(5): 505-510, 2008.
6. Ochiai E, **Kamei K**, Watanabe A, Nagayoshi M, Tada Y, Nagaoka T, Sato K, Sato A, Shibuya K : Inhalation of *Stachybotrys chartarum* causes pulmonary arterial hypertension in mice. *Int J Exp Pathol* 89(3): 201-208, 2008.

・ 渡邊 浩

1. Kuroki R, Kawakami K, Qin L, Kaji C, Watanabe K, Kimura Y, Ishiguro C, Tanimura S, Tsuchiya Y, Hamaguchi I, Sakakura M, Sakabe S, Tsuji K, Inoue M, and **Watanabe H**. Nosocomial bacteremia caused by biofilm-forming *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*. *Intern Med*, 48:791-796, 2009.
2. Gotoh K, Qin L, Watanabe K, Anh DD, Huong PLT, Anh NTH, Cat NDL, Ha LL, Ai LTT, Tien NM, Minh TT, Oishi K, and **Watanabe H**. Prevalence of *Haemophilus influenzae* with resistant gene isolated from young children with acute lower respiratory tract infections in Nha Trang, Vietnam. *J Infect Chemother*, 14: 349-353, 2008.
3. Kaji C, Watanabe K, Apicella MA, and **Watanabe H**. Antimicrobial effect of fluoroquinolones for the eradication of nontypeable *Haemophilus influenzae* isolates within biofilms. *Tohoku J Exp Med*, 214: 121-128, 2008.

・ 泉川公一

1. Takazono T, **Izumikawa K**, Mihara T, Kosai K, Saijo T, Imamura Y, Miyazaki T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kohno S. Efficacy of combination antifungal therapy with intraperitoneally administered micafungin and aerosolized liposomal amphotericin B against murine invasive pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 53(8):3508-10. 2009

Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等

