

201028032A

厚生労働科学研究研究費補助金
新型インフルエンザ等
新興・再興感染症研究事業

結核対策の評価と 新たな診断・治療技術の 開発・実用化に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

平成 23(2011)年 3 月

研究代表者 加藤 誠也

目 次

I.	総括研究報告		
	結核対策の評価と新たな診断・治療技術の開発・実用化に関する研究		
		加藤 誠也	1
II.	研究分担報告		
	1. …薬剤耐性の実態調査	山岸 文雄	31
	2. 新化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価	岡田 全司	45
	3. 結核菌検出・薬剤感受性検査の技術開発と評価	切替 照雄	67
	4. 小児結核対策・医療の評価	徳永 修	73
	5. 免疫脆弱集団（高齢者・小児・H I V等）における感染診断の評価		
		原田 登之	136
	6. 結核菌の感染性・病原性の評価方法の開発	御手洗 聡	141
	7. 結核菌の VNTR 標準分析法の確立と自動化を目指した分析システムの構築		
		前田 伸司	146
	8. 日本版 DOTS の技術強化	小林 典子	151
	9. 結核病床の実態調査	伊藤 邦彦	162
	10. 院内 DOTS 業務量調査	加藤 誠也	256
III.	研究成果の刊行に関する一覧表		391
IV.	研究成果の刊行物・別刷		397

I 総括研究報告書

厚生労働省科学研究補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

平成 22 年度総括報告書

結核対策の評価と新たな診断・治療技術の開発・実用化に関する研究

（H 2 1－新興－一般－0 1 6）

研究代表者 加藤誠也 公益財団法人結核予防会結核研究所 副所長

研究要旨

日本の結核罹患率は人口 10 万対 20 を下回ったが、今後とも低まん延化に向けてより効果的・効率的な対策を進める必要がある。本研究の目的は従来の対策・技術の再評価と感染診断、菌検査、治療法、抗結核薬などの新技術の開発・評価を行うことである。

(1) 全国薬剤耐性調査: 結核療法研究協議会が概ね 5 年ごとに実施してきた全国調査の 2007 年分 2,292 株の結果を集計・分析した。未治療患者における INH、RFP、SM 及び EB の耐性率はそれぞれ 3.1%、0.7%、5.6%及び 1.3%であり、多剤耐性(以下、MDR) は 0.4%と世界的に見ても低率と考えられた。

(2) 新化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価: 医療の質の向上、入院医療の革新を目指して以下の研究を実施した。①マウスに H37Rv 結核菌を投与する系で、CPZEN-45 は肺・肝・脾の結核菌を減少させた。②リファブチン、リネゾリドの臨床投与例の検討で有効性が期待された。③LPA 法を用いた迅速診断によって、リファブチンの耐性診断ができることを確認した。④MDR 治療において MFLX は有用、INH のアジュバント療法も有用であると思われた。⑤結核患者では健常人に比較して血清中の KSP37 濃度の低下していることより、KSP37 蛋白は結核免疫（抵抗性）になんらかの関与をしていることが示唆された。⑥肺結核外科症例の手術成績は概ね満足できるものであったが、排菌が持続し、有効な薬剤のない症例の手術適応は慎重に行うべきと考えられた。

(3) 結核菌検出・薬剤感受性検査の技術開発と評価: PCR 法と LPA 法を組み合わせ、より安価で迅速な遺伝子診断法を開発した。INH 耐性の katG 変異の特徴付けを検討し、酵素活性と INH 耐性度に相関がみられた。開発した迅速遺伝子診断法の臨床分離株を用いた評価試験の結果、高い特異性・感受性が示された。

(4) 小児結核対策・医療の評価: ①2008 年及び 09 年に結核登録者情報システムに登録された全小児結核例に関して所管保健所から調査票による提供された情報を分析し、次のことが判明した。1) 大都市部への集中傾向、2) BCG 未接種例の減少、3) 結核性髄膜炎等重症例の発生持続、4) 有症状受診例の 3 割は高蔓延国での居住歴を有すること、5) 重症例は高度機能医療の提供機関で診療されていること、②BCG 骨炎は、特に 2005 年以降発生が多く、確実な経過観察が必要である。③BCG 接種の中止の影響をモデル計算で行った結果、5 年後の小児結核発生は数倍になると予想された。④近畿及び首都圏で症例検討会を実施し、臨床及び保健所の対応力の向上に繋がっていると期待された。

(5)免疫脆弱集団（高齢者・小児・HIV等）における感染診断の評価：効果的な高齢者結核の対策を検討するために、①休眠期の結核菌感染、あるいは結核菌を体内から完全に除去した状態を検出する方法の開発を試みたが、新規特異的結核菌抗原の T-Spot 法では結核未感染者と感染者で顕著な数値の違いは見られなかった。② ESAT-6 と CFP-10 に対する各 effector-memory T 細胞および central memory T 細胞の反応を二重染色法によって検討し、感染者ではこれらの細胞が抗原に対して優位に反応していた。

(6) 結核菌の感染性・病原性の評価方法の開発：臨床分離結核菌の相対的感染力を *ex vivo/in vitro* での競合アッセイ（発育競合、感染競合、細胞内生存競合）によって評価することを目的に検討を行い以下の結果を得た。①臨床分離株と H37Rv との競合感染では、変化率とクラスターサイズに相関が認められた。②最終的な増殖の差異を Genotyping を用いて定量的に評価する方法の検討では、同じローカスであってもコピー数によって増幅効率が安定しないことが判明し、目的の精度は得られなかった。③Microscopic Observatory Drug Susceptibility (MODS)法による薬剤感受性検査は INH 及び RFP については感度・特異度とも期待された範囲であったが、SM,EB は十分な精度は得られなかった。

(7) 結核菌の VNTR 標準分析法の確立と自動化を目指した分析システムの構築：本年は自動シーケンサーを用いたフラグメント解析を利用することで、PCR のマルチプレックス化と PCR 産物の分子量からコピー数への換算を迅速・簡便化できるシステムを構築した。

(8) 日本版 DOTS の技術強化：「結核保健看護システム」を活用して以下の結果を得た。①前回の治療成功群と失敗・脱落群の治療終了後再発率は明らかに後者が高く、今後、管理検診・指導方法の検討が必要である。②本システムのコホート観察における「その他」は、登録時菌陰性患者が以後の菌情報が得られないために「治癒」「治療完了」と判定されなかったケースがほとんどで、予後から見ても「治療成功」と同様に扱おう。

(9) 結核病床の実態調査：結核病床施設基準の策定を視野に、①ドイツにおける結核医療施設調査、②結核病床サンプリング訪問調査、③二種感染症指定医療機関アンケート調査、④結核病床アンケート調査を実施した。調査結果から、換気システムは多様で施設管理者にも十分に把握されていない場合があること。換気システムの維持・管理は十分とは言えない場合があること。患者の移動の制限や配慮も様々であること、長期入院にふさわしい室内面積やアメニティを持つ施設は極めて限られていること等々が明らかになった。これらのことは施設基準設定にあたって、経過措置や予算措置の必要性を示唆している。

(10) 院内 DOTS 業務量調査：院内 DOTS 業務の実施状況と患者の理解度・満足度を指標として相関を検証し、診療報酬評価に活用することを目的として、調査を実施した。良好な「院内 DOTS 業務」は「教育指導」、「服薬支援」、「連携」に関して医師、看護師、薬剤師、MSW 等々がそれぞれの職種の特長・役割を反映する形で遂行されており、それによって患者の理解度・満足度が高くなることを示唆する結果が得られた。

研究分担者

山岸文雄（独立行政法人国立病院機構千葉東病院 院長）

岡田全司（独立行政法人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 センター長）

原田登之（公益財団法人結核予防会結核研究所抗酸菌リファレンス部 部長）

前田伸司（公益財団法人結核予防会結核研究所抗酸菌リファレンス部細菌情報科 科長）

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 部長）

御手洗聡（公益財団法人結核予防会結核研究所抗酸菌リファレンス部 副部長）

小林典子（結核予防会結核研究所対策支援部 部長）

徳永 修（国立病院機構南京都病院 小児科 医長）

伊藤邦彦（公益財団法人結核予防会結核研究所 臨床・疫学部 部長）

研究協力者

筧淳夫（国立保健医療科学院施設科学部 部長）

斉藤ゆき子（公益財団法人結核予防会複十字病院結核病棟看護師長）

村上邦仁子（公益財団法人結核予防会結核研究所国際協力部）

永田容子（公益財団法人結核予防会結核研究所対策支援部保健看護学科 科長）

山田紀男（公益財団法人結核予防会結核研究所国際協力部 部長）

浦川美奈子（公益財団法人結核予防会結核研究所 対策支援部看護学科）

A. 研究目的

日本の結核罹患率はDOTSを中心とする新しい対策の導入の成果もあって低下傾向を続けており、平成19年には初めて人口10万対20を下回った。しかし、多剤耐性結核、高齢者・HIV合併結核等の免疫脆弱者など多くの課題が残されており、低まん延化に向けてより効果的、効率的な対策を進める必要がある。このため、本研究はこれまで行われてきた対策の再評価を行うと共に、新しい感染診断、菌検査、治療法、抗結核薬などの技術開発と評価を行うことを目的とした。また、厚生労働省結核感染症課の依頼によって、病床基準及びその運用方法を検討するための結核病床実態調査及び院内DOTSの適正な実施と診療報酬上の評価のデータとするため院内DOTS業務量調査を追加実施した。

それぞれの分担研究の目的は以下のとおりである。

(1)薬剤耐性全国調査

結核菌薬剤耐性の実態調査は結核療法研究協議会がこれまで概ね5年ごとに実施してきた全国調査の2007年分の結果の集計・分析によって現状の評価を行い、薬剤耐性状況の変化を確認し、合わせて分子疫学的調査を行い、結核菌の薬剤感受性の現状を把握することを目的とする。

(2)新化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価

医療の質の向上、入院医療の革新を通して、治療期間のさらなる短縮や多剤耐性結核患者の治療成績を向上させ、患者のQOLの改善や医療費節減に有意義と

期待される。本研究の目的は、①新化学療法剤の有効性、副作用の検討、②リファブチンの迅速薬剤感受性検査の開発、③フルオロキノロン系薬剤を加えた治療法の開発、④細胞性免疫予後診断法の開発、⑤職員の感染状態の経年的推移からN95 マスクの効果を検証することである。

(3) 結核菌検出・薬剤感受性検査の技術開発と評価

本研究の目的は、薬剤耐性結核菌迅速検出ラインプローブ(LPA)法の開発と評価試験の実施である。本年度は、フルオロキノロン耐性検出用 LPA と INH 耐性検出用 LPA を開発し、昨年度開発したピラジナミド耐性検出用 LPA と抗酸菌種同定および多剤耐性菌検出用 LPA と合わせて臨床評価試験を完了させる。

(4)小児結核対策・医療の評価

①小児結核症例実態調査：小児結核症例の背景や感染・発病診断の経過を振り返り、発病予防可能性や診断・治療に関する問題点や課題を明確にして今後の小児結核対策施策に反映させる。

②BCG 骨炎症例把握に向けた研究：安全にワクチン接種を継続するために、副反応発生動向に関する評価、さらに増加傾向にあるとすればその原因の同定を行う。

③BCG 接種計画とその効果に関する分析：現行の接種制度の直接の効果を推定し、経費や副反応とのバランスにもとづく接種の継続あるいは中止の政策決定の参考データとする。

④BCG 骨炎の発生頻度及び今後の検討課題に関する考察：厚生労働省による予防接種副作用報告及び症例収集を行った過

去の研究結果や論文をもとに、BCG 骨炎の発生頻度の変化を推測し、また、今後必要な検討課題について考察する。

⑤小児結核診療－新病院開設後1年の総括と問題点：東京都立小児総合医療センターの結核診療についての総括を行うことによって、結核診療を積極的に行う立場にある医療機関において提起された問題点を検証する。

⑥第8回近畿小児結核症例検討会及び

⑦第1回首都圏小児結核症例検討会の開催：発症に至ったケースを振り返ることにより、小児結核症例の予防可能性、診断・治療に関する問題点を検討する。

⑧妊婦活動性結核の現状：大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターで経験した妊婦活動性結核の臨床像とその児への影響について検討し、結核治療、周産期の管理に加え、児への結核感染予防と多角的な医療のあり方を検討する。

(5) 免疫脆弱集団(高齢者・小児・HIV 等)における感染診断の評価

効果的な高齢者結核の対策を検討するためには、高齢者における結核感染の実態を明らかにする必要がある。本研究の目的は ESAT-6 および CFP-10 を産生しない休眠期の結核菌感染、あるいは結核菌を体内から完全に除去した状態を検出する方法の開発にある。

(6) 結核菌の感染性・病原性の評価方法の開発

結核の感染や発病に関する結核菌側の因子はあまり評価されておらず、効果的な対策のために、特に菌の毒力の強弱の評価が必要であるが、客観的な指標が存

在しない。本研究の最終的目的は臨床分離結核菌の相対的感染力を *ex vivo/in vitro* での競合アッセイ（発育競合、感染競合、細胞内生存競合）を確立し評価することであり、二種以上の異なる結核菌を特定の細胞（マクロファージ等）に等量を同時に感染させて培養し、最終的な増殖の差異を Genotyping の技術を用いて定量的に評価することを検討する。また、結核菌の薬剤耐性について、従来法よりも迅速に診断可能な方法についても検討することを目的とした。

(7) 結核菌の VNTR 標準分析法の確立と自動化を目指した分析システムの構築

我が国における VNTR 法による遺伝子タイピングを実施するために JATA (15) -VNTR システムを構築し、有用性を報告してきたが、全国的な遺伝子タイピング検査体制の確立するために自動化検査技術の開発を目指す必要がある。

本研究では自動シークエンサーを用いたフラグメント解析を利用することで、PCR のマルチプレックス化と PCR 産物の分子量からコピー数への換算を迅速・簡便化できるシステム構築を目指した。

(8) 日本版 DOTS の技術強化

前研究班で開発した「結核看護システム」を活用して、コホート分析を一つの指標として看護サービスの評価・分析を行い、服薬支援の成果指標を確立するとともに、DOTS のゴールを見据えた患者支援体制を構築することを目的とする。

(9) 結核病床の実態調査

結核病床の病床基準及び運用の方法の策定、第二種感染症指定医療機関におけ

る結核患者管理の可能性を検討するための基礎データにするため、結核病床及び第二種感染症病床の設備と運用状況の把握を目的とした。

(10) 院内 DOTS 業務量調査

本研究の目的は、結核病床を持つ医療機関で行われている院内DOTS 業務の実施状況とその成果を患者の理解度・満足度を指標として相関を検証し、診療報酬評価に活用することである。

B. 研究方法

(1) 薬剤耐性全国調査

2007年8月1日から2008年1月31日までに各々の参加施設で分離・培養された抗酸菌陽性で本人（または代諾者）から同意が得られた全患者を対象とした。ただし、慢性排菌例から分離された抗酸菌は対象外とした。全国調査としての代表性を確保するため、地域毎の目標検体数を設定して収集した。プライバシー保護のため、参加施設が作成したIDによってデータ及び検体情報を扱った。

薬剤感受性検査はINH、RFP、SM及びEB、二次抗結核薬とLVFXについては1%小川培地を用いた標準比率法、PZAはMGIT ASTによって実施した。非結核性抗酸菌については菌種同定検査を実施した。多剤耐性結核菌についてはRFLPあるいはVNTRによる遺伝子タイピングを実施した。以上の全ての菌に関する検査は結核予防会結核研究所で実施した。これらの菌検査結果と臨床情報を合わせて解析を行った。

(2) 新化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価

①CPZEN-45 (カプラザマイシン) の多剤耐性結核への有効性の検討: H37Rv 結核菌を 5×10^5 を i.v. で投与した後、CPZEN-45 を投与して、肺・肝・脾の結核菌量を測定した。

②リファブチン、リネゾリド及びメロペネム+クラブラン酸について調査票のまとめと追加症例を集積し、新薬と一次抗結核薬の組み合わせによる治療効果・治療期間の短縮を解析した。

③ RFP 感受性株 30 株と MDR-TB 株 72 株を対象に、RFP と RBT に対する MIC をブロスミック MTB-1 ならびに 7H9base の Microdilution 法を用いて測定した。さらに、ジェノスカラー・Rif TB を用いて、*rpoB* 領域の変異を検出し、RRDR (Rifampicin -resistance determining region) のシークエンス解析を行った。

④2HREZ+4HR の標準治療の INH の代わりにフルオロキノロンを用いて、臨床症状、胸部 X 線、喀痰排菌、培養等、血液検査 (肝、腎機能) 等で効果・副作用を解析した。

⑤細胞性免疫予後診断法 (分子学的結核菌診断法) の開発: (a) Ksp37 (killer-specific secretory protein 37kDa) による細胞性免疫予後診断法: 抗 Ksp37 抗体を用いた ELISA 測定法により結核患者血清中の Ksp37 蛋白量を測定した。次にリコンビナント KSP37 蛋白の作製とこれを用いた、免疫応答調節機構を解析した。さらに、KSP37 transgenic マウスを作製して抗結核効果を生体内で発揮するか否かを解析した。(b) 多剤耐性結核や難治性結核での CD8+T 細胞からの granulysin を検討した。

⑥2005 年 1 月から 2009 年 12 月までの多剤耐性結核に対する外科治療症例の成績を検討した。ただし、診断未確定の肺腫瘍に対して切除術が行われ、結核腫と判明した症例、結核性膿胸症例は除外した。

(3) 結核菌検出・薬剤感受性検査の技術開発と評価

①フルオロキノロン耐性菌検出用 LPA の開発: 結核菌の *gyrA* 遺伝子内のキノロン耐性決定領域 (Quinolone Resistance Determining Region: QRDR) の変異があるとラインが消えたままになる S プローブを設計した。さらに、変異の入りやすい 5 つの残基 (A90V, D94G, D94A, D94G-S95T, D94A-S95T) の変異があるとラインが出現する R プローブを設計した。各プローブを LPA としてストリップ上に固定した。

②INH 耐性菌検出用 LPA の開発: 昨年度までに検出率を上げるための研究として、独自の解析領域を設定し、変異情報を蓄積してきた。最初に、蓄積した変異 (特に *katG* 変異) の解析を実施し、INH 耐性を与えると考えられる変異を選別した。次に既知耐性変異、新規変異を検出できるプローブを設計し、LPA としてストリップ上に固定した。

③臨床評価試験 2005 年から 2009 年までに全国の 6 施設から収集した臨床検体 146 例、臨床分離株 554 株を対象にして、臨床評価試験を実施した

(4) 小児結核対策・医療の評価

①小児結核症例実態調査: 2008 年及び 09 年に結核登録者情報システムに登録

された0～14歳の全結核症例について、症例を登録した保健所宛に調査票を送付し、回答を依頼した。年齢分布、地域分布、国籍及び高蔓延国居住歴、BCG接種歴、病型、菌検査結果、QFT検査結果、診断契機、感染源症例、有症状受診例プロフィール、診療医療機関、治療内容、重症例への対応、発症に至った要因、小児結核診療に関連する問題点等に関して回答内容を検討した。

②BCG骨炎症例把握に向けた研究: 1)学会・学会誌での症例報告例調査、2)日本小児整形外科学会評議員に対するアンケート調査、3)小児結核症例実態調査により、近年発症したBCGワクチン接種後骨炎症例の収集を試み、各症例の症例背景、臨床像、転帰等に関する検討を行った。

③BCG接種計画とその効果に関する分析: 2003年以降のBCG接種制度の変更後、BCG接種の実施状況、接種対象年齢の変化によって副反応の発生状況等を検討し、種々の疫学データを基にBCG接種の有効性について考察すると共に、我が国におけるBCGワクチン接種中止の影響に関する検討を行った。

④BCG骨炎の発生頻度及び今後の検討課題に関する考察: 厚生労働省「予防接種副作用報告」及び本研究において収集されたBCG骨炎症例を基にBCGワクチン接種施策の変更前後におけるBCG骨炎発生頻度の変化について統計的な検討を行った。

⑤小児結核診療一新病院開設後1年の総括と問題点: 廃院となった清瀬小児病院と新設された東京都小児総合医療センタ

ーにおける診療形態の差違を列挙し、それぞれの長所・短所を比較した。

⑥第8回近畿小児結核症例検討会及び

⑦第1回首都圏小児結核症例検討会の開催: 小児症例について、医療機関と保健所から発表を行い、保健所側からは健診や予防上の問題点、医療機関との連携上の課題を提示し、議論を行った。

⑧妊婦活動性結核の現状: 妊娠中に活動性結核と診断された、もしくは活動性結核治療中に妊娠が判明し大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターで分娩となった妊婦とその児各17例を対象として、妊婦の結核診断にいたる経過や治療内容、児の出生時状況や結核感染予防について後ろ向きに調査を行った。

(5) 免疫脆弱集団(高齢者・小児・HIV等)における感染診断の評価

①結核未感染者と感染者(ボランティア)より血液を採取し、Ficollを用いた密度勾配遠心により、末梢血単核球(PBMC)を調整した。PBMCをELISPOT用マイクロプレートに 2.5×10^5 個添加後、さらに共同研究者であるデンマークのAndersen博士より提供された10種類の休眠期特異的と期待された結核菌抗原を加え18時間培養した。培養後、IFN- γ 産生T細胞の個数を計測した。

②central memory T細胞とeffector memory T細胞の動態を分析するために、細胞内サイトカイン染色法によるFACS法、およびELISPOT法を用いる蛍光色素を用いるFluorospotのシステムを検討した。

(6) 結核菌の感染性・病原性の評価方法の開発

①細胞内競合感染による毒力評価の検討

THP-1 細胞を活性化し、二種類の異なる結核菌株を混合した上で感染させ、菌株間の競合を評価した。結核菌には、標準結核菌である H37Rv を比較の基本株とし、対象として 5 種類の異なる臨床分離株を使用した。これらの菌を培養し、HP-1 細胞と混合し、感染 3 時間後、1 日後、3 日後、7 日後の菌数をカウントした。20 コロニーを無作為に釣菌し、核酸を抽出した後二種の菌株間で VNTR のコピー数が異なるローカスについて PCR を行い、コピー数の差から二種類の結核菌の存在比率を算出した。

②Real-Time PCR を用いた結核菌比定量系の検討

Strain A と Strain B のそれぞれについて、培養 t 時間後の菌の実数を Ma(t) 及び Mb(t) とする。さらに VNTR Locus 1 と Locus 2 の Strain A と Strain B における反復配列コピー数をそれぞれ a と c、及び b と d とする。

ここで、Real-time PCR から得られる情報としての Ct 値について、Ct₁: Locus 1 の Ct 値、Ct₂: Locus 2 の Ct 値とする。これらの値の関係は、

$$\text{Log}(Ma(t) \cdot a + Mb(t) \cdot b) = Ct_1 \cdot e_1 + f_1 \quad (\text{等式 1})$$

$$\text{Log}(Ma(t) \cdot c + Mb(t) \cdot d) = Ct_2 \cdot e_2 + f_2 \quad (\text{等式 2})$$

e₁: Locus 1 の等式 1 に関する傾き

e₂: Locus 2 の等式 2 に関する傾き

f₁: Locus 1 の等式 1 に関する切片

f₂: Locus 2 の等式 2 に関する切片

理論上以下のようになることにより、

$$Ma(t)/Mb(t) =$$

$$\frac{[d \cdot 10^{(e_1 \cdot Ct_1 + f_1)} - b \cdot 10^{(e_2 \cdot Ct_2 + f_2)}]}{[a \cdot 10^{(e_2 \cdot Ct_2 + f_2)} - c \cdot 10^{(e_1 \cdot Ct_1 + f_1)}]}$$

これを用いて、ローカス毎に TaqMan probe を設計し、それぞれのプライマーで Real-time PCR を実施した結果から算出する。

③Microscopic Observatory Drug

Susceptibility (MODS)法による薬剤感受性検査

耐性既知の結核菌 39 株と、結核患者からの喀痰 45 検体をマイクロプレートを使用して液体培地中で結核菌の培養を行い、発育の状態を顕微鏡下で観察することにより、INH、RFP、SM 及び EB の薬剤感受性検査の検査精度の評価を行った。

(7) 結核菌の VNTR 標準分析法の確立と自動化を目指した分析システムの構築

既に報告している JATA 番号が連続するように、またそれぞれのローカスからの PCR 産物が重なることがないようなマルチプレックス PCR の組合せとした。5 色で標識したプライマーを用合成してマルチプレックス PCR を行った。PCR 後の検体を処理して、Applied Biosystems 3130 ジェネティックアナライザーで分析し、Gene Mapper で解析を行った。

(8)日本版 DOTS の技術強化

①18 自治体 63 保健所の平成 14 年～18 年登録患者について、治療終了後から平成 21 年 3 月までのコホート観察別に見た予後（再発の頻度）を観察した。

②本システムでの「治療成功」は「治癒」、「治療完了」、「その他」を合わせたものとなっているが、その妥当性を検討した。

③服薬支援看護ワークショップに参加した 20 自治体のうち、コホート検討会未実施 3 箇所を除く 17 自治体に、その実施状況についてアンケートを実施し分析を行

った。

④服薬支援者の教材として「服薬支援者の心づくり」の作成を試みた。

(9) 結核病床の実態調査

以下の4つの調査を行った。

1) ドイツにおける結核医療施設調査

国内での調査に先立って、保健医療制度の類似点が多いドイツの3カ所（ハイデルベルグ、バートベルカ、ベルリン）の結核病床を持つ医療施設を視察した。

2) 全国サンプリング訪問調査

調査対象は通常の結核病棟、ユニット化された結核病床、結核患者収容モデル病床（一般及び精神）、結核患者を収容実績がある第二種感染症病床の中から、大都市及び地方、病院の規模等に関するべく多様となるように20医療機関を選定した。対象医療機関に対して、結核病床の概要、感染粒子の制御、患者管理の状況、重症合併症の管理、アメニティの設備等について予め質問票によってある程度の情報を得てから、医師、看護職、病院建築専門家の中から複数がチームとなって病院を訪問し、担当者から質問票の内容の補足事項等の聴取し、病床を視察・確認しながら質疑を行った。

3) 第二種感染症指定医療機関全国アンケート調査

全国の結核病床を有しない第二種感染症指定医療機関235カ所を対象にアンケートによって、病床の設置状況、運用状況（第二種感染症以外の患者の利用、今後の結核患者収容等）を調査した。

4) 結核病床の管理及び設備状況に関する全国アンケート調査

結核病床及びモデル病床を有する321医療機関を対象に、病院の設置状況、病床運用状況、入院患者の合併症、合併症対応の可否、院内における患者管理、アメニティ、病棟・病室の設置状況についてアンケート調査を行った。十分な回収率が得られるよう、質問項目が必要最小限になるよう配慮した。

(10) 院内DOTS業務量調査

20床以上の結核認可病床を持つ医療機関21施設を対象として、調査帳票によって以下のデータを収集した。

1) 病院調査票: 病院の種別、病床数、職員体制、DOTS実施概況等。

2) 業務量調査票: 平成23年1月1日から1月31日の間で、それぞれの医療機関が任意に設定した2週間に結核患者に接する全ての職員を対象に、DOTS等に関連する業務毎の業務時間を記録する。

3) 入院患者一覧表: 調査期間中の全結核入院患者の年代、性別、職業及び社会的背景等

4) 患者満足度調査票: 3)の調査期間に上記当該医療機関を退院した結核患者（ただし、20歳未満、外国人、検査入院、心身状況のため回答困難な患者を除外）で、それぞれの医療機関においてスタッフから患者への協力依頼文書に基づいて説明を受け調査に同意した患者を対象に、退院時に当該病院における院内DOTSに対する理解度、満足度を自記式で記入。

分析方法: 医療機関毎の患者理解度・満足度、医療機関の特性と院内DOTS実施方法の相関、院内DOTS実施方法と満足度との相関、患者特性による理解度・満足度の違い等々の観点から分析した。

② 結核病床を有する病院＋ユニット化＋モデル病床 326 病院から閉鎖していると回答があった 24 病院および本調査対象 20 病院を除く) 282 病院を対象とし、①で実施した院内 DOTS 実施方法に関する質問票を FAX で送付し、回収した。

C. 研究結果

(1) 薬剤耐性全国調査

収集した抗酸菌 3,647 株の中で 2011 年 2 月までに 2,470 株の感受性検査を終了した。2007 年 8 月～2008 年 7 月までの一年間に全国 47 の結核診療施設から 3,647 株の抗酸菌を収集し、臨床情報と併せて評価可能であった結核菌 2,292 株 (症例) について解析を実施した。Isoniazid (INH)、Rifampicin (RFP)、Streptomycin (SM) 及び Ethambutol (EB) の未治療患者における耐性率はそれぞれ 3.1%、0.7%、5.6% 及び 1.3% であり、同様に既治療患者での耐性率は 12.3%、6.7%、12.3% 及び 2.6% であった。多剤耐性結核菌の比率は未治療患者で 0.4%、既治療患者で 4.1% であった。2002 年の第 13 回療研調査との比較では、未治療患者の薬剤耐性率に有意な変化は認められなかったが、既治療患者では EB 耐性と多剤耐性結核の比率が有意に低下していた。地域別の解析では近畿で既治療多剤耐性結核の比率が有意に低下しており、これが全体の耐性低下に影響したと考えられた。しかし、感染症法の影響による多剤耐性結核分離株の収集困難性が結果に影響した可能性も否定できないため、サーベイの精度には疑問が残る結果となった。今回初めて選択的に実施した Levofloxacin (LVFX) の耐性調査では、

未治療患者で 3.2%、既治療患者で 6.1% の耐性率が認められ、未治療耐性率は INH のそれに匹敵した。これは一般細菌感染症の治療に LVFX を含めてフルオロキノロンが頻繁に使用されることの影響と考えられた。

(2) 新化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価

① CPZEN-45 は H37Rv 結核菌を i.v. 投与するマウスの系で、肺・肝・脾の結核菌を減少させた。

② 新化学療法による治療：リファブチン 30 症例のうち、有効例は 16 例 (53.3%)、無効例 5 例 (16.7%)、不明 9 例 (30.0%) であった。MDR-TB 17 症例に対するリファブチンの効果は有効 5 例 (29.4%)、無効 5 例 (29.4%) であった。副作用として、白血球減少、血小板減少、肝機能異常が認められた。

リネゾリド (6 症例) の効果は有効 (4 例) と 66.7% で効果が認められた。リネゾリドの副作用として骨髄抑制と末梢神経障害が高頻度で報告された。

追加症例の報告では①多剤耐性結核患者にリファブチン投与は有効例が少ないとの報告があった。②リネゾリド投与はさらに 10 例報告されたが、1-2 ヶ月で排菌陰性 (60%)。③メロペネム+クラブラン酸治療は 3 例で、うち 1 例は排菌量が減少した。

③ RFP 耐性に関与する遺伝子変異は日本における変異の頻度 (R4b 2.9%, R4a 9.7%, R2 9.7% と同様であった。多剤耐性結核菌における rpoB 遺伝子の変異はコドン 516、526 と 531 が多い。コドン 511、516 と 522 の single point 変異は RFP に対

する感受性に影響を与えるが、リファブチンの感受性には影響を与えない。コドン 513、525、526 と 531 は RFP にもリファブチンにも感受性の影響を与える。一方、コドン 516 (R2 プローブ) はリファブチンに対する感受性に影響を与える。102 例の MDR-TB 菌中 19 例 (18.6%) は RBT 感受性であった。rpoB genotype の解析よりコドン 516 が (Asp→Val) 変異で RFB 感受性であり、これはジェノスカラー・Rif TB キットで迅速診断可能である。RFP 耐性 RBT 感受性菌 19 例中 17 例 (89%) で Asp516Val であり迅速診断できた。

④多剤耐性結核 3 例の治療について検討した。MFLX は有用であった。INH のアジュバント療法も有用であると思われた。これらの症例はいずれも 5 剤の感受性薬を投与され、すでに菌陰性化か陰性化しつつある。

⑤(a)結核患者 31 例及び健常人 60 例の血清中における KSP37 蛋白濃度を測定した結果、結核患者では健常人に比較して血清中の KSP37 濃度の低下が認められた。リコンビナント KSP37 を *in vitro* の系に加えた、結果キラー T 細胞誘導活性を示した。KSP37 transgenic マウスにヒト結核菌 H37Rv を静注した場合、正常マウスに比較して結核菌の増殖を抑制した。

(b) MDR-TB 患者の T 細胞からの granulysin 産生低下が健常人に比較して認められた。一方、granulysin は結核菌を直接殺傷する機能のみでなく、キラー T 前駆細胞からエフェクターキラー T 細胞へ分化する強力なキラー T 分化因子活性を有することを発見した。

⑥手術目的は多剤耐性結核 9 例。多剤耐

性ではないが排菌持続 2 例 (うち 1 例は気管支結核)。排菌 (-)、結核後遺症 1 例。生検 7 例。

術式：生検目的のものは 7 例全例 部分切除。片肺全摘 2 例。葉切除 9 例。区域切除 1 例。術後在院期間 8-114 日 (平均 38 日)。(表 15)

術後の排菌状況：術直後に塗抹陽性 1 例 (培養は陰性)。1 例を除き、経過観察中に再排菌症例なし。

(3) 結核菌検出・薬剤感受性検査の技術開発と評価

①1 枚のストリップ上でフルオロキノロン耐性遺伝子 *gyrA* の QRDR における変異を検出することができるキットを作製した。

②2 枚のストリップ上で INH 耐性に関わる主要変異を検出することができるキットを作製した。変異 KatG の酵素活性を測定したところ、INH 酸化活性と INH 耐性度 (中等度耐性もしくは高度耐性) を判別することができることを見出した。

③ 各薬剤に対する感受性・耐性同定率は以下のとおりであった。

	感受性	耐性
PZA	96.0%	89.7%
INH	100%	90.6%
FQs	100%	93.0%

NTM/MDR-TB LiPA の抗酸菌種同定率は 99.8%、RFP, INH 耐性は以下のとおりであった。

	感受性	耐性
RFP	97.3%	98.9%
INH	100%	61.6%

(4) 小児結核対策・医療の評価

①小児結核症例実態調査：全 141 例（2008 年 76 例、09 年 65 例）の情報が収集可能であり、①症例が大都市部に集中する傾向、②過去の調査に比して BCG 未接種例の占める割合が減った、③結核性髄膜炎等の重症例の発生が依然として続いている、④有症状受診例は高蔓延国での居住歴をもつ小児が約 3 割を占めていた、⑤旧国立療養所など結核病床を有する結核専門病院で診療を受けた例は 3 割未満に留まり、特に重症例は小児医療センターや大学病院など高度機能医療の提供が可能な医療機関で診療されていた、等が明らかとなった。

②BCG 骨炎症例把握に向けた研究：それぞれの調査により 1996 年～2009 年に発症した BCG 骨炎症例全 38 例が把握できた。またこれらの調査で把握されていなかったが、小山らの調査で把握された例が他に 8 例あった。2005 年以降、05 年 6 例、06 年 5 例、07 年 8 例と多くの症例が発生していた。

③BCG 接種計画とその効果に関する分析：BCG 接種を 2010 年に廃止すれば、2015 年には 0～4 歳、5～9 歳でそれぞれ 230 人、50 人（概算）、2020 年ではそれぞれ 192 人、108 人が発症すると予想された。さらにその予測データをもとにワクチン接種中止に伴う便益とリスクについても検討を行い、ワクチン接種中止に関する議論は時期尚早と判断した。

④BCG 骨炎の発生頻度及び今後の検討課題に関する考察：接種方法変更前後で骨炎発症率は 100 万出生当たり 0.87 から 7.27 と約 8.36 倍になっており有意な増

加と評価した。

⑤小児結核診療—新病院開設後 1 年の総括と問題点：外来診療については首都圏広域から受診する患者が多く、利便性に関する物理的・心理的な支障が挙げられた。また、病棟診療については結核病棟廃止に伴う隔離・退院基準の変更が挙げられた。

⑥第 8 回近畿小児結核症例検討会：1)母の発病後、治療に至った外国人症例、2)家族内感染・発病症例が多発した姉弟例、3)慢性疾患により経過観察をされていたが、診断が遅れた 13 歳女児例、4)INH 耐性の父より感染し、治療開始後病巣の増悪を認めた 0 歳男児例の 4 事例の検討を行った。

⑦第 1 回首都圏小児結核症例検討会の開催：1)父親が感染源の胸膜炎事例、2)外国人多剤耐性結核事例、3)母親が肺結核の 2 歳児、1 か月児の兄弟事例、4) 家族健診を契機に診断された小児結核性胸膜炎の事例の 4 事例の検討を行った。

⑧妊婦活動性結核の現状：全例において分娩時まで菌陰性化が得られており、正期産であった。また、児は子宮内発育遅滞や仮死なく出生し、それぞれの感染リスクにより新生児期の BCG ワクチン接種、INH 予防的治療後に BCG ワクチン接種、定期ワクチン接種等の処置を受けていた。これまでに感染・発病が確認された例はなかった。

(5) 免疫脆弱集団（高齢者・小児・HIV 等）における感染診断の評価

① 本年度も期待される 10 抗原の検討を行ったが、各抗原における結核未感染者と感染者（LTBI）間において顕著な数値の違いは見られなかった

② 蛍光色素を用いる Fluorospot のシステムで、IFN- γ 産生細胞は緑色に、IL-2 産生細胞は赤色に発光し、両サイトカインを産生する細胞は画像処理することにより黄色に発光し、解析が容易になった。この系を用いて 2 年以上前に潜在性結核感染となった者 4 人について結核菌特異抗原である ESAT-6 と CFP-10 に対する各 effector T 細胞、effector-memory T 細胞および central memory T 細胞の反応を検討した。いずれの対象者もどちらかの抗原に対して effector-memory T 細胞と central memory T 細胞が優位に反応していることが観察された。

(6) 結核菌の感染性・病原性の評価方法の開発

① 細胞内競合感染による毒力評価の検討

5 株の臨床分離結核菌の発育速度について検討したが、クラスターサイズとの相関は認められなかった。

しかし、H37Rv との競合感染では、3 日目までに殆ど H37Rv のみが検出される状態となった。感染後 3 時間から 24 時間までの変化率とクラスターサイズに相関が認められた。

② Real-Time PCR を用いた結核菌比定量系の検討

臨床分離株から抽出した DNA を定量後、等量混合して MIRU 26 と VNTR 2074 について Real-time PCR を実施した。VNTR 2074 と MIRU26 における Strain 233 と 247 の VNTR コピー数は、それぞれ 3、5、3、7 であった。得られた Ct 値から算出した比率は -1.45 から -1.54 となり、目的とした精度が得られなかった。

VNTR 2074 についてさらに検討したところ、同じローカスであってもコピー数によって同一検体でも増幅効率が安定しないことが判明した。結果として、TaqMan probe による Real-time PCR 系では目的の精度が得られなかった。

③ Microscopic Observatory Drug Susceptibility (MODS) 法による薬剤感受性検査

INH については感度 96.0%、特異度 92.9%、一致率 94.9%、 κ 指数 0.889 となった。同様に RFP は感度 100%、特異度 95.5%、一致率 97.4%、 κ 指数 0.948 となった。しかし、SM, EB については十分な精度は得られなかった。

(7) 結核菌の VNTR 標準分析法の確立と自動化を目指した分析システムの構築

DNA シークエンサーによるフラグメント解析は内部標準マーカーの LIZ の他に 4 色蛍光の同時分析が可能なので、4 ローサイの分析を行う JATA プライマーの組合せを検討し、SET1 から 4 までの組み合わせとして、システムを使って結核菌型別を行ったところ、蛍光ピークが低いローサイのプライマーの濃度を上げることで対応可能であった。

キャピラリー電気泳動装置やマイクロチップ電気泳動装置を使用した VNTR 分析で、得られた PCR 産物の分子量からコピー数に換算するための“結核菌株判別ソフトウェア（標準機能版）”を開発した。

(8) 日本版 DOTS の技術強化

① 治療成績が「治療成功」であった 2004 人の中での「再発」は 18 人 (0.9%) であった。「治療失敗」と判定された中から

その後治療終了となった112人の「再発」は5人(4.5%)であった。「脱落中断」中その後治療終了となった81人中の「再発」は3人(3.7%)。「不明」と判定中、その後治療終了となった40人の現在の状況は「再発」1人(2.5%)であった。治療成功群に比して、その他の群では再発が多い傾向があった。(ただし、各群によって観察期間の分布が異なることを考慮していない。)治療終了後5年間の累積再発率は、成功群1.39%に比し、失敗・脱落群は8.31%に達した。治療失敗と脱落を分けてみると、脱落群のほうがさらに再発が多い傾向であった

②「その他」と判定された中で、その後主治医による治療終了の指示が確認された者は93.1%であり、「治癒」の96.7%、「治療完了」の96.2%と同等であったが、「治療失敗」の77.2%、「脱落中断」の61.8%、「不明」の20.1%と大きな違いがあった。「その他」に判定された要因は、治療は完了したが菌検査未実施・未把握が多くみられ、治療開始時菌陰性のため、その後菌検査を実施しなかったものと考えられた。

③20自治体のうち17自治体でコホート検討会が実施されており、本システムや国のシステム、または独自に開発した帳票や図表を資料に用いて、事例の報告、個別事例検討や確認、保健師の問題点などの検討や職員のスキルアップ等が議論されていた。

④服薬支援育成のための教材として、「服薬支援の心づくり」のDVDを作成した。結核患者の治療成功を目指した支援を実施するために必要な知識・技術と共に、

患者の生活や地域の特性を理解し、尊重した上での服薬支援活動を推進する支援者の意識や経験で培われる考え方の部分を強化した内容となった。

(9) 結核病床の実態調査

1) ドイツにおける結核医療施設調査

- ・罹患率は2008年に人口10万対5.5で、外国人が多いため、日本のように高齢化は著しくなく、合併症の問題はあまり聞かれなかった。
- ・訪問した病院では結核病棟あるいはユニットとして区分されている病床で、患者数は数名から15名程度であった。
- ・アメニティとして特別な設備はなかったが、患者数に比して病棟は広く、病室もゆったりとしていた。
- ・設備として陰圧をもった病室はなく、ベルリンの病院でドアの気密性を高くしている程度で、院内感染対策は早期発見に努めるという考え方で、日本ほど大きな問題とされていないようであった。

2) 全国サンプリング訪問調査

- ・在院患者数や入院期間等の点からも、結核病棟、ユニット化病床、さらにモデル病床の違いは不明瞭になりつつある。
- ・換気システムは施設管理者にも十分に把握されていないことが多く、病床担当者は陰圧化には関心があっても換気には注意が払われていない場合があった。
- ・換気システムは様々で、自然換気もあったが、機械換気でも十分な換気回数確保されていない場合も多かった。

- ・ 感染防止のための患者移動の制限、移動時の対応は医療機関によって様々であった。認知症合併患者に対してはセンサーの設置、施錠、やむを得ない場合には拘束など苦勞している様子が窺われた。
- ・ ユニット化された病床や陰圧病床は看護室から遠い場合がしばしばで、重症合併症への対応が難しいとされる場合があった。
- ・ 患者1人当たりの面積は総じて小さく、テレビ、公衆電話、買い物は半数以上で可能であるが、長期入院に対応した特別のアメニティはあまり見られなかった。

3) 第二種感染症指定医療機関全国アンケート調査

- ・ アンケートを送付した 225 病院中 187 病院(83.1%)から回答が得られた。
- ・ 約 6 割の医療機関で二種感染症以外の患者を入院させた経験があり、感染症以外にも 3 割以上であった
- ・ 約 75%の病院では二種感染症病棟に結核疑いの患者を入院させたことがあり、約 30%では結核確定患者を入院させたことがある。
- ・ 制度上、二種感染症病床で結核患者を入院させることができるようになった場合でも、入院治療を行うと回答した病院は 10%程度であった。入院治療できない理由は「看護師の配置が難しい」「病床が長期入院に適していない」「結核診療経験がある医師がいない」「業務量の負担が大きい」「陰圧等の感染対策設備がない」などが多かった。

4) 結核病床の管理及び設備状況に関する

全国アンケート調査

- ・ アンケートを送付した 321 病院の中から結核病床を廃止または休止したと返答された 10 カ所を除く 311 病院中 199 病院(69. 3%)から回答があった。
- ・ 病棟中の結核病床数は 20 床以下が約 6 割で、既にユニット化がかなり進行していると思われた。
- ・ 寝たきり患者の割合は 20%以上が約 2/3、半数以上が寝たきりと回答した病院も 17%程度あった。
- ・ 約 4 割の病院では原則入院中は病棟外への移動を禁止していた。
- ・ アメニティについては、テレビ、公衆電話・携帯電話の使用、パソコン・テレビゲームの持ち込みは 6 割以上で可能であったが、自販機の設置、散歩等で外気に触れること・運動・物品購入が可能な病院は 20%程度であった。
- ・ 手術・合併症(心臓カテーテル、透析)が可能な施設は 5-6 割程度で、分娩については 3-4 割程度であった。
- ・ 個室は病室の 44.5%であったが、病床単位で見ると 18.2%で、重症患者の増加や感染管理のための必要性の観点からも不足している。患者 1 人当たりの病床面積は算らが推奨する 15m²以上を満たすのは 12.4%に過ぎず、推奨された面積の半分 7.5m²以下の病床が 44.3%を占めていた。

(10) 院内 DOTS 業務量調査

参加した病院の半数以上が全患者の全入院期間に服薬確認し、評価の面接も半数以上で実施されていた。患者教育は個別に視聴覚教材を用いて実施され、院内で医

師・看護師・薬剤師のみならず、栄養士、医療連携室、理化学療法士が関わっていることが多かった。退院後の連携機関として転院先の医療機関、福祉が挙げられていた。

医師は、「服薬状況の評価」に関する業務に最も傾注しており、次いで保健所などへの連携・検査、看護師長は保健所などへの連携・服薬状況の評価、看護師は DOTS 業務、薬剤師は服薬状況の評価、MSW は保健所等への連携等と、職種毎に実施する業務の分担が見られた。

DOTS を意欲的に実施している病院が参加したため、総じて患者の理解度・満足度は高かった。患者の理解度・満足度は病院の体制では、実稼動病床数・平均在院日数・平均在院患者数、入院基本料区分、結核病棟の類型とは相関はなかったが、看護体制でプライマリーナーシング体制を持つ方が高い傾向にあった。

DOTS 実施方法では、DOTS ノートやチェック表の利用状況、DOTS 業務実施時間とは相関がなかったが、服薬の確認のポイントの高い施設の方がやや患者理解度・満足度が高い傾向が見られた。また、医師においては、3 施設を除くと、業務時間の増加に伴い、患者理解度・満足度の向上傾向がやや見受けられた。

患者教育方法ではビデオ・DVDを使っている病院のほうが高い傾向が見受けられた。カンファレンス方法と患者理解度・満足度：カンファレンスの定期的な開催頻度が高いほど、また、保健所との連携を実施しているほど、患者理解度・満足度がやや高い傾向にあった。

患者特性については、高齢化状況、治療状況、入院期間中の ADL、患者職業、合併

症は理解度・満足度との相関はなかった。

患者特性と業務時間は無職率の低下に伴い、業務総時間が増加する傾向が見受けられた。服薬確認を実施するほどに、総業務時間は増加する傾向が見受けられた。

D. 考察

(1) 薬剤耐性全国調査

INH、RFP、SM 及び EB の各薬剤に対する耐性率は世界的に見て低率であり、多剤耐性率は未治療・既治療とも世界的に最も低率な地域の一つと考えられた。

前回 2002 年の療研調査との比較では、各薬剤に対する未治療耐性 (any resistance) に関して、耐性率が有意に増加あるいは減少した薬剤は認められなかった。一方、既治療耐性の any resistance では、EB の耐性率が有意に減少していた ($p=0.011$)。さらに既治療の多剤耐性結核比率が有意に減少 (4.1% vs. 9.8%, $p=0.023$) しており、なかでも INH+RFP+SM+EB の比率の減少のみが有意であった (1.0% vs. 4.6%, $p=0.046$)。これは、近畿地区における既治療多剤耐性の減少が有意 ($p=0.041$) であったことが影響したものと考えられた。

感染症法で多剤耐性結核菌が第三種病原体に規定されているために、所持しないこととしている医療施設が少なからずあるために、本調査での多剤耐性が過小評価されている可能性は否定できない。

LVFX の未治療及び既治療耐性率は 3.2%及び 6.1%と判明した。LVFX の未治療耐性率は INH にほぼ匹敵する耐性率であった。また、未治療耐性菌に占める Mono resistance の比率が 88.0% (22/25) であり、結核の治療とは関係なく LVFX 耐

性が増加していることが示された。これは一般細菌感染症の治療薬としてフルオロキノロンが一般的に使用されていることの影響と考えられた。

(2)新化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価

①微生物化学研究所との共同研究で CPZEN-45 が多剤耐性結核に有効であることをマウスの系で明らかにした。これが、WHO TB Partnership の preclinical コースにノミネートされた。

②RBT は RFP 耐性に有用性が期待されたが、その後の追加症例の報告によると、多剤耐性結核患者に RBT 投与は有効例が少なく、切れ味が悪い。リネゾリドは切れ味が良く、1-2 ヶ月で排菌陰性(60%)と有用性が期待された。

③遺伝子変異の LPA を用いた迅速診断によって多剤耐性結核患者の迅速な入院後の対応を確立し、RBT の耐性診断ができることを確認した。

④多剤耐性患者 3 症例はいずれも 5 剤の感受性薬を投与され、すでに菌陰性化か陰性化しつつある MFLX は有用、INH のアジュバント療法も有用であると思われた。

⑤(a)結核患者では健常人に比較して血清中の KSP37 濃度の低下していることより、KSP37 蛋白は結核免疫(抵抗性)になんらかの関与をしていることが示唆された。リコンビナント KSP37 は IL-2 の産生増強効果、IFN- γ の産生増強効果、ならびに IL-6 の産生増強効果を発揮したことより、KSP37 が結核免疫(抵抗性)にとって重要な機能を有する可能性が示唆された。KSP37 transgenic マウスにヒト

結核菌 H37Rv を静注した場合、正常マウスに比較して結核菌の増殖を抑制したことより、は生体内抗結核作用を有することが示唆された。

⑥肺結核外科症例の手術成績を検討した結果は概ね満足できるものであった。排菌が持続し、有効な薬剤のない症例の手術適応は慎重に行うべきと考えられた。

(3) 結核菌検出・薬剤感受性検査の技術開発と評価

本研究では PCR による増幅と LPA 法を組み合わせ、より安価でより迅速な遺伝子診断法を開発した。

INH 耐性においてはこれまでに蓄積した変異情報を精査し、特に katG 変異の特徴付けを行った。INH 耐性菌において見出された変異体を全てクローニングし、INH を活性化する酵素活性 (INH 酸化活性) を測定した。酵素活性と INH 耐性度に相関がみられた。この結果は、変異情報から耐性度を直接判別できる可能性を示唆するものであり、INH 耐性結核、特に多剤耐性結核の治療において重要な情報を提供することができる。

臨床検体 146 例、臨床分離株 554 株を対象にした LPA の臨床評価試験を実施した。高い特異性・感受性が示され、臨床応用に大きく前進した。INH 耐性同定率が低いのは、検出対象を主要な変異に限定しているため

である。今後は LPA 本体の小型化を進め、既知耐性変異を網羅できるものを作製していく必要がある。

(4) 小児結核対策・医療の評価

①小児結核症例実態調査から取り組むことが必要と考えられた課題は以下のよう