

表6 結核治療歴別（未治療・既治療）薬剤耐性（n=2,292）

	未治療	比率	既治療	比率	混合	比率
Total	2097	1.000	195	1.000	2292	1.000
All Susceptible	1886	0.899	136	0.697	2022	0.882
Any Resistance	211	0.101	59	0.303	270	0.118
INH	64	0.031	24	0.123	88	0.038
RFP	15	0.007	13	0.067	28	0.012
SM	118	0.056	24	0.123	142	0.062
EB	27	0.013	5	0.026	32	0.014
LVFX (n=852)	25	0.032	4	0.061	29	0.034
Mono Resistance	147	0.070	21	0.108	168	0.073
INH	36	0.017	7	0.036	43	0.019
RFP	5	0.002	3	0.015	8	0.003
SM	95	0.045	11	0.056	106	0.046
EB	11	0.005	0	0.000	11	0.005
Multi-Drug Resistance	9	0.004	8	0.041	17	0.007
INH + RFP	2	0.001	3	0.015	5	0.002
INH + RFP + EB	3	0.001	1	0.005	4	0.002
INH + RFP + SM	1	0.000	2	0.010	3	0.001
INH + RFP + EB + SM	3	0.001	2	0.010	5	0.002
Poly resistance	23	0.011	11	0.056	34	0.015
INH + EB	3	0.001	2	0.010	5	0.002
INH + SM	13	0.006	7	0.036	20	0.009
EB + SM	3	0.001	0	0.000	3	0.001
INH + EB + SM	3	0.001	0	0.000	3	0.001
RFP + EB	1	0.000	0	0.000	1	0.000
RFP + SM	0	0.000	2	0.010	2	0.001
RFP + EB + SM	0	0.000	0	0.000	0	0.000

表7 年齡階級別藥劑耐性

年齡	区分		INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB
19≥ n=18	未治療	耐性	0	0	0	0	0
		感受性	18	18	18	18	18
		比率 (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	既治療	耐性	0	0	0	0	0
		感受性	0	0	0	0	0
		比率 (%)	0	0	0	0	0
20-29 n=139	未治療	耐性	8	3	1	9	6
		感受性	123	128	130	122	125
		比率 (%)	6.1	2.3	0.8	6.9	4.6
	既治療	耐性	1	0	1	2	0
		感受性	7	8	7	6	8
		比率 (%)	12.5	0.0	12.5	25.0	0.0
30-39 n=200	未治療	耐性	7	1	1	16	2
		感受性	185	191	191	176	190
		比率 (%)	3.6	0.5	0.5	8.3	1.0
	既治療	耐性	1	0	0	1	0
		感受性	7	8	8	7	8
		比率 (%)	12.5	0.0	0.0	12.5	0.0
40-49 n=174	未治療	耐性	7	5	2	14	2
		感受性	159	161	164	152	164
		比率 (%)	4.2	3.0	1.2	8.4	1.2
	既治療	耐性	2	2	0	2	0
		感受性	6	6	8	6	8
		比率 (%)	25.0	25.0	0.0	25.0	0.0
50-59 n=268	未治療	耐性	7	3	4	15	2
		感受性	235	239	238	227	240
		比率 (%)	2.9	1.2	1.7	6.2	0.8
	既治療	耐性	6	4	2	2	3
		感受性	20	22	24	24	23
		比率 (%)	23.1	15.4	7.7	7.7	11.5
60-69 n=315	未治療	耐性	8	7	2	17	3
		感受性	280	281	286	271	285
		比率 (%)	2.8	2.4	0.7	5.9	1.0
	既治療	耐性	3	2	3	7	1
		感受性	24	25	24	20	26
		比率 (%)	11.1	7.4	11.1	25.9	3.7
70-79 n=511	未治療	耐性	15	10	3	27	7
		感受性	444	449	456	432	452
		比率 (%)	3.3	2.2	0.7	5.9	1.5
	既治療	耐性	8	5	3	5	1
		感受性	44	47	49	47	51
		比率 (%)	15.4	9.6	5.8	9.6	1.9
80-89 n=531	未治療	耐性	8	4	1	15	2
		感受性	470	474	477	463	476
		比率 (%)	1.7	0.8	0.2	3.1	0.4
	既治療	耐性	1	1	2	3	0
		感受性	52	52	51	50	53
		比率 (%)	1.9	1.9	3.8	5.7	0.0
90< n=121	未治療	耐性	4	1	1	4	2
		感受性	104	107	107	104	106
		比率 (%)	3.7	0.9	0.9	3.7	1.9
	既治療	耐性	2	2	2	2	0
		感受性	11	11	11	11	13
		比率 (%)	15.4	15.4	15.4	15.4	0.0

表8 地域別薬剤耐性

地域	区分		INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB
北海道 東北 n=162	未治療	耐性	5	0	1	6	3
		感受性	151	156	155	150	153
		比率 (%)	3.2	0.0	0.6	3.8	1.9
	既治療	耐性	0	0	0	0	0
		感受性	6	6	6	6	6
		比率 (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
関東 n=833	未治療	耐性	21	11	5	51	11
		感受性	729	739	745	699	739
		比率 (%)	2.8	1.5	0.7	6.8	1.5
	既治療	耐性	8	6	6	8	3
		感受性	75	77	77	75	80
		比率 (%)	9.6	7.2	7.2	9.6	3.6
中部 北陸 n=198	未治療	耐性	6	4	0	8	2
		感受性	182	184	188	180	186
		比率 (%)	3.2	2.1	0.0	4.3	1.1
	既治療	耐性	1	1	0	1	0
		感受性	9	9	10	9	10
		比率 (%)	10.0	10.0	0.0	10.0	0.0
近畿 n=506	未治療	耐性	24	15	6	31	4
		感受性	433	442	451	426	453
		比率 (%)	5.3	3.3	1.3	6.8	0.9
	既治療	耐性	5	4	3	7	1
		感受性	44	45	46	42	48
		比率 (%)	10.2	8.2	6.1	14.3	2.0
中国 四国 n=202	未治療	耐性	4	2	2	8	4
		感受性	185	187	187	181	185
		比率 (%)	2.1	1.1	1.1	4.2	2.1
	既治療	耐性	3	1	1	4	1
		感受性	10	12	12	9	12
		比率 (%)	23.1	7.7	7.7	30.8	7.7
九州 n=391	未治療	耐性	4	2	1	14	3
		感受性	353	355	356	343	354
		比率 (%)	1.1	0.6	0.3	3.9	0.8
	既治療	耐性	7	4	3	4	0
		感受性	27	30	31	30	34
		比率 (%)	20.6	11.8	8.8	11.8	0.0

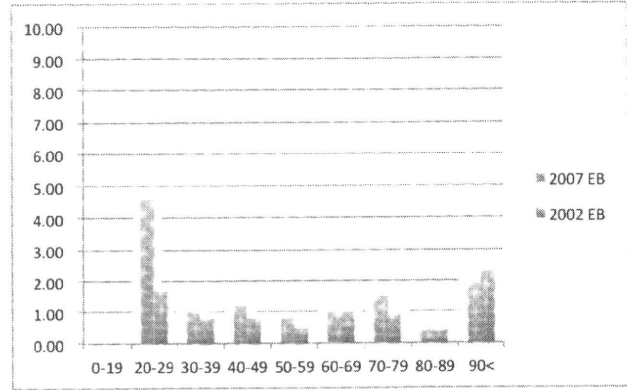
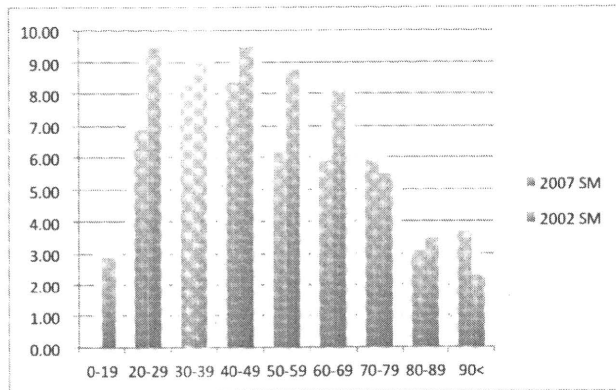
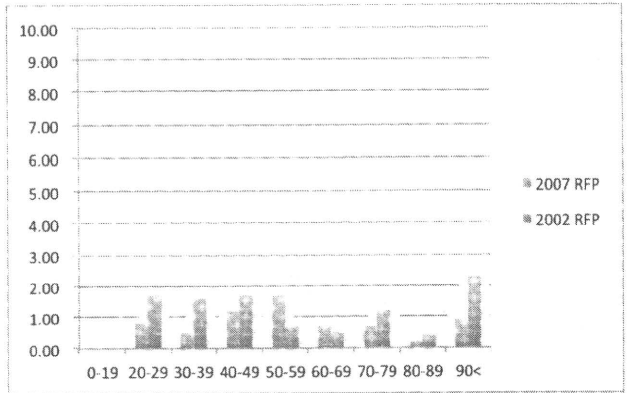
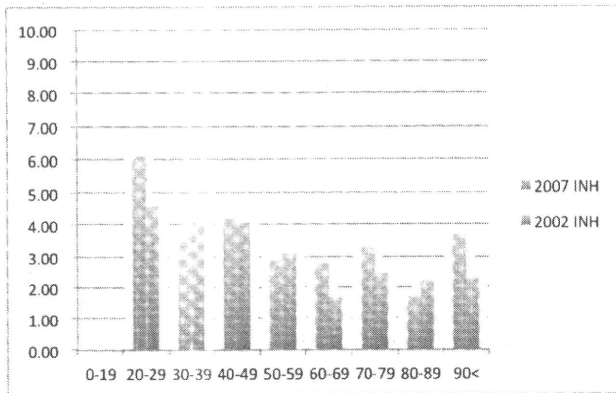
表 10 性別薬剤耐性

性別	区分		INH 0.2	INH 1.0	RFP	SM	EB	LVFX
男性 n=1,573*	未治療	耐性	42	24	11	77	20	13
		感受性	1376	1394	1407	1341	1398	520
		比率 (%)	3.0	1.7	0.8	5.4	1.0	2.4
	既治療	耐性	21	14	12	18	5	4
		感受性	134	141	143	137	150	51
		比率 (%)	13.5	9.0	7.7	11.6	3.2	7.3
女性 n=719**	未治療	耐性	22	10	4	41	7	12
		感受性	657	669	675	638	672	241
		比率 (%)	3.2	1.5	0.6	6.0	1.0	4.7
	既治療	耐性	3	2	1	6	0	0
		感受性	37	38	39	34	40	11
		比率 (%)	7.5	5.0	2.5	15.0	0.0	0.0

\*LVFX のみ 588 \*\*LVFX のみ 264

図2 2002年と2007年の年齢階級別耐性率比較

未治療耐性



既治療耐性

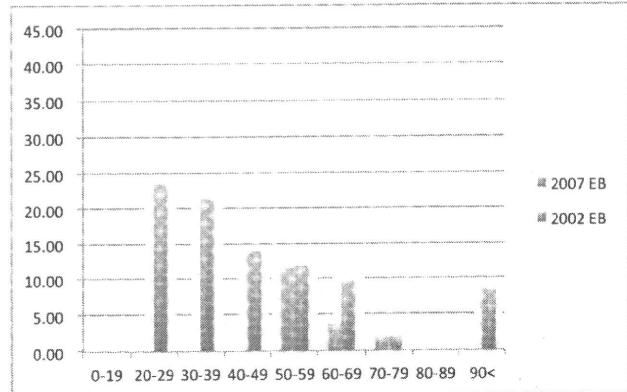
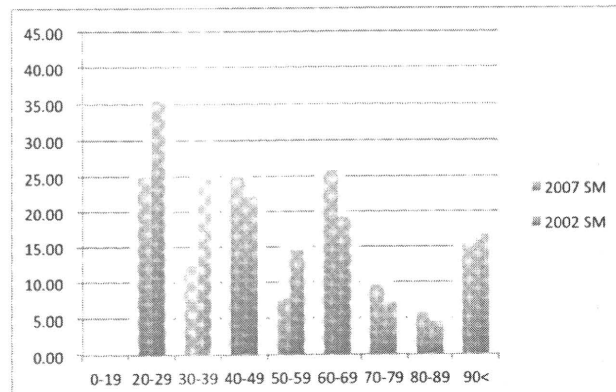
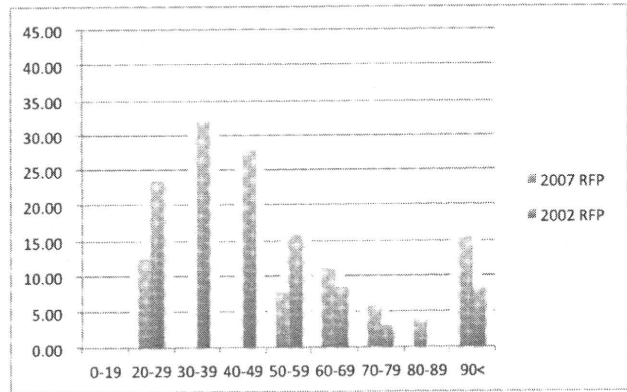
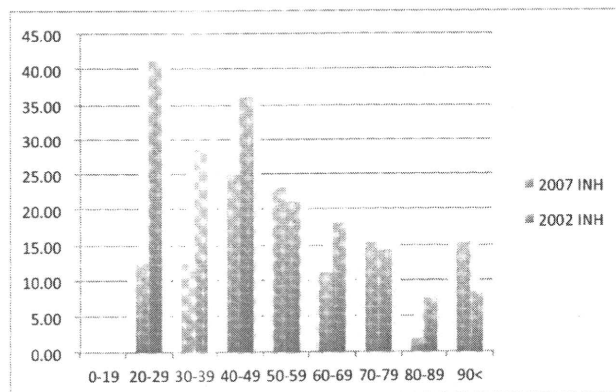
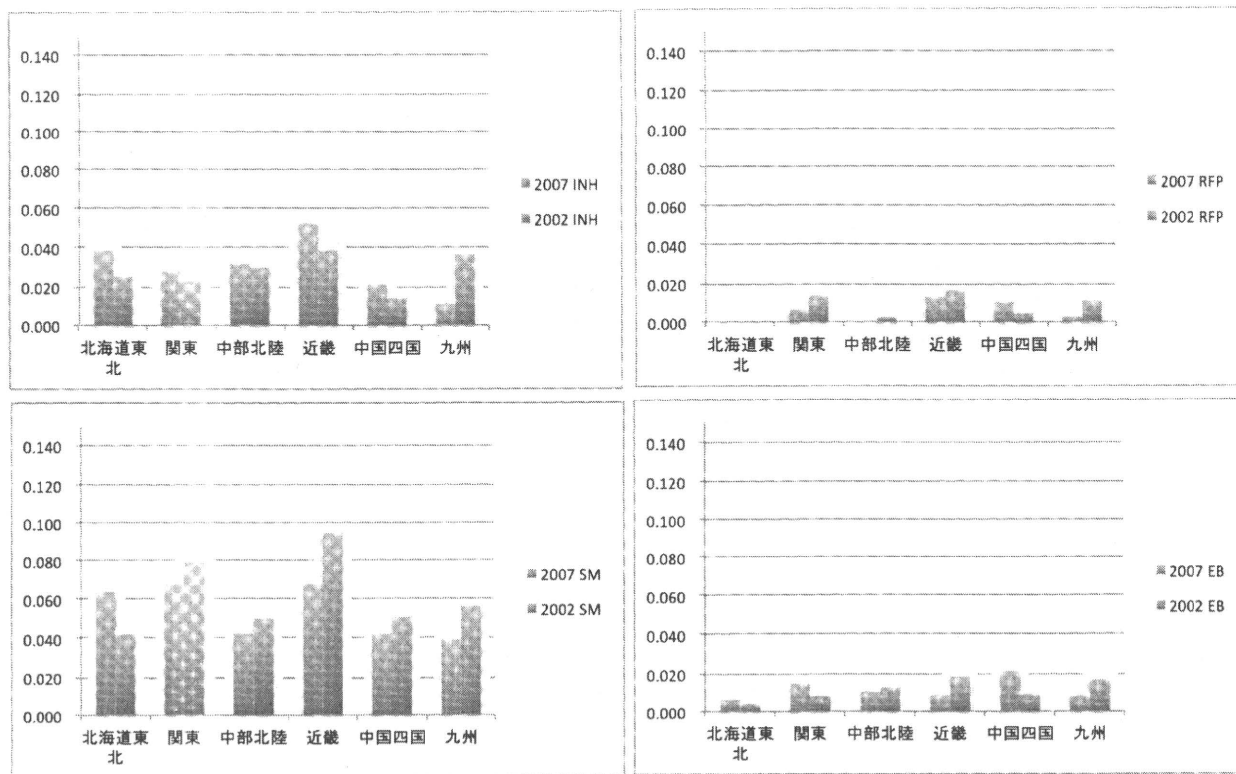
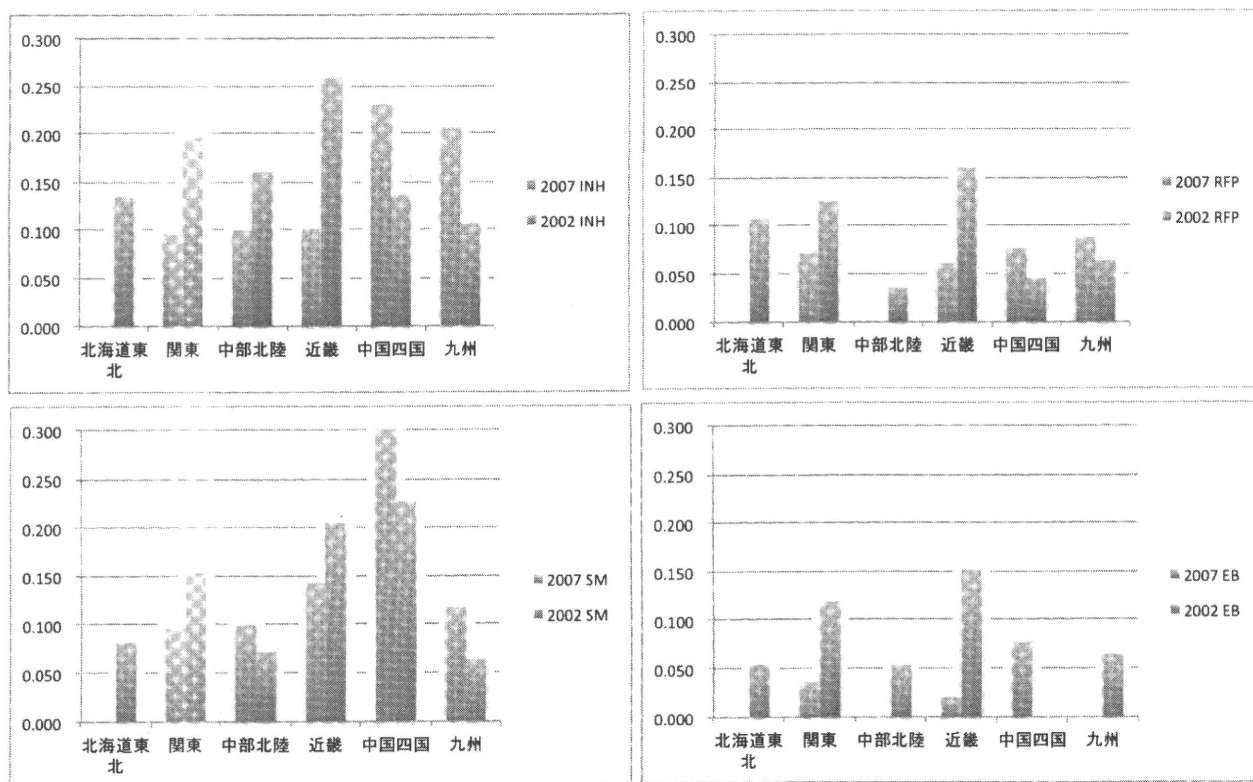


図3 2002年と2007年の地域別耐性率比較  
未治療



未治療



厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
研究分担報告書  
新化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価

研究分担者 岡田全司  
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長

研究要旨

1. 我々は微生物化学研究所との共同研究で CPZEN-45（カプラザマイシン）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。
2. リネゾリドは phase II 臨床試験（多剤耐性結核に対する）がなされている情報を得た。さらにリネゾリドの副作用末梢神経障害と骨髄細胞減少の副作用を少なくした PNU100480 が phase I study を終え phase II に移行した。
3. リファブチン感受性迅速診断法を開発するために rpo B genotype のどのコドンに変異があるとリファブチン感受性となるかまで解析した。その結果、コドン 516、コドン 511、コドン 522 に変異があるとリファブチン感受性となることを明らかにした。リファブチンがリファンピシンで耐性菌の何%に感受性があるか解析した。さらにその迅速診断法を開発した。  
102 例の MDR-TB 菌中 19 例（18.6%）に RBT 感受性。rpoB genotype の解析よりコドン 516 が（Asp→Val）変異で RFB 感受性発見。これを Line probe assay：ジェノスカラー・Rif TB キット（保険点数あり）で迅速診断できることを発見。上記 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. 1 回目調査票による解析をしたが、その後の追加症例の報告によると、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く、切れ味が悪いとの報告有り。②リネゾリド投与はさらに 10 例。リネゾリドは切れ味が良く、1-2 ヶ月で排菌陰性（60%）。③メロペン+クラブラン酸治療は 3 例。うち 1 例は排菌量の減少。
5. Ksp37(killer-specific secretory protein 37KDa)による細胞性免疫予後診断法（分子学的結核菌診断法）の開発。  
多剤耐性結核や難治性結核では CD8<sup>+</sup>T 細胞からの granulysin 低下。granulysin はキラーT 細胞分化因子として T 細胞に作用し結核免疫、結核治療効果。
6. 2010 年新規入院患者で多剤耐性結核患者 3 例に新しい治療法を行った。  
MFLX は 1 例で菌陰性化、もう 1 例は排菌減少、もう 1 例では INH 高濃度耐性であるが、INH high dose adjuvant 療法が有効で菌陰性化を示した。
7. 診療ガイドライン作成のための N95 マスク着用は、平成 21 年～22 年度の結核病棟における結核感染防止に有用である実証を QFT 検査で示した。また外科治療において、空洞を有する多剤耐性結核の外科治療は有効であることを示した。

## 研究協力者

岡田 全司	NHO 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
豊田恵美子	NHO 東京病院 呼吸器科医長
松本 智成	大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター 臨床研究部長
田尾 義昭	NHO 福岡東医療センター 呼吸器感染部長
西村 一孝	NHO 愛媛病院 院長
村上 一生	NHO 山口宇部医療センター 内科医師
神徳 濟	NHO 山口宇部医療センター 内科医師
露口 一成	NHO 近畿中央胸部疾患センター臨床研究センター 部長
鈴木 克洋	NHO 近畿中央胸部疾患センター臨床研究センター 統括診療部
中島 由槻	NHO 東京病院 院長
松村 晃秀	NHO 近畿中央胸部疾患センター 副院長

## A.研究目的

1. 新化学療法剤による、治療期間の短縮や多剤耐性結核医療の進歩による患者のQOL向上と医療費節減。
  2. 薬剤（リファブチン）感受性検査迅速遺伝子診断法による画期的な臨床診断・治療の進展。
  3. 薬剤耐性結核診療ガイドライン、外科治療マニュアル、細胞性免疫予後診断法の開発は、多剤耐性結核の標準的治療として全国に普及。
  4. 新化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価。このことより短期の治療、多剤耐性結核等の治療困難な患者の治療開発。
    - ① 治療完了率の向上。
    - ② 多剤耐性結核に対する有効性の改善。
    - ③ 潜在性結核感染も標的とする。
    - ④ 結核とエイズ合併症（TB-HIV）の治療。
    - ⑤ XDR-TB 及びスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌に対する有効性の改善。
    - ⑥ 投与方法の改良によるコンプライアンス向上。
- WHO 及び世界結核薬開発同盟（Global Alliance for TB Drug Development）は上記①、③、④、⑥の化学療法剤を切望。
5. INH に代わる新薬や薬剤を含んだ治療方式の開発・評価、薬剤耐性結核診療ガイドライン、細胞性免疫予後診断法の開発。

## B.研究方法

1. 調査票（新しい結核治療剤使用）のまとめと、追加症例を集積した。新しい結核治療剤として、本邦で厚労省の認可が下りている①Rifabutin、②Linezolid 及び③Meropenem hydrate＋クラブラン酸を対象とした。
2. 新化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価。（INH に代わる新薬や薬剤組み合わせ）  
結核患者の治療期間の短縮。  
下記の新しい薬剤と一次抗結核剤（RFP、INH、SM（EB）、PZA）との組み合わせによる強力な治療効果・治療期間の短縮を解析する。  
リファンピシン（RFP）耐性患者におけるリファブチン（RBT）使用における有効性と副作用の解析  
・国立病院機構呼吸器疾患研究ネットワークを活用して行う。  
・全国結核診療施設にリファブチン投与例についての調査表を送付し解析する。  
・RFP 耐性結核菌の RBT 感受性についての迅速診断法を確立する。
3. ・当センターにて分離された結核菌のうち、薬剤感受性検査結果から RFP 感受性株 30 株(2008 年 8.1~8.31) と MDR-TB 株 72 株(2001 年 1.1-2008 年 12.31)を対象とした。（RFP に低レベル耐性を示す 株を含む）  
・RFP と RBT に対する MIC をプロシミック MTB-1 ならびに 7H9base の



Microdilution 法を用いて測定。

・ジェノスカラー・Rif TB を用いて、*rpoB* 領域の変異を検出し、さらに RRDR (Rifampicin-resistance determining region) シークエンス解析を行った。

4. フルオロキノロン系薬剤(MFLX 等)を加えた治療期間の短縮。

(フルオロキノロン系薬剤については、薬剤耐性結核、特に多剤耐性結核の治療において国際的に必須の薬剤となっている。さらに近年モキシフロキサシン (MFLX) 等新たな薬剤の諸外国での治療成績が報告されている。しかし、結核菌に対する抗菌力はファーストライン抗結核薬並みに強いが、本邦ではまだ保険適用が認められていない。)したがって、レボフロキサシン(LVFX)、MFLX、シプロフロキサシン、スパルフロキサシンの中の一剤を加えた新しい治療法の策定を急ぐ。

現状の 2HREZ+4HR の結核標準治療総 6 ヶ月治療に対する、総治療短縮期間を H(INH)の代わりにフルオロキノロンを用いて解析。

臨床症状、胸部 X 線、喀痰排菌、培養等でも解析する。血液検査 (肝、腎機能) 等で副作用を解析。

5. INH High dose アジュバント療法 : INH 900mg/日を投与して多剤耐性結核患者の治療を試みた。
6. 多剤耐性結核に対する有効性の改善。結核治療効果解析モデルマウス (DBA/1)を用いて解析する。XDR-TB 及び S・S 多剤耐性結核菌に対する有効性の改善。
7. 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。(b) 多剤耐性結核や難治性結核では CD8<sup>+</sup>T 細胞からの granulysin 低下の診断法。
8. 肺結核症に対する外科治療適応症例は減少しつつあり、最近では未診断症例に対する外科的生検が主となっている。しかし、排菌持続陽性例、多剤耐性結核に対する外科治療の適応は未だ存在する。  
最近 5 年間の肺結核外科症例の治療成

績を検討した。

### C.研究結果

1. 我々は微生物化学研究所との共同研究で CPZEN-45 (カプラザマイシン) が多剤耐性結核に有効であることを明らかにした。

CPZEN-45 投与による H37Rv 結核菌に対するマウスの系での結核治療効果。

H37Rv 結核菌を  $5 \times 10^5$  i.v.投与した後、CPZEN-45 を投与して、肺・肝・脾の結核菌を減少させた。XDR-TB にも治療効果を示した。これが WHO の Working Group on New TB Drug の Current Global TB Drugs Pipeline の Preclinical Development にノミネートされた (WHO の WGND Annual Meeting ベルリン 2010) (表 1)。Phase I の直前の Preclinical Development にノミネートされた CPZEN-45 は、他の新規抗結核薬 SQ641、SQ609、DC-159a、Benzothiazinones、Q201 と同様の開発進展段階にある (表 1)。CPZEN-45

( Caprazamycin: Derivative of Caprazamycin B) の化学構造式を図 1 に示した。さらに Caprazamycin (CPZEN-45) の特許出願をすでに行った。発明者は高橋良昭、五十嵐雅之 (財団法人微生物化学研究会) と岡田全司である。また、DC-159a (New Generation of Respiratory Quinolone) の化学構造式も図 1 に示した。さらに新しい結核化学療法剤の臨床応用研究情報調査研究を、Gordon Research Conference、International Workshop on Clinical Pharmacology of Tuberculosis Drug、WHO WGND ミーティング : (Working Group on New TB Drug) in WHO STOP TB Partnership の各種ミーティングで行った (表 2、表 3)。

2. 調査票 (新しい結核治療剤使用) のまとめと、追加症例を集積した。新しい結核治療剤として、本邦で厚労省の認可が下りている①Rifabutin、②Linezolid 及び③Meropenem hydrate+クラブラン酸を対象とした。

1 回目の調査票の結果、269 施設中 126 施設 (46.8%) より回答が得られた。新しい結核治療剤使用症例は、①リファブチン 30 症例、②リネゾリド 6 症例、③メロペネム+クラブラン酸 1 症例、合計 37 症例であった。1 年以上前から抗結核剤として認可されているリファブチンが多く認められた (表 4)。

リファブチン 30 症例のうち、有効例は 16 例 (53.3%) で、無効例 5 例 (16.7%) であった (表 5)。

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 (表 6)。

一方、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 (表 7)。

リファブチンの副作用として、白血球減少、血小板減少、肝機能異常が認められた(表 8)。

リファンピシン (RFP) をリファブチンに変更した理由として、(1) RFP が肝障害のため使用できずリファブチンに変更、(2) INH、RFP、PZA、EB 等が副作用のため使用不可、(3) ワーファリン内服中のため、(4) 間質性肺炎でステロイド内服中で、ステロイド濃度維持のため、等であった。

一方、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 (表 9)。

メロペネムクラブラン酸は、今回の調査ですでに 1 症例報告がなされた。

MDR-TB で、SM 耐性、EB 耐性、PZA 耐性の 82 歳男性に投与。塗抹陽性から塗抹陰性となり、結核菌量の減少が認められ有効であった。しかし、培養で結核菌陰性化には至っていない(表 10)。

- 1 回目調査票による解析をしたが、その後の追加症例の報告によると、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く、切れ味が悪いとの報告有り。②リネゾリド投与はさらに 10 例。リネゾリドは切れ味が良く、1-2 ヶ月で排菌陰性(60%)。③メロペン+クラブラン酸治療は 3 例。うち 1 例は排菌量の減少。

表 1

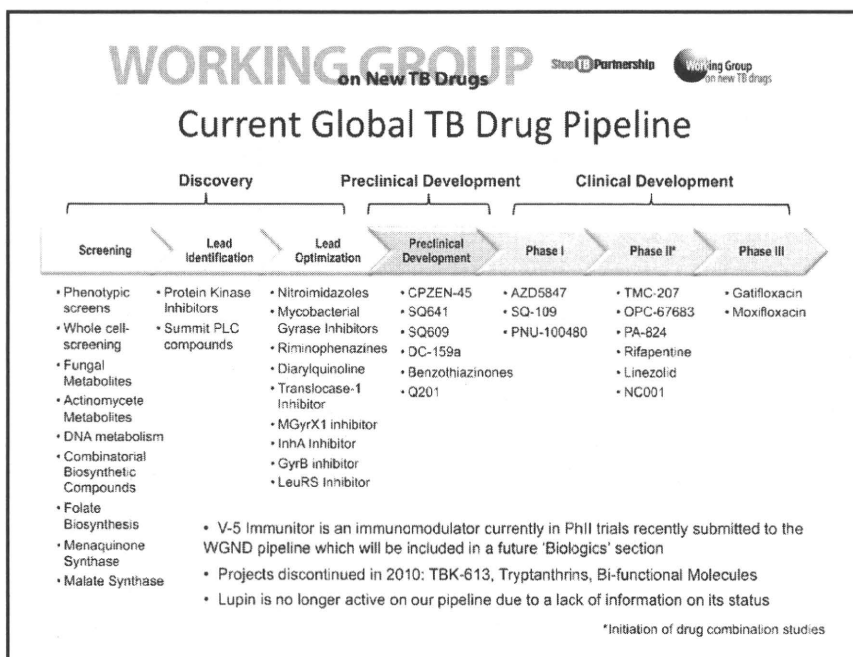


図1 開発途上にある主な抗結核薬・候補化合物とその化学構造

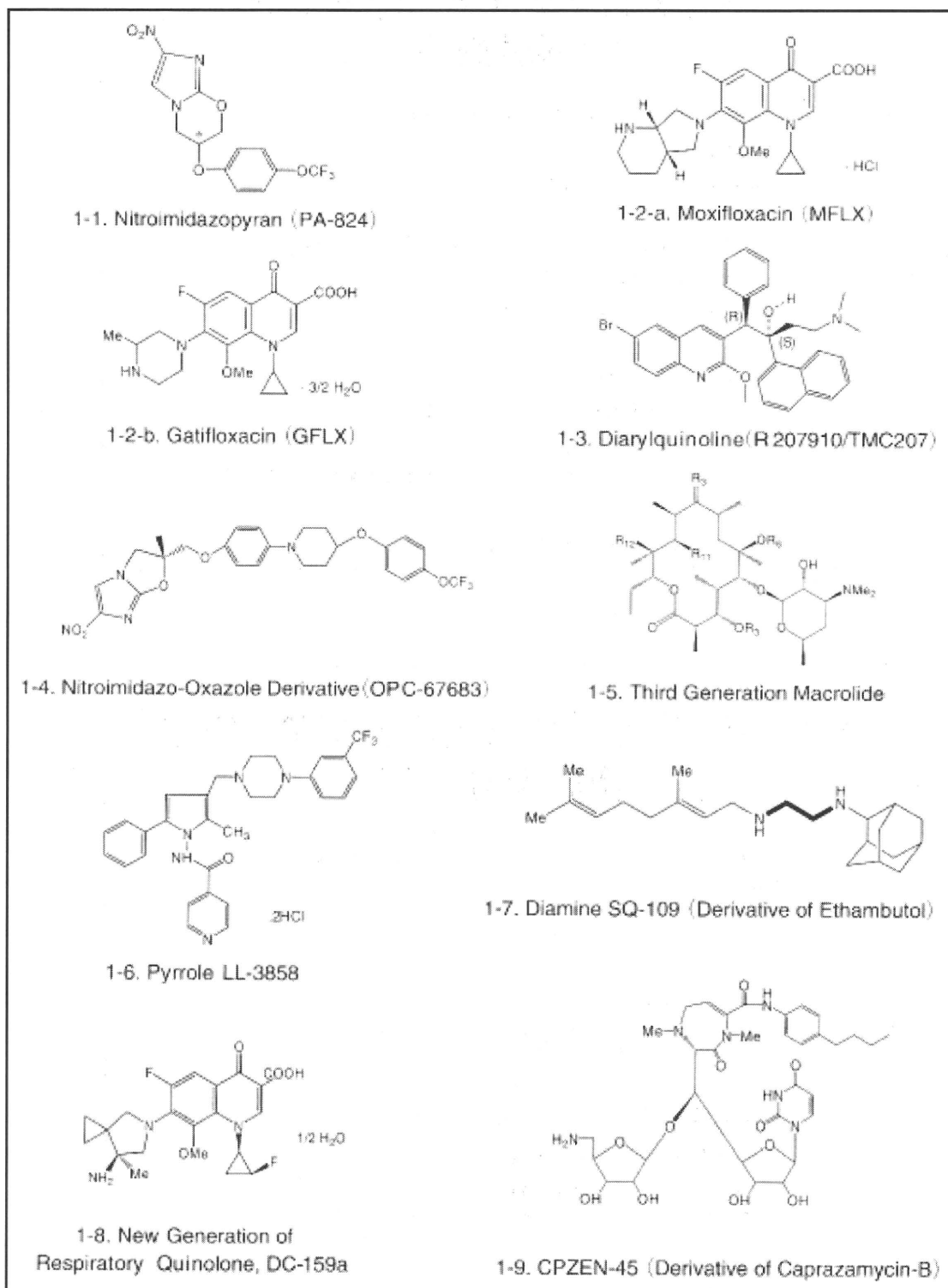


表 2

## 新しい結核化学療法剤の臨床応用研究 情報調査研究

1. Gordon Research Conference on Tuberculosis Drug Development.  
Oxford, UK, Aug.16-21, 2009.
2. 2nd International Workshop on Clinical Pharmacology of Tuberculosis Drug.  
San Francisco, USA, Sep.11, 2009.
3. 49th ICAAC Meeting.  
San Francisco, USA, Sep. 12-15, 2009.
4. WGND (Working Group on New TB Drugs) in WHO STOP TB Partnership  
Cancun, Mexico, Dec. 3-7, 2009

表 3

## 新しい結核化学療法剤の臨床応用研究 情報調査研究

5. 3<sup>rd</sup> International Workshop on Clinical Pharmacology of Tuberculosis Drug  
Boston, USA Sep 11, 2010
6. 50<sup>th</sup> ICAAC Meeting  
Boston USA Sep 12-15, 2010
7. WGND (Working Group on New TB Drug) in WHO STOP TB Partnership  
Berlin Germany Nov12, 2010

表 4

<b>調査票(新しい結核治療剤使用)</b>	
1. リファブチン	30症例
2. リネゾリド	6症例
3. メロペネム クラブラン酸	1症例
合計	37症例

表 5

### リファブチン(30症例)効果

有効 16例	53.3%
無効 5例	16.7%
合計 30例	

表 6

### リファブチン(MDR-TB 17症例)効果

有効 5例	29.4%
無効 5例	29.4%
合計 17例	

表 7

### リネゾリド(6症例)効果

有効 4例	66.7%
不明 2例	33.3%

表 8

### リファブチン[副作用]

- ① 白血球減少症 3例
- ② 血小板・汎血球減少症 3例
- ③ 貧血 1例
- ④ 肺機能異常 3例

表 9

### リネゾリド

有効例は

結核菌

塗沫陰性

培養陰性

副作用

(1)骨髄抑制 2例

(2)末梢神経障害 3例

(6例中)

## メロペネム-クラブラン酸(1症例)効果

### 有効

対象 男性82歳、肺結核、MDR-TB、SM耐性、  
EB耐性、PZA耐性

塗抹陰性となる  
培養陽性のまま。しかし結核菌量の減少。

メロペネムを1ヶ月2w以上投与  
治療4ヶ月後の喀痰塗抹(-)だが培養(+)と  
菌陰性化には至っていない。

継続中

4. リファブチン感受性迅速診断法の開発  
リファブチンはリファンピシンと異なり、  
薬剤の血中濃度(例えばステロイド、ワー  
ファリン等)に影響を与えることが少ない  
ことより、これらの投薬を必要とする合併  
疾患結核患者にリファブチンがリファン  
ピシンの代わりに使用されることがある。  
また、リファンピシンに耐性の場合にリフ  
アブチンが用いられることも多い。しかし、  
RFP 耐性菌の場合、リファブチン感受性菌  
であることを迅速に診断することが切望  
されているが、その迅速診断法は確立され  
ていない。

一方、我々は RFP 耐性に 95%関与する  
rpoB 遺伝子変異の迅速診断ならびに多剤  
耐性結核患者の迅速入院法 (Inno-Lipa ジ  
ェノスカラー-Line Probe Assay) をすでに確  
立し、厚生行政に大きく寄与しつつある  
(図 2)。

したがって、ジェノスカラー-Line Probe  
Assay 法を用いて、リファブチン感受性迅  
速診断法の開発を試みた。その結果、リフ  
アブチン感受性迅速診断法を世界に先駆  
けて開発した(図 3、4、表 11、12)。

本邦の RFP 耐性に関与する遺伝子変異は  
R4b 2.9%、R4a 9.7%、R2 9.7%であ  
り、世界各国でのそれぞれの変異と大きな  
差は認められない(表 11)。当国立病院機  
構近畿中央胸部疾患センターのこれらの  
遺伝子変異は日本のそれらと同様であ  
った(表 11)。

多剤耐性結核 (MDR-TB) 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(図 3、4)。

102 例の MDR-TB 菌中 19 例 (18.6%) に  
RBT 感受性。rpoB genotype の解析よりコ  
ドン 516 が (Asp→Val) 変異で RFB 感受  
性発見。これを Line probe assay: ジェノ  
スカラー・Rif TB キット (保険点数あり) で  
迅速診断できることを発見。上記 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(表 12)。

5. 新薬の開発は現在治験中である。2010 年  
に当院新規入院結核患者のうちで、多剤耐  
性 (MDR) 結核であったものは 3 例であ  
った。これらの治療について、レトロスペ  
クティブに検討を加えた。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。  
各症例を記載する。

症例 1) 64 才女性: 糖尿病治療中、外国籍、  
2009 年 4 月 TB にて HREZ 開始するも中  
断、2010 年 1 月 HREZ を再開し、来日後  
6 月より咳あり、前医入院し胃液塗抹 1+、  
培養陽性にて 7/21 より HREZ、感受性検

査でHRSに耐性あり、当院転院b II 3、塗抹2+、培養陽性、SM、H 0.2、H 1.0、RFP、EB、耐性、9/30よりHREZにTH、PAS、Cs、MFLXを追加して10/6より菌陰性化し継続中である。

症例2) 78才女性：S29年結核PAS、SM治療、2010年10/29入院、b II 3pl、塗抹2+、培養陽性、11/1HRE開始、11/30MGITASTでHRS耐性、EB、MFLX、KM、にTH、PASを追加し、継続し減菌。

症例3) 57才男性：COPD、HOT導入、2008年4月より咳、発熱、5月にTBと診断され、5/22よりHREZを開始されたが、7/23蛋白尿が出現しネフローゼ、内服中止、7月末EBとLVFX投与し、腎機能の悪化あり、中止、減感作し11月よりLVFX、RFP、THを継続していた。2009年3月LVFXが耐性と判明、SM、RFP、TH、PAS投与し、6月RFP、THが耐性、CS、EB、SM、PASに変更、11月SM耐性、Cs、EB、PAS継続し12/4より菌陰性化退院し通院治療で継続、6/1再排菌にて再入院、塗抹1+、培養陽性、TRC陽性、SM、H 0.2、H 1.0、RFP、LVFX耐性、RBT

で腎機能低下あり、KM、MFLX、CAM、Cs、PAS、に加えINH900mg投与して、10/19より菌陰性化した。手術を検討したが、心肺機能の問題あり。

6. 細胞免疫予後診断法(分子生物学的結核菌診断法)の開発

(ア) 多剤耐性結核や難治性結核ではCD8<sup>+</sup>T細胞からのgranulysin低下。

MDR-TBではキラーTリンパ球中のgranulysinの有意な低下を薬剤感受性結核患者に比較して発見した(Human Vaccine 岡田、喜多2010)。MDR-TB患者のT細胞からのgranulysin産生(in vitroでPPDや結核死菌抗原刺激で40時間培養上清中)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(Human Vaccine 2010)。

図2

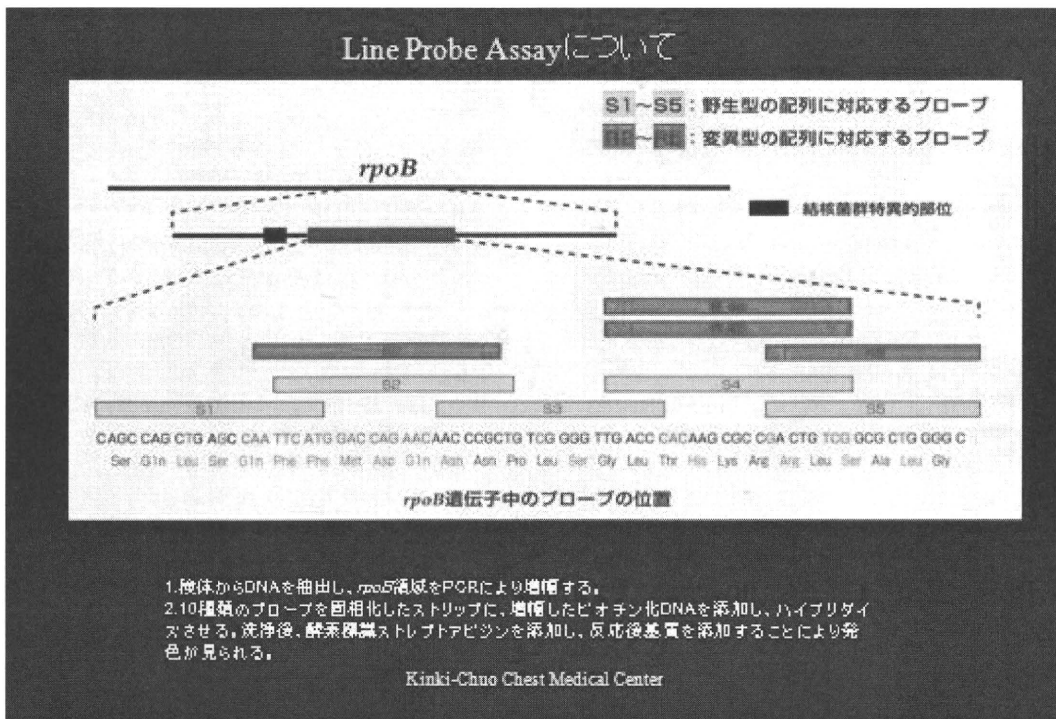




表 11

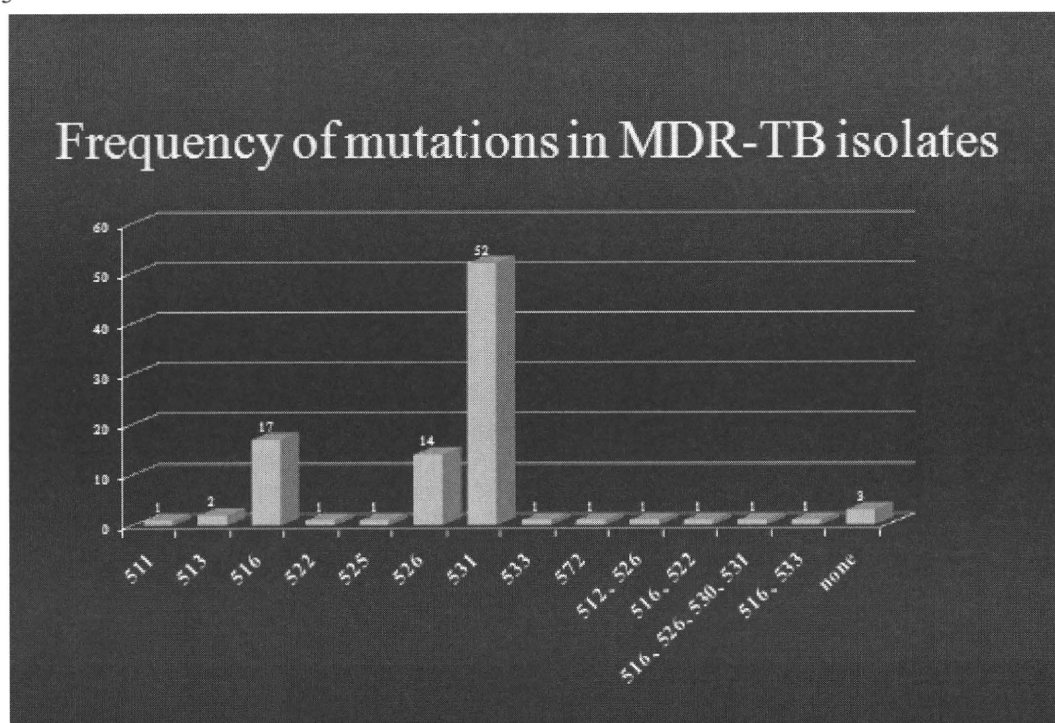
### Frequency of mutations in RFP-resistant *M. tuberculosis* isolates from different geographic regions

Geographic region (No. of countries/No. of isolates)	Frequency (%) of mutated codons						No mutation within hot-spot region
	Ser-531-Leu His	S26-Asp His	S26-Tyr Asp	S16-Val	Other mutations		
	R5	R4b	R4a	R2			
United States(61)	34.4	8.2	27.9	4.9	16.4	8.2	
New York(51)	33.3	3.9	39.2	3.9	9.9	9.8	
Brazil(82)	50	1.2	11	6.2	28	3.6	
Australia(24)	48.5	12.1	12.1	6.1	18.2	3	
Africa(3countries/80)	46.2	6.3	6.3	7.5	18.7	15	
Europe+Africa(14countries/197)	43.7	10.6	9.6	7.6	26.5	2	
Hungary(29)	31	6.9	0	37.9	13.9	10.3	
Greece(17)	41.2	17.6	0	11.8	23.5	5.9	
Italy(37)	56.7	24.3	2.7	2.7	13.6	0	
Turkey(41)	46.3	2.4	4.9	2.4	41.5	2.4	
India(44)	54.5	2.3	4.5	0	36.4	2.3	
Taiwan(48)	47.9	0	2.1	8.3	31.3	10.4	
Asia(11 countries/89)	51.7	4.5	9	13.5	14.6	6.7	
Japan(96)	52.4	2.9	4.9	9.7	26.2	3.9	
Our data(MDR92)	47.8	3.7	5.4	18.5	21.3	3.3	

Includes frequency of mutations only at a single codon.

**RFP 耐性結核菌における *rpoB* 変異頻度に地域特異性が存在する**

図 3



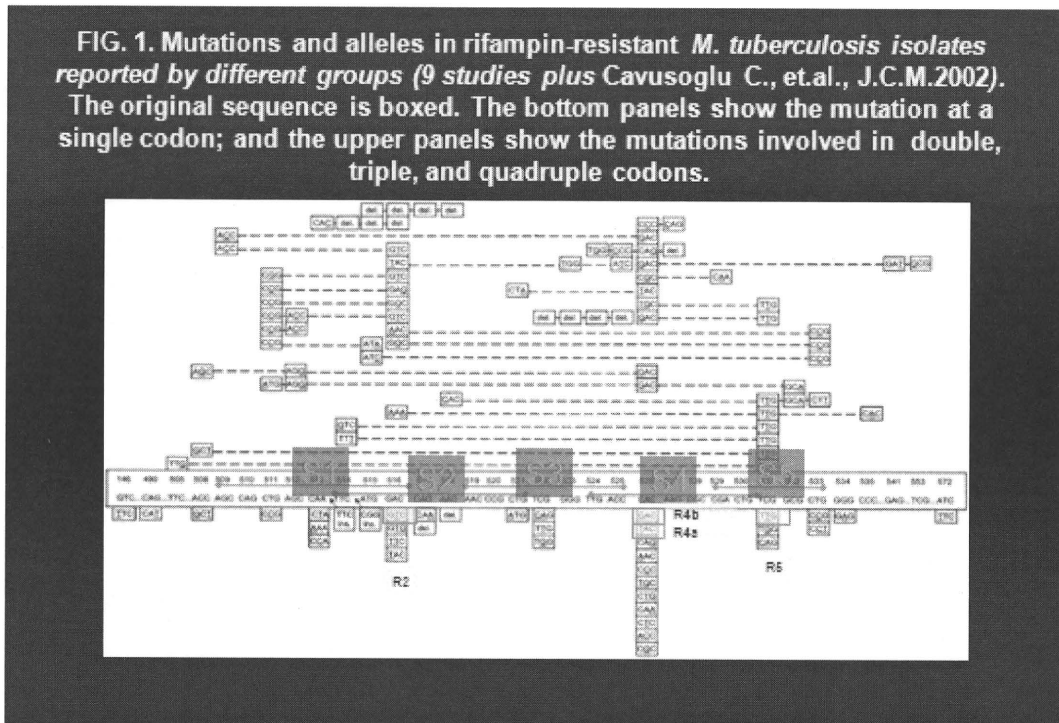


表 12

Comparison of studies about cross-resistance between rifampicin and rifabutin

rifampicin-resistance(n)	cross-resistance between rifampicin and rifabutin	cross-resistance rate (%)	critical concentration	Methods
8	4	50	MIC>40 µg/ml	Ogawa medium
92	Not shown	88	MIC>0.5 µg/ml	7H12 broth
23	20	87	MIC≥2.5 µg/ml	7H11 agar
25	22	88	MIC≥8 µg/ml	BACTEC 460
52	38	73	MIC≥1 µg/ml	Not shown
29	21	72	MIC≥2 µg/ml	BACTEC 12B
30	24	80	MIC>2 µg/ml	E-test
21	17	81	MIC>1 µg/ml	BACTEC 460
41	35	85	MIC≥1 µg/ml	7H10 agar
102	83	81	MIC>0.25 µg/ml??	7H9 broth

(イ) さらに、キラーT細胞から産生される Ksp37 蛋白 (killer-specific secretory protein 37kDa) が結核患者の血清中で有意に低下していることを発見した。これを用いた新しい細胞免疫診断法の確立を行いつつある。図5に示した如く、KSP37 蛋白はキラーT細胞、Type I ヘルパーT細胞、CD4 T細胞、NK細胞から産生される蛋白である。KSP37 蛋白は 223 個のアミノ酸よりなる分子量 24,581Da の分子である。KSP37 遺伝子は 1153bp cDNA によりコードされる。哺乳動物細胞では分子量 37kDa の KSP37 蛋白となる。それは、28kDa 蛋白にシアル酸 (o-glycosylation) が結合するからである。第4番染色体 (4p16) に KSP37 遺伝子が存在し、2つのエクソンよりなる。KSP37 蛋白の生理学的な活性は不明であり、EB ウイルス感染でヒト血液中の KSP37 蛋白が上昇することが言われている。しかしその機能は不明である。ある種のヒト卵巣癌やある種のヒト glioma で KSP37 の発現が報告されており、発症している癌は予後が良いタイプが示唆されているか、不詳である。このように KSP37 の生理学的機能、免疫学的機能、結核に対する役割は全く不明である。一方、キラーT細胞はヒトの chronic な結核感染に対する抵抗性の免疫担当細胞として最も重要なリンパ球であることが世界的なコンセンサスである。このキラーT細胞から KSP37 が分泌されることより、我々は結核患者血清中の KSP37 を測定して、健常人の KSP37 の値と比較検討した。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 (図5)。その結果結核患者の血清中の KSP37 濃度は 200ng/ml~500ng/ml であった。一方健常人の血清中の KSP37 濃度は 300ng/ml~900ng/ml であった。すなわち、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。(p<0.05)。これらの結果より 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。

(ウ) したがって、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。リコンビナント KSP37 を in vitro の系に加えてキラーT細胞分化誘導活性を測定

した。その結果キラーT細胞誘導活性を示した。さらに、このリコンビナント KSP37 は IL-2 の産生増強効果、IFN- $\gamma$  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。我々の一連の研究より、IL-6、IL-2 及び IFN- $\gamma$  はキラーT細胞分化因子として作用することを世界に先駆けて明らかにしたが、KSP37 のキラーT細胞分化誘導活性と IL-6、IL-2 及び IFN- $\gamma$  産生増強作用は、結核免疫 (抵抗性) にとって重要な機能を KSP37 が有する可能性が示唆され、極めて興味深い結果を得た。

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。その結果、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。すなわち KSP37 は生体内抗結核作用を有することが示唆された。

7. 診療ガイドライン作成のための、結核病棟における N95 マスク着用の感染防止に有効である実証を QFT 検査で明らかにした。
8. OPC-67683、CPZEN-45 や INH、RFP と新しい結核ワクチン等を使用して、結核や多剤耐性結核の治療期間短縮効果をマウスで解析予定である。
9. 新しい結核化学療法剤の臨床応用研究情報調査研究を行った。  
岡田は WHO STOP TB Partnership の WGND メンバーであり表1に示した如く、dialylquinoline や Nitroimidazo-oxazone の現在の phase IIb trial や 2~3 年後の臨床応用に向けての開発が注目されている。
10. 外科手術症例: 2005年1月から2009年12月までの全身麻酔手術例。結核の治療を目的として肺切除が行われた症例。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く。  
(表 14)  
手術目的: 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。(表 16)

図 5

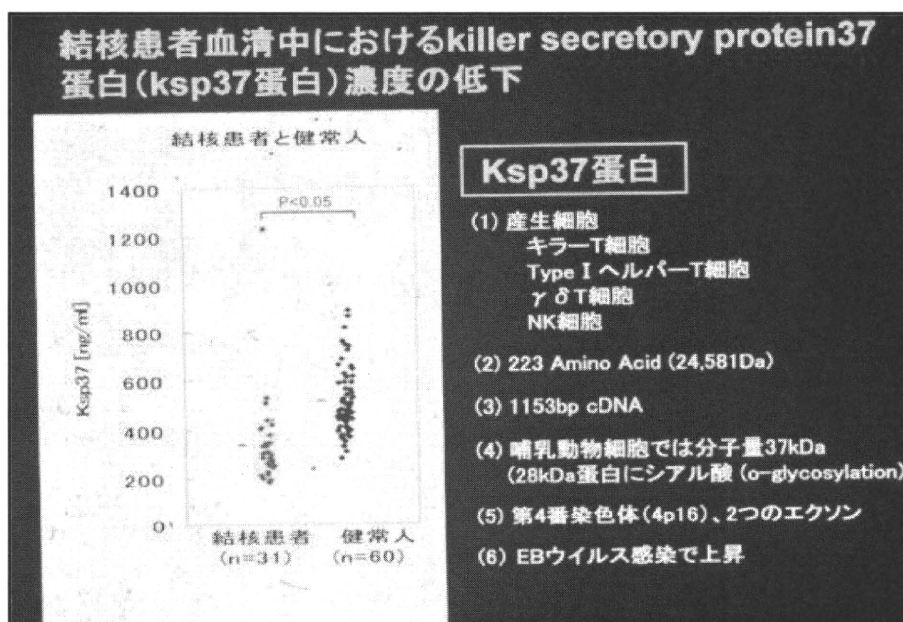


表 13

**Ksp37研究の進展**

1. Ksp37 Transgenic mouseを作製した。
2. リコンビナントKsp37蛋白の作製に成功した。

表 14

**手術目的**

• 多剤耐性結核	9
• 多剤耐性ではないが排菌持続 (うち1例は気管支結核)	2
• 排菌(一)、結核後遺症	1
• 生検	7