

表 15

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 16

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	

#### D. 考察

- 「結核新化学療法を含めた治療方式の開発・評価:調査票(新しい結核治療剤使用)」全国結核診療施設(269施設)にすでに送付し、多くの施設40.8%にあたる126施設により回答を得た。リファブチンの有効性は全症例53.3%に有効で、またRFP耐性結核の29.4%に有効で副作用は白血球減少症。リネゾリドは66.7%に有効で副作用は末梢神経障害と骨髄抑制であった。
- 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。有効例、無効例の定義を当方が規定せず調査票を送ったためか不明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。今後のアンケートは有効例の規定を添付して送る予定である。
- 一方、リネゾリド(6症例)の効果は有効4例で66.7%で効果が認められた。リネゾリドに代わり、より結核感染治療に特異的

なしとも副作用(末梢神経障害等)の少ない薬剤(PNU-100480)が同じ製薬会社よりphase I trialされ、2011年度にはphase II trialに入るとの情報を得た。

- MFLX新治療法。症例1)、症例2)は、MFLXを含む5剤以上の感受性薬剤にて治療し、1)は菌陰性化、2)も改善しているところである。症例3)は副作用にて当初すべて感受性菌であったが、次々と耐性となったケースで難治性であった。3)ではINHは高濃度耐性であるが、最近報告されたINH high dose adjuvantを適応し、菌陰性化した。症例1)2)についてはLVFXに感受性があり、フルオロキノロンに感受性があるものでは予後が良いといわれている。MFLXは新薬である。症例3)は副作用の出現による難治性例である。文献に基づいてINH900mg/日を投与して菌陰性化がえられた。

#### E. 結論

- 「結核新化学療法を含めた治療方式の開

発・評価: 調査票(新しい結核治療剤使用) 全国結核診療施設(269施設)にすでに送付し、多くの施設40.8%にあたる126施設により回答を得た。リファブチンの有効性は全症例53.3%に有効で、またRFP耐性結核の29.4%に有効で副作用は白血球減少症。リネゾリドは66.7%に有効で副作用は末梢神経障害と骨髄抑制であった。

2. リファブチン(RBT)がリファンピシン(RFP)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の解析よりコードン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・RifTB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。
3. 多剤耐性結核の治療は、各症例ごとに術式を考慮される。原則は有効な薬剤を3種類以上併用、初期にはできるだけ多種のほうが菌陰性化が速く、予後も良好と思われる。INH耐性でも、16-18mg/kgの大量アジュバント療法が有効であった。
4. 細胞性免疫予後診断法(分子生物学的結核菌診断法)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。多剤耐性結核の宿主要因(予後)のSNP解析(100例の多剤耐性結核で解析中)。多剤耐性結核菌、XDR-TB菌、スーパー・スプレッダー耐性結核結核菌のVNTR解析より感染力を解析中。
5. 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。
6. 外科治療マニュアル改訂版計画。
7. 当院における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。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- (1) Yoshida S, Suzuki K, Iwamoto T, Tsuyuguchi K, Tomita M, Okada M, Sakatani M. Comparison

of rifabutin susceptibility and rpoB mutations in multi-drug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains by DNA sequencing and the line probe assay. J Infect Chemother. 2010;16(5):360-3

- (2) Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Nishimatsu S, Sekine Y, Inoue Y, Matsumoto M, McMurray DN, E.C.Dela Cruz, E.V. Tan, R.M.Abalos, J.A.Burgos, Saunderson P, Sakatani M: Novel therapeutic vaccine: Granulysin and new DNA vaccine against Tuberculosis. Human Vaccine. (in press)
- (3) Kita Y, Okada M, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Nishimatsu S, Sekine Y, Takamori Y, McMurray DN, E.C.Dela Cruz, Tan EV, R.M.Abalos, J.A.Burgos, Saunderson P, Sakatani M.: Development of therapeutic and prophylactic vaccine against tuberculosis using monkey and granulysin transgenic mice models. Human Vaccine. 2011;7:108-114
- (4) 岡田全司. 結核“分子予防環境医学: 生命科学の予防・環境医学への統合”(分子予防環境医学研究会編). 本の泉社 2010;141-156
- (5) Okada M, Kita Y. Anti-tuberculosis immunity by cytotoxic T cells granulysin and the development of novel vaccines (HSP-65 DNA+IL-12 DNA). Kekkaku. 2010;85(6):531-8
- (6) Okada M. Immunity against Mycobacterium tuberculosis (introduction). Kekkaku. 2010;85(6):501-8

### 2. 学会発表

- (1) Kita Y, Okada M.: Novel prophylactic and therapeutic vaccine against Tuberculosis using monkey and transgenic mice models. 7<sup>th</sup> WCVII(WORLD CONGRESS ON VACCINE, IMMUNISATION AND IMMUNOTHERAPY), 26-28 May, 2010, Berlin, Germany.

研究要旨 ①【当院で分離された結核菌の薬剤感受性の状況】当院における結核患者の培養分離された結核菌の抗結核薬に対する薬剤感受性結果を検討した。327症例の結核菌に対して薬剤感受性検査の検討を行 70 症例 (21.4 %) に何らかの耐性を認めた。主な薬剤単独の耐性率は INH 3.1%、RFP 1.8%、EB 2.1%、SM7%であった。多剤耐性菌は 6 症例 (約 1.8%) で、そのうち再治療例は 2 例であった。当院では多剤耐性症例は少数であるが、初感染での多剤耐性例が散見された。②【死亡退院した肺結核症例の臨床的検討】2005 年 1 月から 2009 年 8 月に当院に入院した肺結核症例のうち死亡した 41 例を検討した。入院患者の 74% が 65 歳以上の高齢者で、死亡例では高齢者が約 9 割、後期高齢者が約 8 割と更に高齢での死亡が目立った。入院時 PS では PS0、PS1 の症例はなく、PS4 の症例が半数以上を占め、合併症が多くみられた。結核死の中央値は 34 日、非結核死であった。

研究目的：結核医療の問題点は、高齢化、多剤耐性結核の予防・治療、副作用の問題、入院期間の長期化などが挙げられる。その中で新化学療法を含めた治療法の開発・評価が期待されるがその対象になる患者は高齢者、耐性結核患者、副作用のための治療困難例が多く、それら検討は重要である。今回、①当院での耐性菌の状況、②死亡例の検討を行い、結核患者の現状を検討した。

研究方法：①平成 17 年 1 月～平成 22 年 9 月までの 69 ヶ月間に当院で入院または外来にて治療を行った結核患者の培養分離された結核菌の抗結核薬に対する薬剤感受性結果を検討した。②2005 年 1 月から 2009 年 8 月に当院に入院し加療された肺結核症例 441 例のうち、死亡退院した 41 例を対象とし retrospective に検討した。

研究結果：① 327 症例の結核菌に対して薬剤感受性検査の検討を行い 70 症例 (21.4 %) に何らかの耐性を認めた。主な薬剤単独の耐性率は INH 3.1%、RFP 1.8%、EB 2.1%、SM7%であった。多剤耐性菌は 6 症例 (約 1.8%) で、再治療例は 2 例であった。当院では多剤耐性症例は少数であるが、初感染での多剤耐性例が散見された。その中で平成 17 年に多剤耐性結核病巣切除後経過順調であったが、平成 22 年 12 月再燃と考えられる症例を認めた。

②死亡例のうち入院時塗抹陽性は 41 人中 35 例であった。入院時年齢は入院患者全体では 65 歳以上の高齢者が 74% であったのに対し、死亡退院症例では高齢者が約 9 割、後期高齢者が約 8 割とより高齢での死亡が目立った。また結核死と非結核死では明らかな有意差は認めなかった。入院時 PS では PS0、PS1 の症例はおらず、PS4 の症例が半数以上を占め、入院時での全身状態の悪化が顕著であった。合併症として心不全、肺炎や COPD、間質性肺炎などの呼吸器疾患、糖尿病、認知症の順に多くみられた。入院から死亡までの日数は、1 か月以内が約 37% と最も多かった。

結核死は 1 か月以内の死亡が多く、中央値の比較でも有意差はないものの結核死 34 日、非結核死 55 日と短い傾向にあった。

考察: 結核菌の各抗結核薬に対する感受性に関しては結核療法協議会での報告と比べて大きく異なることはなかった。しかし結果でも述べたが、初回治療例の多剤耐性・超多剤耐性結核が散見され、結核患者発見時の対応により注意が必要と思われる。また今後更に高齢者や多くの合併症を有する結核患者に対する治療が主体となりきめ細かな対応が望まれる。

結論: 新化学療法を含めた治療法の開発・評価の対象となる耐性菌患者、死亡症例、高齢者などの現状を検討した。今後更にきめ細やかな対応が必要と思われる。

研究発表

論文発表

① 阿部聖裕

高齢者結核の治療上の問題点とその対策、第 85 回総会シンポジウム III. 高齢者結核の問題点:

座長 豊田誠、佐々木結花      Kekkaku Vol.85, No.12:881-894,2010

研究協力者 田尾 義昭 NHO 福岡東医療センター 呼吸器感染部長

1 ; 研究の意義 ; 病院において、看護師をはじめとする医療従事者の結核菌曝露からの感染予防は重要な問題である。新規職員および当院の外来、結核病棟、内視鏡勤務者が N95 マスクを装着し治療看護に当たる現場に置いて、結核菌感染が新たに生じていないかを検証することは結核対策上必要である。

2 ; 研究の目的 ; 結核病棟勤務者の QuantiFERON-TB 第 2 世代 (QFT 2 G) 検査を行い、新たな感染者が生じていないかを検討した。

3 ; 研究成果 ; H19 年に行われた 20 代-40 代結核病棟勤務看護師 15 名は全員 QFT 2 G 検査は陰性であった。50 代看護師 1 名が陽性であった。医師 6 名中陽性者は 50 代が 1 名、20-40 代 5 名は陰性であった。陽性者はいずれも勤務歴は 20 年以上であった。

H21 年に行われた QFT 検査において、新たに陽性化した医師および看護師はいなかった。

H22 年からはツ反の廃止を行い、50 歳未満新規採用職員検診に QFT を導入したことにより対象症例が増加した。一般看護師 61 名、結核病棟看護師 20 名、臨床検査技師 18 名、放射線科 15 名、呼吸器医師 8 名、栄養管理室 5 名、事務助手 5 名、リハビリ 3 名が対象。

QFT 陽性者は結核病棟看護師 1 名 (50 代)、医師 1 名 (50 代)、放射線科 1 名 (40 代)、栄養管理室 1 名 (50 代) で、いずれも職歴 25 年以上で、無症状で胸部 X 線上也異常なかった。

その他の職員に QFT 陽性者はなく N95 マスク装着による、結核患者からの感染防止が有効に行われていると思われる結果であった。マスクのフィットチェック、フィットテストなど定期的に今後も検討していくことが望まれる。

4 ; 新たな課題 ; 病室や病棟における患者さんの環境 (アメニティー) の改善が必要と思われる。長期入院が必要な耐性結核排菌患者さんの生活環境改善を行い、感染予防対策を行ったうえで行動範囲拡大の検討なども必要と思われる。

5 ; 行政施策への貢献の可能性 ; 耐性結核排菌患者さんの入院環境改善とともに、院内感染対策の観点から、行動範囲の検討なども行い、結核病棟、外来とも円滑な診療体制を整える。そのことにより安心して患者が治療継続が行える環境づくりが必要と思われる。

6 ; 発表など

1 : 第 85 回日本結核病学会総会 (京都)

九州地区 5 年間の多剤耐性結核入院患者の臨床的検討... (国立病院機構福岡東医療センター) ○田尾義昭, 北里裕彦, 川崎 雅之 (国立病院機構熊本南病院) 山中徹 (国立病院機構南九州病院) 川畑政治 (国立病院機構西別府病院) 瀧川修一 (国立病院機構宮崎東病院) 伊井敏彦 (国立病院機構長崎神経医療センター) 川上健司 (国立病院機構大牟田病院) 北原義也 (国立病院機構大牟田病院) 宮城 茂 (国立病院機構沖縄病院) 小江 俊行 (国立病院機構東佐賀病院)

2 : 第 64 回日本呼吸器学会・結核病学会九州九州支部講演会 (大牟田)

当院での多剤耐性結核患者における手術有無別臨床的検討

(国立病院機構福岡東医療センター) ○田尾義昭, 水田佑一、河野裕子、迫田頼武、伊勢 信治、北里裕彦, 高田昇平、前川 信一、中島 裕康、岡林 寛、川崎雅之

研究要旨：

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、すでに菌陰性化した2症例と結核菌数減少例の1例が認められた。

A. 研究目的

新抗結核薬は、治験段階にあり、MFLXを除いて未だ使用することは出来ない。今回は2010年に国立病院機構東京病院へ新規入院した多剤耐性結核患者3名の抗結核薬治療薬剤とその治療効果について検討する。

B. 研究方法

各症例の報告

C. 研究結果

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。

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

結核菌検出・薬剤感受性検査の技術開発と評価

研究分担者 切替 照雄

独立行政法人国立国際医療研究センター研究所 感染症制御研究部長

**研究要旨**

結核菌の薬剤感受性試験は数週間から数ヶ月間を要する。代替となる迅速診断法の開発と臨床応用が急務となっている。開発研究においては、ラインプローブ法を用いたフルオロキノロン耐性結核の迅速診断法ならびにイソニアジド耐性結核の迅速診断法を開発した。臨床応用のため、これらラインプローブ法と昨年度までに開発したピラジナミド耐性検出用ラインプローブ、抗酸菌種同定および多剤耐性菌検出用ラインプローブの臨床評価試験を完了した。高い特異性・感受性が示され、臨床応用に大きく前進した。

**A. 研究目的**

結核症の治療において、薬剤感受性を同定することは重要である。しかし、薬剤感受性試験には数週間から数ヶ月間を要し、これに代わる迅速診断法の開発と臨床応用が急務になっている。

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法の開発と評価試験の実施である。平成 22 年度の目的は、フルオロキノロン耐性検出用ラインプローブとイソニアジド耐性検出用ラインプローブを開発し、昨年度開発したピラジナミド耐性検出用ラインプローブと抗酸菌種同定および多剤耐性菌検出用ラインプローブと合わせて臨床評価試験を完了させることである。

**B. 研究方法**

【B-1. フルオロキノロン耐性菌検出用ラインプローブの開発】

フルオロキノロン耐性は *gyrA* 遺伝子内のキノロン耐性決定領域（Quinolone

Resistance Determining Region: QRDR）への変異によって与えられる。最初に、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。QRDR を二分割し、88-92 残基をカバーする S1 プローブと 92-97 残基をカバーする S2 プローブを設計した。次に、変異の入りやすい 5 つの残基を標的にして、変異があるとラインが出現する R プローブを設計した。A90V 変異を検出する R1 プローブ、D94G 変異を検出する R2 プローブ、D94A 変異を検出する R3 プローブ、D94G-S95T 変異を検出する R4 プローブ、D94A-S95T 変異を検出する R5 プローブを設計した。各プローブをラインプローブとしてストリップ上に固定した。

【B-2. イソニアジド耐性菌検出用ラインプローブの開発】

イソニアジド耐性機構には不明な点が多く、従来の解析対象 (*katG* と *fabG1-inhA* オペロンのプロモーター領域) だけでは耐性検出率が低い。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、イソニアジド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、ラインプローブとしてストリップ上に固定した。

#### 【B-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。

#### 【B-4. 倫理面への配慮】

研究対象は、患者情報と完全に切り離された臨床分離株である。

### C. 研究結果

#### 【C-1. フルオロキノロン耐性菌検出用ラインプローブの開発】

キットを作製した（図 1）。1 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。

#### 【C-2. イソニアジド耐性菌検出用ラインプローブの開発】

キットを作製した（図 2）。2 枚のストリップ上でイソニアジド耐性に関わる主要変異を検出することができる。また、変異 *KatG* の酵素活性を測定したところ、イソニアジド酸化活性とイソニアジド耐性度（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（図 3）。

#### 【C-3. 臨床評価試験】

試験結果は以下の通り。PZA-LiPA（感受性同定率 96.0%、耐性同定率 89.7%）、INH-LiPA（感受性同定率 100%、耐性同定率 90.6%）、FQs-LiPA（感受性同定率 100%、耐性同定率 93.0%）、NTM/MDR-TB-LiPA（抗酸菌種同定率 99.8%、リファンピシン感受性同定率 97.3%、リファンピシン耐性同定率 98.9%、イソニアジド感受性同定率 100%、イソニアジド耐性同定率 61.6%）。

### D. 考察

菌株の分離・培養を経た薬剤感受性試験は一般的で確立された方法である。しかし、

結果が判明するまでに数週間から数ヶ月間を要し、治療の律速因子でもある。一方で、検体もしくは臨床分離株からゲノム DNA を抽出し、薬剤耐性遺伝子内もしくはその発現調節領域内の変異の有無によって薬剤耐性化を判断することは、迅速で精度の高い方法である。しかし、この方法を実施するには、高価なシーケンサーと試薬、分子生物学的知識・技術が必要であり、検査室への導入が難しい。本研究では、これらの問題点を克服するために PCR による増幅とラインプローブ法を組み合わせ、より安価でより迅速な遺伝子診断法を開発した。昨年度までの開発研究で、ピラジナミド耐性検出用ラインプローブと抗酸菌種同定および多剤耐性菌検出用ラインプローブをキット化した。本年度はフルオロキノロン耐性菌検出用ラインプローブ及びイソニアジド耐性菌検出用ラインプローブを開発した。

イソニアジド耐性においては、昨年度までに蓄積した変異情報を精査した。特に *katG* 変異の特徴付けを行った。イソニアジド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、イソニアジドを活性化する酵素活性（イソニアジド酸化活性）を測定した。酵素活性とイソニアジド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、イソニアジド耐性結核、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 株を対象にしたラインプローブ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。イソニアジド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。今後はラインプローブ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。

### E. 結論

フルオロキノロン耐性菌検出用ラインプロ

#### D. 考察

症例 1)、症例 2) は、MFLX を含む 5 剤以上の感受性薬剤にて治療し、1) は菌陰性化、2) も改善しているところである。症例 3) は副作用にて当初すべて感受性菌であったが、次々と耐性となったケースで難治性であった。3) では INH は高濃度耐性であるが、最近報告された INH high dose adjuvant を適応し、菌陰性化した。外科療法は適応できなかった。

症例 1) 2) については LVFX に感受性があり、フルオロキノロンに感受性があるものでは予後が良いといわれている。MFLX は新薬である。

症例 3) は副作用の出現による難治性例である。文献\*に基づいて INH900mg/日を投与して菌陰性化がえられた。

感受性のある薬剤を 3 剤以上投与することが必要とされている。LVFX 感受性の場合 LVFX あるいは MFLX の使用が奨められる。

\*Katiyar SK, Buhari S, Prakash S et al. A randomized controlled trial of high-dose isoniazid adjuvant therapy for multidrug-resistant tuberculosis .

Int J Tuberc Lung Dis 2008; 12:139-145

#### \*\* 当院の新規入院多剤耐性結核症例数の推移

年	結核病棟入院数	新規活動性結核	培養陽性	1 次薬耐性	
MDR					
2004	745	411	347	36	9
2005	819	408	339	30	4
2006	46	367	332	37	1
2007	486	345	315	34	3
2008	496	415	324	62	4
2009	492	421	377	50	1
2010	490	413	365	44	3

#### E. 結論

多剤耐性結核の治療は、各症例ごとに術式を考慮される。原則は有効な薬剤を 3 種類以上併用、初期にはできるだけ多種のほうが菌陰性化が速く、予後も良好と思われる。INH 耐性でも、16-18mg/kg の大量アジュバント療法が有効であった。

ープ及びイソニアジド耐性菌検出用ラインプローブを開発し、臨床試験を完了した。ラインプローブ法は簡便・安価・迅速である。引き続き、変異情報の蓄積と解析を続け、精度向上を目指す。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Ando H, Kitao T, Miyoshi-Akiyama T, Kato S, Mori T, Kirikae T.

Downregulation of *katG* expression is associated with isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*.

**Mol Microbiol**, 79(6):1615-1628, 2011.

Ando H, Mitarai S, Kondo Y, Suetake T, Kato S, Mori T, Kirikae T.

Evaluation of a line probe assay for rapid detection of *gyrA* mutations associated with fluoroquinolone resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*.

**J Med Microbiol**, 60(Pt 2):184-188, 2011.

Ando H, Mitarai S, Kondo Y, Suetake T, Sekiguchi JI, Kato S, Mori T, Kirikae T. Pyrazinamide resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Japan.

**Clin Microbiol Infect**, 16(8):1164-1168, 2010.

Ando H, Kondo Y, Suetake T, Toyota E, Kato S, Mori T, Kirikae T.

Identification of *katG* mutations associated with high-level isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*.

**Antimicrob Agents Chemother**, 54(5):1793-1799, 2010.

### 2. 学会発表

切替照雄：遺伝子診断最新情報；シンポジウム「今日の多剤耐性結核（MDR）最新情報」。平成22年度全国結核対策推進会議、

平成23年3月4日、東京。

Kirikae T: A line probe assay for rapid detection of multidrug-resistant Tuberculosis. 14th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the PacificRim: US-JAPAN Cooperative Medical Science Program, October 5, 2010 Penang, Malaysia.

Kirikae, T: Genetic diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis, Japan-Russia International Workshop 2010: The 54<sup>th</sup> ISTC Japan Workshop, May30, Tokyo

Ando, H., Kato, S., Mori, T., Kirikae, T.: Down-regulation of *katG* expression is associated with isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. 110<sup>th</sup> General Meeting of the American Society for Microbiology, May 27, 2010, San Diego, USA.

## G. 知的所有権の出願・登録状況

### 1. 特許出願

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.

公開

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.

公開

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.

申請中

2. その他

なし



図 3: 変異 KatG の酵素活性とイソニアジド耐性度の相関。詳細は発表論文を参照のこと。

Plasmid	An amino acid mutation(s)		INH oxidase activity		Peroxidase activity		Catalase activity		An additional mutation associated INH resistance	INH resistance <sup>a</sup>
	Not previously reported	Previously reported	$10^3 A_{560} \pm SD^*$	$10^3 A_{615} \pm SD^*$	$10^3 A_{530} \pm SD^*$	$10^3 A_{530} \pm SD^*$	$10^3 A_{530} \pm SD^*$			
pTrcHis2-TOPO <sup>b</sup>	-	-	4.84 ± 0.17	6.89 ± 0.70	0.00 ± 0.24	-	-	-	-	
<i>pkatG</i> -wt	-	-	177.16 ± 18.50	286.08 ± 0.43	142.26 ± 0.16	-	-	-	S	
<i>pkatG</i> -1	-	R463L	162.00 ± 11.31	289.62 ± 1.40	141.85 ± 0.13	-	-	-	S	
<i>pkatG</i> -2	Q127E	R463L	60.18 ± 0.95	256.07 ± 7.80	143.21 ± 0.35	P <sub>Δ<i>KATG</i> Δ<i>AAA</i></sub>	c-15t	-	0.2	
<i>pkatG</i> -3	P232S	R463L	54.47 ± 0.36	62.25 ± 0.05	76.63 ± 0.52	-	-	-	0.2	
<i>pkatG</i> -4	N133T	-	40.67 ± 6.31	36.00 ± 0.26	100.61 ± 5.55	-	-	-	0.2	
<i>pkatG</i> -5	S383P	R463L	38.49 ± 0.04	42.24 ± 3.64	107.65 ± 4.13	P <sub>Δ<i>KATG</i> Δ<i>AAA</i></sub>	c-15t	-	0.2	
<i>pkatG</i> -6	KQT433-435QAD <sup>c</sup>	R463L	20.02 ± 0.48	106.47 ± 1.17	142.81 ± 0.11	P <sub>Δ<i>KATG</i> Δ<i>AAA</i></sub>	c-15t	-	0.2	
<i>pkatG</i> -7	-	H97R, R463L	17.42 ± 0.35	26.80 ± 0.44	27.86 ± 2.01	-	-	-	0.2	
<i>pkatG</i> -8	R489S	R463L	10.40 ± 0.16	27.34 ± 0.27	14.83 ± 0.93	P <sub>Δ<i>KATG</i> Δ<i>AAA</i></sub>	c-15t	-	0.2	
<i>pkatG</i> -9	-	S315T	8.83 ± 0.04	102.00 ± 2.54	71.26 ± 1.71	-	-	-	1.0	
<i>pkatG</i> -10	M420T	R463L	8.42 ± 0.14	21.02 ± 0.37	46.45 ± 0.20	-	-	-	1.0	
<i>pkatG</i> -11	D387H	S315T	7.93 ± 0.08	34.75 ± 0.61	35.71 ± 0.41	-	-	-	1.0	
<i>pkatG</i> -12	G123E	G299S, R463L	6.87 ± 0.66	6.02 ± 0.17	-0.70 ± 1.42	P <sub>Δ<i>KATG</i> Δ<i>AAA</i></sub>	t-8c	-	1.0	
<i>pkatG</i> -13	-	D419H, R463L	6.30 ± 0.52	7.67 ± 0.01	4.49 ± 0.39	-	-	-	1.0	
<i>pkatG</i> -14	M176T <sup>d</sup>	R463L	5.14 ± 0.01	4.67 ± 0.07	1.06 ± 0.30	P <sub>Δ<i>KATG</i> Δ<i>AAA</i></sub>	c-15t	-	1.0	
<i>pkatG</i> -15	frameshift <sup>e</sup>	-	5.02 ± 0.24	4.01 ± 0.57	-1.75 ± 1.16	-	-	-	1.0	
<i>pkatG</i> -16	-	S315T, R463L	3.83 ± 0.18	84.41 ± 0.17	117.07 ± 7.56	-	-	-	1.0	
<i>pkatG</i> -17	frameshift <sup>e</sup>	-	3.30 ± 0.69	4.59 ± 0.09	2.07 ± 1.51	-	-	-	1.0	
<i>pkatG</i> -18	R632C	R463L	3.26 ± 0.13	1.56 ± 0.08	-7.41 ± 0.76	-	-	-	1.0	
<i>pkatG</i> -19	-	S315R	3.19 ± 0.76	3.24 ± 0.02	-2.36 ± 0.71	-	-	-	1.0	
<i>pkatG</i> -20	Δ(191W-192E) <sup>f</sup>	R463L	2.78 ± 0.09	2.09 ± 0.04	2.61 ± 1.86	-	-	-	1.0	
<i>pkatG</i> -21	D542H	R463L	1.63 ± 0.49	0.32 ± 0.17	-7.00 ± 0.69	-	-	-	1.0	

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）  
「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」  
研究分担報告書  
「小児結核対策・医療の評価」

研究分担者 徳永 修 国立病院機構南京都病院 小児科医長

研究要旨

1. 近年発症に至った小児結核症例の実態に関する研究

－小児結核症例実態調査－

小児結核症例が極めて少なくなってきた現在の状況における小児結核の予防・診断・治療に関する問題点を分析し、今後取り組むべき対策を明らかにするため、2008、09年に結核登録者情報システムに登録された小児結核症例全例を対象に実態調査を実施した。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。これらの結果をふまえ、①BCGワクチン副反応の発生動向を注視しながら高いワクチン接種率を維持する、②接触者健診の精度を維持するため、また有症状受診例に対する診断の遅れを防ぐため、一般小児科医を対象に小児結核感染・発病診断に関する正確な知識の普及に努める、小児結核の診断・治療に関する指針作りを進める、診断・治療に関する相談窓口を整備する、小児結核専門医を育成する、③発症に至った小児結核症例の予防可能性や診断・治療に関する課題を正確に把握し、臨床及び保健衛生の現場にフィードバックすることを目的に小児結核症例独自の登録システムを構築する、などが課題に取り組むことが必要と考える。

2. BCG骨炎症例把握に向けた研究

BCG骨炎の発生頻度を明らかにすることを目的に以下の3つの方法、即ち1)学会・学会誌での症例報告例調査（平成20年度実施）、2)日本小児整形外科学会評議員に対する症例アンケート調査（平成21年度実施）、3)結核登録者情報システムを利用した小児結核症例実態調査（平成22年度実施）、により症例の把握を試みた。その結果、1996年から2009年までに発症したBCG骨炎症例38例を把握することができた。さらに別にBCG骨炎症例把握を試みた小山らの調査結果と合わせ、1996年以降にBCGワクチン接種を行った小児からの発症例43例を確認した。BCGワクチン接種時期が生後3～6ヵ月と短い期間に変更された2005年以降、2005年6例、06年5例、07年8例（それぞれワクチン接種年）と多くの症例が確認された。一方で2004年以前も毎年1～4例の発症例が確認され、これまで想定されていたよりも高い頻度で発

症していたことが明らかとなった。

### 3. 最近の BCG 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（小中学校での接種の廃止、接種対象年齢の制限と直接接種後、BCG 接種が現場でどのように取り組まれているか、また接種対象年齢の変化によって副反応がどのような発生状況にあるか、等を検討し、かつ今後の BCG 接種制度のあり方に関連して、現行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意思決定の参考とすることを主な目的とし分析を行った。

### 4. BCG 骨炎の発生頻度及び今後の検討課題に関する考察

BCG ワクチン接種施策変更前後での骨炎発生頻度の変化について、変更前の発生頻度を①「予防接種副作用報告」で集計された件数を基に、また変更後の発生頻度を②平成 20 年、21 年度の本班研究で実施された文献調査及びアンケート調査により把握された件数を基に推定すると「施策変更後に統計学的に有意な増加傾向がある」と評価された。一方、小山らの論文「BCG 骨炎後の骨炎—発生頻度と診断・治療—」（小山明ら：BCG 接種後の骨炎—発生頻度と診断・治療—、2010；29：90-100）より得られた症例情報も合わせ、骨炎症例の発生頻度把握、発生に至るリスク因子、今後必要な調査に関して考察も行った。ワクチン接種施策変更以前よりこれまで想定されていた発生頻度を上回る骨炎症例が発生していたことが推測され、ワクチンメーカー及び国が共に副作用症例の把握に向けた更なる努力を傾けることが必要と思われる。また、骨炎罹患に伴う長期予後に関する慎重な観察と評価も強く望まれる。

### 5. 東京都立小児総合医療センターにおける小児結核診療

#### —開設後 1 年の総括と問題点—

2010 年 3 月に開院した東京都立小児総合医療センターにおける開院後 1 年間の診療について総括した。入院診療については、東京都立清瀬小児病院で運用されていた結核病棟はなく、感染症病棟の中にある結核病床を用いた運用に変更されたため、隔離・退院基準の変更を必要とした。外来診療についても、初診患者の診療について従来と異なる運用で開始する必要があった。保健所をはじめとする行政との連携が重要であり、小児結核の拠点病院として今後も診療の質を確保するためには、運用面でのさらなる工夫が必要である。

### 6. 第 8 回近畿小児結核症例検討会の開催

平成 15 年度より継続して開催を重ね、今年度で第 8 回目となった。前回より近畿に対象範囲を広げており、今年度も近畿の症例を対象として開催した。今回検討した症例は大阪府・大阪市・神戸市・京都市の 4 症例であり、約 120 名の医師・保健師等が参加し、活発な討議を行った。



## 7. 第1回首都圏小児結核症例検討会の開催

この度、近畿地区とともに小児結核の症例報告数が多い首都圏において、「第1回首都圏小児結核症例検討会」が開催された。首都圏1都3県を中心に約100名が参加し、小児結核の4症例について、対応が困難であった点や今後の課題等について議論し、経験を共有することができた。今後も毎年小児結核症例検討会を開催することで、臨床現場と保健所における対応力が向上し、小児結核の減少につながると期待される。

## 8. 妊婦活動性結核の臨床像およびその児への結核感染予防対策の現状

大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターで平成17年4月～平成22年3月までの間に経験した妊婦活動性結核症例17例の臨床像とその児17例への影響について検討した。妊婦に対する結核治療は6HRE/3HRを基本とし、薬剤耐性や肝障害により適宜変更を行った。全例で分娩時まで菌陰性化が得られ、正期産であった。出生した児に対してはそれぞれのリスクに応じて新生児期にBCGワクチン接種、INH服用後感染否定の上でBCGワクチン接種、定期BCGワクチン接種等の対応を行った。これまでに発症に至った児は認めていない。妊婦に対する結核標準治療は妊娠経過への影響はなく、児への結核感染防止も図れるなど安全かつ有効と考えられた。児の個別の結核感染の危険性を考慮したうえで、感染・発病の評価を行う必要があると考えた。

## 9. 小児結核サーベイランス委員会の開催

各自治体における小児結核対策に関連した諸問題に関する報告・討議を行うことを目的に開催した。関西・関東・中部の主な自治体が、小児結核やLTBI症例の発生動向を報告するとともに、各地域における小児結核に対する医療提供体制の実情や問題点・課題についての討論・意見交換などをおこなった。

### 研究協力者

森 亨（結核予防会結核研究所）  
原田 登之（結核予防会結核研究所  
抗酸菌レファレンス部）  
高松 勇（たかまつこどもクリニック）  
土居 悟（大阪府立呼吸・アレルギー  
医療センター小児科）  
宮野前 健（国立病院機構南京都病院  
小児科）  
宮川 知士（東京都立小児総合医療  
センター呼吸器科）  
石立 誠人（東京都立小児総合医療  
センター呼吸器科）  
森 雅亮（横浜市立大学 小児科）  
今川 智之（横浜市立大学 小児科）

原 拓磨（横浜市立大学 小児科）  
岡田 賢司（国立病院機構福岡病院  
小児科）  
吉河 道人（国立病院機構旭川医療  
センター小児科）  
鈴木美智子（大阪市立十三市民病院  
小児科）  
宮本 謙一（東京都福祉保健局  
健康安全部感染症対策課）  
犬塚 君雄（愛知県岡崎保健所）  
永井 仁美（大阪府健康医療部  
地域保健感染症課）  
柴田 敏之（大阪府泉佐野保健所）  
吉田 英樹（大阪市保健所）  
小向 潤（大阪市保健所）

藤井	史敏（堺市保健所）
藤山	理世（神戸市保健所）
三沢	あき子（京都府山城北保健所）
谷口	隆司（京都市西京保健センター）
池田	雄史（京都市北保健センター）

## A. 研究目的

1. 近年発症に至った小児結核症例の実態に関する研究－小児結核症例実態調査－

今後、さらに小児結核症例を順調に減少させるため、近年発症に至った小児結核症例を対象にその症例背景や感染・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。

2. BCG 骨炎症例把握に向けた研究

現在の我が国の結核罹患率を考慮すると乳児に対する BCG ワクチン接種の継続は必要と考えられ、今後も安全にワクチン接種を継続するためにワクチンの副反応発生动向に関する評価、さらに増加傾向にあるとすればその原因の同定を行う。

3. 最近の BCG 接種計画とその効果に関する分析

今後の BCG 接種制度のあり方に関連して、現行接種制度の直接の効果や推定し、経費や副反応とのバランスにもとづく意思決定の参考とする。

4. BCG 骨炎の発生頻度及び今後

の検討課題に関する考察

これまでの「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及び論文を基に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. 東京都立小児総合医療センターにおける小児結核診療－開設後1年の総括と問題点－

開院後、約1年が経過した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の開催

7. 第1回首都圏小児結核症例検討会の開催

症例数が減少した状況でも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. 婦活動性結核の臨床像およびその児への結核感染予防対策の現状  
妊婦活動性結核には結核治療、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が必要である。今回、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た。

## B. 研究方法

1. 近年発症に至った小児結核症例の実態に関する研究－小児結核症

#### 例実態調査－

厚生労働省健康局結核感染症課の協力のもと、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歳の結核症例全例について、症例を登録した保健所所長宛に調査票を送付し、回答を依頼した。

#### 2. BCG 骨炎症例把握に向けた研究

以下の3つの調査、即ち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。尚、小山らが調査・把握されたBCG 骨炎症例（小山明ら：BCG 接種後の骨炎-発生頻度と診断・治療．2010；29：90-100）とも照合し、①～③の調査と合わせ発生件数の集計を行った。

#### 3. 最近の BCG 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（小中学校での接種の廃止、接種対象年齢の制限と直接接種の導入）後、BCG 接種が現場でどのように取り組まれているか、また接種対象年齢の変化によって副反応がどのような発生状況にあるか、等を検討し、また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 ワクチン全例接種中止の可否に関して検討を行った。

#### 4. BCG 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」及び平成20年度及び21年度小児結核班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う。また、別に小山らが収集し論文「BCG 骨炎後の骨炎－発生頻度と診断・治療－」（小山明ら：BCG 接種後の骨炎－発生頻度と診断・治療－．2010；29：90-100）に報告した症例も基に症例発生頻度について検討を行ない、今後さらに明らかにすべき課題も考察する。

#### 5. 東京都立小児総合医療センターにおける小児結核診療－開設後1年の総括と問題点－

小児結核診療の実態を解明するために、「小児総合」における結核診療を開設するための経緯をふまえ、「清瀬小児」と「小児総合」における診療形態の差を列挙し、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の開催

#### 7. 第1回首都圏小児結核症例検討会の開催

それぞれの症例検討会において平成21年～22年に登録された14歳以下の4症例について、医療機関と保健所からそれぞれ約20分でプレゼンテーションを行った。医療機関側からは患児の診断や治療上の問題点を述べ、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た。その後、フロアの参加者も含めデ

イスカッションを実施した。

8.妊婦活動性結核の臨床像およびその児への結核感染予防対策の現状

平成17年4月から平成22年3月までに、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カルテによる調査を行った。

9.小児結核サーベイランス委員会各自治体における小児結核発症例及びLTBI例の発生動向、小児を巻き込んだ集団感染事例、小児結核に関する医療提供体制の実情・問題点等について意見を交換し、小児結核医療の現状を明らかにする。

## C. 研究結果

1. 近年発症に至った小児結核症例の実態に関する研究－小児結核症例実態調査－

2008、09年に登録された小児結核症例計141症例（2008年76症例、2009年65症例）のに関する情報が収集された。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。

2. BCG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。BCG接種様式が生後3～6ヵ月での直接接種に変更された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。ほかに発症例のワクチン接種時月齢、性別、症状出現時期、発症・診断時の症状、罹患部位、転帰等についてもそれぞれ情報を収集し、その傾向を検討した。

3. 最近のBCG接種計画とその効果に関する分析

結核感染危険率、感染後発症に至る年齢別の確率等のデータをもとに、現在BCGワクチン接種を廃止した場合の小児結核症例の推移について予測検討を行った。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人が発病すると予想された。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。

4. BCG骨炎の発生頻度及び今後の検討課題に関する考察

「予防接種副反応報告」で集計された例数を基にワクチン接種施策変更前の発生頻度を、また平成20年、21年度研究により収集できた