

201123014A

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

平成23年度 総括・分担研究報告書

平成 24(2012)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…………… 21

2. 結核新化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価……………岡田 全司…………… 39

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…………… 52

4. 小児結核対策・医療の評価……………徳永 修…………… 54

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…………… 109

6. 結核菌の感染性・病原性の評価方法の開発……………御手洗 聡…………… 114

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と改良

前田 伸司…………… 119

8. 日本版DOTSの技術強化……………小林 典子…………… 124

III. 研究成果の刊行に関する一覧表…………… 139

IV. 研究成果の刊行物・別刷(一部)…………… 143

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 23 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: 2007 年 8 月 1 日から 1 年間に収集された菌株の中で治療歴を含む臨床情報が得られた 2,292 名の患者についてデータの解析を実施した。何らかの薬剤耐性を認めた結核菌は未治療患者で 10.1%、既治療患者で 30.3%認められた。INH、RFP、SM 及び EB の各薬剤に対する耐性 (Any resistance) は、未治療患者でそれぞれ 3.1%、0.7%、5.6%及び 1.3%であり、既治療患者でそれぞれ 12.3%、6.7%、12.3%及び 2.6%であった。無作為に抽出した 852 株について LVFX の感受性検査を実施したが、耐性率は未治療患者で 3.2%、既治療患者で 6.1%であった。多剤耐性結核菌は未治療患者で 0.4%、既治療患者で 4.1%認められた。超多剤耐性結核菌は多剤耐性菌の 15.4%に認められた。

(2) 新化学療法剤を含めた治療方式の開発・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を目的に以下の研究を実施した。①多剤耐性結核外科手術に関する調査票を 263 施設に送付・回収した。回答のあった 51 例中 46 例 (90.1%) で術後、菌陰性となり、外科治療法の有効性が示された。②多剤耐性及び超薬剤耐性結核の全国調査を実施し、2006 年の同調査と比較し、次の結果を得た。1) 新規入院中初回治療の MDR-TB 患者は減少していない。2) 20 才台の MDR は著明に増加した。3) XDR は 12 名から 19 名に増加した。③細胞性免疫予後診断法の開発: 以下の結果が得られた。1) MDR-TB 及び 難治性結核患者では CD8+T 細胞からの granulysin 産生が低下している。2) 結核患者で CD8+キラーT 細胞から産生される KSP37 の血清中濃度低下していた。3) granulysin と KSP37 はキラーT 細胞分化相乗効果を持つ。④新薬について: 1) Delamanid: 感染力の強い多剤耐性結核に対する治療効果があった。2) カプラザマイシン (CPZEN-45): a) XDR-TB に対しマウスで治療効果があった。b) INH+RFP とカプラザマイシンは相乗効果があり、新規結核治療ワクチン (HSP65+IL-12DNA) 併用治療にて相乗効果があった。

(3) 結核菌検出・薬剤感受性検査の技術開発と評価: 臨床応用研究として抗酸菌種の迅速同定法及び多剤耐性結核、超多剤耐性結核を含む薬剤耐性結核の迅速遺伝子診断法の評価試験を実施し、高い特異性・感受性を示すことができた。また、アミノグリコシド耐性結核迅速診断法の開発に着手した。

(4) 小児結核対策・医療の評価: ①2008 から 10 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として、登録保健所に調査票を送付し、情報収集した。その結果、1)大都市部への偏在する傾向、2) 外国籍或いは結核高蔓延国の居住歴が約 15%、3) 2003 年調査に比して BCG ワクチン未接種例が著明に減少、4)重症例や多量排菌を伴う肺結核症例の発生、5)約 1/4 の症例は有症状受診で診断 6)発病要因は感染源症例の発見・治療開始の遅れ、BCG 未接種、接触者健診の不備、周産期の感染機会などであった。

②IP-10 release assay の有用性に関する検討では適切な Cut-off 値を設定することにより、良好な感度と特異度を有した鋭敏な結核感染診断法となりうる事が期待された。

③小児結核サーベランス委員会では今後取り組むべき小児結核対策として、1)感染源となりうるグループに対する結核対策の徹底、2)ハイリスク小児グループへの適切な対応、3)感染診断精度や LTBI 治療効果に関する検証、4)小児結核医療提供体制の維持・整備、などが挙げられた。

④小児結核症例検討会：各症例の課題に関する討議から、接触者健診時期の設定、自治体を越えた情報の共有、患児に対する教育及び心理的サポートの重要性などが重要と考えられた。

(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：高齢者における結核感染の実態を把握する上で effector T 細胞と central memory T 細胞の反応が区別できる二重蛍光染色 Fluorospot 法を確立した。本方法を用いて、LTBI のサイトカイン産生細胞を解析した結果、effector T 細胞の割合が約 70%と高く、結核菌がある程度活動していることが考えられた。

(6) 結核菌の感染性・病原性の評価方法の開発：結核菌の感染力及び増殖力を、標準株との相対性において評価することを目標とした。PMA 活性化 THP-1 細胞を使用した結核菌競合感染による *in vitro* 毒力評価系を確立した。この方法で、全国から収集した臨床分離株のクラスターサイズと相対毒力の相関を示した。また非病原性株と集団感染株を使用した評価を実施し、一般的な疫学的概念に相応する毒力の違いを確認した。今後は、接触者健診などの対策に必要なカットオフ値の設定などの検討が必要と考えられた。

(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：昨年度構築した JATA(12)を分析するための 4 ローサイのプライマーを混合したマルチプレックス PCR の系を改良し、日本国内でのハイパーバリアブルのローサイ及び国際標準法として Supply(15)-VNTR 解析システムにも対応できるローサイを加えて、合計 24 ローサイのフラグメント解析用のシステムを樹立した。

(8) 日本版 DOTS の技術強化：①「結核保健看護システム」を活用して 22 年登録患者のコホート分析の結果を得た。②リスク評価についての分析を行い、「病気・治療の理解」に関して患者教育の重要性を確認した。リスク評価の基本項目 25 項目を整理分類した。③「結核看護システム」の入力情報にもとづく客観的な看護の指標として、服薬支援スコアを考案し、実際の症例に適用した。チェックされているリスクの個数が多くなるにつれて、服薬支援スコアも上昇していた。

④結核医療の地域連携強化のための基礎研究として、治療期間中の医療機関の調査を実施した。その結果、約3割が退院後医療機関を変更し、その1/3が結核専門外の医療機関にかかっていた。

⑤DOTS支援者のDOTSに対する正しい理解と意識向上を目的に作成したDVD教材の効果を調査した。DVD教育介入の前後で有意な平均値の差があり、有用性が認められた。

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）

研究協力者

森 亨（結核予防会結核研究所名誉所長）

山内祐子（結核予防会結核研究所研究部総括主任）

永田容子（結核予防会結核研究所対策支援部保健看護学科長）

浦川美奈子（結核予防会結核研究所対策支援部保健看護学科科長代理）

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。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

日本における結核菌の薬剤感受性について、INH,RFP, SM, EB,の感受性を調査した。多剤耐性等の場合は PZA、LVFX の耐性を検査し、これらの結果と患者情報と併せて分析し、結核対策の一助とする。

(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を目的としている。それぞれの研究目的は①多剤耐性結核患者の全国調査、②外科治療法の調査、③細胞性免疫予後診断法の開発は、

多剤耐性結核の対策、④新薬を用いた治療法の開発であった。

(3) 結核菌検出・薬剤感受性検査の技術開発と評価

本研究の目的は、薬剤耐性結核菌迅速検出ラインプロブ(LPA)法の開発と評価試験の実施である。本年度は、昨年度までに開発した抗酸菌種同定及び薬剤耐性菌検出用ラインプロブの評価試験を完了させること、アミノグリコシド耐性結核迅速診断法を開発することである。

(4)小児結核対策・医療の評価

①小児結核症例実態調査：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結核感染診断における IP-10 release assay の有用性に関する検討：

感度・特異度に優れた結核感染診断法の開発のため、結核菌特異抗原刺激に伴って被験者単核球より遊離した IP-10 量測定による感染診断の検討を行なう。

③小児結核サーベランス委員会の実施

小児結核に関連する集団感染事例、医療提供体制、BCG ワクチン接種率や直接接種後コッホ現象疑い例など諸問題について意見交換を行なうことにより、自治体における小児結核対策の向上に繋げる。

④小児結核症例検討会の開催：

小児科臨床に携わる医療従事者と保健所等の行政関係者が一同に会し、小児結核症例の経験を共有し、発病予防可能性、診断・治療の課題について議論を深め、今後の診療・行政対応に活かす

(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 effector T 細胞と central memory T 細胞の反応を区別することにより、結核菌の感染状況を把握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

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、現状では接触時間や塗抹陽性度、薬剤感受性等の情報しか得られず、客観的で単純な指標が存在しないことから、簡易で迅速な毒力評価法を開発することを目的とする。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を最終目標とする。

(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、さらに識別能の向上、国際標準法に対応したシステムの構築を目的とした。

(8) 日本版 DOTS の技術強化

「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した。

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。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。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

①多剤耐性結核・持続排菌結核の外科的治療法についての調査

多剤耐性結核外科手術調査票（2010年）を作成し、263施設に送付し、回収した。

②多剤耐性及び超薬剤耐性結核の全国調査：2010年新規入院例と持続排菌例の多剤耐性結核調査票を作成、262施設に送付・回収し、2006年の結果と比較した。

(3) 結核菌検出・薬剤感受性検査の技術開発と評価

①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163例、臨床分離株554株を対象にして、昨年度までに開発した迅速診断キットの臨床評価試験を実施した。ラインプロブ法による試験結果は従来法による抗酸菌同定及び薬剤感受性試験結果と比較し、精度・感度を評価した。

②アミノグリコシド耐性菌検出用ラインプロブの開発

国立国際医療研究センター病院で収集・保管されている臨床検体のうち、カナマイシン耐性を示す5株の結核菌を対象として、耐性遺伝子の探索を行った。

(4) 小児結核対策・医療の評価

①小児結核症例実態調査：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、その整理番号、登録のあった都道府県・政令市及び保健所名、性別・年齢、病型分類コードなどの情報の開示を受けた。これら全症例について、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。

②IP-10 release assayの有用性に関する検討：2010年3月から2011年10月の間に結核感染診断を目的に、国立病院機構南京都病院小児科においてQFT-3G検査を適用した例で、本人或いは保護者の同意が得られた例においてT-SPOT TBも同時に実施した。さらにQFT-3G結核菌特異抗原刺激上清中のIP-10も測定し、それぞれの反応性について比較検討した。

③小児結核サーベンランス委員会の開催：首都圏、近畿地区、愛知県の行政結核対策担当者が参加し、小児結核事例の発生日向、集団感染事例、発病につながった問

題点、医療提供体制の課題、BCG ワクチン接種に関連する話題等について情報を共有し、今後の小児結核対策について意見交換を行った。

④小児結核症例検討会：小児結核に関わる医療機関および保健行政関係者が参加し、各例について患児の診断・治療、健診実施、治療支援に関する問題点を議論した。

(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

T 細胞亜集団を解析することにより、結核菌の存在状況を知ることが可能になると考えられる。このような複数のサイトカイン産生細胞を解析するために、ELISPOT 法を応用した蛍光色素を用いる二重蛍光発色 Fluorospot のシステムを検討した。

Fluorospot 用マイクロプレートに抗ヒト IFN- γ 抗体と、抗ヒト IL-2 抗体を結合後、ブロッキング処理を行ったものを準備した。次に、結核未感染者および感染者(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。調整した PBMC 2.5×10^5 個を、ESAT-6 および CFP-10 を予め添加しておいた抗体コーティングした。

Fluorospot 用マイクロプレートに添加後、18 時間前後培養した。培養後、IFN- γ 単独産生 T 細胞、IL-2 単独産生 T 細胞、およびの IFN- γ と IL-2 の両者を産生する T 細胞の個数をエリスポットリーダーにより計測した。

(6) 結核菌の感染性・病原性の評価方法の開発

実験系の簡素化のため、PMA 100nM の

みで THP-1 細胞を活性化した。その後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、基準結核菌株である 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。臨床分離株を選択するにあたり、日本全国から収集された結核菌 325 株の Supply-15 による VNTR の結果から、クラスターサイズの違いにより 5 種類の結核菌株を選択した。また、クラスターを形成していない株も 1 株を使用した。さらに非病原性株として *M. tuberculosis* H37Ra と過去に大規模な集団感染を引き起こした結核菌臨床分離株を使用した。

(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

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

①10 自治体 25 保健所において本システムを試行、活用した。対象は平成 22 年 1 月～12 月末の新登録患者コホートとした。

②服薬中断にかかわるリスク評価について以下の分析を行った：1) 結核看護システム試行に参加した 12 縣市 34 保健所のリスク評価の成績の分析、2) 30 縣市 62 保健所のリスクアセスメント票の分析、3) 各リスク項目に対する担当看護職の意識調査、4) リスクアセスメント票のコア・コンピタンス分析。

③「結核看護システム」で入力を求めている服薬確認関連項目(1)服薬情報を誰

から入手したか、(2)どのような手段で確認したか、(3)服薬状況、(4)DOTSタイプ、から「服薬支援スコア」を策定し、看護に関する客観的な指標を得ることを試みた。

- ④結核医療の地域連携強化のための基礎調査：患者の治療経過中に受療する医療機関がどのように変わるのかを観察した。
- ⑤DVDを用いたDOTS支援者育成の教育効果の評価を研修対象者75名に看護師の「仕事意欲尺度」を用いて行った。
- ⑥服薬支援看護ワークショップを開催し、「結核看護システム」の評価指標、活用状況、平成22年集計結果報告を検討し、提言案を作成した。

C. 研究結果

(1)薬剤耐性全国調査

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た。結核菌2,915株(78.7%)、非結核性抗酸菌は687株(18.6%)であり、結核研究所にて発育を認めなかったあるいは雑菌汚染していた検体は88検体(2.4%)認められた。

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。何らかの薬剤耐性を認めた結核菌は未治療患者(抗結核薬による治療4週未満)で211株(10.1%)、既治療患者で59株(30.3%)認められた。INH、RFP、SM及びEBの各薬剤に対する耐性(Any resistance: 当該薬剤の単剤耐性及び他の薬剤耐性を含む)は、未治療患者でそれぞれ64株(3.1%)、15株(0.7%)、118株(5.6%)及び27株(1.3%)であり、既

治療患者でそれぞれ24株(12.3%)、13株(6.7%)、24株(12.3%)及び5株(2.6%)であった。無作為に抽出した852株のLVFXの耐性率は未治療患者で3.2%(25株)、既治療患者で6.1%(4株)であった。多剤耐性結核菌は未治療患者で9株(0.4%)、既治療患者で8株(4.1%)認められた。(なお、感受性検査実施できた全株2,915株中の多剤耐性結核菌は28株で認められた。)超多剤耐性結核菌(XDR-TB)は4株であり、MDR-TBに占める割合は15.4%となった。

地域別にみると、INH未治療耐性率は1.1～5.3%であり、最も耐性率の低い九州と最も高い近畿の間には有意差が認められた($p=0.002$)。

合併症別では糖尿病群では未治療INH 1.0と既治療RFPでの耐性率に有意差が認められた。同様に悪性腫瘍合併群で未治療INH 1.0の耐性率が有意に高かった。

(2)新化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価

①多剤耐性結核・持続排菌結核の外科的治療法についての調査

1)調査票を送付した263施設中141施設(54%)より回答を得た。2)多剤耐性結核外科手術症例(52例)において、50才台が16例と最も多く、ついで20才台11例、30才台9例の順であった。性別は52例中男性38例(73.1%)であった。3)術前画像所見は、結核空洞ありが40例(76.9%)であった。4)術式は葉切除が67.3%の35例で施行された。特に上葉の葉切除が33例(94.3%)と最も多く行われた。5)51例中46例(90.1%)で術後、結核菌の排菌陰性となった。

②多剤耐性及び超多剤耐性結核の全国調査

1) 調査票を送付した 262 施設中 192 施設(73.3%)より回答が得られた。2) 2010 年新規入院 MDR-TB 患者は 83 名であった。3) 2010 年は XDR-TB 19 名であり、2006 年に比べて超多剤耐性結核・持続排菌例の増加が認められた。4)年齢別には 20 才台が著明な増加した。5) 耐性薬剤数の多い症例程、菌陰性化率が低かった。

③細胞性免疫予後診断法の開発

(a) MDR-TB 患者や難治性結核患者では CD8+T 細胞からの granulyisin 産生低下
(b) CD8+キラーT 細胞から産生される KSP37 (killer secretory 37kDa 蛋白) の血清中濃度も結核患者で低下の発見。キラーT 細胞分化誘導作 IL-2, IFN- γ , IL-6 産生誘導(c) granulyisin と KSP37 はキラー細胞分化相乗効果。(d)KSP37 遺伝子導入マウスを用いて KSP37 の生体内での抗結核増殖抑制効果を発見した。

④新薬について

1) Delamanid (OPC67683) を用いた結核治療効果：(a)新規治療剤 Delamanid の多剤耐性結核(MDR-TB)、感染力の強い多剤耐性結核に対する治療効果。AIDS モデルマウスで Delamanid 結核治療効果。(b) Delamanid のヒト多剤耐性結核患者第 II b 相臨床試験を終了。

2)カプラザマイシン (CPZEN-45)：(a) XDR-TB に対し治療効果 (マウス)。(b) INH+RFP 治療法とカプラザマイシンは相乗的結核治療効果。(c)カプラザマイシン+新規結核治療ワクチン (HSP65+ IL-12DNA)併用治療にて結核治療相乗効

果。T 細胞増殖の相乗効果。IL-6 産生に対する相乗効果。 特許を取得中。

3) INH+新規結核治療ワクチン

(HSP65DNA+IL-12DNA)併用により結核治療相乗効果 (マウス)。

(3) 結核菌検出・薬剤感受性検査の技術開発と評価

①臨床評価試験

臨床分離株に対する抗酸菌種同定では、*Mycobacterium tuberculosis*、*M. avium*、*M. intracellulare* を 100%同定することができた。従来法によって *M. kansasii* と判断された 54 株において、53 株を同定することができた。臨床検体に対する抗酸菌種同定では 85.6%の菌種を同定することができた。臨床分離株及び臨床検体に対する薬剤耐性同定はそれぞれ以下の通りである。

表 1. 臨床分離株の感度・精度(%)

薬剤	感度	精度
RFP	98.9	97.3
INH	90.6	100
PZA	89.7	96.0
LVFX	93.0	100

表 2. 臨床検体の感度・精度(%)

薬剤	感度	精度
RFP	100	100
INH	75	92.9
PZA	100	100
LVFX	100	100

②アミノグリコシド耐性菌検出用ラインプローブの開発

対象とした 5 株のうち 3 株はストレプトマイシンに耐性を示し、本薬剤耐性寄与遺伝子である *rpsL* (30S

ribosomal protein S12) に K43R の変異を有していた。しかし、カナマイシン耐性を付与するとされている遺伝子 *rrs* (ribosomal RNA 16S) および *eis* プロモーター領域において、5 株に共通する遺伝子変異はなかった。

(4) 小児結核対策・医療の評価

①小児結核症例実態調査

2010年に結核登録者情報システムに登録された小児結核発病例 89例を対象に登録保健所所長宛に調査票を送付した。このうち、登録ミス の 4 例、BCG ワクチン由来の病変と判明した 3 例を除いた 82 例中 80 例の調査票が回収可能であった。2008 年の 76 例(登録 95 例)、2009 年の 65 例(登録 73 例)と合わせ、221 例を分析対象とした結果、以下のことが明らかになった。

- ・0～2 歳及び中学生をピークとする二峰性の年齢分布を示している。
- ・発病例の多くが東京都、大阪府、神奈川県などの大都市圏に集中していた。一方で 26 県は 3 年間の登録例が 3 例以下であり、6 県では対象期間に小児結核の発生を認めなかった。
- ・外国籍或いは結核高蔓延国での居住歴を有した小児が全体の約 15%を占めていた。
- ・2003 年に実施された同様な調査に比して BCG ワクチン未接種で発症に至った例は著明に減少していた。
- ・初期変化群型症例が全例の約 3/4 を占めていたが、結核性髄膜炎、粟粒結核などの重症例の発生も依然として続いていた。
- ・喀痰塗抹 2+～3+の多量排菌例は全て中学生症例であり、多くは胸部画像上空洞を伴い、また症状出現後診断までに長期間を要し、結果として学校における感染の拡がり

を認めた。

・全例の約 7 割が接触者健診を契機に診断に至っていたが、約 1/4 の症例は有症状受診を契機として診断に至った。

・小児結核に対する標準的な治療レジメが選択された例がほとんどであったが、一部の例では 2 剤治療など標準的ではないレジメが選択されていた。

・当初より外来で治療された例が約 60%を占めたが、重症例などでは長期間の入院を要する例も見られた。

・発病に至った要因として感染源症例の発見・治療開始の遅れの他、BCG 未接種、感染源発見後の接触者健診における不備(健診時期や感染の有無に関する判断、LTBI 治療中断)、周産期の感染機会などが挙げられた。

②IP-10 release assay の有用性に関する検討

結核菌特異抗原刺激による IP-10 遊離量は活動性結核群では QFT-3G、T-SPOT が共に陰性であった 1 例を除いて全例が 7500pg/ml 以上の高値を示した。また、濃厚接触群は 5000pg/ml を越える高値を示す例と 1000pg/ml 未満の低値を示す 2 群に大別することが可能であった。これら高値例は全例が QFT、T-SPOT が陽性または判定保留を呈した。コッホ現象群は 1 例を除いて 1000pg/ml 以上に分布しており、一方、臨床的に結核感染の可能性は低く、その除外を感染診断検査が適用された群では全例が 1000pg/ml 未満の低値に分布していた。各症例カテゴリーにおけるデータ分布を基に、例えば 1000pg/ml を cut off 値に設定するとコッホ現象疑い群の「感染」を鋭敏に拾うこ

とが、また臨床的に結核が否定的とされた結核除外診断群の「感染」を否定することが可能であった。

③小児結核サーベランス委員会の開催

行政結核担当者、さらに小児結核臨床に携わる小児科医が参加して各自治体における小児結核事例（発病例、LTBI 例）発生動向、小児を巻き込んだ集団感染事例、小児結核発病（多発）につながった問題点、小児結核に対する医療提供体制の課題、BCG ワクチン接種に関連する話題等について発表・討議を行った。

④小児結核症例検討会

近畿小児結核症例検討会では、1)空洞病変を認めた小学生肺結核症例(10 歳児)、2)父の受診遅れがあった家族内感染症例(3 歳児)、3)母が INH 耐性であった肺門リンパ節結核症例(1 歳児)、4)母の発病をきっかけに健診発見された肺結核症例(6 歳児)、5)小学生多量排菌症例(10 歳児)の 5 症例が、

また、首都圏小児結核症例検討会では、1)家族健診で発見された生後 4 ヶ月肺結核事例、2)超多剤耐性結核患者の接触者として健診対象となった小児事例(1 歳児)、3)長期入院後、復学や接触者健診に連携を要した中学生事例の 3 症例が議論された。

(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

本法において、IFN- γ 産生 T 細胞

(effector T 細胞)は緑色に、IL-2 産生 T 細胞 (central memory T 細胞)は赤色に、また両サイトカインを産生する T 細胞 (effector-memory T 細胞)は

画像処理により黄色に発光する。このシステムを用いて、11 人の LTBI を持つボランティアを対象に各サイトカイン産生細胞数を解析した結果、effector T 細胞が約 70%程度と高く、central memory T 細胞と effector-memory T 細胞がそれぞれ 15%程度であった。

(6)結核菌の感染性・病原性の評価方法の開発

H37Rv との競合感染において、感染後 3 時間から 72 時間までの変化率とクラスターサイズをプロットすると、明らかな相関が認められた。

今回変更した実験系においても PMA と IFN- γ による活性化 THP-1 細胞を使用した場合と同様の相関関係を認め、相関係数は $R^2=0.48629$ であった。この実験系において H37Ra の比率変化率 (0 - 72 h) は-0.337 であり、被検臨床分離株のいずれに対しても競合性が低かった。これに対して集団発生株では比率変化率 (0 - 72 h) は 0.15 であり、他の臨床分離株よりも H37Rv に対する競合性が強いという結果であった。

(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昨年検討し、SET1 から 4 までの組み合わせとした。本年度追加の 8 ローサイを SET5 と SET6 とした。組合せを検討したところ SET5 :

VNTR3232, MIRU-16, MIRU-4,
VNTR3820 ; SET6 : VNTR3690,
VNTR2401, ETR-C, MIRU-40 とすると
ピークが重なる頻度が低く良い結果が
得られた。

(8) 日本版 DOTS の技術強化

①新登録患者コホート分析

新登録肺結核患者総数 698 人の判定結果は、「治療成功」78.6%(「治癒」38.2%、「治療完了」25.1%、「その他」14.8%)、「死亡」16.5%(「結核死亡」7.6%、「結核外死亡」8.3%)、「治療失敗」1.3%、「脱落中断」1.4%、「不明」3.6%であった。DOTS タイプ別の治療成功率は「DOTS(入院中院内 DOTS+外来治療中地域 DOTS)あり」が 83.1%(637/767)、「その他」が 49.0%(47/96)であった。

②服薬中断にかかわるリスク評価の分析

1) 本システム参加施設にける検討対象総数 2761 人のうち、何らかのリスク要因を持っていた者は 1828 人、全くなかった者は 933 人であった。リスク要因の中で治療成功率を最も低くしていたのは「過去の中断歴あり」で成功率 47.1%であった。

2) 協力いただいた 62 保健所のリスクアセスメント票 1216 件中、「あり」の件数が多かった要因は、「治療の理解」「退院時・現在の状況」「生活就労経済不安定」であった。「DOTS タイプ A」に分類されるのは「再発」、「結核治療中断」、「薬物・アルコール依存・飲酒の問題」、「精神疾患・認知症・記憶力の低下」、「生活・就労・経済不安定」であった。

3) リスク項目に対する看護職の意識調査：結核研究所の研修受講生保健師・看

護師に対して、各リスク項目を重要と感じるかを評点した結果、評点が高かったのは、「過去の中断歴」、「アルコール依存」「認知症・精神症障害」「治療の理解」の順であった。

4) リスク要因について、コア・コンピタンス分析の手法を用いてより一般的なリスクの重みづけを試みたところ、各項目に点数による重みづけが、健所によって違っており、リスク評価にばらつきがみられた。

③「服薬支援スコア」の検討

服薬支援スコアが高い(85 点以上)の占める割合を、コホート観察の判定別にみると、「治癒」32.8%、「治療完了」17.6%、「その他」3.2%、「死亡」24.7%、「治療失敗」40.9%、「脱落中断」2.3%であった。「治療失敗」でスコアの多い者が多いのは、服薬支援者の努力にもかかわらずそのような結果になった例であることがうかがわれる。また、リスク項目が多くなるにつれて、服薬支援スコアも上昇していた。

④結核医療の地域連携強化のための基礎調査

「退院後の最初の 1 カ月間、最も長く受診した医療機関」が入院医療機関と違っていた(転医した)のは 408 人(33.7%)であった。そのうち 1/3 は結核専門以外の医療機関に転医した。外来で治療開始した 1242 人のうち、その後の医療機関変更は 6.5%のみであり、ほとんどの患者が治療終了まで同じ医療機関で治療を受けていた。

⑤DVD を用いた DOTS 支援者育成の教育効果の評価

結核研究所における研修対象者に対し、DVDによる教育介入介入群と非介入群に分け、DVD教育介入を行う前後の時点で計2回質問調査を実施し、反応について比較検討した結果、介入による有意差が認められた

⑥服薬支援看護ワークショップ

「結核看護システム」の概要と看護の視点から見た指標「リスク評価」「服薬支援スコア」について報告した。本システムへの追加項目として「喫煙調査」「リスクアセスメント票」「服薬支援スコア」を搭載した。

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比較的低値であり、最も高率のSMでも未治療患者で5.6%、既治療患者で12.3%であった。多剤耐性結核についても同様に低率であり、日本の耐性結核率は未治療・既治療ともに世界的に最も低率な地域のひとつと考えられた。

2002年調査との比較では、各薬剤に対する未治療耐性(any resistance)に関して、有意に増加あるいは減少した薬剤は認められなかったが、INHの未治療耐性率が統計的有意差はないものの2.8%から3.1%にやや上昇しており、INH耐性の増加の可能性が考えられた。

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

($p=0.011$)。さらに既治療多剤耐性結核の比率が有意に減少($p=0.023$)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($p=0.046$)。これ

は、近畿地区における既治療MDR-TB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。ただし、感染症法の規定により三種病原体を不所持とした施設があることから、今回の研究で収集されなかったために多剤耐性結核の比率が低くなった可能性もある。

超多剤耐性結核菌(Extensively Drug-resistant *M. tuberculosis*: XDR-TB)は4株(全結核菌2,915株中)認められた。多剤耐性結核菌におけるXDR-TBの比率は今回の調査では15.4%(MDR-TB 28株中)であり、臨床情報を評価し得た17株中1株(5.9%)であった。これは2002年療研調査時のXDR-TB/MDR-TB比率30.9%(19/60)に比べて有意差はないものの大きく減少していた。評価可能な症例が少ないため原因は不明であるが、新規のMDR-TB患者にXDR-TB患者が認められなくなったことから、感染制御対策が進んでいるものと考えられた。MDR-TBのクラスター形成率は10.7%(3株)であり、2002年の29%に比べて有意差はないものの大きく減少していた。

(2)新化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価

①多剤耐性結核の外科療法が90%以上に有効(排菌停止)であることが明らかとなった。この外科療法の手技を全国に普及できるシステムを作ることが重要となってくる。

②昨年度までに本研究班で結核新化学療法剤を含めた治療方式に関して全国結核診療施設(269施設)を対象に調査を行った結果、ファブチンはRFP耐性結核患

者の 29.4%に有効。リネゾリドは 66.7%に有効であった。また、リファブチン

(RBT) がリファンピシン (RFP) 耐性菌の 18.6%が感受性であり、その迅速診断法も開発した。リネゾリド、リファブチンに外科療法を加えて、多剤耐性結核に対する強力な治療法が確立できる。

③さらに、新薬 (デラマニド等) が認可されれば、上記の方法と組み合わせて極めて強力な多剤耐性結核に対する新しい治療法が確立できる。

(3) 結核菌検出・薬剤感受性検査の技術開発と評価

評価試験において、抗酸菌種及び薬剤耐性を高感度・高精度に同定することができた。本法はシークエンスによる変異同定から薬剤耐性を判断する方法と比べると迅速で簡便であるが、検査室での利用を考えると検出法の改良や全自動化も含めた更なる迅速化、簡便化が求められる。精度を上げるためには変異の蓄積及び変異の意味付けが必要不可欠である。また、未知の耐性遺伝子の同定と機能解析も必要である。アミノグリコシド耐性結核迅速診断法の開発においては、臨床株における当該耐性株が非常に少ないため、より多くの施設から検体を得る必要がある。

(4) 小児結核対策・医療の評価

①小児結核症例実態調査：今後必要な対策として以下が挙げられた。

- 1) 高い BCG ワクチン接種率の維持
- 2) 症例が集積している地域を対象とした選択的対策の検討・実施

3) 結核感染・発病のハイリスクグループに対する選択的対策の検討・実施

4) 小児結核感染・発病例の診断精度維持、標準的治療適用に向けて

- i. 「小児結核診療の手引き」の作成
- ii. 小児結核診療支援システムの構築

5) 小児結核症例データベースの構築

②IP-10 release assay の有用性に関する検討

各症例カテゴリーにおけるデータ分布を基に、例えば 1000pg/ml を cut off 値に設定するとコッホ現象疑い群の「感染」を鋭敏に拾うことが、また臨床的に結核が否定的とされた結核除外診断群の「感染」を否定することが可能となる。濃厚接触群での「感染例」も QFT や T-SPOT を基にした判断よりも大きく増えることとなり、より鋭敏に感染例を検出できる可能性も期待された。

③小児結核サーベランス委員会の開催

小児結核対策の策定及び実施に際して、以下のような事項について検討が必要と考えられた。

- 1) 小児の感染源となりうるグループに対する対策の徹底
- 2) 小児のハイリスクグループへの適切な対応
- 3) 小児結核の感染診断精度や LTBI 治療効果に関する検証
- 4) 小児結核医療提供体制の維持・整備

④小児結核症例検討会

症例呈示を通じて、感染源症例を中心とした正確な接触状況聴取の重要性、耐性菌に対する有効かつ安全な治療レジメ確立に向けた治療成績集積の必要性、一般小児科外来においても結核の可能性も

念頭において診療にあたることの重要性、成人症例も含めて発病例に対する診断精度を向上させるために一般臨床医を対象とした結核に関する知識啓蒙の必要性、感染後発病に至るリスクの高い乳児を対象とした接触者健診への配慮、多剤耐性患者との接触小児への対応方法、自治体を越えた保健所・医療機関の患者情報共有の重要性、専門医への相談体制構築などの小児結核に関連する課題や問題点が明らかとなった。

(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

重蛍光染色 Fluorospot 法により、今回対象とした結核感染者においては、主に effector T 細胞が存在している事が示された。実際に、今回の対象者は全て IGRA 検査において陽性反応を示していることから、結核菌がある程度活動していると考えられるため、予想される結果が得られた。すなわち、現段階で本法はある程度正確に結核感染の状況を反映する可能性はある。結核既感染者で現在 IGRA 検査陰性者や、活動性結核患者等における反応性をさらに検討し、本法に対する評価を今後続ける必要があると考えられる。

(6) 結核菌の感染性・病原性の評価方法の開発

結核菌の病原性(毒力)を評価するため、競合感染実験系をした結果、H37Rv を基準として臨床分離株の相対的な割合の変化をそれぞれの株のクラスターサイズと比較したところ、クラスターサイズ

が大きいほど H37Rv に対して相対的な競合性が強いと認められた。また、一般に「非病原性」とされている H37Ra 株は競合力が弱く、一方集団感染株は相対的競合力が強いという結果であった。

今回の実験では、結核菌の「毒力」をどのように規定するかが問題であった。結核菌の毒力を感染→潜在→増殖→発病の全てのプロセスの結果として考えれば、広域にクラスターを形成する結核菌株は「毒力」が強いと考えられ、この仮定にそって行った今回の実験はクラスターサイズと競合力の相関という形である程度仮説を支持すると思われた。また同時に評価した非病原性株と集団感染株の競合力の結果も、上記のような概念としての毒力を反映したものとなっている。疫学的な状況との相関を *in vitro* で推定することを目的とすれば、今回の評価系は一定の価値を持つ可能性があると思われる。今後の問題として「閾値」をどのように決定するか考える必要がある

(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

日本国内結核菌を高識別能及び国際標準法に対応したローカスで解析するためには、1 株あたり 24 本の PCR チューブを準備し分析する必要がある。改良したマルチプレックス PCR を利用した結核菌の型別では、6 本だけで済むことになる。サーマルサイクラーによる DNA 増幅ステップには 3 時間程度必要なので、多検体を同時処理できるのは非常に有用であると考えられる。6 本のマルチプレックス PCR の組合せ (SET1 から

SET6) を作成したことで、人口ベースの結核菌分析にも対応できる。さらに、識別能が必要なならハイパーバリアブルの2箇所を加えてSET1からSET5、国際標準法のSupply(15)-VNTRにも対応できる様にするならSET1からSET6の6本すべてを分析すれば良いことになる。このように本VNTR解析システムは、分析の目的に応じてローサイの選択が可能である。

(8) 日本版DOTSの技術強化

①新登録患者コホート分析

「結核看護システム」から出力されるDOTSカンファレンス資料やコホート検討会資料は、保健所・医療機関ともに同様のものであり、そのため支援も双方が同じ方向を向いて行う事が可能となり、地域連携構築につながっていくものと考えられる。

②服薬中断にかかわるリスク評価の分析

保健所で使用されているリスク評価で「病気・治療の理解」に重点が置かれていた。服薬継続支援には患者教育は不可欠である。保健所ごとに用いるリスクアセスメント票に大きな違いがあれば、それに基づいて提供されるサービスの評価指標として信頼性が保証されなく、危険があると考えられた。基本的リスク要因の概念化と群分け、その上でどの医療機関・保健所でも使える質問紙を標準化していく必要があると考えられた。

③「服薬支援スコア」の検討

アセスメント票および服薬支援スコアの新たな導入は、服薬支援活動の実態を反映したDOTS支援ツールとしてさらに

有用性が高まると考える。

④結核医療の地域連携強化のための基礎調査

入院患者の3割が退院後に医療機関を変更し、その3分の1が呼吸器科を持たない一般医療機関であった。医療機関の変更に際しては、もとの医療機関と転医先の医療機関の緊密な地域連携がなされるよう効果的な地域連携体制の推進が望まれる。

⑤DVDを用いたDOTS支援者育成の教育効果の評価

視聴覚媒体(DVD)を用いた教育介入の効果に関して検証し、その有効性が示された。質の高いDOTSを行うためには全国共通の基本的な教材が必須と考えられる。さらにその効果についてより大きなサンプルについて無作為化試験を行い、評価をしたい。

⑥服薬支援看護ワークショップ

本システムを活用している保健所間で、コホート検討会の実施状況について意見交換を行ったところ、本システムを運用することにより入力項目が服薬情報(対象・方法・確認)・DOTSタイプと連動し支援の視点が明らかになる、コホート検討会資料を使うことにより個別治療・支援経過情報が一覧で見やすく有効な検討会を行いやすい、といった意見が出された。

E. 結論

薬剤耐性全国調査ではいずれの薬剤の薬剤耐性も低く、適正な医療が実施されていると考えられた。

治療についてはDelamanidをはじめ

とする有望な薬剤による新しい化学療法が期待される。本研究班で開発した薬剤耐性遺伝子迅速診断法は臨床応用できることが証明された。

小児結核は減少傾向が持続しているが、BCG 接種の維持、リスクの高い地域・グループへの選択的な対策、診断精度・標準的治療の小児科医に対する知識の普及、結核患者の全例把握等が必要と考えられた。また、IP10 release assay は良好な感度・特異度を有する診断法となることが期待される。

抗原特異的 INF γ 及び IL-2 産生細胞を解析する二重染色 Fluorospot 法を確立した。結核感染の状態の詳細な検討が期待される。

PMA 活性化 THP-1 細胞を使用した結核菌競合感染による *in vitro* 毒力評価系を確立した。臨床分離株のクラスターサイズと相対毒力の相関を示した。

VNTR 分析法として昨年度作成したマルチプレックス PCR でローカスの組合せにより検出する方法を改良し、国際標準への対応及び識別能の向上に活用できる。

日本版 DOTS の技術強化ではリスク分析、看護サービスの評価分析、地域連携の基礎調査を行い、患者教育の重要性、失敗例で最も支援が必要なこと、綿密な地域連携の必要性が確認された。

以上のように、本年度も全体の研究目的に対して着実に成果をあげることができた。

F. 健康危険情報

特記なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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. 2010; 16: 1164-1168.
- 2) Murase Y, Maeda S, Yamada H, Ohkado A, Chikamatsu K, Mizuno K, Kato S, Mitarai S. Clonal expansion of multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis, Japan. Emerg Infect Dis. 2010; 16: 948-954.
- 3) Maeda S, Wada T, Iwamoto T, Murase Y, Mitarai S, Sugawara I, Kato S. Beijing family *Mycobacterium tuberculosis* isolated from throughout Japan: phylogeny and genetic features. Int J Tuberc Lung Dis. 2010; 14: 1201-1204.
- 4) Ando H, Mitarai S, Kondo Y, Suetake T, Kato S, Mori T, Kirikae T. Evaluation of a line probe assay for the rapid detection of *gyrA* mutations associated with fluoroquinolone resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. J Med Microbiol. 2011; 60: 184-188.
- 5) Mitarai S, Kato S, Ogata H, Aono A, Chikamatsu K, Mizuno K, Toyota E, Sejimo A, Suzuki K, Yoshida S, Saito T, Moriya A, Fujita A, Sato S, Matsumoto T, Ano H, Suetake T, Kondo Y, Kirikae T, Mori T. Comprehensive multicenter evaluation of a new line probe assay

- kit for identification of
Mycobacterium species and detection
of drug-resistant *Mycobacterium*
tuberculosis. *Journal of Clinical*
Microbiology, 884-890, 2012.
2. 学会発表
- 1) 金丸典子、喜多洋子、林清二（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）、豊田恵美子、加
藤誠也、岡田全司：新結核化学療法
剤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）の
解析について．結核 86:(3)387,2011
平成 23 年結核病学会総会（東京）
2011.6 月 2,3 日
 - 2) 金丸典子、喜多洋子、橋元里実、高
見泰子、仲谷均、岸上知恵、西松志
保、名倉香織、林清二、豊田恵美子、
加藤誠也、岡田全司：新結核化学療
法剤及び外科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）の解析について 第 65
回国立病院総合医学会講演抄録集
p.406,2011 10 月 7, 8 日 2011 (岡
山)
 - 3) 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. IUMS
2011 Congress, Poster No.
P-BA28-23, Japan, September 2011.
 - 4) Ando H, Kitao T, Miyoshi-Akiyama T,
Kato S, Mori T, Kirikae T.
Mutations in the *furA-katG* intergenic
region decrease *katG* expression and
confer isoniazid resistance in
Mycobacterium tuberculosis. 4th
Congress of European
Microbiologists: FEMS 2011, Poster
No. 67, Switzerland, June 2011.
 - 5) 徳永 修、永井仁美、加藤誠也：小児
結核症例実態調査に関する報告－1
その症例背景に関する検討. 第 70 回
日本公衆衛生学会総会 2011 年 10 月
秋田
 - 6) 永井仁美、徳永 修、加藤誠也：小児
結核症例実態調査に関する報告－2
その診断・治療に関する検討. 第 70 回
日本公衆衛生学会総会 2011 年 10 月
秋田
 - 7) Shinji Maeda, Takayuki Wada,
Tomotada Iwamoto, Seiya Kato : Low
discrimination power of the standard
optimized variable number of tandem
repeats systems for genotyping of
Mycobacterium tuberculosis in Japan.
4th Congress of European
Microbiologists FEMS 2011. June
2011; Geneva, Switzerland
 - 8) Tomotada Iwamoto, Takayuki Wada,
Shinji Maeda, Noriko Nakanishi, Qian
Gao, Young-Kil Park, Jian Mei, Luz
Caviedes, Robert H Gilman, Seiya
Kato : Geographical Genetic Diversity
of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing
Genotype Family Strains. 4th Congress
of European Microbiologists FEMS
2011. June 2011; Geneva, Switzerland
 - 9) 永田容子、山内祐子、小林典子、加藤
誠也、森 亨：結核看護システム；I.
リスク評価のあり方 結核病学会