

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

結核新化学療法剤を含めた治療方法の開発・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. 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.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。②.手術後51例中46例（90.1%）で排菌陰性。③.MDR-TBの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-2010年新規入院例と持続排菌例(2006年との比較)
①.2010年新規入院多剤耐性結核調査票を作成、262施設に送付。②.2010年新規入院MDR-TB患者は83名で減少していない。③.超薬剤耐性結核・持続排菌例の増加が2010年には2006年に比べて認められた。2010年XDR-TB19名。
④.2010年には、20才台のMDR-TBの著明な増加。
3. 細胞性免疫予後診断法（分子学的結核菌診断法）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granulysin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細胞分化誘導作用。IL-2,IFN- γ ,IL-6産生誘導 (c) granulysinとKSP37はキラーT細胞分化相乗効果。
4. 新薬について:
①.Delamanid (OPC67683) を用いた結核治療効果
ⓐ 新規治療剤Delamanidの多剤耐性結核(MDR-TB)、感染力の強いスーパー・スプレッダー (S・S) 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。ⓑ Delamanidのヒト多剤耐性結核患者第IIb相臨床試験を終了。
②.カプラザマイシン (CPZEN-45)
ⓐ XDR-TBに対し治療効果 (マウス)。ⓑ INH+RFP治療法とカプラザマイシンは相乗的結核治療効果。ⓒ 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。Current Global TB Drugパイプラインにpreclinical drugとしてノミネートされた。
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)。
5. モキシフロキサシンのファーストラインへの置き換えが海外で検討。したがって日本でのMDR-TBに対する検討を行った。著効例が示された。

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 名誉院長
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 統括診療部長
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を目的。
2. 細胞性免疫予後診断法の開発。
3. 新化学療法剤による治療期間の短縮や、多剤耐性結核治療の進歩による患者のQOL向上と医療費節減を目的。
4. 薬剤（リファブチン）感受性検査迅速遺伝子診断法による臨床診断・治療の進歩を目的。
5. 多剤耐性結核患者の全国調査、外科治療法の調査、細胞性免疫予後診断法の開発は、多剤耐性結核の対策、標準的治療・診断の確立を目的。

B. 研究方法

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。
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(2006年との比較)

2010年新規入院多剤耐性結核調査票を作成、262施設に送付。

（倫理面での配慮）

- (1) 国立病院機構近畿中央胸部疾患センターのIRB（臨床試験審査委員会）で「結核新化

学療法剤を含めた治療方法の開発・評価：調査票（新しい結核治療剤使用）」調査票の倫理審査を行い、承認された後に全国結核診療施設に送付した。

- (2) 同様に「多剤耐性結核・持続性排菌結核の外科治療法についての調査」調査票及び、「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」調査票の倫理審査を行った。承認された後に、全国結核診療施設に送付した。

C. 研究結果

国立病院機構研究ネットワークグループ（呼吸器疾患）65施設（特に結核診療施設52施設）を含む全国263施設に調査票を送付した（図1）。

図 1

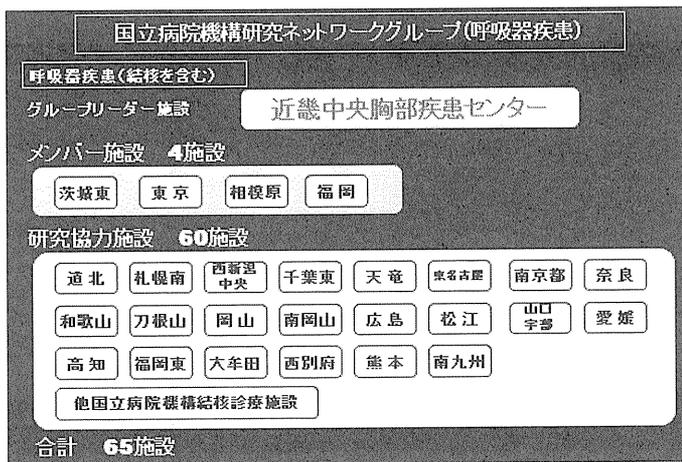
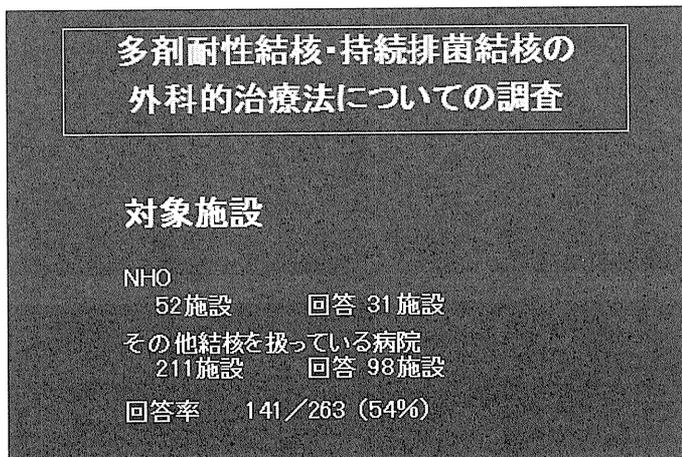


図 2



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 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（表1A、1B）。そのうち141施設（54%）より回答を得た（図2）。
 - 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（図3）。性別は52例中男性38例（73.1%）であった（図4）。

表 1A

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票

・当てはまるものを○で囲んでください。下線部には数字等をご記入下さい。

1. 症例の背景因子

- (1) 発症時年齢 (____才、不明)
- (2) 性別 (男、女)
- (3) PS (0、1、2、3、4、不明)
- (4) H-J (1、2、3、4、5、不明) 度
- (5) 多剤耐性結核 (有、無、不明)
有の場合、 (初回耐性、獲得耐性、不明)
- (6) 持続排菌結核 (有、無、不明)
有の場合、排菌量 (ガフキー____号)
- (7) 術前画像所見
- ① 学会病型 (I型、II型、III型、不明)
- ② 拡がり (1、2、3、不明)
- ③ 空洞 (有、無、不明)
有の場合、 (右側、左側、両側)、 空洞の大きさ(____cm)
- ④ 結核病巣 (右側、左側、両側、不明)
- ⑤ 結核病巣の大きさ (右側____cm、左側____cm)
- (8) 耐性薬剤数 (____剤、不明)
耐性薬剤名 (INH、RFP、SM、EB、PZA、LVFX、KM、TH、EVM、CS、PAS、その他)
- (9) 手術時標本内結核菌 (陽性、陰性、不明)
- (10) 術前合併症 (有、無、不明)
有の場合、 (糖尿病、肝障害、腎疾患、塵肺、心不全、アルコール症、リウマチ、悪性腫瘍、塵肺、胃切除術後、ステロイド投与中、その他)
- (11) 手術理由 (多剤耐性、X線硬化空洞、服薬困難、喀血、社会的適応、荒蕪肺、気管支拡張病変、肺癌との鑑別 その他)

2. 術式

- (1) 術側 (右、左、両側)
- (2) 開胸法 (後側方、前側方、胸腔鏡下、腋窩、胸骨正中、その他(____))
- (3) 部分切除 (有、無、不明)
有の場合、 (S____)
- (4) 区域切除 (有、無、不明)
有の場合、 (S____)

表 1B

(5) 葉切除 (1 葉、2 葉)
(上葉、中葉、下葉 不明)

(6) 一側肺全摘 (有、無、不明)

(7) 残存肺全摘 (有、無、不明)

(8) 空洞切開 (有、無、不明)
+筋弁充填 (有、無、不明)

(9) 胸郭成形術 (有、無、不明)

(10)開窓術 (有、無、不明)

3. 術後合併症

(5) 術後遷延気腫 (有、無、不明)

(6) 気管支断端瘻 (有、無、不明)

(7) 創し開 (有、無、不明)

(8) 術後膿胸 (有、無、不明)

(9) 術中・術後大量出血(有、無、不明)
有りの場合、輸血 (有、無、不明)

(10)乳び胸 (有、無、不明)

(11)術後肝障害 (有、無、不明)

(12)術後腎障害 (有、無、不明)

(13)呼吸不全 (有、無、不明)

(14)その他 (_____)

(15)手術関連死亡 (有、無、不明)

4. 切除成績

(5) 術後排菌継続 (有、無、不明)

(6) 術後1ヶ月以内排菌陰性 (有、無、不明)

(7) 排菌陰性 (有、無、不明)

(8) 切除後の再排菌 (有、無、不明)

(9) 残存肺空洞性病変遺残 (有、無、不明)
有の場合、 (径 1 cm以下、径 2 cm以下、径 2 cm以上、不明)

5. 術前・術後の抗結核化学療法

(5) 術前 (____ヶ月、不明)
使用薬剤名 (INH、RFP、SM、EB、PZA、LVFX、KM、TH、EVM、CS、PAS、その他)

(6) 術後 (____ヶ月、不明)
使用薬剤名 (INH、RFP、SM、EB、PZA、LVFX、KM、TH、EVM、CS、PAS、その他)

図 3

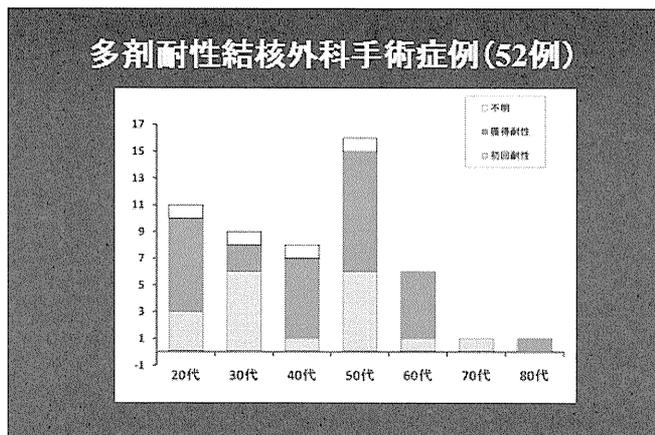


図 4

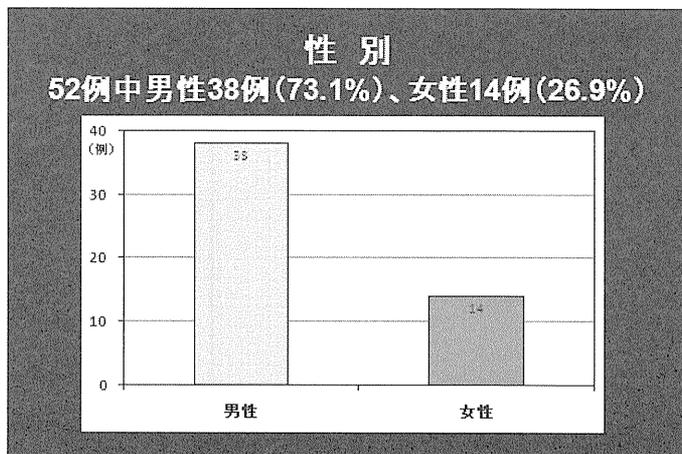
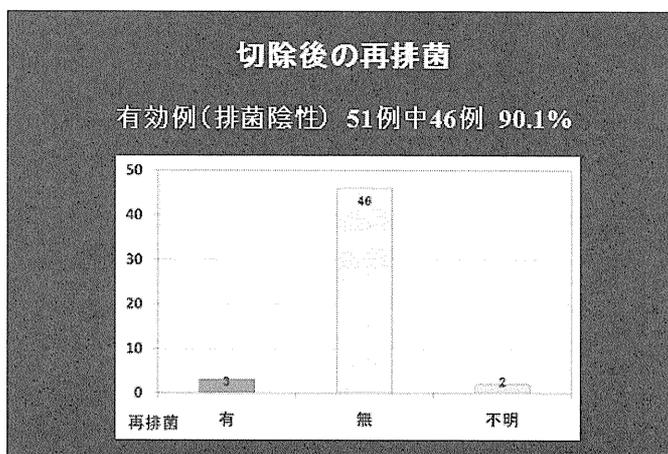


図 5

多剤耐性結核の外科手術症例の術前画像所見

① 空洞	無	12例	(23.1%)
	有	40例	(76.9%)
	右肺	20例	
	左肺	14例	
	不明	4例	
		1例	
② 学会症型	I型	1例	(2%)
	II型	36例	(72%)
	III型	13例	(26%)
③ 拡がり	1	23例	(45%)
	2	24例	(48%)
	3	3例	(6%)
④ 結核病巣	右側	13例	
	左側	17例	
	両側	19例	
⑤ 空洞の大きさ	1cm以下	5例	
	2cm以下	16例	
	3cm以下	5例	
	4cm以下	2例	
	4cmより大	6例	
	不明	6例	

図 6



③ 外科手術症例の多剤耐性結核の術前画像所見は、結核空洞ありが40例(76.9%)であった(図5)。

④ 手術後51例中46例(90.1%)で結核菌の排菌陰性となった。(図6)

⑤ 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(図7)。

図 7

術式 (52例中)

① 一側肺全摘	11例	(21.2%)	
② 葉切除	上葉	35例	(67.3%)
	中葉	1例	(2.9%)
	下葉	1例	(2.9%)
③ 区域切除	6例	(11.5%)	
④ 筋弁充填	1例	(1.9%)	
⑤ 開胸法	後側方	29例	(55.8%)
	前側方	5例	(9.6%)
	胸腔鏡下	17例	(32.7%)
	その他	1例	(1.9%)

以上より、MDR-TBの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-2010年新規入院例と持続排菌例(2006年との比較)

- ① 2010年新規入院多剤耐性結核調査票を作成、262施設に送付(表2、表3A、3B)。そのうち192施設より回答(73.3%) (表4)。
- ② 2010年新規入院MDR-TB患者は83名で減少していない(表5)。

- ③ 超薬剤耐性結核・持続排菌例の増加が2010年には2006年に比べて認められた。2010年XDR-TB19名(表5)。
- ④ 2010年には、20才台のMDR-TBの著明な増加。(図8)
- ⑤ 耐性薬剤数の多い症例程、菌陰性化率が低い(図9)ことが明らかとなった。

表2

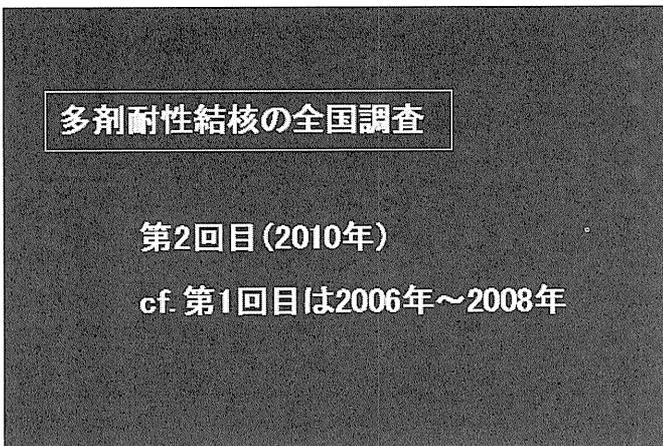


表3A

多剤耐性結核についての調査

1. 2010年1月から2010年12月の新規入院の多剤耐性結核症例を記入してください。(○で囲んでください)

裏面に続く

No	施設名	年齢	性別	初回/ 継続/ 再治療	耐性薬剤(○で囲んでください)											現在 使用薬剤	手術 有/無	現在 排菌 有/無	備 考
					H0.2	H1	R	E	S	Z	KM	TH	EVM	Cs	PAS				
1			1.男 2.女	1.初回 2.継続 3.再治療	1.有 2.無 3.不明		1.有 2.無 3.不明	1.有 2.無 3.不明											
2			1.男 2.女	1.初回 2.継続 3.再治療	1.有 2.無 3.不明		1.有 2.無 3.不明	1.有 2.無 3.不明											
3			1.男 2.女	1.初回 2.継続 3.再治療	1.有 2.無 3.不明		1.有 2.無 3.不明	1.有 2.無 3.不明											
4			1.男 2.女	1.初回 2.継続 3.再治療	1.有 2.無 3.不明		1.有 2.無 3.不明	1.有 2.無 3.不明											
5			1.男 2.女	1.初回 2.継続 3.再治療	1.有 2.無 3.不明		1.有 2.無 3.不明	1.有 2.無 3.不明											
6			1.男 2.女	1.初回 2.継続 3.再治療	1.有 2.無 3.不明		1.有 2.無 3.不明	1.有 2.無 3.不明											
7			1.男 2.女	1.初回 2.継続 3.再治療	1.有 2.無 3.不明		1.有 2.無 3.不明	1.有 2.無 3.不明											
8			1.男 2.女	1.初回 2.継続 3.再治療	1.有 2.無 3.不明		1.有 2.無 3.不明	1.有 2.無 3.不明											
9			1.男 2.女	1.初回 2.継続 3.再治療	1.有 2.無 3.不明		1.有 2.無 3.不明	1.有 2.無 3.不明											
10			1.男 2.女	1.初回 2.継続 3.再治療	1.有 2.無 3.不明		1.有 2.無 3.不明	1.有 2.無 3.不明											

表 3B

2. 現在持続排菌している多剤耐性結核患者について(3ヶ月に1回程度以上培養陽性が続いている。)
(1. と重複する場合があります。)

No	施設名	年齢	性別	MDR 発症年月	耐性薬剤(○で囲んでください)										現在 使用薬 剤	現在 入院/ 外来	排菌状況	備考
					H0.2	H1	R	E	S	Z	KM	TH	EVM	Cs				
1			1. 男 2. 女	西暦 ()年 ()月	1.有 2.無 3.不明	1.入院 2.外来	1.常に塗抹陽性 2.おおむね塗抹陰性培養陽性 3.不明											
2			1. 男 2. 女	西暦 ()年 ()月	1.有 2.無 3.不明	1.入院 2.外来	1.常に塗抹陽性 2.おおむね塗抹陰性培養陽性 3.不明											
3			1. 男 2. 女	西暦 ()年 ()月	1.有 2.無 3.不明	1.入院 2.外来	1.常に塗抹陽性 2.おおむね塗抹陰性培養陽性 3.不明											
4			1. 男 2. 女	西暦 ()年 ()月	1.有 2.無 3.不明	1.入院 2.外来	1.常に塗抹陽性 2.おおむね塗抹陰性培養陽性 3.不明											
5			1. 男 2. 女	西暦 ()年 ()月	1.有 2.無 3.不明	1.入院 2.外来	1.常に塗抹陽性 2.おおむね塗抹陰性培養陽性 3.不明											
6			1. 男 2. 女	西暦 ()年 ()月	1.有 2.無 3.不明	1.入院 2.外来	1.常に塗抹陽性 2.おおむね塗抹陰性培養陽性 3.不明											
7			1. 男 2. 女	西暦 ()年 ()月	1.有 2.無 3.不明	1.入院 2.外来	1.常に塗抹陽性 2.おおむね塗抹陰性培養陽性 3.不明											
8			1. 男 2. 女	西暦 ()年 ()月	1.有 2.無 3.不明	1.入院 2.外来	1.常に塗抹陽性 2.おおむね塗抹陰性培養陽性 3.不明											
9			1. 男 2. 女	西暦 ()年 ()月	1.有 2.無 3.不明	1.入院 2.外来	1.常に塗抹陽性 2.おおむね塗抹陰性培養陽性 3.不明											
10			1. 男 2. 女	西暦 ()年 ()月	1.有 2.無 3.不明	1.入院 2.外来	1.常に塗抹陽性 2.おおむね塗抹陰性培養陽性 3.不明											

表 4

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

対象施設

NHO
51施設 回答 45施設

その他結核を扱っている病院
211施設 回答 147施設

回答率 192/262 (73.3%)

図 8

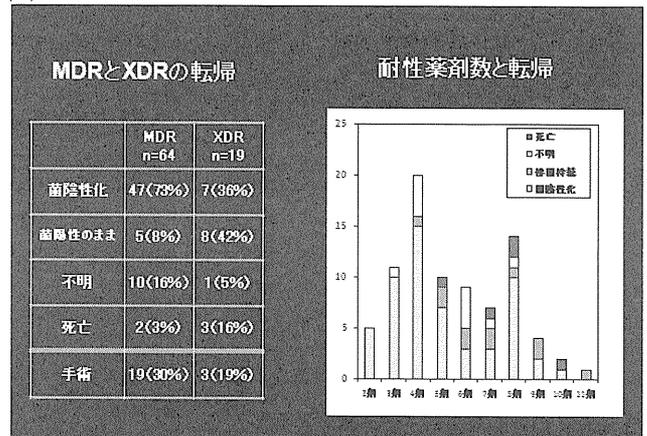


表 5

新規入院MDRの内訳

	2006年	2010年
MDR	93名	83名
(初回)	(31)	(30)
(継続)	(16)	(27)
(再治療)	(45)	(24)
(不明)	(1)	(2)
XDR	12名	19名

図 9

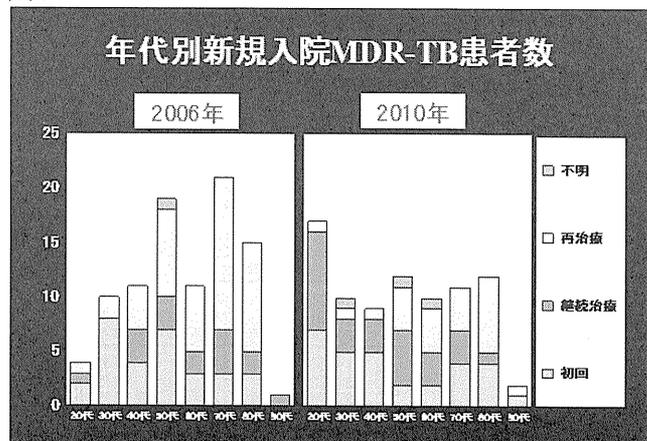


図 10

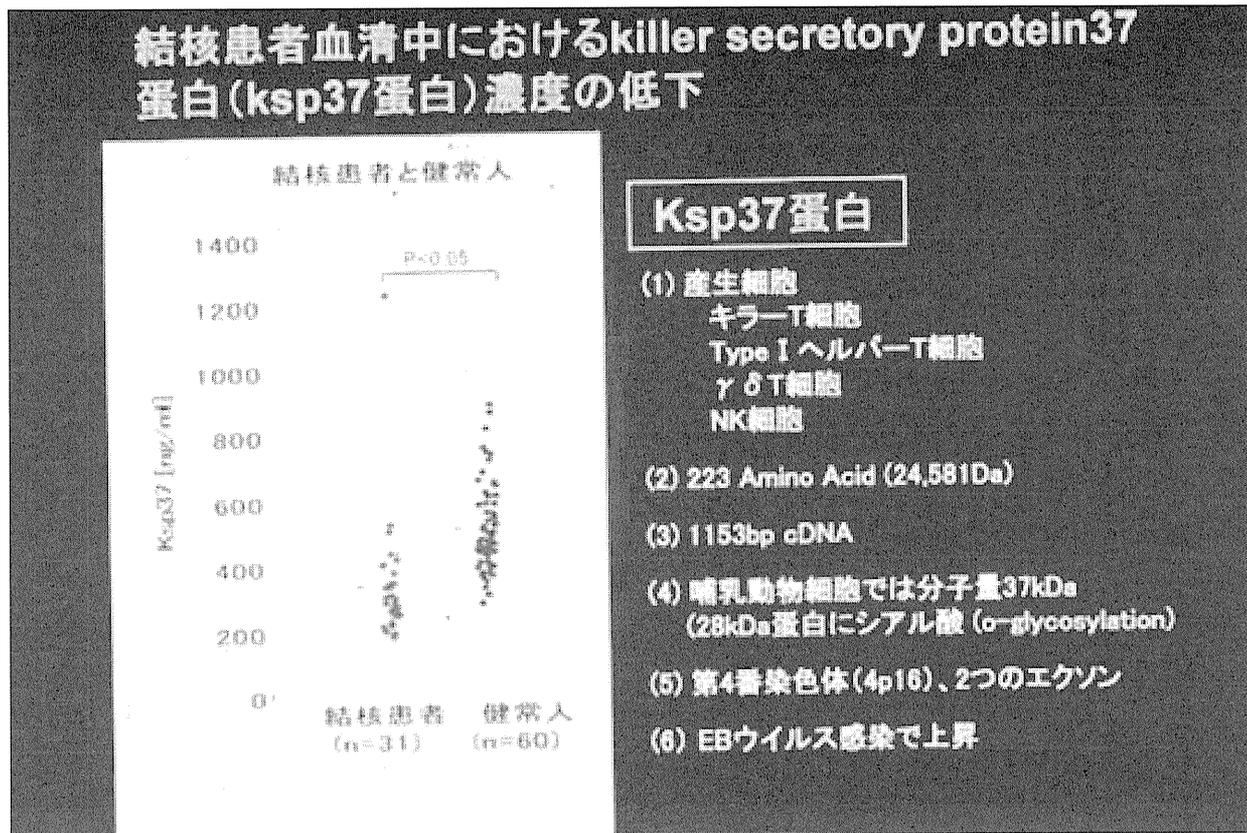


図 11

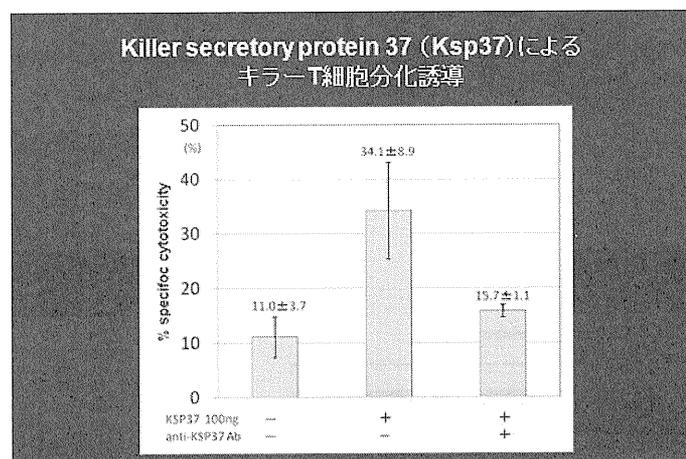
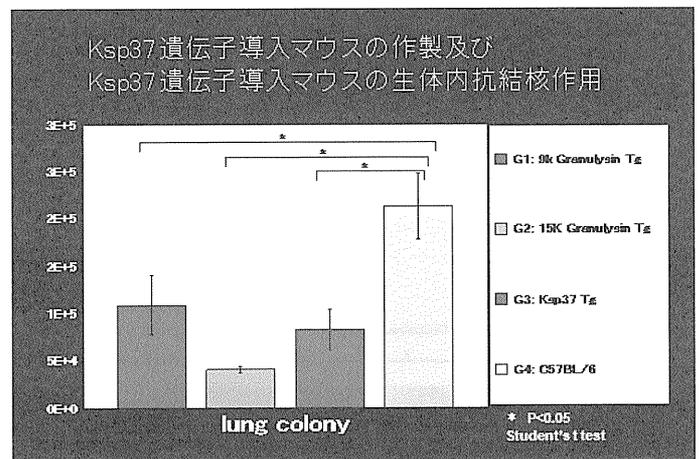


図 12



3. 細胞性免疫予後診断法（分子学的結核菌診断法）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 granulysin 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 細胞分化誘導作用 (図 10、11)。IL-2,IFN- γ ,IL-6 産生誘導(C) granulysin 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初めて発見した (図 12)。

4. 新薬について: (図 13)

①.Delamanid (OPC67683) を用いた結核治療効果

① 新規治療剤Delamanidの多剤耐性結核 (MDR-TB)、感染力の強いスーパー・スプレッダー (S・S) 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。

② 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)

① XDR-TBに対し治療効果 (マウス)。

② INH+RFP治療法とカプラザマイシンは相乗的結核治療効果。

③ 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。Current Global TB Drugパイプラインにpreclinical drugとしてノミネートされた。

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)。

5. モキシフロキサシンのファーストラインへの置き換えが海外で検討。したがって日本での MDR-TB に対する検討を行った。著効例が示された。

D. 考察

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。したがって、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。というのは、結核患者の外科療法を上手に、多くの症例数を行える国立病院機構の施設は当近畿中央胸部疾患センター、東京病院、福岡東等限られてきている。一方、結核予防会複十字病院も結核患者外科療法で有名である。したがって、これらの病院で他の結核診療施設の外

図 13

Global TB Drug Pipeline



科の先生にその手技等を伝授してもらえれば全国での結核外科療法の普及となるかもしれない。

2. すでに当班で

- (1) 「結核新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）」を全国結核診療施設（269施設）に送付し、調査を行った。新しい抗結核薬リファブチン及びリネズリド、メロペネム-クラブラン酸の三種の新しい化学療法剤の投与症例数、多剤耐性結核に対する有効性、副作用等を調査。リファブチンはRFP耐性結核患者の29.4%に有効。リネズリドは66.7%に有効

- (2) リファブチン（RBT）がリファンピシン（RFP）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%）の結核菌にRBT感受性。rpoB genotypeの解析よりコドン516が（Asp→Val）変異でRBT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。

したがって、リネズリド、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。

4. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 結核の短期治療、MDR-TBの新しい治療法開発で医療費においても厚生行政に大きく寄与。

- (2) MDR-TBの2割に有効なリファブチンの感受性迅速診断法を開発したことは、厚生行政に大きく寄与。

- (3) 結核に対する外科治療が激減し、外科治療の経験も少なくなったため、情報の共有化が必要。したがって、外科治療の有効性確認(マニュアル改訂版作製予定)は厚生行政に大きく寄与。

5. 今後の課題

- (1) 新規開発中のDelamanid。大塚製薬松本真博士の承認・協力。INHの代わりに用いる。
- (2) 2012～2014年臨床応用。国立病院機構結核・呼吸器ネットワーク研究グループ（65施設）を活用して、Delamanidの多数の結核患者への臨床応用を行う。
- (3) 慢性持続排菌結核・多剤耐性結核患者に対するDelamanidの治療完了率の向上。
- (4) Delamanidを加えた治療期間の短縮。XDR-TB及びS・S多剤耐性結核に対する有効性の改善。潜在性結核感染も標的とする。
- (5) 新化学療法剤〔特にカプラザマイシン、PNU-100480(リネズリドの骨格の新しい化学療法剤)、リファブチン、モキシフロキサシン、リネズリド、リファペンチン、TMC207等〕を含めた新治療方法の開発と臨床応用。
- (6) 調査票（新しい結核治療剤使用）2011年再調査による2009年との比較、とそれに基づく新規結核剤による対策構築。
- (7) 細胞性免疫予後診断法(granulysin、KSP37)の開発・臨床応用。

E. 結論

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.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。②.手術後51例中46例(90.1%)で排菌陰性。③.MDR-TBの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-2010年新規入院例と持続排菌例(2006年との比較)

①.2010年新規入院多剤耐性結核調査票を作成、262施設に送付。②.2010年新規入院MDR-TB患者は83名で減少していない。③.超薬剤耐性結核・持続排菌例の増加が2010年には2006年に比べて認められた。2010年XDR-TB19名。④.2010年には、20才台のMDR-TBの著明な増加。

3. 細胞性免疫予後診断法（分子学的結核菌診断法）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granulysin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細胞分化誘導作用。IL-2,IFN- γ ,IL-6産生誘導 (C) granulysinとKSP37はキラーT細胞分化相乗効果。

4. 新薬について:

①.Delamanid (OPC67683) を用いた結核治療効果

④ 新規治療剤Delamanidの多剤耐性結核(MDR-TB)、感染力の強いスーパー・スプレッダー (S・S) 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。⑤ Delamanidのヒト多剤耐性結核患者第IIb相臨床試験を終了。

②.カプラザマイシン (CPZEN-45)

④ XDR-TBに対し治療効果 (マウス)。

⑥ INH+RFP治療法とカプラザマイシンは相乗的結核治療効果。⑦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。

Current Global TB Drugパイプラインにpreclinical drugとしてノミネートされた。

③.INH+新規結核治療ワクチン(HSP65 DNA+IL-12DNA)併用により結核治療相乗効果 (マウス)。

5. モキシフロキサシンのファーストラインへの置き換えが海外で検討。したがって日本でのMDR-TBに対する検討を行った。著効例が示された。

G. 研究発表

(1) 論文発表

なし

(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 2011(岡山)

3) 金丸典子、喜多洋子、林清二、岡田全司、

豊田恵美子：本邦における多剤耐性結核
の調査（2010年）研究 平成24年結核
病学会総会（広島） 2012年5月

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得（出願中）

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

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 国立国際医療研究センター研究所 感染症制御研究部

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。平成 23 年度は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。

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、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ー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。

B. 研究方法

【B-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、臨床評価試験を実施した。

【B-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】

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。

【B-3. 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及び臨床検体である。

C. 研究結果

【C-1. 臨床評価試験】

ラインプロー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する事で精度・感度を評価した。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。臨床分離株に対する薬剤耐性同定は以下の通りである。リファンピシン、イソニアジド、ピラジナミド、レボフロキサシンの各耐性検出における感度、精度はそれぞれ、98.9%・97.3%、90.6%・100%、89.7%・96.0%、93.0%・100%、であった。臨床検体に対してはそれぞれ、100%・100%、75%・92.9%、100%・100%、100%・100%、であった。

【C-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。

D. 考察

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。臨床応用できるレベルだと考えられる。一方で、幾つかの課題も見えてきた。本法はシーケ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更なる迅速化、簡便化が求められる。検出法の改良や全自動化も含め検討する必要がある。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。

E. 結論

開発したラインプローブ法は、臨床応用できるものである。更なる精度向上、迅速化、簡便化を目指して改良を進めていく。

F. 研究発表

1. 論文発表

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

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.

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.

G. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許出願

なし

2. その他

なし

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

「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－

2010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登録保健所宛に調査票を配布し、発症に至った症例の背景、感染・発病診断、発病予防可能性、治療などに関する情報を収集した。昨年度の研究で実施した2008年、09年の登録例を対象とした調査結果と合わせ、2008年～10年に発症した小児結核症例221例に関するデータを収集した。その結果、①発病例が首都圏や大阪府などの大都市部に地域的な偏在する傾向、②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症例の約15%を占めた、③2003年の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が著明に減少していた、④初期変化群型症例が多数を占めたが結核性髄膜炎、粟粒結核などの重症例や多量排菌を伴う肺結核症例の発生も認めた、⑤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。有症状受診例には頸部リンパ節結核などの肺外結核症例も多く含まれ、また高蔓延国での居住歴を有した例が約3割を占めた、⑥発病に至った要因は感染源症例発見・治療開始の遅れその他、BCG未接種、感染源発見後の接触者健診における不備、周産期の感染機会などであった、などが明らかとなった。これらの結果をふまえ、さらに小児結核症例を減らす為、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」の作成及び 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、などの対策を講じることが必要と考える。

2. 小児を対象とした結核感染診断における IP-10 release assay の有用性に関する検討

小児を対象として、さらに感度の優れた結核感染診断法を導入することを目的に結核菌特異抗原刺激によって遊離する IP-10 の多寡による感染診断法 (TB specific antigen stimulated IP-10 release assay) の有用性を検討した。即ち、当院で結核感染診断を目的に2種の IGRA (QFT-3G、T-SPOT) を適用した小児で、QFT 刺激上清中の IP-10 も同時に定量測定し、その反応態度に関して検討を行った。尚、対象例 (61 症例) はその症例背景・検査目的により、① Active TB cases (結核発症と判断し治療が適用された例) 5 症例 (10 検体)、② Close contact cases (同居家族内に結核患者が発生した後の健診例) 24 症例 (39 検体)、③ Casual contact cases (非同居接触者に結核患者が発生した後の健診例) 20 症例 (29 検体)、④ S/O Koch phenomenon cases (BCG 直接接種後にコッホ現象が疑われる局所所見を呈した例) 4 症例 (6 検体)、⑤ R/O TB cases (結核の除外を目的に検査を実施した例) 8 症例 (8 検体) の 5 つの症例カテゴリーに分類した。

その結果、各症例グループ、特に発症例、コッホ現象例、結核否定例の IP-10 測定値分布より、適切な Cut-off 値 (例えば 1000pg/ml) を設定することにより

IP-10 release assay が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ことが期待された。さらに結核発病例や結核感染リスクの低いコントロール群も含めた検討対象例を増やし、感度・特異度が共に優れた適切な Cut-off 値を設定することが必要である。

3. 大都市部の小児結核の現状及び必要な対策に関する研究；第 8 回小児結核サーベイランス委員会の開催

首都圏、近畿地方、愛知県等大都市部など、特に小児結核症例が集積する自治体における小児結核発病例、潜在性結核感染症例の発生動向や小児を巻き込んだ集団感染事例（周産期結核事例も含む）、各地域における小児結核に対する医療提供体制の実情・問題点、BCG ワクチン接種率や直接接種後コッホ現象疑い例など小児結核に関連する諸問題について情報を共有し、小児結核対策の向上に繋げることを目的に第 8 回小児結核サーベイランス委員会を開催した。大阪府、大阪市、堺市、神戸市、京都市、奈良市、東京都、愛知県の行政結核担当者らが参加し、それぞれの自治体における小児結核の実情や課題について発表・討議を行った。その結果、今後取り組むべき小児結核対策として、①小児にとって感染源となりうるグループに対する結核対策の徹底、②感染・発病に至るハイリスク小児グループへの適切な対応、③小児を対象とした感染診断精度や 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. 特に小児結核が集積する地域において小児結核症例への注意喚起、診断・治療に関する正確な知識の啓蒙を目的とした研究；第 9 回近畿小児結核症例検討会及び第 2 回首都圏小児結核症例検討会の開催

・近畿小児結核症例検討会は平成 15 年度より継続して開催しており、今年度（第 9 回）も近畿各地区（大阪府・大阪市・兵庫県・奈良県・奈良市）で発病に至った 5 小児結核症例を呈示し、各症例の抱える課題に関する討議を行い、情報を共有した。また、後半部分では小児結核症例実態調査に関する紹介、小児結核医療体制に関わる課題に関するディスカッションを行った。

・近畿地区に引き続き、首都圏においても平成 22 年より症例検討会を開催しており、今年度も第 2 回症例検討会を開催した。今回は東京都以外に横浜市、埼玉県の症例も加え、計 3 症例に関してその発病予防・診断・治療に関する課題（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）などに関する討議を行った。

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
レファランス部）
樋口 一恵（結核予防会結核研究所抗酸菌
レファランス部）
高松 勇（たかまつこどもクリニック）
宮川 知士（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）

宮野前 健（国立病院機構南京都病院
小児科）
土居 悟（大阪府立呼吸・アレルギー医療
センター小児科）
西屋 克己（奈良県立医科大学 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）
石立 誠人（東京都立小児総合医療センター
呼吸器科）

黒澤	照喜（東京都立小児総合医療センター 総合診療科）
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）
岩村	千代（大阪市立十三市民病院 小児科）
鶴	珠緒（大阪府立呼吸器・アレルギー 医療センター小児科）
松岡	太郎（市立豊中病院小児科）
川崎	悠（神戸市西神戸医療センター 小児科）
渡部	ゆう（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）
松本	健二（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）
谷口	隆司（京都市西京保健センター）
伊藤	正寛（京都市保健所）
池田	雄史（京都市北保健センター）
根津	智子（奈良市保健所）

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. 小児を対象とした結核感染診断における IP-10 release assay の有用性に関する検討

我々のこれまでの検討により IGRA が未だ発病に至っていない乳幼児感染例の診断においては感度が劣っていることが推測された。さらに感度・特異度に優れた結核感染診断法を

小児結核診療に導入することを目的に、結核感染免疫に関連するケモカインである IP-10 に着目し、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 の多寡による感染診断（IP-10 release assay）の有用性について検討を行なう。

3. 大都市部の小児結核の現状及び必要な対策に関する研究；第 8 回小児結核サーベンランス委員会の開催

首都圏、近畿地方、愛知県等大都市部の自治体における小児結核発病例、潜在性結核感染症例の発生動向に関する報告を行うと共に、小児を巻き込んだ集団感染事例（周産期結核事例も含む）、各地域における小児結核に対する医療提供体制の実情・問題点、BCG ワクチン接種率や直接接種後コッホ現象疑い例など小児結核に関連する諸問題について意見交換を行なうことにより、特に小児結核が集積する地域における問題点を共有し、自治体における小児結核対策の向上に繋げる。

4. 特に小児結核が集積する地域において小児結核症例への注意喚起、診断・治療に関する正確な知識の啓蒙を目的とした研究；第 9 回近畿小児結核症例検討会及び第 2 回首都圏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、最近各地区で発症に至った小児結核症例の経験を共有し、さらに、各症例についてその発病予防可能性、診断・治療の課題について議論を深め、その結果を今後の診療・行政対応に活かす。

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、2010 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、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 2011 年 11 月上旬に調査票を送付し、回答を依頼した。既に昨年度の研究において収集できた 2008 年、09 年登録症例と合わせ、調査票内容を集計し、発病例の症例背景や診断・治療経過に関する情報を整理した。

2. 小児を対象とした結核感染診断における IP-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、当院小児科において 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（英国 Oxford Immunotec 社）も同時に実施した。さらに QFT-3G 結核菌特異抗原（ESAT-6 + CFP-10 + TB7.7）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. 大都市部の小児結核の現状及び必要な対策に関する研究；第 8 回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、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プレゼンテーションを行い、大都市部における小児結核の現状及び課題について情報を共有する。さらに、今後執るべき小児結核対策についても意見交換を行う。

4. 特に小児結核が集積する地域において小児結核症例への注意喚起、診断・治療に関する正確な知識の啓蒙を目的とした研究；第 9 回近畿小児結核症例検討会及び第 2 回首都圏小児結核症例検討会の開催

両症例検討会ともに土曜日午後に開催し、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た。（首都圏は平成 23 年 11 月に開催し、約 80 名が参加、近畿は平成 24 年 2 月に開催し、約 150 名が参加）。

検討対象は各地域において平成 22 年～23 年に発生した小児結核関連症例で、首都圏症例検討会では 3 症例、近畿症例検討会では 5 症例についてプレゼンテーション（医療機関及び保健所から問題提示）を行い、各例について患児の診断・治療、或いは、健診実施・治療支援に関する問題点についてディスカッションを行う。また、後半部分では小児結核診療に関するトピックスを情報提供する。

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—

2010 年には結核登録者情報システムに 0～14 歳の小児結核発病例 89 例が登録されており、全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、調査票が回収できなかった 2 例、登録ミスが明らかとなった 4 例、結核症例として登録後 BCG ワクチン由来の病変と判明した 3 例、計 9 例を除いた 80 例に関する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、2008 年～10 年の 3 カ年に発症した小児結核症例 221 例（登録 257 例）の調査票を収集した。

その結果、近年の小児結核発症例に関して以下の動向や特徴が明らかとなった。

- ・発病例は 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。
- ・発病例の地域的な偏在傾向が顕著であり、その多くが東京都、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

した小児が全症例の約 15%を占めており、この傾向はそれぞれの調査年度で大きな変動は見られなかった。これらの症例の地域的な偏在傾向は明らかではなかった。

・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。この傾向は特に 0~2 歳の低年齢小児で顕著であった。

・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（胃液）塗抹陽性例は全例の 10%前後に留まっていたが、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。

・有症状受診例では胸腔内に病巣を有する例の他、頸部リンパ節結核、骨結核などの肺外結核症例も多く含まれた。また、高蔓延国での居住歴を有した例が約 3 割を占めていた。

・小児結核症例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。

・当初より外来治療が選択された例が約 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。

2. 小児を対象とした結核感染診断における IP-10 release assay の有用性に関する検討

①Active TB cases 5 症例（10 検体）、②Close

contact cases 24 症例（39 検体）、③Casual contact cases 20 症例（29 検体）、④S/O Koch phenomenon cases 4 症例（6 検体）、⑤R/O TB cases 8 症例（8 検体）を対象に 2 種の IGRA 及び IP-10 release assay を実施した。結核菌特異抗原刺激による IP-10 遊離量（IP-10_{TB antigen} - IP-10_{nil}）は Active TB 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、Close contact 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。Koch phenomenon 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 R/O TB 群は全例が 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 S/O Koch 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 R/O TB 群の「感染」を否定することが可能であった。

3. 大都市部の小児結核の現状及び必要な対策に関する研究；第 8 回小児結核サーベンランス委員会の開催

平成 24 年 2 月 18 日に大阪市において開催した。今年度は大阪府、大阪市、堺市、神戸市、京都市、奈良市、東京都、愛知県の行政結核担当者、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。