

研究分担報告書

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

分担研究者

前田 伸司 結核予防会結核研究所 抗酸菌レファレンス部  
結核菌情報科 科長

研究要旨

昨年の研究で自動 DNA シークエンサーとフラグメント解析用ソフトである GeneMapper を用いた結核菌反復配列多型 (VNTR) 解析システムを作成した。このシステムは、日本国内で型別法として利用できる 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 の系である。このマルチプレックス PCR 法により、反応チューブ数の削減、反応液調製段階における省力化が可能となり、時間短縮および試薬量の削減ができた。本年は、JATA(12)-VNTR だけではなく VNTR 法の識別能を上昇させるために、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。このシステムを利用することで、24 ローサイの VNTR 解析が 6 反応液 (チューブ) で可能となった。つまり、96 ウェル用のサーマルサイクラーで一度に 16 検体分析できる。

A. 研究の目的

全国から集めた結核菌を用いて、日本国内での結核菌標準反復配列多型 (VNTR) 分析法である Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA) (12) - VNTR を構築した。その後、人口ベースの結核菌分子疫学調査のために、JATA (12) システムを改良した JATA (15) -VNTR システムを構築し、有用性を報告している。前年の研究で、この 15 ローサイに対応したフラグメント解析のシステムを作成したが、本年は、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行った。

このような VNTR 分析システムを構築することにより、本型別法の普及が一層進むと考えられる。また、自動シークエンサーを用いたフラグメント解析の系を利用することで、PCR のマルチプレックス化と PCR 産物の分子量からコピー数への換算を迅速・簡便化できるシステムとなる (図 1)。

1)。

B. 研究方法

・蛍光標識プライマー:本フラグメント解析では、マーカーとして LIZ 及び FAM、VIC、NED、PET の 4 色の合計 5 色同時分析可能である。各蛍光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 の条件:PCR のための反応液の調製は、結核菌 DNA(1~10 ng)、各ローカスの 0.2 uM Forward (蛍光標識) と 0.2 uM Reverse プライマーを 4 種類混合し、GC I 緩衝液 (タカラバイオ)、0.2 mM dNTPs、Ex Taq (タカラバイオ) を加えて全容量

を 10 ul とした。この反応液をサーマルサイクラーにかけ、94℃で 5 分間加熱し、94℃ 30 秒、65℃ 30 秒、72℃ 1 分 30 秒のサイクルを 35 回繰り返して、72℃で 7 分処理し、その後 4℃とした。

・フラグメント解析：PCR 後の検体は滅菌蒸留水で 35 倍希釈したものを 1ul 取り、1200 LIZ マーカーと混合して Hi-Di Formamide 溶液で希釈した。この反応液を Applied Biosystems 3130 ジェネティックアナライザーで分析し、GeneMapper で解析を行った。

### C. 結果

#### 1) 自動シークエンサーを用いたフラグメント解析

マルチプレックス PCR 分析を行うための組合せについて検討した。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として LIZ、他に 4 色蛍光の同時分析が可能なので、4 ローサイの分析を行う JATA プライマーの組合せを検討した。前年の研究で SET1：VNTR0424(JATA01), MIRU-10(JATA02), VNTR2074(JATA04), MIRU-26(JATA07) ; SET2：VNTR1955(JATA03), VNTR2163b(JATA05), VNTR2372(JATA06), VNTR3155(JATA08) ; SET3：MIRU-31(JATA09), VNTR3336(JATA10), VNTR4052(JATA11), VNTR4156(JATA12) ; SET4：VNTR1982(JATA13), VNTR2163a(JATA14), ETR-A(JATA15), VNTR4120(JATA16)となっているので、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 (図 2)。ハイパーバリアブルの VNTR3232, 3820 以外のローサイではピークが高かったことから、プライマー濃度は通常の半分量 (0.1uM) としてピークの平均化を行った。

実際に結核菌の型別に利用したところ問題なく各ピークが検出され GeneMapper でコピー数への換算も可能だった。

#### 2) マイクロチップ電気泳動装置マルチナ (島津製作所) 用解析プログラム

キャピラリー電気泳動装置やマイクロチップ電気泳動装置を使用して VNTR 分析を行った場合、得られた PCR 産物の分子量から換算表を使ってコピー数へ換算が必須である。この目的のために昨年開発した解析用プログラムを、使い易く修正するために問題点を明らかにした。これらを踏まえて“結核菌株判別ソフトウェア (オプション機能版)”を作成した。

### D. 考察

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。通常、サーマルサイクラーでは 96 検体同時に増幅することができる。1 株 24 チューブ必要なら 1 度に 4 検体しか扱えないが、1 株 6 チューブなら 16 検体を同時に処理できる。この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。また、解析プログラムである GeneMapper で、あらかじめ各コピー数で得られる PCR 産物の位置をローカス毎に設定しておくことで、コピー数への換算が正確にできる解析システムとなった。高価な自動 DNA シークエンサーの利用ということが前提になるが、本システムの導入により、精度の高い型別が可能となった。また、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、集団感染か否かの判定の判別等に利用できる JATA(12)-VNTR なら SET1 から SET3、人口ベースの結核菌全数分析に利用できる JATA(16)-VNTR なら SET1 から SET4 で対応できる。さらに、識別能が必要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。

また、キャピラリー電気泳動やマイクロチップ

電泳装置での分析結果の解析に利用できるプログラムを修正することで、PCR産物の分子量からコピー数への換算が、さらに迅速・正確にできるようになった。

## E. 結論

4ローサイ混合によるマルチプレックスPCRにより、反応チューブ数の削減（1検体あたり24本から6本へ）、反応液調製の省力化や時間短縮および試薬量の削減が可能となった。DNAシーケンサーは、ランニングコストやプライマーの準備等で費用がかかる。しかし、PCR産物を希釈してセットするだけで分析可能で、再現性や解析精度が高く有用なシステムである。そのため、本システムは今後、国内型別データの比較等に利用できると考えられる。また、シーケンサーを用いない電気泳動システムにおいても開発・修正した解析プログラムを用いることで、各ローカスの分析結果からコピー数への換算も非常に容易になった。

## F. 健康危惧情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- (1) Morimoto K, Kazumi Y, Maeda S, Yoshimori K, Yoshiyama T, Ogata H, Kurashima A, Kudoh S. *Mycobacterium heckeshornense* lung infection that was diagnosed as *Mycobacterium xenopi* disease by DNA-DNA hybridization (DDH). Intern Med. 2011; 50: 1251-1253.
- (2) Sekiguchi J, Disratthakit A, Maeda S, Doi N. Characteristic resistance mechanism of *Mycobacterium tuberculosis* to DC-159a, a new respiratory quinolone. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55(8):3958-60.
- (3) Hibiya K, Tateyama M, Teruya H, Nakamura H, Tasato D, Kazumi Y, Hirayasu T, Tamaki Y, Haranaga S, Higa F, Maeda S, Fujita J. Immunopathological characteristics of immune reconstitution inflammatory syndrome caused by *Mycobacterium parascrofulaceum* infection in a patient with AIDS. Pathol Res Pract.

2011; 207: 262-270.

- (4) 和田崇之、前田伸司：ゲノム配列にもとづく結核菌群の発生と進化の理解 特集結核菌と結核を巡る新たな知見. 化学療法の領域 2011, 27: 1425-1431.

### 2. 学会発表

- (1) 和田崇之、岩本朋忠、長谷篤、前田伸司：高齢者結核患者から高頻度に分離される結核菌株群の集団特性と遺伝学的特徴. 第86回日本結核病学会総会. 2011年6月, 東京.
- (2) 村瀬良朗、伊藤邦彦、吉山崇、大角晃弘、前田伸司：再燃・再感染発病の分子疫学. 第86回日本結核病学会総会. 2011年6月, 東京.
- (3) 藤原永年、合田麗奈、佐藤明正、矢野郁也、前田伸司：臨床分離MAC菌の血清型特異糖ペプチド脂質抗原の分布と新規構造. 第86回日本結核病学会総会. 2011年6月, 東京.
- (4) 前田伸司、土井教生：新世代レスピラトリーキノロンDC-159a –(1) 結核菌におけるDC-159aの薬剤耐性機序–. 第86回日本結核病学会総会. 2011年6月, 東京.
- (5) 前田伸司：日本、中国、韓国及び台湾との結核菌型別分析に関する共同研究 学会シンポジウム 結核対策における国際貢献 –東アジアとの連携–. 第86回日本結核病学会総会. 2011年6月, 東京.
- (6) 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
- (7) Takayuki Wada, Tomotada Iwamoto, Atsushi Hase, Shinji Maeda : Characterization of genomic specificity and diversity observed in *Mycobacterium tuberculosis* in far-eastern Asia. 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, Robelt 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) Shota Ogawa, Takemasa Takii, Ryuji Yamamoto, Yasuhiro Horita, Natsuki Hanamura, Kenji Ogawa, Tetsuya Yagi, Naoya Ohara, Yoshitaka Goto, Nagatoshi Fujiwara, Shinji Maeda : Production of ammonia by *Mycobacterium avium* in acidic condition: International Union of Microbiological Societies (IUMS) 2011 Congress. Sep. 2011; Sapporo, Japan

(10) Isamu Matsunaga, Shinji Maeda, Noboru Nakata, Takashi Naka, Nagatoshi Fujiwara, Masahiko Sugita : Biosynthesis of mycoketide and the related compounds in mycobacteria: International Union of Microbiological Societies (IUMS) 2011 Congress. Sep. 2011; Sapporo, Japan

(11) Masahiko Kai, Hiroyuki Yamada, Nagatoshi Fujiwara, Shinji Maeda, Yuji Miyamoto, Tetsu Mukai, Noboru Nakata, Yumi Maeda, Ikuya Yano, Masahiko Makino : Establishment and characterization of knockout mutants of *Mycobacterium bovis* BCG gene involved in mycolic acid synthesis pathway: International Union of Microbiological Societies (IUMS) 2011 Congress. Sep. 2011; Sapporo, Japan

(12) Takashi Naka, Shinji Maeda, Reina Yamamoto, Mamiko Niki, Naoya Ohara, Ikuya Yano, Saburo Yamamoto, Jun-ichi Maeyama, Hisashi Ogura, Nagatoshi Fujiwara : Comparative phenotypes in two subpopulations of bacillus Calmette-Guerin (BCG) Tokyo 172 substrain: International Union of Microbiological Societies (IUMS) 2011 Congress. Sep. 2011; Sapporo, Japan

(13) 和田崇之、岩本朋忠、長谷篤、前田伸司 : ゲノム比較に基づいた結核菌臨床分離株の遺伝的多様性包囲網の構築. 第85回 日本細菌学会総会. 2012年3月, 長崎.

(14) 中崇、前田伸司、柴田満、水野淨子、藤原永年 : 臨床分離MAC菌の新規血清型特異糖ペプチド脂質抗原と宿主応答. 第85回 日本細菌学会総会. 2012年3月, 長崎.

(15) 岩本朋忠、和田崇之、前田伸司 : 結核菌分子疫学解析からのデータマイニングを目指したゲノ

ム解析. 第85回 日本細菌学会総会. 2012年3月, 長崎.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

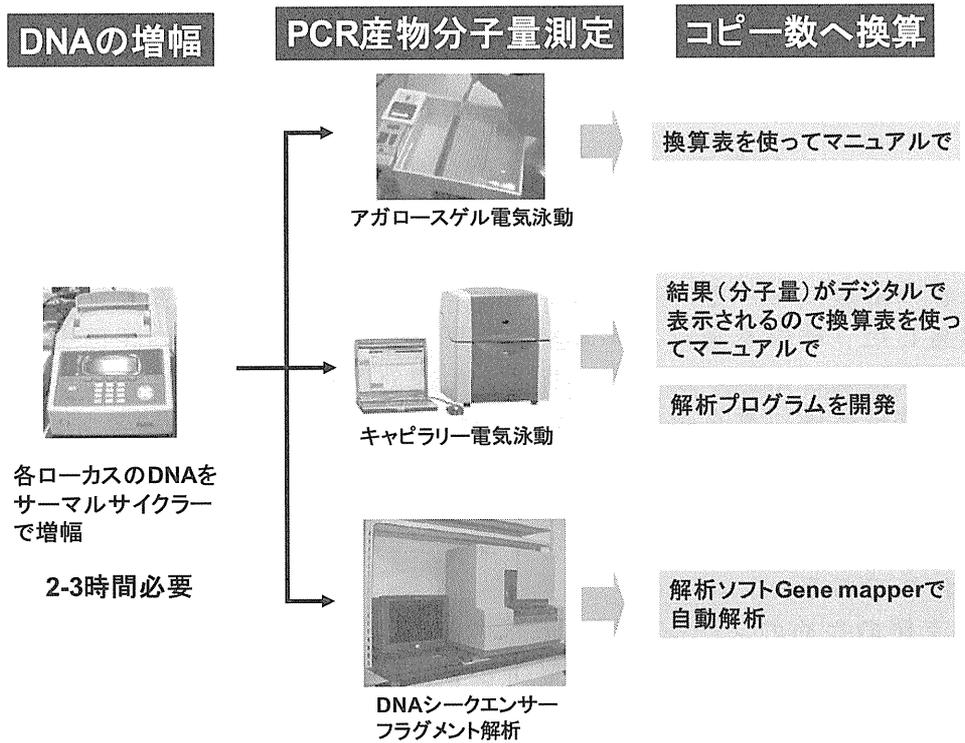


図 1 . 結核菌の VNTR 解析

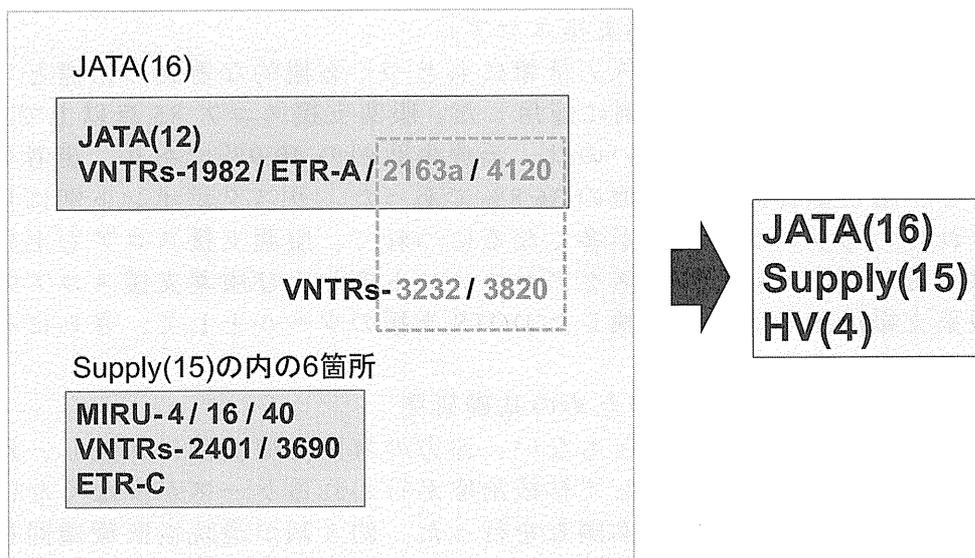


図 2 . 構築した 24 ローサイの VNTR システム

厚生労働科学研究補助金新型インフルエンザ等新・再興感染症研究事業  
研究分担報告書  
日本版 DOTS の技術強化

研究分担者

小林典子 結核予防会結核研究所 対策支援部長

研究主旨

結核患者の治療における日本版 DOTS を良質、にかつ広範に普及させる方法として我々が開発した「結核看護システム」を活用して看護サービスの評価を行い、そのなかで結核治療の成否指標のひとつとして、治療終了後の再発を検討した。国の新システムは治療成績評価に重点を置いているのに対して、「結核看護システム」では患者支援と治療成績の関連を見ることを重視している点で、現場では両者が相補う関係にある。これによって医療機関と保健所による服薬支援を効果的にし、かつ相互の連携の強化および日本版 DOTS の技術強化を目指している。平成 23 年度の研究成果の概要は以下のとおりである。

① DOTS 支援のためのツール活用の成果の分析

「結核看護システム」の情報の分析を通して、22 年の新登録者患者（潜在性結核感染症治療を含む）863 人のコホート分析を行った。

② リスク評価についての分析

結核看護システムの試行を通し、看護の視点のひとつである、服薬中断にかかわるリスク評価について検討した。リスク評価における「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 服薬支援の評価指標（服薬支援スコア）

「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。服薬支援スコア 85 点以上で最も支援が必要とされる者の割合が一番高いのは、治療失敗例の 40.9% であり、患者分類コード別にみると、喀痰塗抹陽性再治療の 36.8% であった。リスクポイント別に見ると、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。「結核看護システム」へのリスク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 支援のツールとして、さらに有用性を高めることになると考える。

④ 結核医療の地域連携強化のための基礎研究

結核専門医療機関の減少にともない、遠方の専門医療機関に入院し、退院後は自宅から近い一般医療機関へ転医して結核治療が行われるケースが少なくない。その実態を明らかにすることを目的に本調査を行った。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。医療機関の変更に際しては、緊密な地域連携が必要であり、重要な意義をもつと思われる。

⑤ DOTS 支援者育成教材の評価と活用

DOTS 支援者の DOTS に対する正しい理解と意識向上をねらいとして作成した「服薬支援の心づくり」（DVD 教材）の教育介入について、信頼性と妥当性が検証された「看護師の仕事意欲尺度」をアウトカムとして DVD 教育の効果と活用について検討した。DVD 教育介入の有無に関し有意な平均値の差が認められ、効果が検証できた。

## 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

「結核看護システム」(以下、本システム)(資料1)は結核治療における日本版 DOTS を良質に普及させる方法として開発した電算支援システムである。本システムは保健所・医療機関双方がそれぞれのモードで独立に使用でき、必要に応じて相互の情報の交換ができるシステムである。また、ひとりの患者の治療経過を入院中・外来治療中を通して一画面で一貫して捉えることができ、治療開始時期から月毎の「菌検査情報」「使用抗結核薬」「副作用」「服薬情報」および「DOTS タイプ」を、関連項目として「薬剤耐性の有無」「合併症」や看護の視点から「DOTS-Partners」「服薬支援計画」「リスク評価」を加え強化している。さらにコホート検討会やDOTSカンファレンスの資料や患者分類コード別・初回服薬情報別・服薬情報割合別コホート観察の3種類の集計表とそれに合せた図表が出力される。「結核看護システム」の試行を通して服薬支援の成果指標を確立するとともに、DOTSおよび患者支援体制全般の強化を目指している。

## B.研究方法

1)平成23年度は10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)リスク評価についての分析

看護の視点のひとつである、服薬中断にかかわるリスク評価について、①結核看護システム試行に参加した12区市34保健所のリスク評価の成績の分析、②その他の区市を含む30区市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、の4つの分析を行った。

3)服薬支援の評価指標(服薬支援スコア)

「結核看護システム」の入力情報から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

平成22年度ワークショップに参加した自治体の平成21年の新登録患者について、登録者の記録から、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。調査内容は、性・年齢、医療機関名、「治療開始時」・「退院後1か月以内」・「治療終了前の1か月間」の時点での医療機関種別、受療状況、結核医療体制、標榜科目、通院所要時間である。

5)DVDを用いたDOTS支援者育成の教育効果の評価と活用

看護師の「仕事意欲尺度」を用いた介入研究を結核研究所対策支援部保健看護学科の研修対象者75名に行った。

6)服薬支援看護ワークショップを2回開催し、「結核看護システム」の概要と評価指標、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。

7)参加区市および代表者(研究協力者)は以下のとおりであった。

小沼弘美・片見真由美(茨城県)、仲田有梨(石川県)、三角浩子(板橋区)、高野智子(熊本県)、村上寿子(山形県)、魚住有希子(船橋市)、水尻節子(神戸市)、窪田陽子・岡ひとみ(岡山市)、一色ミユキ(栃木県)、横井敏之(群馬県)、大友里華(前橋市)、土屋 茜(堺市)、辛寫淳子(大分県)

島村珠枝(東京大学大学院医学系研究科健康科学・看護学専攻地域看護学分野)、濱口由子(東京大学大学院公衆衛生学研究科公衆衛生学専攻専門職学位課程)

〔倫理面の配慮〕

結核登録者や医療機関への介入、個人情報の扱いについては、研究遂行の上で、日常業務の範囲を超える事態は発生しないが、細心の注意を払った。

## C.研究成果

1)結果

平成23年度は平成22年の新登録患者について10自治体25保健所(資料2)で本システムを利用してコホート検討会や医療機関還元の資料作成などを行った。

#### i) 治療成績の評価

平成 22 年の新登録者総数（潜在性結核感染症；以下 LTBI 含む）863 人に対して登録時総合患者分類コード別のコホート観察の結果を示す（資料 3）。菌が陰性の場合や肺外結核、LTBI の場合はコホート観察での治療成績判定は必ずしも妥当なものが確立されているとは言えないが、ここでは判定が明確な「治療中断」について見ることを主眼として、他は便宜的な判定を行った。その結果、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。また、肺外結核 119 人の結果は、「治療成功」82.5%（「治癒」17.6%、「治療完了」24.4%、「その他」37.0%）、「死亡」9.7%（「結核死亡」5.9%、「結核外死亡」10.9%）、「治療失敗」0.8%、「脱落中断」1.7%、「不明」1.7%、LTBI 治療 46 人の結果は「治療成功」93.5%（「その他」93.5%）、「脱落中断」6.5%であった。

DOTS の内容に関する分析は以下のように新登録者総数（LTBI 含む）863 人を対象とした。効果的な服薬支援の指標として DOTS タイプ別の治療成功率（資料 4）をみると「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。

保健所の DOTS（入院中院内 DOTS＋外来治療中地域 DOTS）の割合別にみた治療成功率（資料 5）では、DOTS タイプ（入院中院内 DOTS＋外来治療中地域 DOTS）の判定期間内 2/3 以上では 94.7%（464/490）、2/3 未満は 59.0%（220/373）であった。職業別治療成功率（資料 6）で低いのは「無職、その他」71.8%（376/524）、「接客業」83.3%（20/24）であった。性・年齢別治療成功率（資料 7）が低かったのは「90 歳以上、男性」51.4%、「80 歳代、男性」64.4%であった。

リスク評価（資料 8）について、「リスク要因あり」の患者が 85.6%おり、リスク要因有無別に治療成功率をみると「あり」80.5%（595/739）、「なし」71.8%（89/124）であった。合併症「あり」の者が 51.4%いたが、治療成功率（資料 9）では「合併症あり」75.5%（335/444）、「同なし」83.3%（349/419）であった。さまざまな服薬支援計画（資料 10）の対象になった患者は全体の 57.8%であっ

たが、その有無別に治療成功率をみると「あり」87.2%、「なし」68.4%であった。またなんらかの服薬支援者（資料 11）が指定されていた患者は 90.2%あったが、かれらの治療成功率は「あり」82.5%であるのに対し、指定されていない患者では 52.2%であった。

#### 2) リスク評価のためのアセスメント票の分析

①「結核看護システム」の試行に参加した平成 19 年～21 年（12 区市 34 保健所）の新登録者総数 2761 人のうち、なん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。リスク要因有無別の治療成績（資料 12）をみると、治癒・治療完了・その他を併せた治療成功は「何らかのリスク要因あり」が 77%、「リスク要因が全くなし」は 79%で、両群の差はみられない。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、成功率は 47.1%であった。患者のリスク要因の有無別に DOTS 実施状況を見てみると、判定期間内における「院内 DOTS・地域 DOTS」の実施割合、3 分の 2 以上は、リスク要因ありの方が 56%とリスクなし 40%に比べて高い傾向がみられた。

②その他の区市を含む合計 30 区市 62 保健所のリスクアセスメント票の分析

30 区市からご協力いただいた 62 保健所のリスクアセスメント票 1216 件を見てみると、「あり」の件数が多かった要因は、順に「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。「治療の理解」に関する内容では、病気の受容・治療の理解など様々だった。「生活・就労・経済不安定」には、生保受給・経済的な問題・等が含まれていた。

リスクアセスメント票によるリスク点数は、客観的指標として、その合計で地域 DOTS のタイプを決める資料として保健所で用いられている。最大の 10 点のケースは「地域 DOTS A」に割付されているが、そのように評定される項目は、「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。保健所による評点数のばらつき幅が一番大きかったのは、「治療の理解・受容」に関する内容であった（資料 13）。

③各リスク項目に対する担当看護職の意識調査

①示した結核看護システムのリスク評価項目を

改編し、結果②の 62 保健所で使用されていたリスク要因項目と同じ 28 項目とし、それぞれについて結核研究所の研修受講生保健師・看護師が、リスクとしてどの程度重要性を感じるかを評点してもらった（資料 14）。「大いにそう思う」4 点、「そう思う」3 点、「そう思わない」2 点、「全く思わない」1 点とした。

保健師・看護師総数の平均（資料 15）をみると、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・精神障害」「治療の理解」が続いた。看護師、保健師別に分けてみると、看護師では治療開始から入院中の患者を意識しているのに対し、保健師は患者の退院の時点、つまり治療がある程度経過した時点のリスクを重視することからか、保健師では「通院困難」、「仕事に関連する項目」などのような項目で高い評点となっていた。

#### ④リスクアセスメント票のコア・コンピタンス分析

リスク要因について、分析者の主観を可能な限り排除するために、経営学で用いられているコア・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（資料 16）。③で得られた保健師・看護師 200 名以上が重要と思う項目を平均化して「リスクに対する価値」として 10 段階にした。この評点に自治体ごとの独自のアセスメント票の点数に乗じたときに、効率よく配点できるよう補正をかけて総合評価とした。

総合評価の分布図（資料 17）を見てみると、最小が 81、最大が 691 であった。保健所毎に独自のアセスメント票を使用している X 県の例をとってみても、各項目に点数による重みづけがちがっていることで保健所ごとのリスク評価にばらつきがみられた。このことより、保健所ごとに用いるアセスメント票に重みづけがされることで大きな違いが生じれば、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なり、危険であることがわかった。

以上①②③④の分析結果から、リスクアセスメント票の基本項目案を出した。治療成功率と密接に関係する項目、経験に基づいて重要性が高いと認識されている項目なども踏まえ、病気の特異性、その他の患者の状態・情報、社会的背景の 3 つカテゴリに分類した。重み付けせずに単純にリス

クの数をカウントすることで、疾患の特異性に集中しているのか、患者の状態や社会的背景にも重なっているのかにより、治療完遂するための最善の支援方法を検討する指標としての可能性が考えられる。「結核看護システム」で従来設定している 18 項目に加えて 25 項目として追加搭載した（資料 18）。

#### 3) 服薬支援の評価指標（服薬支援スコア）

新たな服薬支援の客観的な評価指標を設定するために、平成 19 年～21 年の 3 年間に報告された患者情報（2,761 人分）について分析を行った。「結核看護システム」では、院内 DOTS ありと、地域 DOTS (Daily, Weekly, Monthly) を合わせて「DOTS あり」、それ以外を「DOTS なし」として、集計上の分析をしてきたが、今回は、どのような地域 DOTS がおこなわれているかを加味した分析を行った。治療結果のコホート分析の判定期間内の地域 DOTS において複数の DOTS タイプが混在している場合は、服薬支援の頻度の多いコードで計算する。この集計表（資料 19）における表側の「その他」は、コホートの判定期間中ずっと入院していた者、DOTS タイプが不明もしくは未入力の場合である。

その結果 DOTS タイプの分布は「地域 DOTS (Daily)」1.2%、「同 (Weekly)」6.5%、「同 (Monthly)」60.8%、「その他」29.4%であった。次に、服薬支援スコアを算出した。「服薬支援スコア」(資料 20) とは、「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、にそれぞれについて、最も望ましいレベルを 5、最も劣るレベルを 1、不明を 0 として個々の患者について月ごとに評点し、4 項目について点数を合算し、その値に 5 を乗じて最高点が 100 点になるようにしたものである。入力されている月毎に算出し、その平均値を最終的に服薬支援スコアとした。保健所の全患者のスコアを平均すれば保健所平均服薬支援スコアが得られる。全患者の服薬支援スコアの分布を見ると、50 点以下は 14.2%、51～84 点は 59.4%、85 点以上は 21.6%であった（資料 21）。未入力の 8.9%は、判定期間内の服薬確認関連項目が未入力なケースであった。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」でスコアの高い者が多いのは、それが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。

同様に服薬支援スコアが85点以上の者の占める割合を、患者分類コード別(資料22)にみると、喀痰塗抹陽性初回治療32.8%、再治療36.8%、その他の菌陽性7.6%、菌陰性5.6%、肺外結核4.6%、潜在性結核0%であった。

「結核看護システム」では、「リスク評価」として再発、生活就労不安定など15個のチェック項目を用意している(資料23)。リスクの内容に関わらず「いくつリスクがあるか?」という考え方で、チェックされているリスクを数えて、リスクポイントとした。

リスクポイント別に服薬支援スコア85点以上の占める割合をみると(資料24)、「リスクなし」は11.3%、「リスク1~3個」は24.9%、「4~6個」は56.3%、「7~9個」は100%であり、チェックされているリスクが多くなるにつれて、服薬支援スコアも上昇していた。

服薬支援スコアの活用については資料25に示した。

#### 4) 結核医療の地域連携強化のための基礎調査

協力保健所は13自治体59保健所(資料26)、既存の記録から調査票(資料27)に記入してもらった。対象は平成21年新登録患者総数の2806人(男58.9%、女38.3%、不明2.9%、70歳以上が約6割)、そのうち治療開始時入院患者は1530人、外来患者は1242人、放置・行方不明3人、死亡後登録29人、その他31人(未治療転出1人、治療なし死亡1人)であった。

資料29に示した通り、入院患者1530人はその後死亡退院299人(19.5%)、転出16人、自己退院1人、転症1人の計318人を除く1212人が退院して外来で治療を継続したが、「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(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。

転医した患者の入院時と退院時の医療機関の状況

について保健所のタイプ別(県型、都市型)に比較した。

入院時の「医療機関の種別(資料30)」「結核医療体制(資料31)」「標榜科目(資料32)」では、保健所タイプ別に差がなかった。しかし「所要時間(資料33)」では、「2時間以上」で県型14.9%、都市型0%と違いが見られた。退院後の「医療機関の種別」「結核医療体制」では差が見られなかったが、「標榜科目」では県型で「呼吸器科あり」が多く、都市型では少ない傾向であった。また「通院の所要時間」が「30分未満」が県型73.2%、都市型47.5%、「30~60分未満」が県型18.9%、都市型35%であった。

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。

#### 5) DOTS 支援者育成教材の評価と活用

評価に用いた質問票「仕事意欲尺度」(資料34)は、佐野らによって看護師などの医療従事者向けに開発された全15項目の質問票で、「現在の仕事に向ける意欲」と「将来的な仕事に向ける意欲」の2つの下位尺度で構成されており、既にこのスケールの信頼性と妥当性について報告されている。本研究の実施にあたり、結核研究所内倫理審査委員会の承認を得たうえで書面にて説明の上、同意が得られたものを対象とした。研修対象者に対し、DVDによる教育介入(以下DVD教育とする)の無作為割り付けを行い、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。

分析は対象者の属性で調整したうえで、2群間の相違について以下の3つのモデルを用いて共分散分析をおこなった。Model1:

Crude model (無調整)、Model2: Baseline adjusted model (ベースライン値による調整)、Model3: Multivariate adjusted model (ベースライン値・性別・年齢・職業・職場を共変量とした多変量調整)とした。スコアの要約統計量を資料35に示した。介入群と非介入群のPre-testとPost-testのスコア差について、両群での平均値の差と比較した結果、いずれのModelについても有意差が認められた( $p < 0.001$ ) (資料36)。

ゆえに、DVD教育介入の有無の2群の間には有

意な平均値の差が認められた。従って、DVD 教育効果が検証できたと考える。

6) 23 年度服薬支援看護ワークショップを 2 回実施した。第 1 回目は 23 年 8 月 5 日開催し、「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」を掲載するため、バージョンアップを行った。第 2 回目は 24 年 3 月 26 日に実施し平成 22 年集計結果報告、「結核看護システム」を活用したコホート検討会の具体的な実施状況について意見交換を行った。

#### D. 考察

1) 国のシステム(結核登録者情報システム)の治療情報は治療成績評価に重点を置いているのに対して、「結核看護システム」では患者支援と治療成績の関連を見ることを重視している点で、現場では両者が相補う関係にある。特に「結核看護システム」は、入力項目を、患者支援を遂行する上での必要最小限にしており、入力作業の簡略化を図りながら、入力をしやすくする事で情報の精度管理につながっている。「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) リスク要因評価についての分析

ここでいう「リスク要因」は、規則的内服の継続性を阻む要因及び再発に関連する要因として捉えた。より具体的には、今回分析した保健所で使用されているリスク評価で「病気・治療の理解」にウェイトが置かれていた。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、危険であることが確認された。

本システムでは、評価リスク要因を 18 項目から 25 項目に増やし、3 群に分類したリスクアセスメント票を掲載した。リスク評価はすでに各自治体で DOTS タイプを決める根拠として独自のものが用いられている。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) 服薬支援の評価指標 (服薬支援スコア)

月々の服薬情報と DOTS タイプを組み合わせた服薬支援の評価指標 (服薬支援スコア) を本システムに搭載した。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研究

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。退院後は呼吸器科以外の医療機関に通院するのは、都市型の保健所の患者に多い傾向がみられた。通院所要時間では、入院時の「2 時間以上」が激減し、退院後は「30 分未満」が増加していた。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。

##### 5) 服薬支援者の教材

服薬支援者の育成はこれまで各自治体で独自で取り組まれているが、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。特に DOTS が単なる服薬の確認のみの活動とならないよう、患者支援という目的を明確に伝える教材への期待は高い。今回視聴覚媒体(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。今後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の開催

現行の国の結核サーベイランスシステムに対する「結核看護システム」からの提言案は、DOTS の強化を図り、検索等の付加的機能も充実させた、より使いやすいツールを目指した工夫の集大成である。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。効果的なコホート検討会の開催について今後も経験を共有し、このシステムを発展させていく必要性が確認された。

## E. 結論

「結核看護システム」を活用し、コホート分析をひとつの指標として看護サービスの評価・分析を検討した。結核患者の治療における日本版 DOTS を良質にかつ広範に普及させる方法として「結核看護システム」自体は一つのツールに過ぎないが、具体的な支援の媒体として、現場の職員に対し DOTS という服薬支援活動に対する意識や知識を深めるための標準化された手法に十分なりうと思われる。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 学会発表

- (1) 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 結核 86(3)：353 2011
- (2) 山内祐子、永田容子、小林典子、加藤誠也、森 亨：結核看護システム；II. 服薬支援の指標について 結核 86(3)：353 2011
- (3) 小林典子、永田容子、山内祐子、加藤誠也、森 亨：『結核看護システム』のこれから・・・ I：今後の取り組み 日本公衆衛生学会誌 58(10)：394 2011
- (4) 山内祐子、永田容子、小林典子、森 亨：『結核看護システム』のこれから・・・ II：国のサーベイランスシステムへの提言 日本公衆衛生学会誌 58(10)：394 2011
- (5) 永田容子、浦川美奈子、小林典子、山内祐子、森 亨：結核患者の医療機関連携に関する調査 日本公衆衛生学会誌 58(10)：395 2011

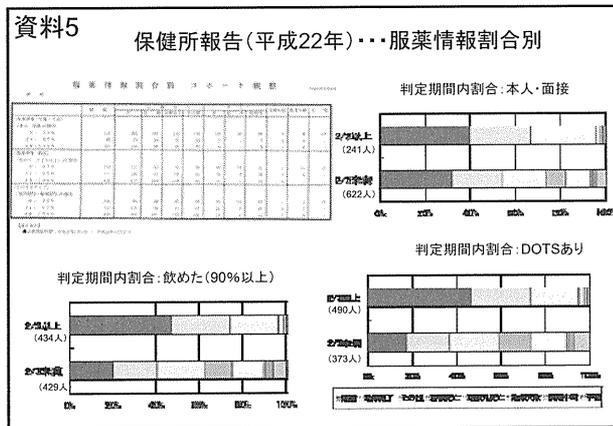
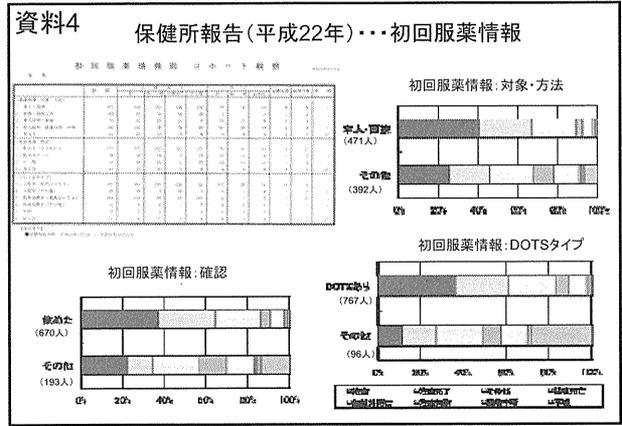
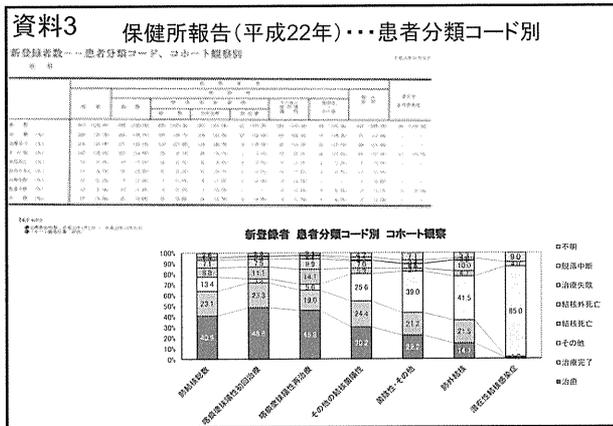
## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



### 資料2

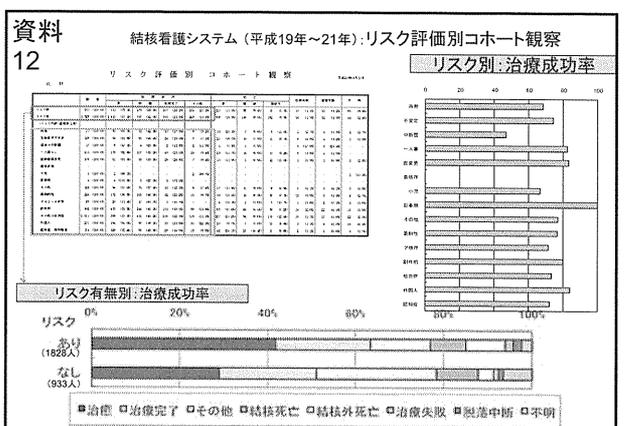
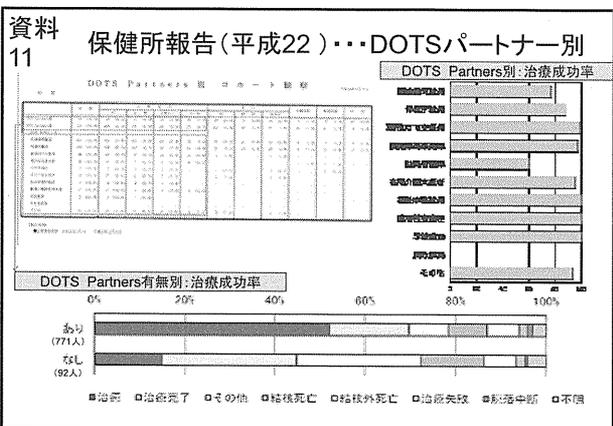
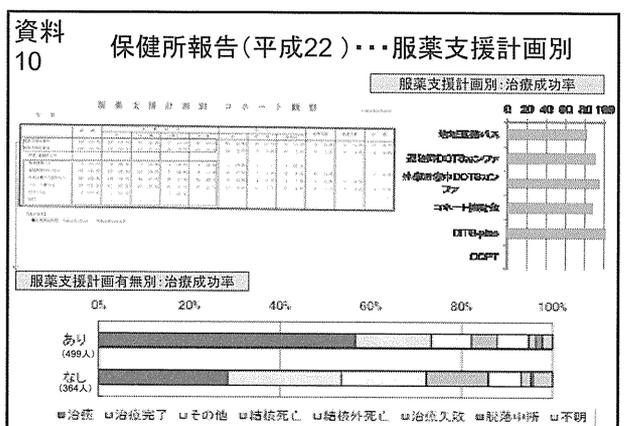
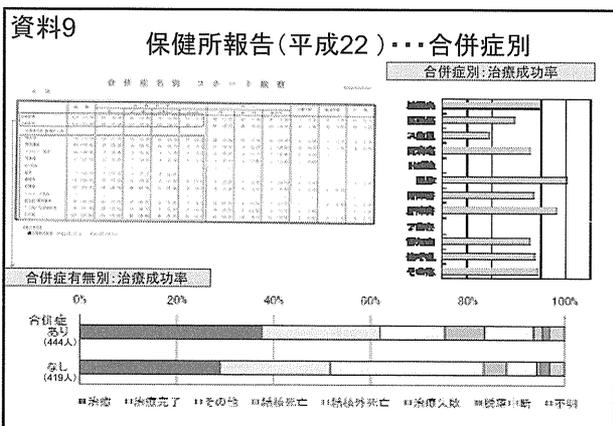
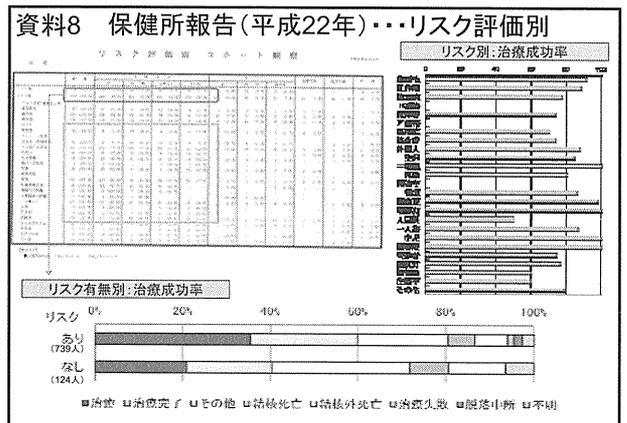
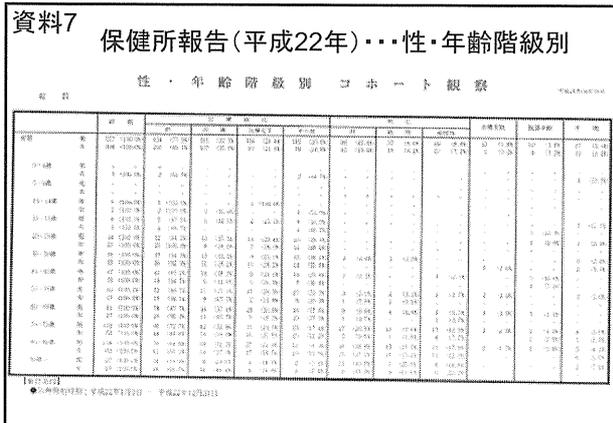
県	保健所	対象時期
		平成22年 1月1日~12月31日
東京	板橋区	
石川	南加賀、石川中央、能登北部、能登南部	
熊本	御船	
千葉	船橋市	
山形	村山、最上、置賜、庄内	
群馬	桐生、伊勢崎、館林、太田、藤岡、富岡、沼田	
大阪	前橋市	
岡山	岡山市	
大分	西部	

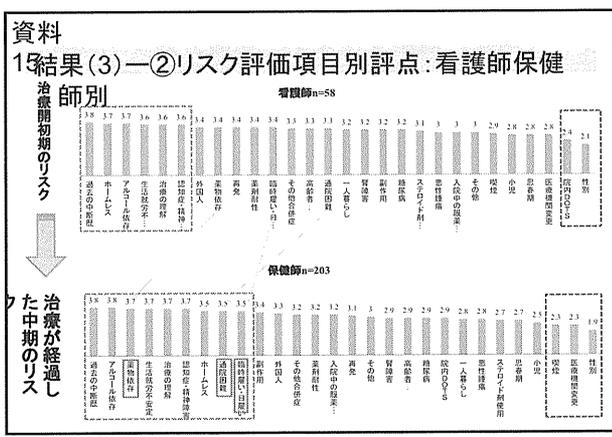
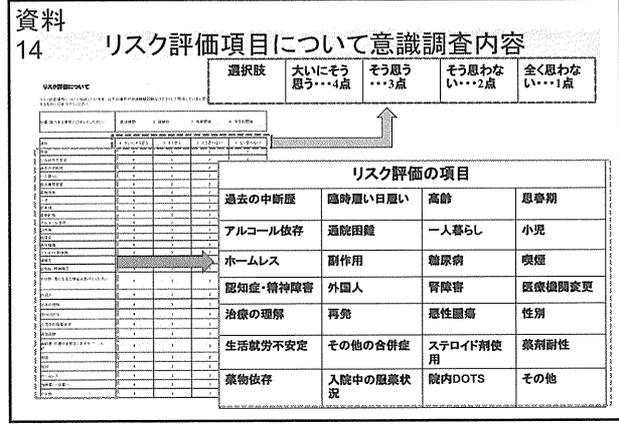


### 資料6 保健所報告(平成22年)・・・職業別

職業別 コホート観察

職業	人数
無職	46,139
専業主婦	13,106
専業主夫	1,012
主婦	1,143
小規模農林業	1,012
小規模漁業	1,012
小規模製造業	1,012
小規模卸売業	1,012
小規模小売業	1,012
小規模サービス業	1,012
小規模建設業	1,012
小規模運輸業	1,012
小規模情報業	1,012
小規模芸術文化	1,012
小規模スポーツ	1,012
小規模娯楽	1,012
小規模教育	1,012
小規模医療	1,012
小規模福祉	1,012
小規模公共	1,012
小規模その他	1,012

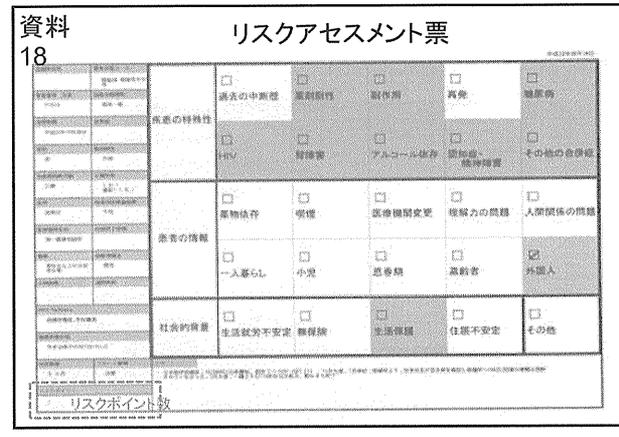
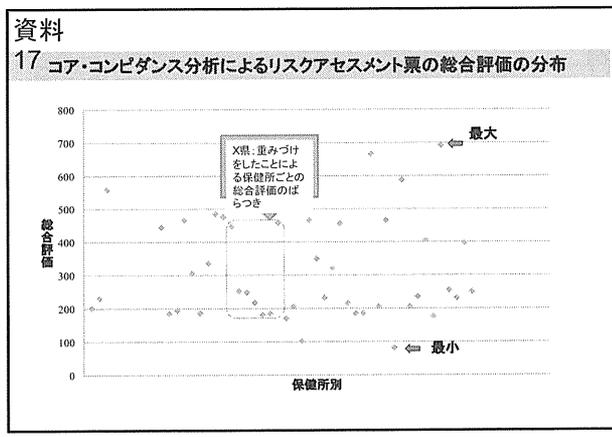


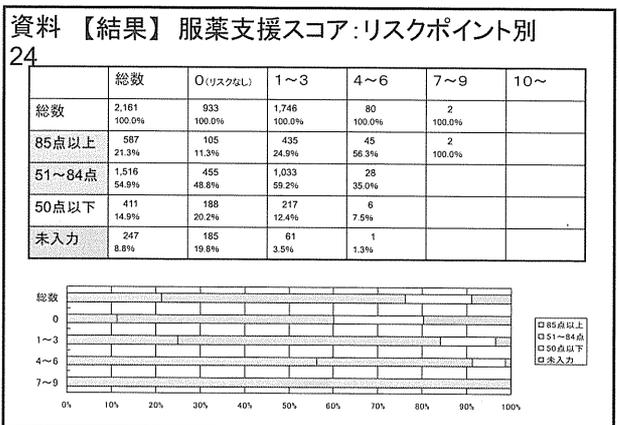
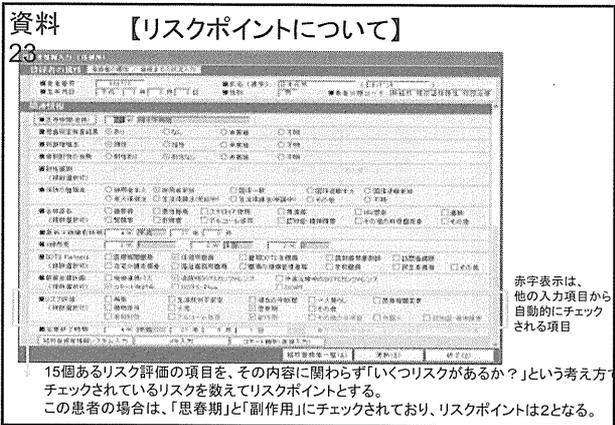
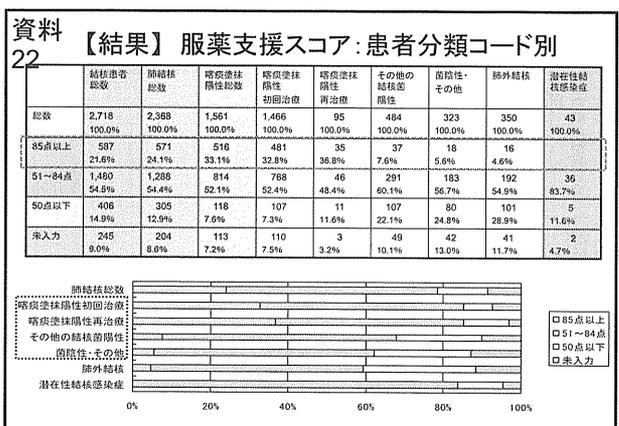
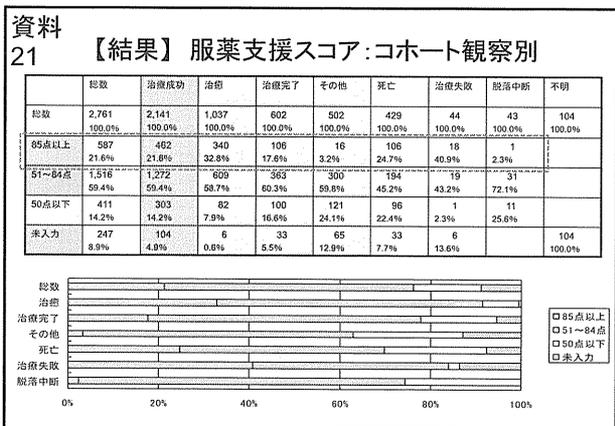
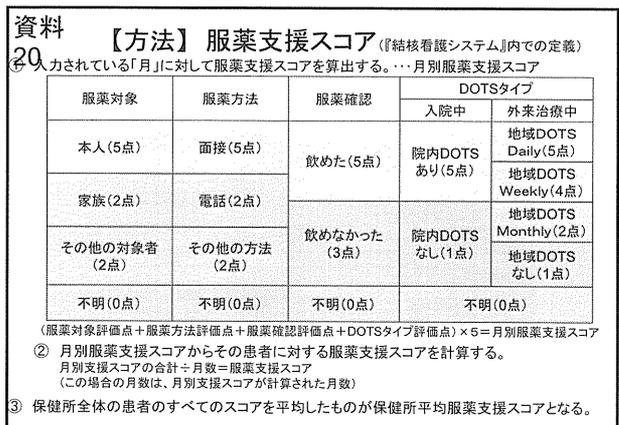
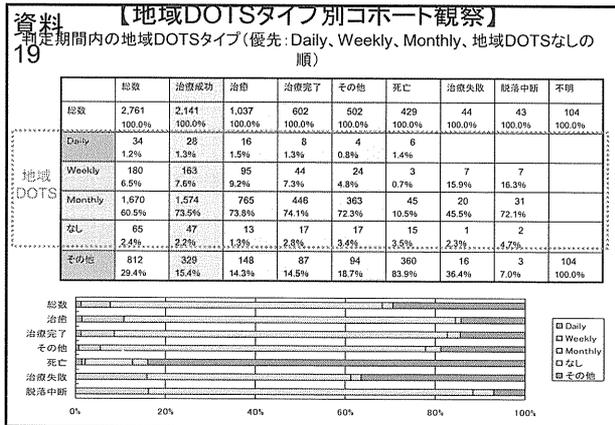


資料 16 看護職がリスクと認める「リスクに対する価値」

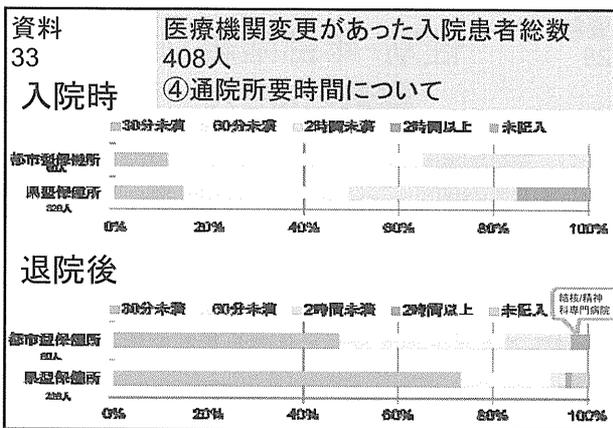
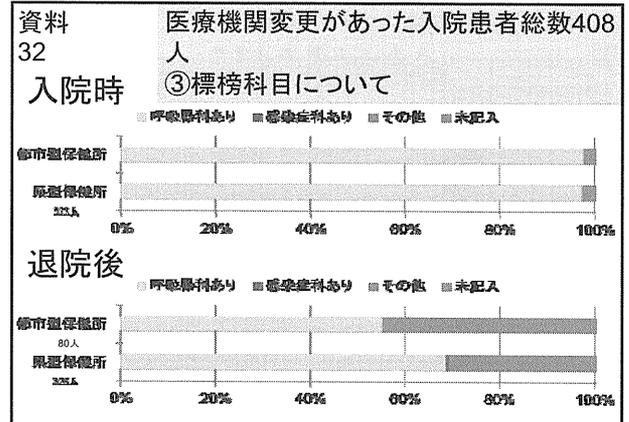
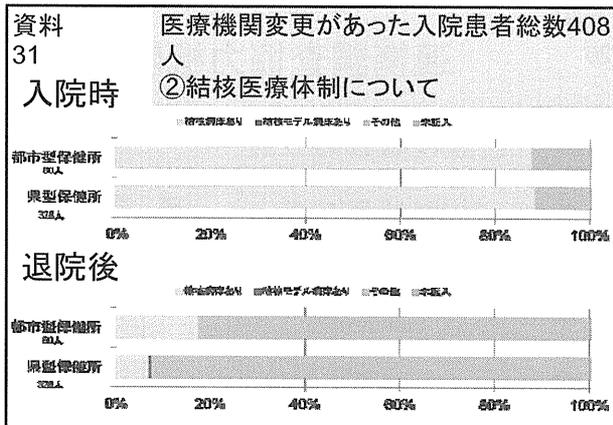
治療に関係する要因	項目	価値	A	B	C	併存疾患	W	X	Y	Z	
治療に関係する要因	再発	8	2	3	10			10	2	2	10
	結核治療中断	10	2	3	10			10	2	2	10
	薬剤耐性	9	1	2				1	1	1	1
	副作用の出現・理解	9	1	2	1			1	1	1	1
	合併症(急性低下と関連する疾患)	6	1	2	1			1	1	1	1
薬物・アルコール等の問題	薬物・アルコール依存・飲酒の問題	10	2	3	10			10	2	2	10
	精神依存・認知症・記憶力の低下・引きこもり	10	2	3	10			1	2	2	1
治療の理解	発見	10	1	3				1	1	1	2
	副作用	7									
	医療機関変更	6									
発見の遅れの要因	外国人・認知症・高齢者の問題	9	1					1	1	1	1
	発見	1									
病状に関する情報	診断時病状の病状	1		1							
	院内DOTSの状況	7	1	2	1			1	1	1	1
退院状況に関する情報	退院時または現在の状況	8	1	3				1	1	1	1
	外国人・認知症・高齢者の問題	9	1	3				1	1	1	1
家族の背景	要介護	9	2					2	2		
	単身	1	2	1				1	2	2	2
年齢・性別	年齢	1	1	2				1	1	1	2
	性別	7	1								
生活作業環境に関する情報	生活・就労・経済不安定	10	2	2	10			10	2	2	10
	職業背景	1									
合計		208	23	55				44	18	19	40

\* コア・コンピタンス分析(客観的な数値を用いて計測するための分析ツール)









資料 34 看護師の仕事意欲尺度

職業支援 (DOTS) に関する仕事についてありのままのお気持ちで該当する番号に○をつけてください  
ここでは「仕事は職業支援 (DOTS)」に限定します。

項目	いつも感じ る	時々 感じる	あまり感じ ない	全く感じ ない	
1. 独自の仕事に対するやりがいを感じる	5	4	3	2	1
2. 自分の技術は今の仕事を十分にこなすに不足している	5	4	3	2	1
3. 毎日の仕事に対する誇りを感じる	5	4	3	2	1
4. 今の仕事は得意のいくつものものである	5	4	3	2	1
5. 前年の担当する仕事に誇りを感じる	5	4	3	2	1
6. 自分の能力を発揮できる仕事である	5	4	3	2	1
7. 今の仕事は技術に富んでいる	5	4	3	2	1
8. 興味をもって仕事である	5	4	3	2	1
9. 今の仕事から充実感を感じる	5	4	3	2	1
10. この仕事を続けていきたい	5	4	3	2	1
11. 楽しい仕事と感じている	5	4	3	2	1
12. 更に高度な知識や技術を身につけたい	5	4	3	2	1
13. 仕事上かなり困難な問題があっても頑張ってやり遂げたい	5	4	3	2	1
14. 仕事に対して興味を喪失させたくない	5	4	3	2	1
15. 今の仕事は自己を成長させるものである	5	4	3	2	1

資料 35 対象の特性とスコア分布

Table1.Characteristics of Study Participants for Analysis

	Control	Education
Participant(n=72)	33	39
Women, No (%)	32(97.0)	36(92.3)
Age, No.(%)		
20-29	14(42.2)	14(35.9)
30-39	2(6.1)	5(12.8)
40-49	10(30.3)	13(32.3)
50-59	6(18.2)	7(18.0)
>60	1(3.0)	-
Experience of DOTS, No.(%)	29(87.9)	29(74.4)
Occupation, No.(%)		
Public Health Nurse	14(42.2)	14(35.9)
Nurse	18(54.6)	25(64.1)
Student	1(3.0)	-
Departure		
Public Health Administration	15(45.5)	13(32.5)
Hospital	14(42.4)	25(64.1)
Clinic	-	-
Health Agency	2(6.5)	1(2.6)
Baseline Score, mean(SD) [min, max]	50.5(8.3) [31, 70]	48.3(11.8) [15, 71]
Score after intervention, mean(SD) [min, max]	50.6(8.7) [33, 71]	51.7(12.9) [15, 74]
Score Difference from Baseline, mean(SD) [min, max]	0.1(2.4) [-9.5]	3.4(6.0) [-13, 22]

資料 36 両群のスコア差に関する相違

Table3.ANOVA of Score Difference

	Score Difference	95%Confidence Interval	P value
Model1. (Crude)	3.3	1.1 to 5.5	<0.001
Model2. (Baseline)	3.2	1.0 to 5.5	<0.001
Model3. (Multivariate)	3.2	0.9 to 5.6	<0.001

\*No significant interaction between intervention and baseline was observed for Model2 and Model3(P=0.718)

### Ⅲ 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
徳永 修	幅広い年齢で見られる代表的疾患 結核	ニューロペプタイド研究会	こどもの咳嗽診療ガイドブック	診断と治療社	東京	2011	49-52

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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	7	60-67	2011
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	7	108-114	2011