

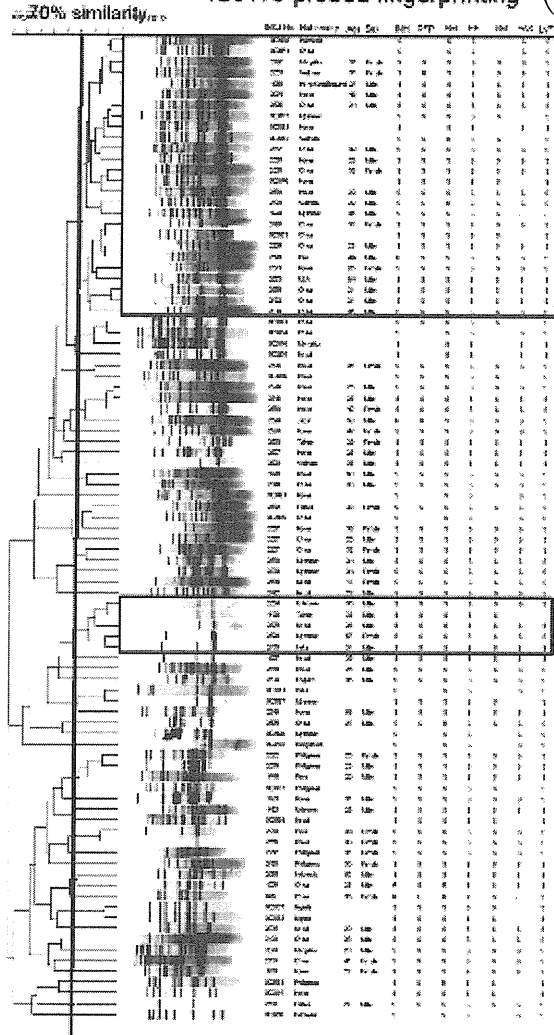
群)の平均年齢は62.8歳で、外国出生群が有意に若年であり、学生の割合が有意に多かった。外国出生群では塗抹陰性者、多剤耐性結核(MDR-TB)患者が有意に多かった。外国出生群と関連する要因を分析するために、年齢・性別・職業・糖尿病・発見方法・治療歴・喀痰塗抹・薬剤感受性を独立変数としてロジスティック回帰分析を実施したところ、年齢(30歳未満)、職業(学生)、喀痰塗抹(陰性)、薬剤感受性(MDR-TB)と有意な関連をみとめ、オッズ比はそれぞれ13.5、5.2、2.7、7.9であった。外国出生群では若年学生が多く、入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校における健診を強化する必要性を示唆していると考えられた。塗抹陰性者が多く診断に苦慮するケースもあると予想され、外国人結核に関する医療機関への啓発が重要であると思われた。MDR-TBが多く、治療脱落、転出者が多い傾向にあり、外国人

では最後まで治療を終えることができるよう支援していくことが重要であると考えられた。

(b) 大阪市にある32の日本語学校のうち、結核健診実施の希望があった11校において結核健診を実施した。日本出生の2名を除く1,081名の平均年齢は23.3歳、出身国は、中国577名(53.3%)、韓国299名(27.6%)、台湾80名(7.4%)、ベトナム71名(6.6%)であった。最終的に活動性結核と診断された者は5名(0.5%)であった。発病した5名は平均年齢26歳、範囲19~42歳で、出身国は、中国3名、韓国2名であった。母比率の検定を実施すると、日本語学校における健診は、高齢者を含む一般の健診と比較して有意に患者発見率が高かった。若年結核患者が多く発見される可能性の高い、日本語学校における外国人への健診は継続・拡大して実施する必要があると考えられた。

(A)

IS6110-probed fingerprinting (87株)



(B)

グループ I (26株, 29.9%)

IMCJ No.	Nationality	Age	Sex	INH	RFF	SM	EB	KM	PAS	LVFX
000889	Indonesia			S		S	S	S	S	S
000871	China			S		S	S	S	S	S
2452	Myndia	31	Female	S	S	S	S	S	S	S
2550	Vietnam	31	Female	S	R	S	S	S	S	S
1686	HongKong/England	21	Male	S	S	S	S	S	S	S
2574	Korea	46	Male	S	S	S	S	S	S	S
2528	China	24	Male	S	S	S	S	S	S	S
000937	Myanmar			S	S	S	S	S	S	S
000653	Korea			S	S	S	S	S	S	S
000412	Vietnam			S	S	R	S	S	S	S
2547	China	48	Male	S	S	S	S	S	S	S
2565	Korea	28	Male	S	S	S	S	S	S	S
2535	China	23	Female	S	S	S	S	S	S	S
000848	Korea			S	S	S	S	S	S	S
2538	Korea	29	Male	S	S	S	S	S	S	S
2528	Vietnam	26	Male	S	S	R	S	S	S	S
1299	Myanmar	45	Male	S	S	S	S	S	S	S
2428	China	33	Female	S	S	S	S	S	S	S
000553	China			S	S	S	S	S	S	S
2209	China	21	Male	S	S	S	S	S	S	S
2501	Iran	44	Male	R	S	S	S	S	S	S
2571	Korea	16	Female	S	S	S	S	S	S	S
2573	USA	61	Male	S	S	S	S	S	S	S
2536	China	21	Male	S	S	S	S	S	S	S
2422	China	21	Male	S	S	S	S	S	S	S
2504	China	35	Male	S	S	S	S	S	S	S

70%相同性以上でグループとした場合、2つのグループが検出（解析ソフトFingerPrinting II (Bio-Rad) を使用して解析）

表 2 7

表 外国人結核菌株のRFLP解析と臨床データ

RFLP解析		グループⅠ(26)	グループⅡ(5)	その他(56)
年齢(歳)		33	35.2	30.8
性別 男性(%)		20(76.9%)	4(80%)	33(58.9%)
国籍 東アジア(%)		16(61.5%)	1(20%)	27(48.2%)
居住地 新宿区(%)		8(30.7%)	0%	12(21.4%)
クラスター形成率		5/8(62.5%)	—	4/12(33%)
入国1年未満(%)		10(38.4%)	0%	21(37.5%)
HIV陽性(%)		3(11.5%)	0%	2(3.5%)
薬剤(H,R)耐性あり(%)		2(7.6%)	0%	2(3.5%)
肺結核(%)		22(84.6%)	4(80%)	52(92.8%)
塗抹陽性率(%)		14(53.8%)	5(100%)	40(71.4%)
遺伝子型	北京型 Modern	12(67%)	0(0%)	3(8%)
	北京型 Ancient	6(33%)	0(0%)	9(23%)
	非北京型	0(0%)	5(100%)	28(70%)

表 2 8

## 症例数の集計結果

	2007年			2008年			2009年		
	結核患者	HIV感染合併結核	多剤耐性結核	結核患者	HIV感染合併結核	多剤耐性結核	結核患者	HIV感染合併結核	多剤耐性結核
①結核病院入院例	4424	7 (0.16%)	0	4280	14 (0.32%)	0	4091	9 (0.22%)	0
②HIV拠点病院		29	0		34	1		34	0
③=①+②		38	0		48	1		43	0
④NHO集計(永井)		22			33			27	
③+④		60			81			70	
保健所	20827	47 (0.23%)	1	20364	62 (0.30%)	1	19873	35 (0.18%)	0

## 結核病院におけるHIV合併結核症例

	2007年		2008年		2009年	
	結核患者	HIV感染者 合併	結核患者	HIV感染者 合併	結核患者	HIV感染者 合併
① NHO以外 (今回の集計)	4424	7 (0.16%)	4280	14 (0.32%)	4091	9 (0.22%)
② NHO (永井)	4388	15 (0.34%)	4165	19 (0.46%)	4129	18 (0.44%)
結核病院 例数計 ① + ②	8812	22 (0.25%)	8445	33 (0.39%)	8220	27 (0.33%)
HIV陽性率の前向き 調査(加藤)				0.37% 全国		
結核登録情報システムによる	25311	57 (0.23%)	24760	67 (0.27%)	24170	52 (0.22%)

NHO: 国立病院機構

## II. HIV合併

1. 毎年、4000人台の結核患者が入院し、そのうちHIV陽性者は15-19人であり、率としては0.34-0.46% (平均0.4%) であった。ほぼ毎年、同程度の率でHIV陽性者が入院することが分かった。

HIV合併結核患者68例の男女比は64:4、年齢の中央値は43歳であった。結核発病を契機にHIV陽性と判明した症例は57%に及んだ。CD4数の平均値は153/ $\mu$ lであり、CD4数別の患者数の分布を見ると、CD4数200/ $\mu$ l未満の症例が67.2%、100/ $\mu$ l未満の症例が49.2%と免疫機能低下例が多かった。肺結核患者は36例、肺外結核患者は29例 (このうち17例は粟粒結核) であった。

結核菌の耐性なしは39例、何らかの耐性がある症例は7例 (MDR-TB 3例、INHのみ耐性3例、SMのみ耐性1例) であった。

結核の治療は、HREZ 40例、HEZ-RBT 6例、HRE 5例、HE-RBT 2例、HRS-LVFX 1例、HRS-CPFX 1例であった。

結核薬による副反応について、回答のあった54例中、副反応ありは29例 (53.7%) と高頻度であった。おもな副反応は肝機能障害 (11例)、発熱 (9例)、薬疹 (8例)、血球減少 (8例) であった。対処法の記載があった症例は、減感作療法例6例、薬剤の変更例13例であった。抗HIV薬による副反応について回答があった41例中、副反応ありは10例 (24.4%) であった。特に多い副反応はなかった。

結核の治療中にARTを開始した症例は34例あり、結核の治療開始後2週以内に始めた症例はなく、3週～36週後に開始していた。6週以内にARTを開始した症例が最も多かった。ARTの内容が分かっている26例の治療内容では、key drugとしてefavirenz (11例)、atazanavir

(7例)、lopinavir/r (3例)、raltegravir (3例)、fosamprenavir (1例)、darunavir (1例) が用いられていた。

結核の転帰について回答のあった47例中、治癒30例、治療中11例、死亡6例であった。

多剤耐性結核例はHIV合併結核68例中3例(4.4%)であった。いずれも男性であり、国籍は中国1例、日本2例であった。結核診断時のCD4は、95、48、31/ $\mu$ lときわめて低値であり、肺結核2例、粟粒結核1例であった。INH、RFPの両剤耐性以外にもEB耐性3例、SM耐性2例、PZA・KM・EVM・LVFX耐性がそれぞれ1例ずつ認められた。予後は死亡1例、治癒1例、治療中1例であった。(永井)

## 2. 全国のHIV合併の結核患者と多剤耐性結核の症例数調査。全国保健所、結核病院、HIV診療拠点病院に一次アンケート調査。現在集計解析中。(藤田) (表28、表29)

### (1) 一次調査の結果

保健所および医療機関に対して症例数を尋ねるアンケートを送付した結果、結核病床を有する(有した)医療機関の105施設(42.3%)、HIV拠点病院(結核病床を有さない)医療機関の127施設(55.2%)、保健所の396施設(74.6%)から返答を得た。返答数には症例のない施設も含まれる。

症例数を集計した。国立病院機構の病院を除く医療機関から報告されたHIV合併結核の症例数は、2007年が38例、2008年が48例、2009年が43例で、本調査における3年間のHIV合併結核症例は計129例であった。さらに、国立病院機構の集計結果(永井)を加えるとHIV合併結核症例数は各年ごとに計60例、81例、70例となった。

保健所を対象とした調査からは回収率を勘案すると、結核登録情報システムによるHIV合併例患者数統計とはほぼ同様の傾向であった。医療機関間で一部重複例が存在すると思われるものの、結核登録情報システムによるHIV合併例患者数統計を上回る数となり、保健所では把握されていない患者が存在すると推測された。

多剤耐性結核は2007年に1例、2008年に1例の計2例であった(2008年の例は二次調査の結果を反映)が、両者の地域は異なっていた。

結核患者のうちのHIV陽性者の比率を試算すると、各年で0.3%前後となったが、国立病院機構を除く結核病院における陽性者の比率は、国立病院機構の集計よりも少なかったが、一方、結核病床を有さないHIV拠点病院において少なからずHIV合併結核患者を診療していることが判明した。

### (2) 二次調査の結果

症例を有する医療機関に二次調査を行った結果、129例中117例の症例調査票が回収された(90.7%)。男性105例、女性9例、性別記載なしが3例と約9割が男性であった。外国人は29例(24.8%)、出身国は東南アジアが18例、アフリカが5例、と結核高蔓延国が多くを占めた。結核診断時のCD4陽性リンパ球数は1~707とばらつきがみられたが、平均は160/ $\mu$ Lであった。粟粒結核を除く肺外結核は47例(40.2%) (うち肺結核合併は7例)、粟粒結核は28例(23.9%)と肺外結核が多くを占めた。何らかの検体で結核菌陽性(塗抹陽性または培養陽性)であったものは81例(69.2%)で、喀痰検体で陽性は52例(44.4%)、喀痰陰性・胃液陽性は7例(6.0%)と、感染性またはその疑い例は約半数であった。

### (3) 抗結核薬に対する耐性の状況

何らかの薬剤に耐性があったと記載された例は11例(9.4%)で、INH耐性が最も多く8例(9.4%)、うちINH単独耐性は5例であった。二次調査で確認された多剤耐性結核は1例(日本人)のみで、INHとRFPの2剤に薬剤耐性を認めた(もう1例は保健所からの報告例のため数のみ別掲)。外国人において何らかの薬剤耐性を有する例が4例中29例(13.8%)であり、日本人の7例中86例(8.1%)よりも多い傾向であった。RFP耐性の2例の出身国は東南アジアであり、1例はRFP単独耐性、1例はRFPとSMに耐性であった。

### (4) 結核病棟施設に関する予備的検討

ある医療機関の結核病棟では、HIV感染者用の病室として換気を陽圧・陰圧に切り替えることが可能な設計になっていたが、調査の結果、冷暖房の切り替え時期や停電時においてはその作動が安定しない可能性が示唆されたため、今後詳細に検討する必要がある。

3. HIV合併結核129例（国際医療セ）男性91%、平均発症年齢39、外国籍24%、平均CD4数 165、多剤耐性結核2.0%。（青木）

HIV合併結核症例129例は、男性117例（90.6%）、平均発症年齢 $39.3 \pm 11.3$ 歳で、31例（24.0%）は外国籍であった。当院通院中に発見された例が35例（26.5%）で、89例（67.4%）は結核発症を機にHIV感染が判明していた。発症時平均CD4数は $165.3 \pm 158.3/\mu\text{l}$ 、平均HIV-RNAは $5.53 \pm 5.98 \log \text{ copies/ml} (\pm \text{SD})$ であった。センターの平成21年度の初診患者225例を対照として比較すると、性別、年齢、及びHIV-RNA量は有意差を認めないが、CD4数は結核群で有意に低値であった。

喀痰塗抹陽性は129例中54例（41.9%）で、喀痰培養は118例中80例（67.8%）で陽性であった。治療開始12週の時点で、20%が依然塗抹陽性であった。肺結核のみの症例が54例（40.1%）であった。肺外病変としては、結核性リンパ節炎が42例（31.6%）、腸結核が9例（6.7%）、中枢神経結核（結核性髄膜炎と脳内結核腫）が8例（6.0%）、結核性腹膜炎が6例（4.5%）、結核性脊椎炎が5例（3.8%）であった（病変の重複を含む）。

薬剤耐性試験が施行された102例のうち12例

（11.8%）に、薬剤耐性（INH 5例、RFP 3例、その他 6例）を認めた。多剤耐性（INHとRFP）は2例（2.0%）のみであった。

抗結核薬で有害事象を生じた症例は、128例中70例（54.6%）であった。その内訳は、INH 13.4%、RFP 26.1%、RBT 17.6%、EB 14.3%、PZA 18.1%、キノロン 21.2%（重複有）と、RFPが最も多かった。年齢、性別、国籍、体重、CD4値、HIV-RNA量と抗結核薬の有害事象について検討したところ有害事象発生群では、有意に体重が軽く、CD4値 $<100$ の症例が多いことが判明した。

結核症自体の経過はおおむね良好であり、結核を直接の原因とする死亡の症例はなかった。経過中に死亡した7例はいずれも、結核以外のエイズ関連疾患での死亡であった。

129例の症例の中、結核発症時に抗HIV療法を施行していなかった症例が105例中で、抗結核治療導入後に抗HIV療法の導入を確認できた症例が74例であった。74例のうち、免疫再構築症候群を生じた症例は5例であった。5例中2例では抗HIV療法の中断を余儀なくされた。4例でステロイドの使用を認めた。5例ともHIV・結核の経過は良好であった。

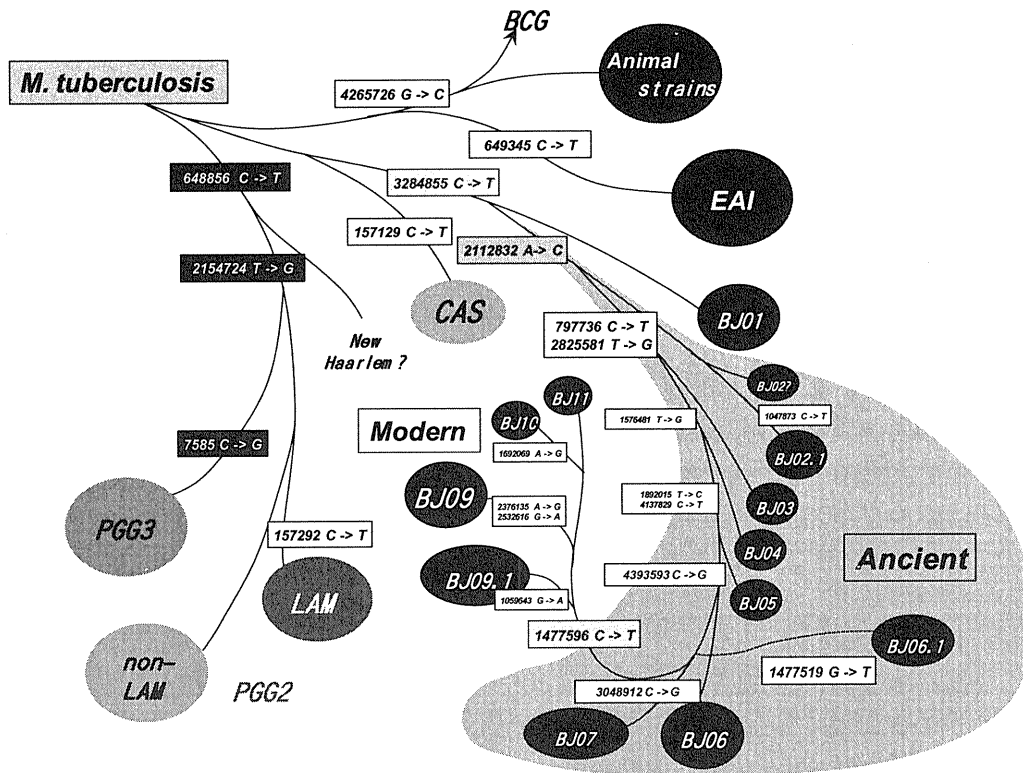


図13. 臨床分離結核菌のSNPs解析  
本SNP遺伝系統解析により結核菌は23系統に区分できる

表30 日本で分離された結核菌を用いたスポリゴタイピング法とSNP法による型別結果の比較

Spoligotyping法		SNP法	
北京型 : 144株	北京型	144株	100%
非北京型 : 142株	非北京型	132株	93% (97%)
	北京型	4株	3% (3%)
	判定不能	6株	4%

### Ⅲ. 日本・中国・韓国・台湾の分子疫学研究

#### 1. SNP 解析のローサイと分析法 (図13)

共通な 10-locus VNTR については、それぞれの国で実際に分析に使っている共通のローカスを集めたものなので参加者の同意が得られたが、それらの VNTR としての識別能は低いと考えられた。そこで、VNTR 分析に先行して SNP 解析を行い、各国で広まっている結核菌の遺伝子的背景等の比較を先に行うことにした。

既出の報告を検索し、適切に分類できると考えられる SNP locus を抽出し、組み合わせて構成した SNP 解析システムを原案として日本から提案し、これを元に議論を進めた。結核菌を各グループに分けるにあたり、複数の SNP サイトが報告されている場合は、どちらかひとつに絞る分析数を減らした。

結果として図に示すような SNP 解析システムの検証を進めることになった。本システムでは、まず 2 箇所 of SNP 分析、すなわち *fadD3284855* 位で北京型 (C) と非北京型 (T) を区別、1477596 位で北京型結核菌は、Ancient (C) と Modern (T) に分けることができる。このように、2 箇所 of 分析で結核菌は、非北京型、北京型 (Ancient)、北京型 (Modern) の 3 つのグループに区別することができた。3 つのグループは、非北京型結核菌はさらに 7 箇所 of SNP 分析、北京型 (Ancient) はさらに 10 箇所、北京型 (Modern) はさらに 6 箇所 of SNP 分析を行うことで遺伝的背景に基づき、全体を 23 のサブグループに分類することができる。

#### 2. 各国で分析する株について

本システムの検証のため、各国で 200 株程度の結核菌を分析することとした。分析する株については、各国の結核菌のサブグループの相互比較を行うためには一定期間内に分離された population-base の株を用いる必要があるが、今回は本システムがそれぞれの国で有用であるか、今後の国際比較に活用可能であるかをなるべく早く検証することを優先して、各国の事情に応じてできるだけバイアスがかからないように株を選択することとした。

#### 3. 検証方法 (SNP タイピング用のプローブの提供)

株数が少なければ塩基配列分析でも SNP 解析は可能であるが、手間と時間がかかることから、リアルタイム PCR システム、つまりタカラバイオ (株) のサイクリングプローブあるいはライフテクノロジーズ (株) の TaqMan MGB プローブを合成して SNP 分析する系を確立した。また、SNP タイピング用のプローブの合成したものは日本から提供することとした。各国研究者はこれを利用する解析方法を選択してもらうこととした。

#### 4. 日本における検証結果 (一部)

日本における菌株を用いて、北京型と非北京型の型別の標準的な分別方法であるスポリゴタイピング法による結果と SNP (*fadD3284855*) 法による型別結果との比較を行った結果を示す。(表 30)

スポリゴタイピング法で北京型と型別された結核菌 144 株の *fadD3284855* 位の SNP を調べたところ、すべて北京型であることを示す“C”であった。よって、北京型結核菌ではスポリゴタイピング結果と SNP 解析法は 100% 一致していた。一方、スポリゴタイピング法で非北京型と判定された結核菌 142 株を同様に SNP 解析すると、非北京型の“T”となったのは 132 株 (93%)、北京型と型別されたのが 4 株 (3%)、中間部 (ヘテロの位置) に区分されて判定不能となったのが 6 株 (4%) だった。判定不能分を母集団から除くと、スポリゴタイピング法で非北京型と判定された株の 97% が SNP 法でも非北京型と型別され、一致しなかったのは、3% (4/126) であった (表 30)。

#### 5. VNTR の MST 解析で、日本、韓国の結核菌は“祖先型”、中国は“蔓延型”で、韓国は RD181 陽性で、日、中、韓、台の結核菌は各々区分可能な発見。(加藤・前田)

#### 6. シークエンサー 全ゲノム比較で北京型と非北京型を型別できる SNP 型別システム開発中。非北京型、北京型 (蔓延型)、北京型 (祖先型) の 3 つに分類可の発見。

#### 7. SNP と VNTR 法でアジア各国由来結核菌を区分・分類できる方法解析中。



#### IV. アジア諸国の多剤耐性結核

##### 1. SNP解析

BJ-ST10 (24 isolates), BJ-ST22 (6 isolates), BJ-ST19 (isolate No 4200) およびそのほかの4つの新たなサブタイプを同定した。これらのサブタイプの構成比率は 60% (BJ-ST10), 15% (BJ-ST22), 10% (4 isolates), 7.5% (new, 3 isolates), 2.5% (BJ-ST19, isolate No 4200), 2.5% (new, isolate No 4535), 2.5% (new, isolate No 4892) であった(図14)。

##### 2. タイでのHIV合併結核493名中活動性結核15.6%存在 (野内)

難治性結核の分子疫学解析として、日本での基盤として、複十字病院の結核登録を活用した検討をした。2007年1月1日より2011年10月末までに登録された結核患者1,909名において、外国と関連がある結核患者は109名で、そのうち多剤耐性結核患者は28名(25.7%)であった。これは、外国と関連のない結核患者1,800名での、多剤耐性結核患者67名(3.7%)と比べて、オッズ比8.94(95%信頼区間5.46-14.6)と有意に高かった。オッズ比は増加傾向があり、2010年からは10を超えていた。

2010-2011年には、日本人名を持つ人で以下の事例が認められた。

事例① 米国在住中に超多剤耐性結核に感染・発病して日本に帰国したと考えられる42歳男性。米国CDCから分子疫学検討の対象となり菌体の米国輸送を依頼されている。複十字病院で手術後軽快し外来フォロー中。

事例② タイで感染発病し標準治療をされた後、日本で多剤耐性結核で再発した42歳日本人女性

事例③ タイで感染して日本で発病したと考えられる多剤耐性結核の19歳男性(日本とタイの2重国籍) 日本人(父) とタイ人(母) に生まれ二重国籍者。小学校卒業までタイで過ごす。検体バンクの課題としては、従来、結核病棟では喀痰の研究使用に包括同意が取られていたが、「臨床研究の倫理指針(平成20年改訂)についてのQ&A」に記載されているQ5-1にある「試料等の利用目的を含む情報を公開していること。」という条件を満たす様に改善が指摘された。

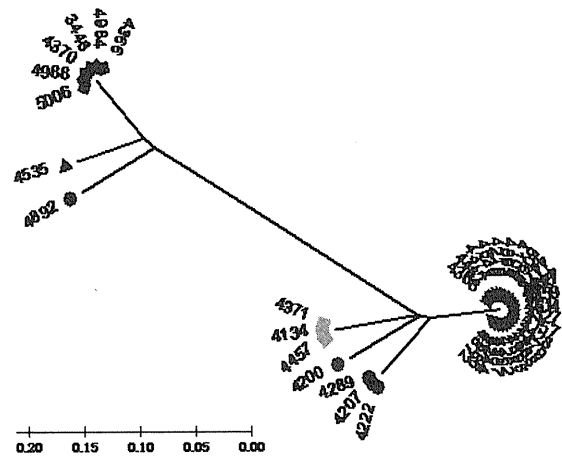


図14 中国東北部で得た結核菌株の系統樹

結核菌培養433例がマヒドン大プラシット研究室にて解析された。菌の分類では北京株が43%(188/433)、EAI株が41%(177/433)、非北京・非EAI株が14%であった。非北京・非EAI株は現在、CAS種に対してRD750のタイピング、Euro-American種に対してpks15/1解析をして詳細に分類中である。菌の分子タイピング後、臨床データと合わせ、分子疫学研究を進める。

HIV合併結核研究は日本では症例数を集めるのが困難であるので、タイで引き続き検体バンクとコホートを活用して検討した。タイにおけるHIV感染者コホートの研究の中で、結核感染の指標であるIGRA(Interferon gamma release assay)がなされている247名を含む493名の属性を調査した。コホート登録時のCD4数は200未満が322名(65.3%)と高い為か、古典的な結核感染検査であるツベルクリン検査は426例にされており硬結5mm以上の陽性は10.3%(44名)のみに認められた。活動性結核は77名(15.6%)に認められた。

尚、難治性結核に関しては、治療後のフォローアップの結果を追加して投稿していた論文は受託された。(Pitabut N, et. al., Decreased granulysin and increased IFN- levels in plasma of patients with newly diagnosed

3. HIV合併結核バイオマーカーとして *granulysin*有望 (タイ 櫻田)
4. ベトナム INH代謝NAT2遅延型は多剤耐性結核で少ない (慶長) (表3 1)

大規模なコホート研究は、本研究班の3年間の枠組みでは困難なため、断面研究に近い小規模な研究デザインとならざるを得なかった。本年度は、特に抗結核剤の代謝と深く関係する NAT2遺伝子についてその特徴的な遺伝子変異と遺伝子頻度の解析を試みた。NAT2遺伝子は多型性に富み、20以上の対立遺伝子型を有するが、その中で特にイソニアジドを迅速に代謝する迅速代謝型 (F) と代謝遅延型 (S) は、主に3つの非同義置換341T>C (rs1801280)、590G>A (rs1799930)、857G>A (rs1799931) によって決定されている。これらのSNPの遺伝子タイピングの結果、ベトナム人のNAT2遺伝子型は、他の東南アジア集団における報告と同様、イソニアジド迅速代謝型 (F) と代謝遅延型 (S) の割合は、ほぼ1:1であり、日本韓国など東アジア集団よりは、遅延型 (S) が多く、ヨーロッパ集団よりは遅延型 (S) が少なかった。

表3 1 ベトナムにおける多剤耐性結核の NAT2遺伝子型から推測されるイソニアジド迅速代謝型 (F) と代謝遅延型 (S) の分布多剤耐性結核では、表に示すように、対照集団より、遅延型 (S) がより少ない傾向を示す結果が得られたが、対照集団の遺伝子型分布の偏位、検出力の問題が未解決で残っており、今後、より大規模な研究で、この結果を確認する必要がある。

5. ①本研究実施のためのベトナム側施設に対する技術移転を行い、大部分終了した。平成24年度からは、患者登録が開始できる見込みである。
- ②HIV合併結核患者病理組織標本を用いた研究では、ホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いて、抗*granulysin*抗体と細胞表面マーカーに対する抗体を用いた多重染色を含む免疫組織染色を行う計画である。この染色のための抗*granulysin*抗体をすでに入手した。また、連結不可匿名化した剖検所見を含む標本の情報を東

### NAT2 fast/slow alleles in MDR-TB in Viet Nam

Genotype	Activity MDR-TB (n=58)		HC (n=111)		P=0.025	Fisher
	Fast	Inter-mediate	Slow	Slow		
Fast	12	20.7%	31	27.9%		
Inter-mediate	35	60.3%	43*	38.7%		2x3
Slow	11	19.0%	37	33.3%		

Allele	Fast		Slow		P=0.567	Fisher
	Fast	Slow	Fast	Slow		
Fast	59	0.509	105	0.473		
Slow	57	0.491	117	0.527		

\* HC did not follow Hardy-Weinberg Equilibrium

京病院から入手した。剖検時採血による13例の血清中の*granulysin*濃度も測定したが、いずれも高値であった (mean 4.51 ng/ml (1.70-5.99))。

③国立国際医療研究センター・エイズ治療開発センターの青木孝弘医師等と同センター呼吸器科小林信之医長の協力を得て、HIV陰性結核19例、HIV合併結核20例、HIV(クオンティフェロンテスト陰性)21例、健常ドナー26例の血漿 (一部は血清) 検体をすでに入手し、*granulysin*濃度をELISA法により測定する予定である。

④M-Mφにおける25OHD3による活性化機構に対するHIV感染の影響を検討する研究を計画した。平成23年10月タイNIHでHIVに感受性のあるM-Mφの培養に関する予備実験を行ったが、NIH近辺に洪水の被害が及んだため中断を余儀なくされた。

6. 中国 ハルピン市では治療経験群の薬剤耐性結核80%。北京型結核菌膜蛋白Rv0679の新診断法開発 (服部)

## V. 新しい迅速診断の開発・新ワクチン・化学療法剤の開発

1. rpoBの変異を用いて、多剤耐性結核患者の迅速隔離方法を構築。2施設に普及。(鈴木、岡田) 331例のうち、培養陰性であった8例を除く323例で比較検討を行った。ラインプローブアッセイでRFP感受性と判定されたのは308例であり、307例は通常の薬剤感受性検査でもRFP感受性であったが、1例はMGIT法では感受性であったが小川比率法では耐性であった。この例は臨床的には排菌陽性が遷延しておりRFP耐性と考えられた。また、ラインプローブアッセイでRFP耐性と判定された15例中、14例はMGIT法・小川比率法いずれもRFP耐性であったが、1例はMGIT法で感受性であった。RFP耐性の14例中11例はINHにも耐性を示す多剤耐性菌であった。
2. 結核に対する初めての治療ワクチンを開発(サルで)(岡田)(図15)この結核治療効果とワクチン投与サルのIL-2産生量は相関した(表32、33)。INHと結核治療相乗効果。皮内投与最適(図16、17)。新薬カプラザマイシン(図18)とも相乗効果。
3. BCGよりも1万倍強力な結核予防ワクチン。カニクイザルで100%生存率。HVJ-Eの治験用前臨床試験データを取得ほぼ完了(毒性・安全性・安定性試験)。
4. Granulysinは結核治療効果(岡田)。SLPIと相乗効果(竹田)。
5. 外国人結核・輸入感染症結核に対する治療剤(ワクチン)の必要性及び多剤耐性結核に対する治療剤(ワクチン)の必要性。  
(1)新しい結核治療剤に対しては必ず耐性結核菌が出現する。(2)一方、結核治療ワクチンに対しては耐性結核菌は出現しない。(3)したがって、多剤耐性結核菌やXDR-TBに対する治療ワクチンの開発が必要である。(4)外国人結核・輸入感染症結核はMDR-TBが多い。(5)我々が世界に先駆けて開発した結核治療ワクチンHVJ-エンベロープ/HSP65 DNA+IL-12 DNAワクチンは外国人結核治療に有効と考えられる。(6)さらに、我々はこれらのスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌にこのワクチンが治療効果を発揮することを明らかにした。

6. 東アジア地域で蔓延しつつある多剤耐性結核に対して有効な新規ワクチンの開発を目的として、次世代のワクチン技術として注目されているDNAワクチンの開発を行った。DNAワクチンの開発を成功させるためには、より少ない用量で有効性を高める必要があるため、ワクチン効果を高める新規アジュバントとして注目されているHVJ-Eを用いた免疫増強や安全性評価を行った。その結果、HVJ-Eは、自然免疫や細胞性免疫の活性化に關与するRIG-Iを介した新規メカニズム有する事、結核感染に対する防御に重要な細胞性免疫側に免疫反応をシフトできる事などが明らかとなった。
7. 新結核治療ワクチン・化学療法剤：①ヒト結核感染に最も近いカニクイザルを用い、HVJ-エンベロープ/HSP65+IL-12DNAワクチンの結核治療効果を世界で初めて報告  
(Clin.Devel.Imm.2011, Human Vaccine 2011)。XDR-TBに治療効果。INHと相乗的結核治療効果。皮内投与が最適を明らかにした。すなわち、マウスの系でHSP65DNAワクチンを皮内投与(i.d)、皮下投与(s.c)及び筋肉内投与して治療効果を検討した。その結果、皮内投与治療が最も脾臓内結核菌数を減少させた。すなわち皮内投与治療が最も強力な治療ワクチン効果を発揮した(図16)。したがって、さらにヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いて皮内投与と筋肉内投与の治療効果と比較して解析中である(図17)。10倍ほど治療効果を増強。このワクチンの動物実験による前臨床試験データ取得：一般毒性・安全性試験(中島、岡田)。(7)前臨床試験：a.薬効薬理 b.安定(凍結乾燥)。(i)GMP製造で臨床応用可能。HVJ-Eの治験開始に必要な試験データ取得完了。②新化学療法剤カプラザマイシンはXDR-TB治療効果(マウス)。上記ワクチン治療剤と相乗的治療効果。③新化学療法剤デラマニド(図18)と上記ワクチン治療剤の相乗効果解析を計画した。すでに、(1)2005年岡田全司はデラマニドがMDR-TBに対して強力な治療効果を発揮(マウスの系)することをICAAC(Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy)で発表。(2)デラマニドはXDR-TBに対して

も強力な治療効果を発揮（マウスの系）ことを発表。（3）ヒトの免疫応答解析モデルを我々は世界に先駆けて開発（Cancer Research 1997年 Okada et al）した。さらに、この系を用いてデラマニドの結核治療効果を明らかにした。

8. 結核菌殺傷蛋白Granulysin(Gra)はキラーT分化因子活性も有することを発見。15kDa Gra（特許取得）ワクチンは結核治療効果（Human Vaccines 2011）。Graと上記DNAワクチンで結核治療相乗効果。killer secretory protein37（KSP37）ワクチンの抗結核作用を初めて示した。

9. 多剤耐性結核患者の迅速発見法(rpoB変異)を用い、多剤耐性結核患者迅速入院法及び病院内で多剤耐性結核が感染しない体制を構築した（鈴木、露口、岡田）。現在この方法を2施設に普及した。これの普及をさらに進める。

10.MPT51DNAワクチンとgranulysin DNAワクチンを加えた、HVJ・エンベロープ/HSP65DNA + IL-12DNA + Ag85BDNA + Ag85ADNA + MPT51DNA + granulysin DNAワクチンを作製した。このワクチンの結核治療効果をカニクイザルを用いて解析中である。ヒト結核菌Erdman株 $5 \times 10^2$ を気道内注入して感染させ、4週間後より、上記ワクチン $400 \mu\text{g}$ をi.m（合計6回、2週間毎）投与して結核治療効果を解析した。（図19）

G1群：HVJ-E/granulysin DNAワクチン

G2群：HVJ-E/(Hsp65+IL-12+Ag85B+Ag85A+MPT51)DNAワクチン

G3群：HVJ-E/granulysin DNA+(Hsp65+IL-12+Ag85B+Ag85A+MPT51)DNAワクチン

G4群：コントロール（生食投与群）

である。G2群の

(Hsp65+IL-12+Ag85B+Ag85A +MPT51)DNA投与群は結核菌チャレンジ200日後で4頭中2頭の生存（50%の生存率）であった。一方、G4群コントロール群は全例死亡（生存率0%）であった。すなわち、Hsp65+IL-12+Ag85B+Ag85A+MPT51DNAワクチンは強い治療効果を示した。さらに、360日後においてG3群のGranulysin DNAを加えた群では生存率50%（4頭中2頭）を示した。G1群のGra DNAワクチンも360日後には4頭中1頭（25%）の生存率を示した。すなわち、Gra DNAワクチンの追加は長期生存（長期治療効果）に有効であることが強く示唆された、初めての発見である。（図19）

11.これらの上記の新しい迅速診断法及び治療ワクチンの普及を国立病院機構呼吸器ネットワーク65施設を用いて行う予定である。幸い当院はこの65施設呼吸器ネットワークグループリーダーを岡田が担当している。（図20）

## D. 考察

### (1) 外国人結核の問題点

外国人結核の問題点として表2 1の「外国人結核：医療上困難であった問題点と対応」に代表的な約200例（約1000例の患者に対する調査票報告のうち）の担当した医療担当者からの問題点を列挙した。この指摘の問題点は当班が初めて詳細に調査したものと考える（表2 1）。

まとめると、5つの大きな問題点がある。

#### (1) 言葉の問題

#### (2) 転帰としての治療途中の帰国（不法滞在等）

#### (3) 食事の問題（宗教上）

#### (4) 生活習慣の違い

#### (5) 経済的な問題

である。

(1) の言葉の問題として、通訳対策の重要性が明らかとなった。翻訳パンフレットは英語と中国語は多く（24%～35%）認められた。一方、外国人結核の多い韓国語、ブラジル人のポルトガル語、フィリピン人のタガログ語は2.8%～6.4%と非常に少なく大きな問題点であった。今後これらの韓国語、ポルトガル語、タガログ語の翻訳パンフレット作成が重要であると考えられる。

(2) 転帰としての治療途中の帰国は16%も存在し、大きな問題点である。さらに連絡（国外のみでなく国内においても）が非常に困難であることが調査の結果、明白となった。

(3) 食事の問題について：宗教上の理由により豚肉等の摂取困難が多く報告された。

(4) 生活習慣の違いで、うつ状態になる報告も多く認められた。このうつ状態等による服薬が順調にいかないことも示された。

(5) 経済的な問題も深刻である。結核と判ると退職させられるかもしれないとの思いを多くの外国人結核患者が抱いているようである。

一方、これらの障壁に対し、通訳などの積極的なサポートがなされている。職場、学校などでの通訳が42.2%にもものほり、又友人・知人の通訳サポートが22.7%認められた。これらの対応をさらに進展させるとともに、外国人結核に対する新しい治療剤の開発（デラマニド等）の可能性が示された。

### (2) 外国人由来の特定結核菌株が蔓延。輸入感染症蔓延対策により厚生行政に貢献。

国立国際医療研究センターで経験した外国人結核患者由来株87株のRFLP解析によると、そのうち30%は相同性70%以上のクラスターI（グループI）を、6%はクラスターII（グループII）を形成していた。「グループI」ではそれ以外と比べて、中国、韓国など東アジア出身者が多く、薬剤耐性率やHIV合併率が高い傾向であった。さらに、「グループI」では新興型の北京型株が多く、日本人とのクラスター形成率が高い傾向にあった。以上のことから、中国、韓国など東アジアから新興型の北京型株が日本国内に入りこみ、日本人とクラスターを形成している可能性が示唆された。とくにグループIでは薬剤耐性率やHIV陽性率が高い傾向にあり、その日本国内での拡がりには公衆衛生の上で脅威となりうる。今後は、外国人結核患者の対象患者数を増やし、臨床情報と菌の解析から、外国人の結核が日本国内で感染したのか、あるいは蔓延国から国内に持ち込んだのか、後者の場合は日本人への感染はあるのか、という課題に取り組んでいく予定である。

(3) 東アジア諸国の結核菌の遺伝的背景が異なり、結核菌が由来した国の同定を可能とした。各国結核菌のSNP解析系統情報とVNTR解析を総合したデータベース構築による行政施策への貢献：今年度は、すべての系統（北京型結核菌を中心とした）に対応した一塩基多型（SNP）分析システムを構成した。各国の研究者を集めた会議で、それぞれの国で広まっている株を分析することを最終目的として、このシステムの検証をすることの同意が得られた。また、結核研究所は必要なプローブとプライマーを設計・合成し、リアルタイムPCRに必要な試薬等を送付する。分析が出来ない場合は、結核研究所で分析を代行することも出来る、等で合意している。スポリゴタイピング法で型別が明らかになっている株を使って、SNP法での型別結果

(fadD3284855)を評価した。北京型株は、スポリゴタイピング法とSNP法が100%一致していたが、非北京型（北京型以外の系統）では、非北京型なのにSNP解析では4株（3%）が北京型と分類される株が含まれていた。今後、精度を高める必要があるのか、97%は一致するので、このまま利用するか議論する必要がある。

東アジアの国や地域で確立した共通な方法で結核菌を解析することで、各国における結核菌の特徴を明らかにできると考えられる。本システムの有用性が確立され、広く活用できるようになれば、より簡便に系統解析が可能になり、それぞれの国や地域における結核菌の伝搬状況や由来地域等の推定に関する研究も飛躍的に進展すると期待される。

ハルピンのサンプルより同定された北京型結核菌株はmodern typeが大半で、old typeが主流となっている我が国とは異なっていた。しかしながら、これらの変異が表現型さらには薬剤耐性とどのようにかかわっているのかの検討を行うには至らず、この点は次年度以降の課題である。

- (4) 国立国際医療研究センターにおいて最近5年間で診療を行った外国人結核患者は、20～30歳代の若年者が多く、女性の割合が日本人結核患者と比較して多くみられたが、この傾向は以前の調査とほぼ同様の傾向であった。国籍については、平成22年までは中国、韓国、フィリピンの順に多かったが、最近ではとくにフィリピン人が増加しており、今回の調査では中国、フィリピン、韓国の順となった。男女別にみると、男性では中国人が最も多いのに対し、女性ではフィリピン人が最も多く、そのフィリピン人結核患者は新宿区以外に在住していることが示された。

(5) (a) 大阪市における外国人結核の現状

外国出生群では若年学生が多く、入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校における健診を強化する必要性を示唆していると考えられた。塗抹陰性者が多く診断に苦慮するケースもあると予想され、外国人結核に関する医療機関への啓発が重要であると思われた。MDR-TBが多く、治療脱落、転出者が多い傾向にあり、外国人では最後まで治療を終えることができるよう支援していくことが重要であると考えられた。

(b) 大阪市にある日本語学校に在籍する外国人に対する結核健診

大阪市にある32の日本語学校のうち、結核健診実施の希望があった11校において結核健診を実施した。日本出生の2名を除く1,081名の平均年齢は23.3歳、出身国は、中国577名(53.3%)、韓国299名(27.6%)、台湾80名(7.4%)、ベ

トナム71名(6.6%)であった。最終的に活動性結核と診断された者は5名(0.5%)であった。発病した5名は平均年齢26歳、範囲19～42歳で、出身国は、中国3名、韓国2名であった。母比率の検定を実施すると、日本語学校における健診は、高齢者を含む一般の健診と比較して有意に患者発見率が高かった。若年結核患者が多く発見される可能性の高い、日本語学校における外国人への健診は継続・拡大して実施する必要があると考えられた。

- (6) 日本の結核患者における多剤耐性結核の比率は、2002年の結核療法研究協議会の報告では1.8%(55/3,122)、2009年の「結核の統計」では0.8%(56/6,920)であった。この数値と比較して、今回の調査ではHIV合併結核では多剤耐性結核の頻度が高かった。HIV合併多剤耐性結核では予後不良と言われており、本症例でも3例中1例が死亡している。HIV感染症を早期発見し、抗HIV治療を行うことにより免疫機能を回復させることが、結核の合併を予防しうる最良の方法である。

今後、症例の集積を続けることにより、多剤耐性結核の増加が見られるのか注視すべきである。また、臨床データのきめ細かい分析を継続していく必要がある。

- (7) 日本の結核対策・国際合同レビュー2011年によると「TB/HIV」に関して、(1)結核とHIVに関わる機関やグループは、保健と社会福祉システムのすべてのレベルで連携と協調をすべきである、(2)厚労省あるいは結核病学会はHIVプログラムと協調して、すべての結核患者にHIV検査を実施することを義務付けるべきである、(3)厚労省・県・市はHIV合併結核患者で入院を要する場合には、結核病棟を有する69のHIV専門病院のみに入院させて治療するようにすべきである、と提言されている。今回の全国HIV合併例患者数の集計では、結核登録情報システムによる統計を上回る数となり、保健所では把握されていないHIV合併例が存在すると推測されることから、個人情報管理には注意しつつ、HIV合併の結核患者の登録制度について検討をする必要があると思われる。

2007年から2009年において、日本ではHIV感染者の間に多剤耐性結核がまん延している状況は

ないと考えられた。しかしながら、117例のうちで外国人比率が24.8%と比較的多く、さらに外国人では抗結核薬に対して何らかの薬剤耐性を有する例が日本人よりも多い傾向であった。また、2例のRFP耐性例が存在し、RFP耐性の場合には多剤耐性の可能性が高いといわれていることから、引き続き耐性菌の動向には注意していく必要がある。

- (8) 海外でのHIV合併結核患者の死亡率は20-30%程度と高率であるのに対し、当センターでのHIV合併結核患者の予後は良好で、結核による死亡例は存在しなかった。これは、本邦における医療機関へのアクセシビリティの良さやテーラーメイドな医療によると考えられる。喀痰好酸菌塗抹陽性例は、12週間の治療後も20%の症例で塗抹陽性で、HIV合併症例では排菌陰転化に時間を要することが判明した。抗結核薬による有害事象は半数以上の症例で認められ、CD4が100 $\mu$ L未満の症例で優位に多かった。免疫再構築症候群を生じた症例と生じなかった症例を比較検討すると、生じた症例群で、有意にCD4数が低く、HIV-RNA量が高いことが判明したが、症例数が少なく更なる症例の集積を要すると考える。
- (9) SNP分析で各国、地域で分離された約200株の結核菌解析を行う。各国を代表できる結核菌株を選択。さらに細区分できるVNTRシステムを構築。簡易ラインプローブ・アッセイ系構築。
- (10) 本邦のHIV合併結核患者の抗HIV療法の導入時期策定。第3世代QFTの有有用性検討。
- (11) 新規抗結核剤OPC67683 (Delamanid) の臨床応用と新規結核治療ワクチンの併用効果解析。
- (12) 多剤耐性結核に対するDNAワクチンの臨床応用に必要な試験デザインの骨子 (案) 作成。
  - 1) DNAワクチンの構成物質 (アジュバント兼デリバリーシステム) であるHVJ-Eに関するGLP安全性試験データの取得を実施した。また、臨床での安全性については、大阪大学医学部附属病院が、皮内やリンパ節内の腫瘍内投与に加え、前立腺内投与や皮下投与の安全性評価を開始した。これらの試験結果を考慮して、臨床応用デザインを設定する必要がある。
  - 2) HVJ-Eは、結核防御に重要なTh1を介する細胞性免疫をより強く活性化する事が明らかとな

った。DNAワクチンの投与には、従来の筋内投与よりも皮内投与の方が優位性高い事を示唆する報告があり、今後作用機序を詳細に検討する必要があると考えられた。

- (13) 多剤耐性結核の迅速診断・迅速隔離法の普及と自動化。

本法の感度は93.3%、特異度は99.7%と優れた結果が得られており、また多剤耐性結核の迅速なスクリーニング法としても有用であると考えられた。
- (14) 2010年日本の活動性結核新登録患者数は23261人で人口10万対18.2%と報告されている。そのうち外国人結核患者数は952人 (4.2%) で、20才代が438人と最多で、同年代の結核患者数1536人の28.5%をしめており、実数が増加しているわけではないが日本人の結核が減少するに相まって年々この割合は上昇している。欧米諸先進国の状況を見ても、国際交流と諸外国の結核状況のギャップの流れのなかで、外国人結核は日本の結核において無視できないものとなって来る。若年者結核の多くが外来患者であるように、入院を要する外国人結核患者はむしろ少数である。一方で日本の結核患者の半数以上が高齢者で殆どが日本人であるが、外国人高齢者の結核も散見されるようになった。今回の対象のうちでは、中国残留孤児で帰国した人や子育て支援に観光ビザで入国した人などが含まれている。学校検診や会社検診を除く、一般外国人の健診制度はなく、欧米諸先進低蔓延国においても有効なシステムは見当たらない。日本人と結婚している女性の結核が目立っている。20~40才台の主婦層は結核の発見が遅れやすいグループと思われる。外国人に限らず受診しやすい環境が望まれる。

病型や排菌状況については他の日本人の結核と殆ど差はなかった。HIVは30代、40代の女性で今回判明した (5.1%)。これは日本全国の0.9%と比較すると高値であるが、一方糖尿病の合併は3例 (7.7%) で全国の19.0%と比較して低い。当院の2010年~2011年の新規活動性結核入院患者数821例中HIV5例 (0.6%)、糖尿病150例 (18.2%) となっており、一つには年齢層の偏り、HIVでは出身国の状況を反映しているものと思われる。耐性菌については、821例中いずれ

か主要薬剤耐性68例 (INH19例、SM 25例、EB3例、RFP1例、SH12例、HE3例、SE2例、SHE3例) および多剤耐性3例であった。8.4%vs20.6%、0.4%vs2.7%で外国人結核の耐性率はやはり高いのではないと思われる。多剤耐性やH耐性を除き殆どの症例は標準治療を実施し、帰国や転出が半数を占めるが、東京病院で治療中のものの22例中1例が脱落となっている。

言葉の問題は若年者では滞在期間が短いこと、高齢者では外国語になかなか慣れない状況と思われるが、家族や友人、雇用者、日本語学校の職員、東京都から派遣される通訳の協力を得て、退院後も保健所との連携で安心して治療を継続できるよう支援することが重要である。

- (15) タイでの結核・HIV対策ネットワーク共同研究  
日本の輸入感染症としての結核対策と関連し、諸外国で認められる多剤耐性結核を含む難治性結核の菌が日本へ伝播していると考えられる。菌体の分子疫学解析により理由を検討すべきである。菌体と宿主要因のそれぞれと相互作用の研究を症例数が大きく必要であり、日本での研究基盤が輸入感染症の検討という観点でも必要である。臨床疫学因子、細菌学的因子、免疫遺伝学的因子を測定し、それらの因子の難治化に及ぼす影響を相互作用も含めて定量化する。以前の菌情報は必要であるが、菌体の輸送する場合に注意が必要なので、研究に付随してマニュアル作成を進める。

HIV合併結核に関して、WHOのTB/HIV専門委員会がHIV感染者の潜在性結核感染治療に関して再度の国際レビューを実施し、Efficacyに関して、HAART時代においてもINH等の抗結核薬が結核の予防に効果がある事を、結核研究所・山田国際部長のチェンライの解析データも含む確認後、HIV感染者に対し推奨している。チェンライでは、過去にHIV感染者における結核感染のDiagnostic accuracy(診断)に関連してツベルクリン反応の精度と限界を報告した。この診断改善に、属性を検討したQFT結果や保存血漿のある対象者に対して、フォローアップによるQFTやツベルクリン反応との比較にて、貢献したい。結核研究所・原田研究主幹、大阪市大・松本壮吉准教授、東北大学・服部教授のTBGL抗体や他の経験も指導をいただく。

複十字病院は10年以上の菌体を保持しており、また文部科学省オーダーメイド医療プロジェクトに協力してヒト検体も収集しているのでタイと平行した研究が可能である。

- (16) ベトナム人における多剤耐性結核と宿主要因の関連について、本研究班で、初めてアプローチを実施している。本年度検討したNAT2遺伝子の遺伝子型は、これまでイソニアジドによる肝障害が遅延代謝型(S)に多いことが報告されてきたが、薬剤動態研究の結果により、迅速代謝型(F)では不十分な治療により、イソニアジドの濃度が十分に上がらない可能性が強く疑われる。しかし、これまで知る限り、多剤耐性結核とNAT2遺伝子型との関連解析については、十分な報告が無いため、今後、さらに検討を進め、この問題を明らかにする必要がある。ベトナム人多剤耐性結核について、具体的な研究プロトコルを協議し、詳細にわたり検討し、迅速に研究を実施することができたことは、ベトナムとの7年来の共同研究における信頼関係にもとづくものである。多剤耐性菌に関しては、ベトナムでも深刻な問題としてとらえられており、両国に裨益する研究成果が期待される
- (17) 先行するタイの研究からHIV合併結核では、患者末梢血に比較的多くのCD8陽性T細胞が存在する例があること、血漿中IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-12(p40)、IL-18、IP-10、オステオポンチン、CRPレベルが、HIV陰性結核やHIV感染に比較して、著明に上昇していることが明らかとなった。これらの結果から、HIV合併結核では強い炎症が引き起こされ免疫系は活性化した状態にあることが示唆された。しかし、多くの剖検病理所見からは、結核病変組織内の結核菌の増殖・負荷は非常に大きく、結核菌が宿主免疫機構によって効率的に殺菌されてないことは明らかである。また結核病変組織における肉芽組織の形成は乏しく、しばしば高度で広範な壊死が見られる。こう言ったHIV合併結核の特徴の一部がHIV感染によるマクロファージ活性化の障害に由来するという仮説に基づいて、本研究は開始された。25OHD3が十分な濃度に達してなくても、M-M $\phi$ はBCGを殺菌し、その際CYP27B1遺伝子が高発現し、一方VDRとcathelicidin遺伝子はほとんど発現しないこと



がすでに確認されている。今年度は、25OHD3の濃度の上昇によって各遺伝子の発現レベルがどのように変化するか、またHIV-1を感染させたM-M $\phi$ では同様の条件で各遺伝子の発現が影響されるかどうか明らかにする予定である。

(18) 外国人結核に対する治療剤（ワクチン）の必要性及び多剤耐性結核に対する治療剤（ワクチン）の必要性。（表34）

- (a) 新しい結核治療剤に対しては必ず耐性結核菌が出現する。
- (b) 一方、結核治療ワクチンに対しては耐性結核菌は出現しない。
- (c) したがって、多剤耐性結核菌やXDR-TBに対する治療ワクチンの開発が必要である。

- (d) 外国人結核はMDR-TBが多い。
- (e) 我々が世界に先駆けて開発した結核治療ワクチンHVJ-エンベロップ/HSP65 DNA+IL-12 DNAワクチンは外国人結核治療に有効と考えられる。
- (f) 中国から日本の移民にスーパー・スプレッダー多剤耐性結核を我々は世界で初めて発見した。（日本のみならず中国のある都市にも12%でスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌が存在することも我々は発見）
- (g) さらに、我々はこれらのスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌にこのワクチンが治療効果を発揮することを明らかにした。（表35）

## E. 結論

### I. 日本の外国人結核

1. 外国人結核調査票年度別解析 2,136 例 (2006～2008 年全国保健所・病院 800 施設) 中 多剤耐性結核は 3.8%と高頻度。INH 耐性や RFP 耐性も高率。XDR-TB も存在。20 代が多い。国籍は中国、フィリピン、韓国の順に多い。来日 1～3 年発症多し。外国人結核患者数は年々増加。中国、フィリピン出身者が年々増加傾向。東京都、愛知県で増加。愛知県企業への移民増加示唆。患者管理上の問題として言語の壁や治療途中での帰国率が高いが、より詳細な問題点の解析を行った。(岡田) さらに強い感染力を持つスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌 (S・S 多剤耐性結核菌：我々が世界に先駆けて発見) が日本のみでなく、中国にも存在し、S・S 多剤耐性結核の患者の中国と日本の移動が示唆された。
2. 国立国際医療研究センターにおいて最近 5 年間で診療した外国人結核患者は 138 名であり、20～30 歳代の若年層が多く、日本人結核患者と比べて女性の率が高かった。国籍別では、中国、フィリピン、韓国の順に多く、最近 2 年間ではとくにフィリピン国籍の増加を認めた。全体 138 名のうち約 4 分の 1 は、東京都新宿区在住である。新宿区における結核罹患率は全国平均の 2 倍以上であり、その中でも外国人結核の割合は全結核患者の 11%程度と高く、国籍については韓国が多い傾向が続いていた。
3. 分子疫学研究 (小林、下内、切替)  
外国人結核菌株の RFLP 解析から、87 株のうち 30%は相同性 70%以上のクラスター I (グループ I) を、5 株 (6%) はクラスター II (グループ II) を形成。外国人結核患者の間で感染の可能性。「グループ I」ではそれ以外と比べて、中国、韓国など東アジア出身者が多く、薬剤耐性率や HIV 合併率が高い傾向であった。さらに、「グループ I」では蔓延型の北京型株が多く、日本人とのクラスター形成率が高い傾向にあった。以上のことから、中国、韓国など東アジアから蔓延型の北京型株が日本国内に入りこみ、日本人とクラスターを形成している可能性が示唆された。

4. 外国人結核・帰国者結核 (中国残留孤児で帰国した人や子育て支援に観光ビザで入国した人などが含まれる) の実態把握と対策 (豊田)
5. 大阪市における外国人結核の現状  
外国出生群では若年学生が多く、入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校における健診を強化する必要性が示唆された。塗抹陰性者が多く診断に苦慮するケースもあると予想され、外国人結核に関する医療機関への啓発が重要であると思われた。MDR-TB が多く、治療脱落、転出者が多い傾向にあり、外国人では最後まで治療を終えることができるよう支援していくことが重要であると考えられた。(下内)

### II. HIV合併

1. 2007年～2010年の間、結核病床を多数抱える国立病院機構 (NHO) 病院における HIV 感染症合併結核の実態調査を行った。NHO 病院 143 施設に対して調査票を送り、2007年～2010年の間に入院した HIV 感染症合併結核症例数の把握と臨床データの集積を行った。毎年、4000 人台の結核患者が入院し、そのうち HIV 陽性者は 15～19 人であり、率としては 0.34～0.46% (平均 0.4%) であった。ほぼ毎年、同程度の率で HIV 陽性者が入院することが分かった。HIV 感染症に合併した結核は、総数としては 68 例と多くはないが、今後増加するものと思われる。その中で多剤耐性結核は 3 例 (4.4%) であり、非 HIV の結核における頻度よりも高い。今後、HIV 感染症における多剤耐性結核に注意を払っていく必要がある。(永井)
2. 全国の HIV (エイズ) 診療拠点病院・結核診療病院 (国立病院機構を除く)、保健所を対象に、2007年から 2009年における HIV 合併結核症例の有無に関する調査の結果、HIV 合併結核のうち多剤耐性結核は 2 例であり、地域も異なっていたことから HIV 感染者の間で多剤耐性結核がまん延している状況はないと考えられた。医療機関からは合計 129 例の HIV 合併結核症例が報告され、一部重複例が存在すると思われるものの、結核登録情報システムによる HIV 合併症例数統計では把握されていない患者が存在すると推測された。症例を有する施設に対する匿

名化症例調査票を用いた二次調査によれば、外国人では何らかの薬剤耐性を有する例が13.8%であり、日本人の8.1%よりも多い傾向であった。RFP耐性の2例の出身国は東南アジアであり、多剤耐性でなかったものの引き続き耐性菌の動向には注意を要する。(藤田)

3. HIV合併結核129例(国際医療セ)男性91%、平均発症年齢39、外国籍24%、平均CD4数165、多剤耐性結核2.0%。治療に難渋する症例を認めるが、当センターでは結核での死亡例は認めなかった。世界と本邦では、HIV合併結核症例の結核による死亡率は大きな隔たりを認めた。(青木)

### III. 日本・中国・韓国・台湾の分子疫学研究

1. VNTRのMST解析で、日本、韓国の結核菌は北京型の“祖先型”、中国は北京型の“蔓延型”、韓国はRD181陽性、台湾は非北京型で、日、中、韓、台の結核菌は各々区分可能な発見。(加藤・前田)
2. シークエンサー全ゲノム比較で北京型と非北京型を型別できるSNP型別システム開発中。非北京型、北京型(蔓延型)、北京型(祖先型)の3つに分類可の発見。
3. SNPとVNTR法でアジア各国由来結核菌を区分・分類できる方法解析中。

### IV. アジア諸国の多剤耐性結核

1. タイでのHIV合併結核493名中活動性結核15.6%存在(野内)  
複十字病院とタイ・チェンライ県において、難治性結核患者(多剤耐性・再発・治療失敗例)の検体バンクとコホート研究を実施している。得られた疫学情報、臨床情報、細菌学的情報と共に、血液サンプルを活用して、結核の感染・発病と治療転帰のモデルに基づき、難治化していない新規の結核患者、及び結核を発症していない正常人と比較する事により、多角的に難治化に関する因子の同定を進めている。今年度は、日本における検体バンクと臨床疫学因子解析を進め、2007年1月1日より2011年10月末までに登録された結核患者1,909名において、外国と関連がある結核患者は109名で、そのうち多剤耐性結核患者は28名(25.7%)であった。これは、外国と関連のない結核患者1,800名での、多剤耐性結核患者67名(3.7%)と比べて、オッズ

比8.94(95%信頼区間5.46-14.6)と有意に高いものを同定した。海外からの多剤耐性結核は、外国人のみならず、日本国籍で渡航していた事例も認められ、分子疫学解析が期待される。

HIV合併結核研究としては、症例のあるタイにて潜在性結核感染の診断について、

IGRA(Interferon gamma release assay)がなされている247名を含む493名の属性を調査し、検体バンクを活用して検討を進める。

2. HIV合併結核バイオマーカーとしてgranulysin有望(タイ 櫻田)
3. ベトナムINH代謝NAT2遅延型は多剤耐性結核で少ない(慶長)
4. 中国ハルビン市では治療経験群の80%が薬剤耐性結核。北京型結核菌膜蛋白Rv0679の新診断法開発(服部)。  
黒竜江省のハルビン市胸部病院で2007年5月から2008年10月までに収集した結核菌の分子疫学的解析を行い、北京型はmodern type(蔓延型)が主流であることを明らかにした。

### V. 新しい迅速診断の開発・新ワクチン・化学療剤の開発

1. rpoBの変異を用いて、多剤耐性結核患者の迅速隔離方法を構築。2施設に普及。(鈴木、岡田)  
今後の多剤耐性結核の対策を考えるうえで、迅速な薬剤感受性検査法の確立は必須である。我々は、RFP耐性遺伝子変異の検出によるRFP耐性迅速診断法につき、多剤耐性結核のスクリーニング法としての有用性を含めて検討を行った。従来法の薬剤感受性試験と比べた場合の感度は93.3%、特異度は99.7%と優れた結果が得られ、本法はRFP耐性の迅速診断、ひいては多剤耐性結核の迅速診断法としてきわめて有用であると考えられた(露口)。
2. 多剤耐性結核に対する初めての治療ワクチンを開発(サルで)(岡田)。INHと結核治療相乗効果。皮内投与最適。新薬カプラザマイシンとも相乗効果。
3. HVJ-エンベロープ(HVJ-E)の治験用前臨床試験データを取得ほぼ完了(毒性・安全性・安定性試験)。
4. Granulysinは結核治療効果(岡田)。SLPIと相乗効果(竹田)。

・研究代表者(岡田全司)(表1, 2, 3, 4)

- (1) 日本全国:2006年~2008年の調査票(外国人結核)2,136例の対象者の年度別登録者数を解析(岡田)。日本の外国人結核は20代、国籍は中国、フィリピン、韓国の順に多い。多剤耐性結核は3.8%と高頻度。INH耐性やRFP耐性も高率。XDR-TBも存在。来日1~3年発症多し。2006年度は外国人結核患者数560人、2007年599人、2008年691人と年々増加。国籍別の年推移では、中国、フィリピン出身者が年々増加傾向。都道府県別年推移では東京都、愛知県、岐阜県が増加。愛知県周辺企業への移民増加示唆。(結核2011)患者管理上の問題として言語の壁や治療途中での帰国率が高いが、より詳細な問題点の解析を行った。さらに強い感染力を持つスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌(S・S多剤耐性結核菌:我々が世界に先駆けて発見)が日本のみでなく、中国にも存在し、S・S多剤耐性結核のある患者は中国と日本の移動が示唆された。
- (2) 外国人結核・帰国者結核(中国残留孤児で帰国した人や子育て支援に観光ビザで入国した人などが含まれている)の実態把握と対策(豊田)。将来的なことを考慮し、20才代や若年層の外国人結核を対象として、焦点を絞った検討と対策が必要と思われる。
- (3) 今後の多剤耐性結核の対策を考えるうえで、迅速な薬剤感受性検査法の確立は必須である。我々は、多剤耐性結核患者の迅速発見法(*rpoB*変異)を用い、多剤耐性結核患者迅速入院法及び病院内で多剤耐性結核が感染しない体制を構築した(鈴木、露口、岡田)。現在この方法を2施設で実施している。これの普及をさらに進める。従来法の薬剤感受性試験と比べた場合の感度は93.3%、特異度は99.7%と優れた結果が得られ、本法はRFP耐性の迅速診断、ひいては多剤耐性結核の迅速診断法としてきわめて有用であると考えられた(露口、岡田)。
- (4) 新結核治療ワクチン・化学療法剤:①ヒト結核感染に最も近いカニクイザルを用い、

HVJ-エンベロープ/HSP65+IL-12DNAワクチンの結核治療効果を世界で初めて報告(Clin.Devel.Imm.2011, Human Vaccine 2011)。XDR-TBに治療効果。INHと相乗的結核治療効果。皮内投与が最適で、筋肉内投与や皮下投与に比較して10倍ほど治療効果を増強。このワクチンの動物実験による前臨床試験データ取得:一般毒性・安全性試験(中島、岡田)。(7)前臨床試験:a.薬効薬理 b.安定(凍結乾燥)。(1)GMP製造で臨床応用可能。HVJ-Eの治療開始に必要な試験データ取得完了。②新化学療法剤カプラザマイシンはXDR-TB治療効果(マウス)。上記ワクチンと相乗的治療効果。

- (5) 外国人結核・輸入感染症結核に対する治療剤(ワクチン)の必要性及び多剤耐性結核に対する治療剤(ワクチン)の必要性。
  - (1)新しい結核治療剤に対しては必ず耐性結核菌が出現する。
  - (2)一方、結核治療ワクチンに対しては耐性結核菌は出現しない。
  - (3)したがって、多剤耐性結核菌やXDR-TBに対する治療ワクチンの開発が必要である。
  - (4)外国人結核・輸入感染症結核はMDR-TBが多い。
  - (5)我々が世界に先駆けて開発した結核治療ワクチンHVJ-エンベロープ/HSP65 DNA+IL-12 DNAワクチンは外国人結核治療に有効と考えられる。
  - (6)さらに、我々はこれらのスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌にこのワクチンが治療効果を発揮することを明らかにした。
- (6) 結核菌殺傷蛋白Granulysin(Gra)はキラーT分化因子活性も有することを発見。15kDa Gra(特許取得)ワクチンは結核治療効果(Human Vaccines 2011)。Graと上記DNAワクチンで結核治療相乗効果。killer secretory protein37(KSP37)の抗結核作用を初めて示した。

・研究分担者(小林信之)

- (1) 新宿区における外国人結核の割合は全結核患者の10%以上と高く、国籍では特に韓国が多い。
- (2) 外国人結核患者由来結核菌株のRFLP解析