

から、86株のうち26株(29%)は相同性70%以上のクラスターIを、5株はクラスターIIを形成していた。クラスター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い。

・研究分担者(下内昭) ①大阪市における外国人結核は増加。外国人結核はMDR及び治療脱落者が多く治療支援が重要。転出割合が高い。帰国時には母国にて治療が継続できる医療施設重要。②外国人結核のVNTR解析。③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。

・研究分担者(加藤誠也) ①IS6110遺伝子とVNTRのMST解析により、日本、韓国の結核菌は北京型の“祖先型”(75%)。中国は北京型の“蔓延型”(90%)、韓国はRD181陽性、台湾は非北京型で、遺伝的背景は異なることを発見。日、中、韓、台の結核菌は各々区分可能な発見。②9月1日 日・中・韓会議。次世代シーケンサーを用いた全ゲノム比較で、北京型と非北京型結核菌の双方を網羅的に型別できるSNP型別システムを提案。臨床分離結核菌の2箇所SNP解析で、非北京型、北京型(蔓延型)、北京型(祖先型)の3つに分類可。リアルタイムPCRシステム(サイクリングプローブ)でSNP解析系を確立中。③各国で200株程度を分析。④各国での結核菌の系統情報とVNTR法による個別株の型別情報が集積。識別能が高い有用なデータベースを構築。

・研究分担者(永井英明) 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。

・研究分担者(藤田明) 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、多剤耐性が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。

・研究分担者(服部俊夫) 中国ハルピンの薬剤耐性結核3年間調査。治療経験群の薬剤耐性結核80%。北京型結核菌の特異的変異のRv0679c遺伝子を用いて特異診断法開発。(J.Clin.Mic. 2011) 黒竜江省のハルピン市胸部病院で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、北京型は蔓延型が主流であることを明らかにした。

・研究分担者(櫻田紳策) ベトナム・タイにおけるHIV合併結核患者血液検体を用いたバイオマーカーとしての末梢血細胞内血漿Graの発現検討。(Micro.Imm.2011)

・研究分担者(慶長直人) ホーチミン市58名の多剤耐性結核患者の、INH代謝関連遺伝子NAT2の検討。多剤耐性結核患者では健常人に比較して遅延型が少ない。

・研究分担者(野内英樹) ①難治性結核の分子疫学解析として、複十字病院の結核登録患者1,909名中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は25.7%と高率。②タイでのHIV合併結核研究として493名を調査。CD4数は200未満が65.3%。活動性結核は15.6%。

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、及び結核症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。

・研究分担者(青木孝弘) 国立国際医療研究センター病院におけるHIV合併結核患者129例(1996~2010年)の後視的検討。男性91%、平均発症年齢39歳で、24%は外国籍。通院中の発見例が27%で、67%は結核発症を機にHIV感染判明。発症時平均CD4数は165。喀痰塗抹陽性42%。12%に抗結核剤に対する耐性が認められたが、多剤耐性(INH・RFP含む)は2%。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。

・研究分担者(竹田潔) ①SLPIワクチンは結核治療効果。Graとの相乗効果。②細胞内DNAセンサーであるAIM2の欠損マウスが結核感染に感受性。

・研究分担者(鈴木克洋) 多剤耐性結核の迅速診断・迅速隔離症例を多数解析。80%以上の確率で迅速隔離。ラインプローブ・アッセイ自動化検討。

臨床開発用DNAワクチンの構築

HSP-65とIL-12遺伝子は1つのプラスミドで発現される

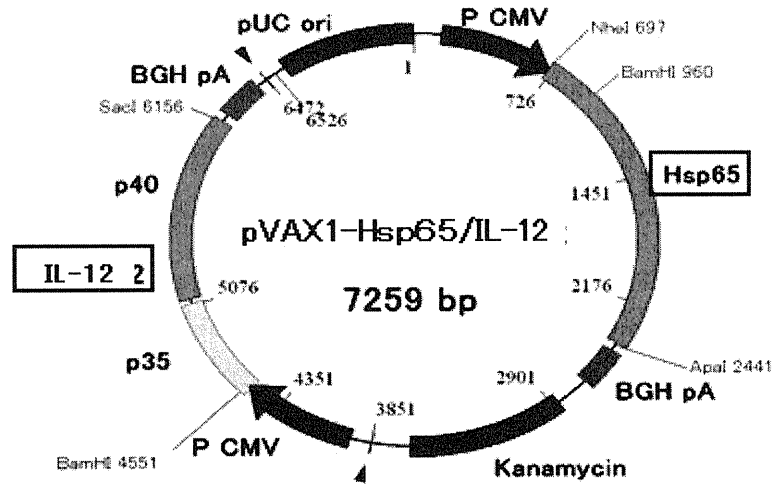


図 1 5

表 3 2

IL-2 production from PBL in the survived monkeys and the non-survived monkeys.

G4 (saline control)	IL-2 production (U/mL) (PPD stimulation)			survival
	Base line	Day 53 Post-challenge	Day 81 Post-challenge	
ID of monkeys				
PR6847 D	0.0	69.0	46.2	Survival
PR8018 B	0.0	124.2	75.8	Survival
PR5368 B	10.2	138.9	25.0	Survival
PR PbB 2-4 F	0.0	10.0	8.1	Non-Survival
PrZ 7-51 AC	0.0	2.6	3.8	Non-Survival

表 3 3

IL-2 production from PBL in the survived monkeys and the non-survived monkeys

G4 (saline control)	IL-2 production (U/mL) (Hsp65 stimulation)		survival
	Base line	Day 53 Post-challenge	
ID of monkeys			
PR 6847 D	0.0	21.1	Survival
PR 8018 B	0.0	43.2	Survival
PR 5368 B	0.0	43.2	Survival
PR PbB 2-4 F 94日	0.0	0.0	Death (after 41 days)
PrZ 7-51 AC 112日	0.0	0.0	Death (after 55 days)

Therapeutic efficacy of intradermal (id.) vaccination of HVJ-Envelope/Hsp65DNA+IL-12DNA compared to intramuscular (im.) or subcutaneous (s.c.) vaccination using intratracheally aerosol infected DBA/1 mice

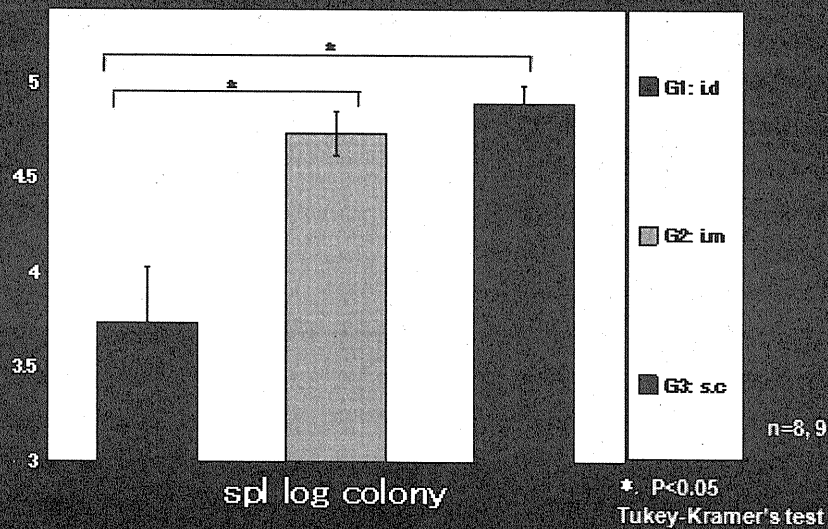


图 1 6

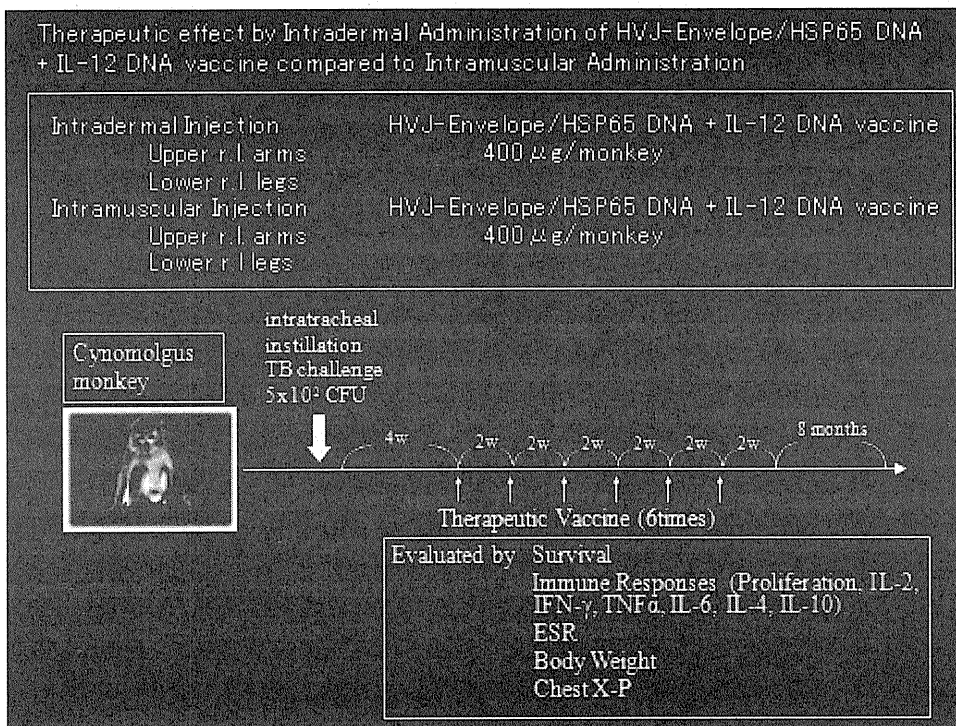


图 1 7

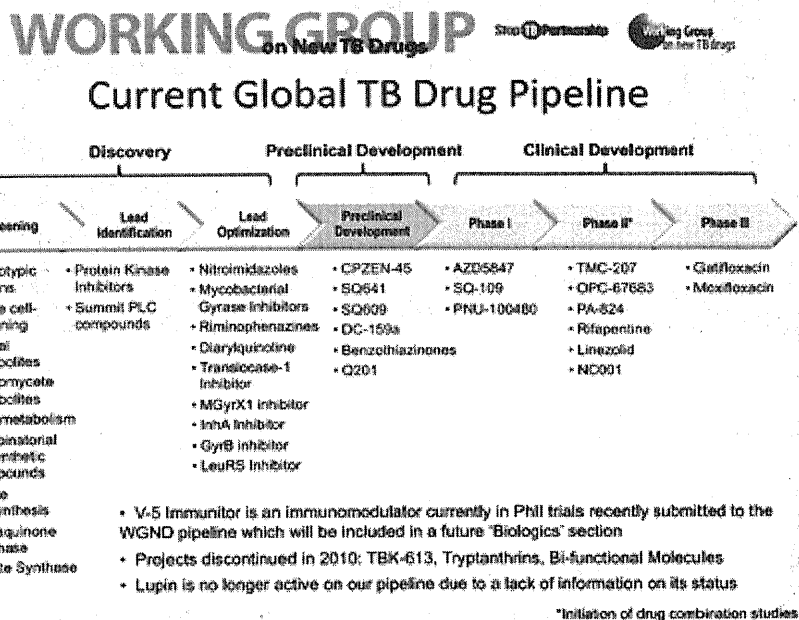


图 1 8

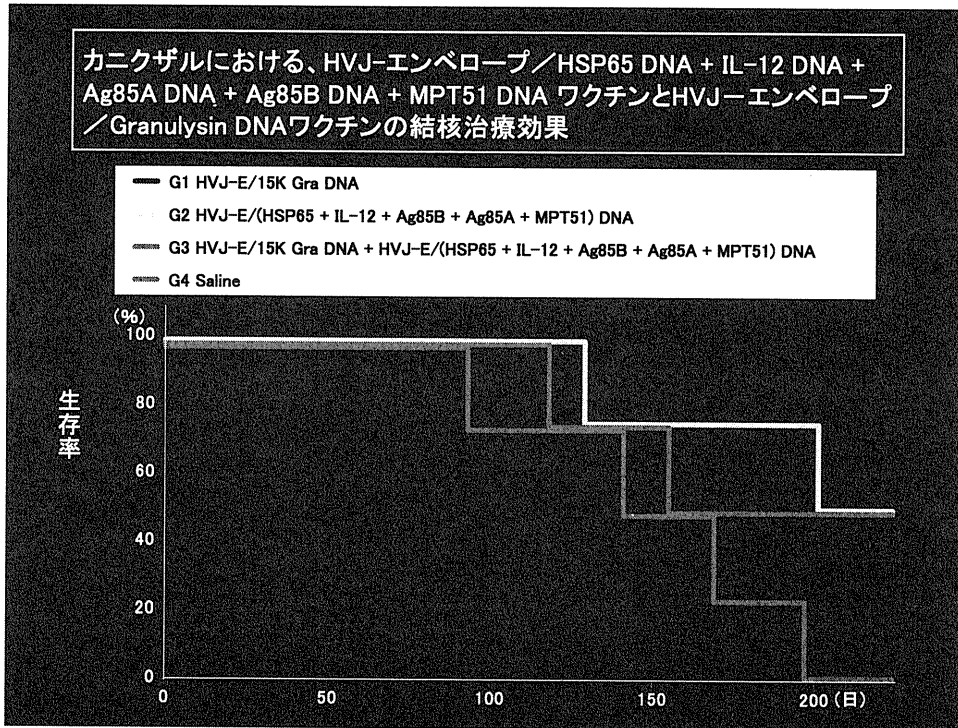


図19

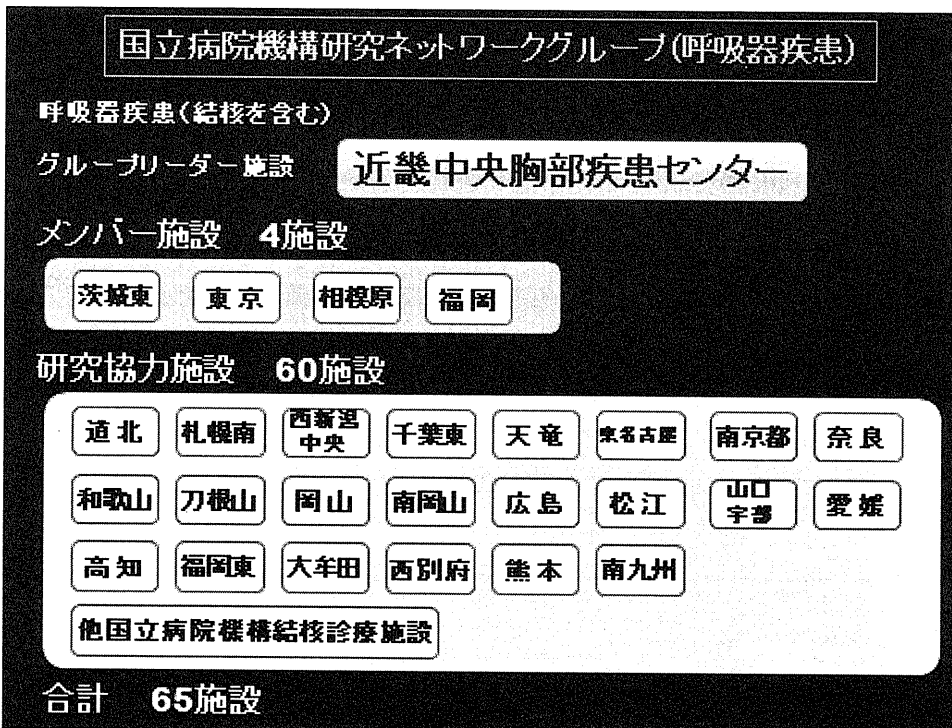


図20

外国人結核に対する治療剤（ワクチン）の必要性
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) 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）
- (7) 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。

G. 研究発表

(1) 論文発表

1. 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, McMurray DN, Sakatani M.: Novel prophylactic vaccine using a prime-boost method and hemagglutinating virus of Japan-envelope against tuberculosis. Clin Dev Immunol. 2011:ID549281
2. Okada M, Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Uchiyama Y, Mihara M, Inoue Y, Ohsugi Y, Kishimoto T, Sakatani M.: Anti-IL-6 receptor antibody causes less promotion of tuberculosis infection than anti-TNF- α antibody in mice. Clin Dev Immunol. 2011:ID404929.
3. Pitabut N, Mahasirimongkol S, Yanai H, Ridruechai C, Sakurada S, Dhepakson P, Kantipong P, Piyaworawong S, Moolphate S, Hansudewechakul C, Yamada N, Keicho N, Okada M, Khusmith S.: Decreased plasma granulysin and increased interferon-gamma concentrations in patients with newly diagnosed and relapsed tuberculosis. Microbiol Immunol. 55(8):565-573, 2011.
4. Siddiqi UR, Punpunich W, Chuchottaworn C, Jindaku S, Ashino Y, Saitoh H, Okada M, Chotpittayasunondh T, Hattori T.: Elevated anti-tubercular glycolipid antibody titers in healthy adults as well as in pulmonary TB patients in Thailand. International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases. 16(4):532-538, 2012
5. 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 Vaccines. 7: 60-67, 2011
6. 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 Vaccines. 7: 108-114, 2011
7. Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Kaneda Y, Saunderson P, Tan E.V., N.McMurray D.: A Novel Therapeutic and Prophylactic Vaccine against Tuberculosis Using the Cynomolgus Monkey Model and Mouse Model. Procedia in Vaccinology. (in press)
8. 吉田志緒美, 露口一成, 岡田全司, 鈴木克洋, 林清二, 富田元久, 斎藤肇 Mycobacterium abscessus とその近縁菌 Mycobacterium massiliense および Mycobacterium bolletti との鑑別 結核86巻5号 Page557-558(2011.05)
9. 岡田全司. 新たな結核ワクチン. 感染・炎症・免疫 41:46-51, 2011

(2) 学会発表

国際学会発表

1. Okada M. A Novel Therapeutic Vaccine (HVJ-Envelope/HSP65 DNA+IL-12 DNA) Against Tuberculosis Using the Cynomolgus Monkey Model. Gordon Research Conferences, 3-8 Jul, 2011, Lucca, Italy.
2. M Okada, T Nakajima, Y Kaneda, P Saunderson, E V.Tan. A Novel Therapeutic and Prophylactic Vaccines against Tuberculosis Using the Cynomolgus Monkey Model and Mouse Model. 5th Vaccine and ISV Annual Global Congress, 2-4 Oct, 2011, Seattle, USA.
3. M Okada, Y Kita, N Kanamaru, S Hashimoto, T Nakajima, Y Kaneda, P Saunderson, E V.Tan. Novel therapeutic vaccines against

tuberculosis using the cynomolgus monkey model. 42th IUATLD (The International Union Against Tuberculosis and Lung Disease), 11-15 Nov, 2011, Lille, France.

4. Okada M, Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Nakajima T, Kaneda Y, E V.Tan, P Saunderson, Hayashi S. NOVEL VACCINES AGAINST TUBERCULOSIS AND DIFFERENTIATION OF CTL. 46th Tuberculosis and Leprosy Research Conferences. US-JAPAN Cooperative Medical Science. 124-128, 2011
5. Okada M. A novel therapeutic and prophylactic vaccines against tuberculosis by the activation of CTL in monkey models and murine models. Phacilitate vaccine forum, 19-21 Sep, 2011, Singapore.
6. A Novel Therapeutic Vaccine (HVJ-Envelope/HSP65 DNA+IL-12 DNA) against Tuberculosis by the Augmentation of Immune Responses Using Monkey Models, M Okada, Y Kita, N Kanamaru, S Hashimoto, S Nishimatsu, T Nakajima, Y Kaneda, P Saunderson, E V.Tan, D McMurray. 51th ICAAC (Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy), 17-20 Sep, 2011, Chicago, USA

国内学会

1. 喜多洋子, 金丸典子, 井上義一, 林清二, 岡田全司 : ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いた結核に対する新しい予防・治療ワクチン開発と免疫機構解析. 結核 86巻3号, Page 385 (2011.03)
2. 岡田全司, 喜多洋子, 金丸典子, 井上義一, 林清二 : 新しい結核治療ワクチンの開発(SCID-PBL/huマウスとDBA/1マウスを用いた). 結核86巻3号 Page384(2011.03)
3. 岡田全司, 金丸典子, 喜多洋子, 林清二, 小林信之, 切替照雄, 豊田恵美子, 下内昭, 加藤誠也, 星野齊之, 小向潤: 本邦における外国人結核に対する調査研究. 結核86巻3号 Page331(2011.03)
4. 金丸典子, 喜多洋子, 林清二, 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巻3号, Page387 (2011.03)

5. 吉田志緒美, 露口一成, 鈴木克洋, 岡田全司, 林清二, 和田崇之, 岩本朋忠, 田丸亜貴: VNTR解析活用における課題について. 結核 86巻3号, Page319(2011.03)
6. 松本智成, 阿野裕美, 岡田全司, 鈴木克洋, 露口一成, 喜多洋子, 金丸典子, 安部聖裕, 西村一孝, 田尾義昭, 村上一生, 豊田恵美子, 中島由槻, 四元秀毅, 坂谷光則: 国立病院機構呼吸器ネットワークを利用し入手した薬剤感受性結核菌のVNTR解析. 結核 86巻3号 Page319(2011.03)
7. 櫻田紳策, 田中崇裕, PitabutNada, KhusmithSrisin, 赤川清子, 岡田全司, 慶長直人: タイ人HIV結核合併患者におけるgranulysinに関する検討. 日本エイズ学会誌(1344-9478)13巻4号 Page347(2011.11)
8. 藤山理世, 樋口純子, 白井千香, 河上靖登, 岩本朋忠, 鈴木克洋, 岡田全司, 坂谷光則, 森亨, 若林一郎: 新しい結核感染診断法QFT-2Gの有用性接触者健診における「接触度」を用いたツベルクリン反応検査との比較検討. 結核 (0022-9776)86巻11号 Page869-877(2011.11)
9. 喜多洋子, 金丸典子, 岸上知恵, 橋元里実, 高見泰子, 仲谷均, 西松志保, 名倉香織, 林清二, 小林信之, 豊田恵美子, 下内昭, 加藤誠也, 星野齊之, 岡田全司: 本邦における外国人結核に対する調査研究. 国立病院総合医学会講演抄録集65回 Page407(2011.10)
10. 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. 国立病院総合医学会講演抄録集65回, Page406 (2011.10)
11. 吉田志緒美, 露口一成, 鈴木克洋, 富田元久, 岡田全司, 林清二, 岩本朋忠: 遺伝子型別解析から推定されたりファンピシン単独耐性結核菌の地域拡散. 国立病院総合医学会講演抄録集65回 Page333(2011.10)
12. 豊田恵美子, 岡田全司, 鎌田有珠, 藤内智, 齊藤

- 武文, 大平徹郎, 三輪清一, 小川賢二, 佐藤敦夫, 前倉亮治, 田村猛夏, 駿田直俊, 矢野修一, 多田敦彦, 重藤えり子: 高齢者結核の実態調査. 国立病院総合医学会講演抄録集65回 Page332 (2011.10)
13. 橋元里実, 喜多洋子, 金丸典子, 高見泰子, 仲谷均, 岸上知恵, 西松志保, 名倉香織, 林清二, 吉田栄人, 中島俊洋, 金田安史, TanE.V., ポール・サウンダーソン, 岡田全司: 結核医療におけるチェンジとチャレンジ 新しい結核予防・治療ワクチンの開発(ヒト結核モデルに最も近いカニクイザルを用いた). 国立病院総合医学会講演抄録集65回 Page231(2011.10)
14. 吉田志緒美, 露口一成, 岡田全司, 鈴木克洋, 林清二, 富田元久, 岩本朋忠: リファンピシン単独耐性結核菌の分子疫学的解析. 結核(0022-9776)86巻10号 Page845(2011.10)
15. 吉田志緒美, 露口一成, 鈴木克洋, 岡田全司, 和田崇之, 岩本朋忠: 遺伝的背景の異なる結核菌北京型株の薬剤耐性獲得能力の差異に関する検討. 感染症学雑誌(0387-5911)85巻5号 Page549 (2011.09)
16. 金丸典子, 喜多洋子, 林清二, 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(0022-9776)86巻3号 Page387(2011.03)
17. 喜多洋子, 金丸典子, 橋元里実, 西田泰子, 仲谷均, 高尾京子, 岸上知恵, 西松志保, 関根有紀, 吉田栄人, 中島俊洋, 林清二, 金田安史, TanE.V., Dela CruzE.C., SaundersonPaul, 岡田全司: 呼吸器感染症 ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いた新しい結核治療ワクチン開発と免疫機構解析. 日本呼吸器学会雑誌(1343-3490)49巻増刊 Page116(2011.03)
18. 岡田全司, 喜多洋子, 金丸典子, 橋元里実, 西田泰子, 仲谷均, 高尾京子, 岸上知恵, 西松志保, 関根有紀, 井上義一, 吉田栄人, 中島俊洋, 金田安史, 林清二: 呼吸器感染症 DBA/1マウスを用いた新しい結核治療ワクチン(Hsp 65 DNA+IL-12 DNA)の開発. 日本呼吸器学会雑誌(1343-3490)49巻増刊 Page116(2011.03)
19. 吉田志緒美 露口一成, 鈴木克洋, 岡田全司, 和田崇之, 岩本朋忠: 遺伝的背景の異なる結核菌北京型株の薬剤耐性獲得能力の差異に関する検討. 感染症学雑誌(0387-5911)85巻2号 Page198 (2011.03)
20. 喜多洋子, 金丸典子, 橋元里実, 西田泰子, 仲谷均, 高尾京子, 岸上知恵, 西松志保, 関根有紀, 吉田栄人, 中島俊洋, 林清二, 金田安史, E. V. Tan, E. C. Dela Cruz, Paul Saunderson, 岡田全司: ヒト結核感染モデルに最も近いカニクイザルを用いた新しい結核治療ワクチン開発と免疫機構解析. 第51回日本呼吸器学会学術講演会. 2011年4月22・23日, 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
 - ① 岡田全司, 高森靖, 小川一行, 永田欽也
「感染症治療剤 15K granulysin」WO
03/070268 A1
2002年
 - ② 岡田全司, 吉田栄人, 中島俊洋, 松本真
「結核ワクチン HVJ-liposome/Hsp65
DNA+IL-12 DNA」
整理番号: MED-A0504
受付番号: 50501768464
特許番号: 特願2005-280379
提出日: 2005年9月27日
発明の名称: DNAワクチン組成物
2005年
 - ③ 岡田全司, 高森靖, 安井正文
「感染症治療剤15K granulysin」
特許取得2008年7月4日
特許4149713号
2008年
2. 実用新案登録
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・再興感染症研究事業） 分担研究報告書

多剤耐性結核と HIV 合併の実態把握と対策

研究分担者 永井英明 国立病院機構東京病院 呼吸器疾患センター

研究要旨

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 $153/\mu\text{l}$ であり、CD4 数別の患者数の分布を見ると、CD4 数 $200/\mu\text{l}$ 未満の症例が 67.2%、 $100/\mu\text{l}$ 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。

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、 $31/\mu\text{l}$ 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。

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。

A. 研究目的

細胞性免疫が著しく低下する AIDS 患者では結核の発病リスクは健常者の 170 倍といわれている。わが国では HIV 感染者は増加傾向にあり、結核中まん延国であるわが国では HIV 感染者が結核を発病するリスクは欧米の国々に比べ非常に高いといえる。

HIV 合併結核では多剤耐性結核を合併した場合、きわめて予後不良である。米国では 1992 年までに 8 カ所の病院、矯正施設で MDR-TB による結核の集団発生があり、発病した患者の 80%以上は HIV 感染者であった。死亡率は 72-89%と極めて高く、全経過 4-16 週間と短期間であった。南アフリカからの報告では、結核患者 544 名中 53 名が XDR-TB であり、そのうち 52 名が 16 日（中央値）で死亡し、うち 44 名が HIV 陽性であった。

本研究では日本における HIV 合併多剤耐性結核の現状を把握し、対策を探ることを目的

としている。

B. 研究方法

『HIV 感染症合併結核の実態調査と対策についての研究』において、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。臨床データは、年齢、性別、国籍、結核の病態、治療、免疫再構築症候群の合併、転帰等である。その中から多剤耐性結核例の抽出を試み、分析した。

C. 研究結果

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/ μ l であり、CD4 数別の患者数の分布を見ると、CD4 数 200/ μ l 未満の症例が 67.2%、100/ μ 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。

表 1 HIV 感染症に合併した多剤耐性結核患者

年齢	性別	国籍	結核診断時の CD4 数 (μ l)	結核診断時の HIV 量 (copies/ml)	結核の病型	結核の転帰	抗結核薬の耐性								
							INH	RFP	EB	PZA	SM	KM	EVM	LVFX	
40代	男	中国 (チベット)	95	6.4×10^4	肺結核	死亡	○	○	○		○				
40代	男	日本	48	3.1×10^5	肺結核	治癒	○	○	○	○	○				○
30代	男	日本	31	2.05×10^6	粟粒結核	治療中	○	○	○			○	○		

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 (表 1) 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/ μ 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。

D. 考察

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。

E. 結論

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。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Komiya K, Ariga H, Nagai H, Kurashima A, Shoji S, Ishii H, Nakajima Y.

Reversion rates of QuantiFERON-TB Gold are related to pre-treatment IFN-gamma levels. J Infect 63: 48-53, 2011

2. Ariga H, Nagai H, Kurashima A, Hoshino Y, Shoji S, Nakajima Y. Stratified Threshold Values of QuantiFERON Assay for Diagnosing Tuberculosis Infection in Immunocompromised Populations. Tuberculosis Research and Treatment. Volume 2011, Article ID 940642

3. 三上優、有賀晴之、大島信治、永井英明. 新型インフルエンザAの感染を契機に呼吸器疾患を合併し入院となった成人6例と季節性インフルエンザとの比較. 感染症誌 85: 144-149, 2011

4. 永井英明. HIV感染症と結核・非結核性

抗酸菌症. 日本胸部臨床 70:469-478, 2011

5. 永井英明. ワクチン接種のルールとスケジュール設計 4. 高齢者. 薬局 62: 74-78, 2011
 6. 永井英明. ワクチンの有効性と安全性: インフルエンザワクチン. 医薬ジャーナル 40:790-793, 2011
 7. 永井英明. 【結核医療が変わる】多剤耐性結核の現況. 感染と抗菌薬 14:201-205, 2011
 8. 永井英明. 診断の進歩 QFT の新しい展開. Annual Review 呼吸器 2011. 187-192, 2011
 9. 久能木真喜子、川辺芳子、鈴木純子、島田昌裕、金子有吾、松井芳憲、川島正裕、大島信治、有賀晴之、益田公彦、松井弘稔、田村厚久、永井英明、赤川志のぶ、長山直弘、豊田恵美子、町田和子、中島由槻. 結核標準治療が行えない症例における levofloxacin の使用状況と治療成績の検討. 結核 86:773-779, 2011
 10. 石井崇史、松井芳憲、長山直弘、檜垣直子、戸根一哉、日下圭、妹尾真美、有賀晴之、大島信治、益田公彦、松井弘稔、寺本信嗣、山根章、村厚久、永井英明、赤川志のぶ、豊田恵美子、庄司俊輔、中島由槻. 結核性胸膜炎の治療中に対側胸水を呈した1例. 結核 86:723-726, 2011
- ### 2. 学会発表
1. Nagai H. "Geriatric Patients in Japan" in Symposium (13) Tuberculosis in special settings and its management. 3rd Asia-Pacific Region Union Conference International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases 8-11 July 2011 Hong Kong

2. 永井英明. 日本結核病学会との共同企画
「潜在性結核をどのように見つけるか、
治療対応をどうするか」HIV 感染症、第
51 回日本呼吸器学会学術講演会、
2011/4/2

- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

日本、中国、韓国および台湾で分離される結核菌の型別解析

研究分担者 加藤誠也 結核予防会結核研究所 副所長
研究協力者 前田伸司 結核予防会結核研究所 抗酸菌リファレンス部
結核菌情報科 科長

研究要旨

東アジアに位置する日本、中国、韓国、台湾では近年、ビジネスや観光で多くの人々がそれぞれの国を訪れている。そのため、人の移動に伴い結核をはじめとした感染症も輸入・輸出されている可能性がある。これらの地域では、台湾を除き北京型結核菌の割合が高いという共通の特徴を持っている。また、結核罹患率は先進諸国に比べて高く、罹患率を低下させるためには今後も精力的な対策が必要である。このような対策のひとつとして、各国の分子疫学担当者と会議を持ち、型別データを共有できる反復配列多型 (VNTR) システムの構築を進めている。さらに、各国で広まっている北京型結核菌内でも遺伝的系統が異なる株が多く含まれていることから、効率よい VNTR ローサイの選択のためにも、次世代シーケンサーを用いた解析から報告されている一塩基多型 (SNPs) 分析法を利用して結核菌を遺伝系統的にグループ分けできる新しいシステムの構築を行った。本システムを利用して実際に各国で結核菌株の解析を進め、この SNP 解析が東アジア諸国での共通な方法として利用できるか検証を行う予定である。

研究協力者

韓国

韓国結核研究所
分子疫学部門長 Dr. Park,
Young-Kil

中国

中国疾病管理予防センター(CDC)
結核研究部長 Dr. Zhao, Yan-Lin
上海市疾病管理予防センター(CDC)
結核部門長 Dr. Mei, Jian
上海 Fudan 大学医学部
微生物教室 教授 Dr. Gao, Qian

台湾

台湾疾病管理予防センター(CDC)
抗酸菌部部長 Dr. Jou, Ruwen

日本

神戸市環境保健研究所
岩本朋忠
大阪市立環境科学研究所
和田崇之

及びそれらの国からの来日者が増加している。これら人の移動に伴い結核を含めた感染症がアジア地域内の国々に広まる可能性も考えられる。また、台湾を除きこれらの国々では、北京型結核菌がそれぞれの国内で広まっているという共通の地域性があり、他の地域とは異なる特徴を持っている。そこで、東アジア諸国内で共通で利用できる結核菌型別システムの構築を目的として共同研究を開始した。結核菌の型別法として、比較が難しい IS6110 制限酵素断片長多型 (RFLP) 分析ではなく、迅速で容易に型別結果を比較できる反復配列多型 (VNTR) 分析法を採用した。VNTR 分析では、分析ローカスの選択が分解能を決定する上で最も重要である。将来のデータベース化および型別データの比較には共通のローカスで結核菌の型別を行う必要がある、それぞれの研究者間でコンセンサスを得る必要がある。さらに、次世代シーケンサーの情報から得られた一塩基多型 (SNP) 解析を行い、各国で既に広まっている結核菌の系統情報を調べることで、型別する方法についても本研究で検討する。そのために、各国から結核菌

A. 研究目的

近年、日本から中国、韓国、台湾への渡航

の分子疫学を専門とする研究者を集めて会議を開き議論を行った。

東アジア諸国で共通の SNP 解析や VNTR 分析システムを構築し、型別情報の蓄積と情報交換ができれば、例えば、各国で広がっている多剤耐性菌や病原性の高い株の型別情報を共有することができる。

B. 研究方法

日中韓台分子疫学研究会議

平成 23 年 9 月 1 日大阪で結核菌の分子疫学担当者会議を開催した。VNTR 分析は株毎に複数ローサイを PCR にかけて、得られた PCR 産物の分子量を測定する必要がある。しかし、SNP 解析ならプローブとプライマーの設計さえ行えば、リアルタイム PCR の系で簡便に分析・型別することができる。VNTR より簡便・迅速に結果が得られるので、SNP 法を使った型別法を先行して導入することで承認が得られた。

その後、本研究において採用すべき SNP サイトについて議論した。次世代シーケンサーを用いた全ゲノム比較で報告されている SNP サイトをまとめて、北京型と非北京型結核菌の双方を網羅的に型別できる SNP 型別システムを各国参加者に提案した。

C. 研究結果

1. SNP 解析のローサイと分析法

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 箇所の 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 箇所の分析で結核菌は、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 箇所の SNP 分析、北京型 (Ancient) はさらに 10 箇所、北京型 (Modern) はさらに 6 箇所の 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プ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。

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)。

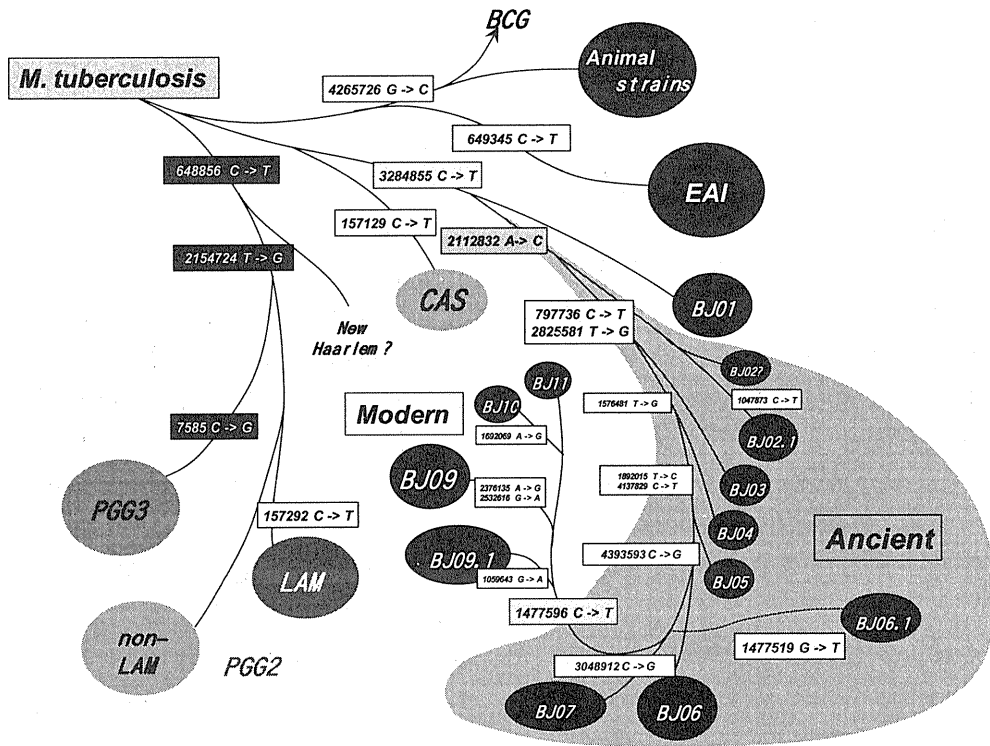


図 臨床分離結核菌の SNPs 解析
本 SNP 遺伝系統解析により結核菌は 23 系統に区分できる

表 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%

D. 考察

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。

E. 結論

近年、人の移動が活発になり、感染症が流入する可能性が高まっている。SNP 分析等共有できる型別法の開発が進み、それぞれの国で広まっている結核菌の特徴を明らかにすることができれば、将来的に感染した国（結核菌由来）を推定することも可能となる。近隣諸国で問題となっている病原性の高い結核菌や多剤耐性結核菌などを特定して監視可能な遺伝子型情報を共有することができれば、注意すべき高病原性結核菌の流入を早期に把握するためのシステムの確立が可能となる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし（結果がまとまり次第、発表の予定）

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

国立国際医療研究センターにおける外国人結核の臨床像と分子疫学解析

研究分担者 小林信之 国立国際医療研究センター病院 呼吸器内科医長

研究協力者 切替照雄 国立国際医療研究センター研究所 感染症制御研究部長

研究要旨

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、当センターの位置する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。当センターで経験した外国人結核患者由来株87株についてRFLP解析を実施した結果、相同性70%以上の株を「グループ」と定義すると、全体の30%は「グループI」を、6%は「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。

A. 研究目的

わが国における外国人結核の比率は増加傾向にあり、とくに結核蔓延国からの多剤耐性結核の持ち込みは新たな脅威として認識されている。国立国際医療研究センターは東京都新宿区に位置し、多くの外国人結核患者を診療しているが、前研究班では、日本人結核と比べて薬剤耐性率の高いことを示した。本年度の研究では、最近の外国人結核の発病と治療の現状を把握することを目的に、当センターの外来および入院で経験した外国人結核の臨床像について、さらに、新宿区保健所のデータをもとに新宿区における外国人結核患者の経時的推移を含めて検討する。また、当センターの外国人結核患者由来株を取得してRFLP解析を行い、新宿区保健所および結核研究所との共同研究によって、蔓延国由来の結核菌が日本の中に入り込んでいるかどうか、その実態について明らかにする。

B. 研究方法

国立国際医療研究センターにおいて2007年1月から2011年10月の間に診療した外

国人結核患者を対象として、性別、年齢、国籍、社会背景、基礎疾患、合併症、塗抹、培養、薬剤耐性、転帰などの臨床的特徴について調査した。さらに、当センターの位置する東京都新宿区における外国人結核の臨床像を把握することを目的に、新宿区保健所のデータを基に、その年次別の結核罹患率、年次別の外国人結核患者の新規登録数とその割合、国籍別患者数などについて検討した。

前研究班では、当センターで診療した外国人結核患者由来株を用いたIS6110-probed RFLP分析（解析ソフトFingerPrinting II (Bio-Rad)を使用して解析）により、70%以上の相同性を認める2つの「グループ」が検出されたことを報告した。本年度は、それぞれのグループに属する外国人結核患者の臨床情報を収集し、その特徴や遺伝子型について検討した。その中で、新宿区在住の外国人結核患者20名については、新宿区の結核患者の分子疫学データをもとにクラスター形成率を求めた。なお、新宿区における結核患者の分子疫学解析については、新宿区保健所（島 史子先生）と結核研究所（石川信克先生、大角晃弘先生、村瀬良

朗先生)にご協力をいただいた。

C. 研究結果

国立国際医療研究センターにおいて、2007年1月から2011年10月の間に診療した外国人結核患者は138名であった。年齢は20～30歳代の若年層が多く、性別では日本人結核患者と比べて女性の率が高い。このことは、年次推移をみても大きな変化はなかった。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、国籍ではとくに韓国が多い傾向が続いていた(図1)。当センターで扱う外国人結核患者のうち新宿区在住者は4分の1程度に過ぎず、最近2年間で増加しているフィリピン国籍の結核患者は新宿区以外に居住していることが示唆された。新宿区では多剤耐性菌はほとんどみられていない。日本語学校健康診断による発見率は0.18%(H18-22年)であった(図2・図3)。

当センターで経験した外国人結核患者由来株のRFLP解析から、86株のうち26株(30%)

は相同性70%以上の「グループI」を、5株(6%)は「グループII」を形成していた(図4)。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61.5%と多く、薬剤耐性率は7.6%に認め、HIV陽性率は11.5%と高い傾向がみられた。入国1年未満の患者はグループIで38.4%、グループIIで0%、その他で37.5%であった。遺伝子型に関しては、グループIでは北京型(Modern)67%、北京型(Ancient)33%、非北京型0%に対して、グループIIでは非北京型が100%であった。グループI、II以外では北京型(Modern)8%、北京型(Ancient)23%、非北京型70%であった。新宿区に居住している外国人結核患者は20名で、そのうち8名はグループIに属し、日本人とクラスターを形成しているのは5例(62.5%)であった。グループIIに属している者はいなかった。グループI、II以外の12例については、日本人とのクラスター形成者は4例(33%)であった(表1)。

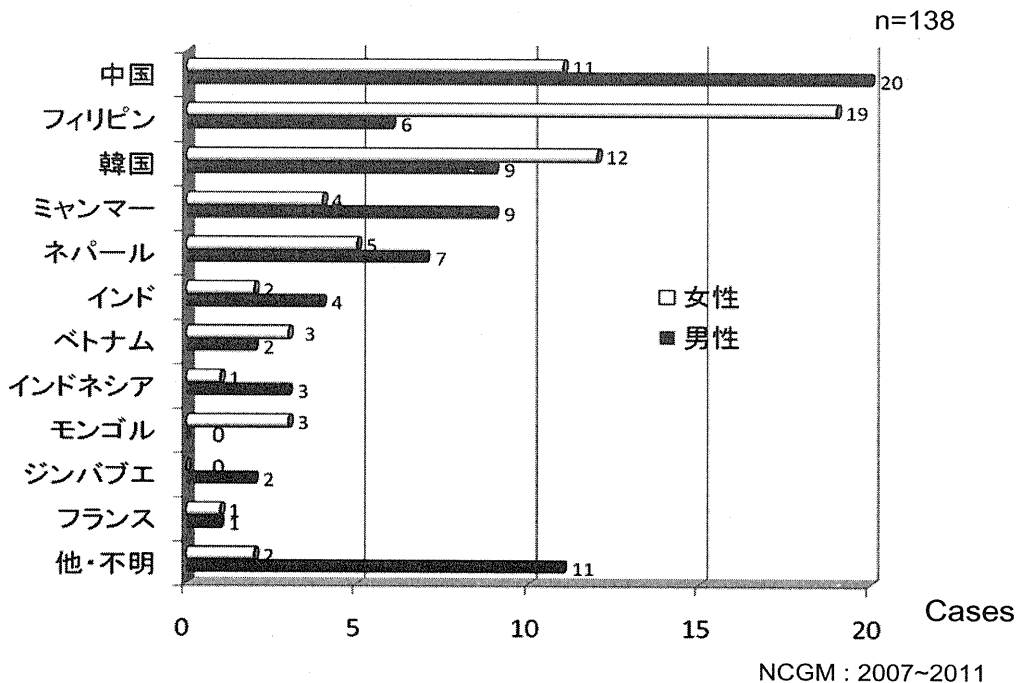


図1 国立国際医療研究センターにおける外国人結核患者の出身国別分布