

201225024A

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

海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 岡田 全司

平成 25 (2013) 年 5 月

目 次

I. 総括研究報告			
海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究	岡田全司 (鈴木克洋)	-----	1
II. 分担研究報告			
1. 多剤耐性結核とHIV合併の実態把握と対策	永井英明	-----	69
2. 日本、中国、韓国および台湾で分離される結核菌の 一塩基多型 (SNP) を用いた型別	加藤誠也	-----	72
3. 東京都および新宿区における外国人結核の臨床像と分子 疫学解析	小林信之	-----	76
4. 全国病院施設・保健所との連携による多剤耐性結核と HIV合併の実態把握と対策	藤田 明	-----	82
5. 黒竜江省で収集した結核菌の薬剤感受性	服部俊夫	-----	86
6. 日本（大阪・神戸・西日本）における海外から輸入される 結核の実態把握及び分子疫学的解析	下内 昭	-----	90
7. 難治性結核の分子疫学解析とHIV合併結核研究	野内英樹	-----	94
8. ベトナム多剤耐性結核の宿主要因に関する研究	慶長直人	-----	99
9. HIV合併結核の病態に関する研究	櫻田紳策	-----	105
10. アジア諸国・日本の外国人多剤耐性結核患者TLR・リポカ リン2の反応性と治療ワクチン開発の研究	竹田 潔	-----	108
11. HIV感染者における次世代Interferon γ Releasing Assay であるクオンティフェロンゴールドに関する研究	青木孝弘	-----	111
12. 研究協力者研究報告		-----	114
III. 研究成果の刊行に関する一覧表		-----	121
IV. 研究成果の刊行物・別刷		-----	128

平成24年度

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）

総括研究報告書

海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究

研究代表者 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・
臨床研究センター長
(研究分担者 鈴木克洋 統括診療部長)

研究要旨 (図1)

I. 日本の外国人結核

1. 日本全国：2012年全国保健所528、結核病床を有する病院262、合計790施設に2009年～2011年の調査票（外国人結核）を送り、68%の回答。2121例（重複なし）を解析した（岡田）。

外国人結核は年々増加。20代が48%。国籍は中国、フィリピン、韓国の順。インドネシア、ネパールが増加。東京都、愛知県、千葉県の増加。学生22.4%と著増。多剤耐性結核は4.4%で高頻度。HIV合併結核1.4%。

〔さらに2009年（2006年～2008年）外国人結核調査票と比較解析：前回の調査結果の対策を厚生行政に反映、改善された結果〕：①日本語学校健診4.2%と増加改善。学生が多いという前回調査結果より、保健所が日本語学校健診を増やす対応（大阪市等）。②通訳（言語障壁への対応）を増加（行政サービス14.5%）。③帰国者の低下。④治療中断・脱落者低下。

〔問題点〕：言葉の問題、経済的問題、法的問題、生活習慣の違い。（結核2011,2012, U W Conf 2012）（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。

神戸市の外国人結核（藤山理世・岡田）20名/年。中国多い。学生36%。日本語学校の健診必要。

2. 国立国際医療研究センターにおける外国人結核と分子疫学研究：東京における外国人結核の比率は増加傾向にある。国立国際医療研究センターでは東京都在住の外国人塗抹陽性結核例の23%を診療しており、治療脱落例は減少している。しかし、新宿区全体では多剤耐性結核の母国からの持ち込み例が3例みられた。東京に在住している外国人由来結核菌のゲノムDNAを抽出した。全ゲノム配列を決定し、日本人由来株との相違について検討する。（小林、切替）
3. 東京病院（豊田恵美子・岡田）では外国人結核患者50例解析。有空洞40%。HIV合併結核4%と高率。多剤耐性結核2%。
4. (1) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向

全結核患者に占める外国出生結核患者の割合は年々増加しており、特に20代で外国人の占める割合が高かった。職業では学生、特に日本語学校に在籍している者が増加してきており、外国人が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への健診を強化することが重要である。

(2) 日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

日本語学校に在籍する外国出生者に健診を行ったところ、10名(0.5%)の結核患者を発見し、うち2名は塗抹陽性であった。これらの対象に対して継続して健診を実施していくことが肝要である。

(3) 外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析

日本出生と外国出生でクラスターを形成していたのは4グループあったが、Hypervariableを含む追加領域をみると1組を除きすべて異なっており、疫学的なつながりは認められなかった。

II. 日本・中国・韓国・台湾の分子疫学研究

1. 近年、東アジアに位置する日本、中国、韓国、台湾では、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。結核においてこの可能性を明らかにするために、まずそれぞれの国内で広まっている結核菌遺伝子型の特徴を調べた。東アジアでは、台湾を除き北京型結核菌の割合が高いことや結核罹患率が先進諸国に比べて高いなどの共通の特徴を持っている。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)システムの構築を行った。さらに、各国で広まっている北京型結核菌の遺伝的系統の違いを明確にするために、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(SNP)解析法を利用した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。このシステムは、リアルタイムPCRを利用して22箇所のSNPを検出するもので、分離された結核菌を網羅的に解析することによって、各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る。各国での特徴が整理されることで、結核菌の由来国等の推定も可能となると考えられる。
2. 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)
3. シーケンサー 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。
4. 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。(加藤・前田)

III. アジア諸国の多剤耐性結核

1. 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。今年度の主な成果としては、タイ国における菌体側の解析から英文論文が出版され[*Microbiol Immunol* 2013 ;57(1):21-9]、難治性結核で北京株は66.7%と全国平均の20.8%に比して高い事などを報告した。更に、結核菌培養1,333例と数を増やし、より詳細な解析法にて菌体の解析を実施した結果、北京株(Beijing lineages)が595例(44.6%)、East-African-Indian (EAI) 株が531例(39.8%)、Euro-American株が187例(14.0%)、Central-Asian (CAS)株が11例(0.83%)、その他9株(0.68%)であった。臨床情報との相関で、北京株がより若年者に多く、耐性菌症例など難治性結核に多いなど上記の論文結果をより多くの数で確認・定量する結果が得られている。(野内)
2. ①ベトナムのハノイ肺病院との連携研究を立ち上げ、ベトナムにおけるHIV合併結核の病態とグラニューライシンの関連についての臨床研究に先立ち、健常医療従事者対象にした血漿グラニューライシン濃度と臨床疫学的要因との関連解析研究を実施した。②国立国際医療研究センター・エイズ治療開発センターにおけるHIV合併結核患者血漿・血清検体を用いて、倫理委員会からの承認後グラニューライシン濃度の測定を行った。結果、グラニューライシン濃度はHIV合併結核患者において健常者やHIV陰性結核患者と比較して有意に上昇していた。③HIV感染が活性型ビタミンD3によるマクロファージの活性化機構に与える影響を検討するために、平成23年10月以降の洪水の影響で中断されていたタイNIHとの共同研究を再開した。(タイ・ベトナム 櫻田)
3. ホーチミン市のファムゴックタック病院は、ベトナム南部の結核拠点病院である。多剤耐性結核につい

での共同研究として多剤耐性結核の発生に関わる宿主側の要因を検討すべく、断面研究を実施した。58名の多剤耐性結核患者について、抗結核剤代謝に関連する宿主側遺伝子MBL2の検討を行った。炎症時においてもMBL2の遺伝子型は、mannose binding lectin (MBL) の血中濃度を明確に規定しており、MBLの高発現型 (YA/YA)、中発現型 (YA/XA)、低発現型 (それ以外) に分けられた。高発現型の遺伝子型が多剤耐性結核群では健常者に比してやや低頻度に認められたが、検出力が低く有意差には至らなかった。さらに27種類のサイトカイン等の免疫系分子の血中濃度との関連を検討したところ、MBLとインターフェロン γ の血中濃度との間に有意な相関が認められた。また、インターロイキン12 α 鎖 (p35)の遺伝子発現はMBL値と逆相関にあった。MBLはヒトにおいて自然免疫の初期応答のみならず、Th1応答にも影響を与えている可能性が示唆された。(慶長)

4. 中国東北部黒竜江省を中心とする地域における薬剤耐性結核菌の調査を2007年より行っている。これまでに結核患者より1,230株の結核菌を分離し、その薬剤感受性を調査した。その結果、何らかの耐性を示す結核菌が全体の4割近くに上ること、全体の2割が多剤耐性結核菌であることが明らかとなった。(服部)

IV. HIV合併

1. 国立病院機構 (NHO) 病院144施設に対して調査票を送り、2011年1月1日~12月31日の間の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。144施設中85施設 (59%) から回答があった。総結核患者数は4091例であり、そのうちHIV合併者は19例 (0.46%) であった。HIV感染症に合併した結核の頻度は変化無く、毎年一定数の患者が存在する。2011年はHIV合併多剤耐性結核を認めなかったが、今後もHIV感染症合併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、2010年と2011年におけるHIV合併結核症例の有無に関する調査を実施した結果、HIV合併結核うち多剤耐性結核の報告はなかった。医療機関からは合計63例、保健所からは合計88例のHIV合併結核症例が報告され、2010年以降の結核登録情報システムによるHIV合併例数 (同期間計128例の報告) は2009年以前と比較してより実態に近くなったものと考えられた。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、多剤耐性結核はなかったが、今回、INH, EB, SMに対する耐性1例 (ネパール人) の報告があった。(藤田)
3. HIV感染者における結核症の早期診断を目指し、インターフェロン γ (IFN- γ) 遊離試験の有用性を検討した。HIV感染が判明した時点で、IFN- γ 遊離試験を施行することは、結核症の早期診断に有用である。CD4値50 μ L以下の症例では、抗HIV療法による免疫能の改善で測定可能となるまで検査を繰り返し施行することが望まれる。(青木)

V. 新しい迅速診断の開発・新治療剤 (化学療法剤等) 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。6施設に普及。(鈴木、岡田、露口)
多剤耐性結核は世界的に問題となっている。その診断の遅れは、治療失敗につながるのみならず、他者への感染リスクの増大をももたらすため、迅速な診断はきわめて重要である。我々は、多剤耐性結核のスクリーニング法としてのリファンピシン (RFP) 耐性迅速診断法の有用性につき検討を行った。従来法の薬剤感受性検査をgood standardとした場合の感度は93.3%、特異度は99.7%と優れた成績が得られた。本法はRFP耐性迅速診断、ひいては多剤耐性結核の迅速なスクリーニング法として有用であると考えられた。
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。前臨床試験データ取得 (中島、岡田)。新薬カプラザマイシンとも相乗効果。カプラザマイシンは超薬剤耐性結核 (XDR-TB) 治療効果。
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. 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による自然免疫や細胞性免疫の活性化には、RIG-Iを介した新規メカニズムが関与する事などが明らかとなった。更に、臨床試験への移行を目指し、規制当局であるPMDAとの品質面での相談についても開始した。

5. Granulysinは結核治療効果（岡田）。SLPIと相乗効果（竹田）。
6. 自然免疫応答に関わるAbsent in Melanoma 2 (AIM2)の結核感染防御における役割をノックアウトマウスを作製し、解析した。AIM2欠損マウスは、結核菌に対する感受性が高くなった。その分子機構として、AIM2は、細胞質内に逃れた病原性結核菌のDNA認識し、インフラマゾームの活性化、そしてIL-1beta, IL-18の分泌を誘導することにより、結核菌感染防御を担っていることが明らかになった。

VI. 外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集を中国 Heping、韓国 Cho、タイ Srisin博士等と確立した結核ネットワークで開始。

・研究代表者（岡田全司）（表1, 2, 3, 4）

- (1) 日本全国：2012年全国保健所528、結核病床を有する病院262、合計790施設に2009年～2011年の調査票（外国人結核）を送り、68%の回答。2121例（重複なし）を解析した（岡田）。

外国人結核は年々増加。20代が48%。国籍は中国、フィリピン、韓国の順。インドネシア、ネパールが増加。東京都、愛知県、千葉県の増加。学生22.4%と著増。多剤耐性結核は2.4%で高頻度。HIV合併結核1.4%。

〔さらに2009年（2006年～2008年）外国人結核調査票と比較解析：前回の調査結果の対策を厚生行政に反映、改善された結果〕：①日本語学校健診4.2%と増加改善。学生が多いという前回調査結果より、保健所が日本語学校健診を増やす対応（大阪市等）。②通訳（言語障壁への対応）を増加（行政サービス14.5%）。③帰国者の低下。④治療中断・脱落者低下。

〔問題点〕：言葉の問題、経済的問題、法的問題、生活習慣の違い。（結核2011,2012, U W Conf 2012）（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) 東京病院（豊田恵美子・岡田）では外国人結核患者50例解析。有空洞40%。HIV合併結核4%と高率。多剤耐性結核2%。
- (3) 神戸市の外国人結核（藤山理世・岡田）20名/年。中国多い。学生36%。日本語学校の健診必要。
- (4) 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。6施設に普及。（鈴木、岡田、露口）多剤耐性結核は世界的に問題となっている。その診断の遅れは、治療失敗につながるのみならず、他者への感染リスクの増大をももたらすため、迅速な診断はきわめて重要である。我々は、多剤耐性結核のスクリーニング法としてのリファンピシン（RFP）耐性迅速診断法の有用性につき検討を行った。従来法の薬剤感受性検査をgood standardとした場合の感度は93.3%、特異度は99.7%と優れた成績が得られた。本法はRFP耐性迅速診断、ひいては多剤耐性結核の迅速なスクリーニング法として有用であると考えられた。（鈴木、露口、岡田）
- (5) 新結核治療剤（化学療法剤等）：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, 2012）。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。②HVJ-Eの治験開始に必要な試験データ取得完了。③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。

- (6) 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。

- (7) 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国際医療研究センター病院の外国人結核6年間189名。治療成績は改善し脱落者は減少。RFP耐性、MDR-TB(新宿区38%)が多い。②外国人結核患者由来結核菌株のRFLP解析から、86株のうち29%はクラスターI（中国、韓国籍 多）を、6%はクラスターIIを形成していた。③東京在住外国人結核の91菌株のDNA解読を目的に、患者分離結核菌のゲノムDNA抽出を完了。さらに、DNAシーケンスを解読した。

・研究分担者（下内昭） ①大阪市における外国人結核毎年約30名。MDR-TB・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システム重要。②若年学生が多く（35%。このうち日本語学校生50%）、学生の健診を強化する必要。

・研究分担者（加藤誠也） ①IS6110遺伝子と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、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。②全ゲノム比較で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アジア各国で共通・簡易・迅速に行える遺伝子解析方法を東アジア各国と共同で開発した。東アジア地域内で広まっている結核菌遺伝子型の解析をSNP法遺伝型解析（大分類）+VNTR法型別（細分類）で実施中。共通に使用するSNP部位23箇所を決定。より簡便なりアルタイムPCR系を作り各国に提供。非北京型、北京型（蔓延型）、（祖先型）の3分類できる19箇所の合成プローブ設計に成功。

・研究分担者(永井英明) HIV合併結核症例の解析。2007～2010年の4年間で結核16,804例。HIV合併結核68例（0.4%）。このうち多剤耐性結核3例（4.4%）。すべて男性、国籍は中国1例、日本2例で、CD4は100/uL以下と低値。肺結核2例、粟粒結核1例。HIV合併多剤耐性結核は治療に難渋する事を明らかにした。2011年はNHO（国立病院機構）で結核患者4091例のうちHIV合併者19例（0.46%）

・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、2010年と2011年におけるHIV合併結核症例の有無に関する調査を実施した結果、HIV合併結核うち多剤耐性結核の報告はなかった。医療機関からは合計63例、保健所からは合計88例のHIV合併結核症例が報告され、2010年以降の結核登録情報システムによるHIV合併例数（同期間計128例の報告）は2009年以前と比較してより実態に近くなったものと考えられた。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、多剤耐性結核はなかったが、今回、INH, EB, SMに対する耐性1例（ネパール人）の報告があった。

・研究分担者(服部俊夫) ①中国ハルピンの多剤耐性結核3年間調査。VNTR解析で4サブグループと10個のクラスター形成。北京型結核菌の特異的変異遺伝子で診断解析中。(J.Clin.Mic. 2011)②中国東北部：治療歴なしで薬剤耐性あり58.4%。多剤耐性結核で治療歴あり60.3%と高率。
③フィリピン及びタイ：潜在性結核のTBGL診断はQFTと相関し有用 (Int.J.TLD., Cl.D.I., 2012)。

・研究分担者(櫻田紳策) ①ベトナム・タイにおける再発結核患者では血清granulysin値低下を明らかにした(Micro.Imm.2011)。②HIV感染は、ビタミンDのM ϕ 活性化を阻害し、易結核感染(タイ)。

・研究分担者(慶長直人) ①ホーチミン市58名の多剤耐性結核患者解析で、INH代謝関連遺伝子NAT2は代謝遅延型遺伝子が少い。②自然免疫関連遺伝子MBL2は変異型Bアレル、Xアレルを持つ変異型が、ベトナムの多剤耐性結核では高い。(MBLの血中濃度が、変異型では低値)

・研究分担者(野内英樹) ①タイでのHIV合併結核493名中活動性結核は15.6%。②初回MDR-TB 12.5%が、2回目22.5%と著増。これらの結核で北京型66.7%と(タイ平均20.8%)高率。③複十字病院の結核1958名中外国人結核患者5.7%で、そのうち多剤耐性結核患者26.1%と極めて高率。

・研究分担者(青木孝弘) ①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。男性91%、24%は外国籍。12%に抗結核剤に耐性。多剤耐性2%。②HIV合併結核患者におけるQFT-3G診断法は有用(特異度は高い)： HIV149例中QFT-3G陽性7例(4.7%)。陽性全例結核。

・研究分担者(竹田潔) ①SLPIは結核治療効果。Granulysin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高感受性を発見。

・研究分担者(鈴木克洋) 多剤耐性結核迅速発見法(rpo B 変異)を用い、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構築(鈴木、露口、岡田)。この方法を6施設に普及。(結核2012)

研究分担者

永井英明
国立病院機構東京病院
呼吸器内科
外来診療部長

加藤誠也
財団法人結核予防会結核研究所
副所長

小林信之
国立国際医療センター
呼吸器科医長

藤田 明
東京都保健医療公社 多摩北部医療センター
副院長

服部俊夫
東北大学災害科学国際研究所
災害医学研究部門 災害感染症学分野
感染病態学
教授

下内 昭
財団法人結核予防会結核研究所
副所長

野内英樹
財団法人結核予防会複十字病院
臨床検査診断科
科長

慶長直人
国立国際医療センター研究所
呼吸器疾患研究部
部長

櫻田紳策
国立国際医療センター研究所
呼吸器疾患研究部
細菌性呼吸器感染症研究室室長

竹田 潔
大阪大学大学院医学系研究科
感染免疫医学講座免疫制御学
教授

青木孝弘
国立国際医療研究センター病院
エイズ治療・研究開発センター
HIV感染症
医師

鈴木克洋
国立病院機構近畿中央胸部疾患センター
統括診療部長

表1

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)
 岡田全司班 平成24年度 第一回班会議
 「海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究」

研究代表者	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 センター長
研究分担者	永井 英明	国立病院機構東京病院 外来診療部長
	加藤 誠也	公益財団法人結核予防会結核研究所 副所長
	小林 信之	国際医療研究センター 呼吸器科 医長
	藤田 明	東京都立保健医療公社 多摩北部医療センター 副院長
	服部 俊夫	東北大学 災害科学国際研究所 教授
	下内 昭	公益財団法人結核予防会結核研究所 副所長
	野内 英樹	公益財団法人結核予防会複十字病院 臨床検査診断科長
	慶長 直人	国際医療研究センター研究所 呼吸器疾患研究部 部長
	櫻田 紳策	国際医療研究センター研究所 呼吸器疾患研究部 室長
	竹田 潔	大阪大学大学院 医学系研究科感染免疫医学講座 免疫制御学 教授
	青木孝弘	国際医療研究センター病院エイズ治療・研究開発センター医師
	鈴木 克洋	国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 統括診断部長

表2

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)
 岡田全司班 平成23年度 第一回班会議
 「海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究」

研究協力者	切替照雄	国立国際医療センター感染症制御研究部 部長
	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長
	豊田恵美子	国立病院機構東京病院 呼吸器科 医長
	高鳥毛敏雄	関西大学 社会安全学部 教授
	松本 健二	大阪市保健所 感染症対策監
	小向 潤	大阪市保健所 感染症対策課医長
	藤山理世	神戸市保健福祉局健康部予防衛生課 主幹
	中島 俊洋	ジェノメディア株式会社 取締役・CEO
	赤川 清子	北里大学生命科学研究所 客員教授
	螺良 英郎	(財)大坂結核研究会 理事長
	露口 一成	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 部長

表3

5. 研究組織情報	
研究者名	分担する研究項目
岡田全司	研究の統括。 多剤耐性結核の診断・治療の確立。海外から輸入される多剤耐性結核の分子疫学と対策研究。 多剤耐性結核とHIV合併の実態把握と対策。(国立病院機構ネットワークを活用した)
永井英明	多剤耐性結核とHIV合併の実態把握と対策。(国立病院機構ネットワークを活用した)
加藤誠也	韓国と中国及び台湾と日本とのネットワークによる結核・多剤耐性結核分子疫学共同研究
小林信之	日本(東京・東日本)における海外から輸入される結核の実態把握および分子疫学的解析。
藤田 明	全国病院施設・保健所との連携による多剤耐性結核とHIV合併の実態把握と対策。
服部俊夫	中国及びフィリピンとの研究ネットワーク活用による多剤耐性結核の分子疫学的解析及びHIV合併結核研究。

表4

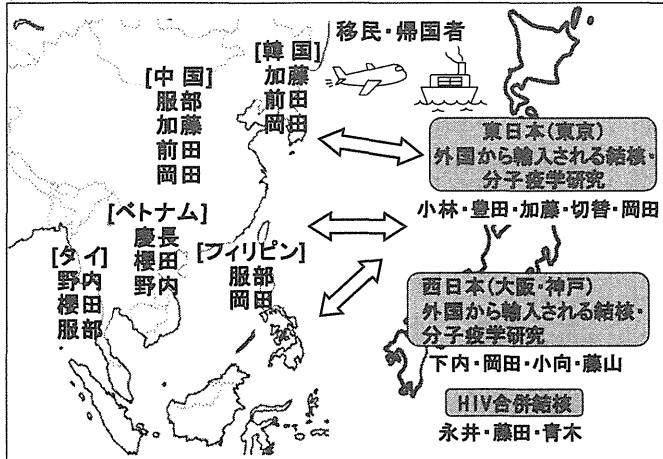
5. 研究組織情報	
研究者名	分担する研究項目
下内 昭	日本(大阪・神戸・西日本)における海外から輸入される結核の実態把握及び分子疫学的解析。
野内英樹	タイ及びベトナムとの結核研究ネットワーク活用による多剤耐性結核の分子疫学解析とHIV合併結核研究。
慶長直人	ベトナムとの結核研究ネットワーク活用による多剤耐性結核の分子疫学・宿主要因解析。
櫻田紳策	タイ及びベトナムとのネットワーク活用による多剤耐性結核とHIV合併結核の宿主要因・分子疫学的解析。
竹田 潔	外国から輸入される多剤耐性結核治療の確立。
青木孝弘	HIVによるT細胞免疫不全解析及びHIVに合併する結核研究と対策。
鈴木克洋	国立病院機構呼吸器ネットワークを活用した多剤耐性結核の迅速診断・隔離法開発。新しい結核治療・化学療法剤研究。

図1

海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究

目的

日本の外国人結核等の実態把握と分子疫学、HIV合併結核研究とアジア諸国のネットワーク活用による多剤耐性結核制御



期待される効果

1. 結核・多剤耐性結核の日本への流入・蔓延防止
2. 外国人結核・多剤耐性結核の減少・早期発見
3. HIV合併結核の減少
4. 新しい迅速診断・入院法と多剤耐性結核治療法開発
5. アジア諸国の結核減少
6. 医療費節減
7. 国際貢献

研究方法・日本

1. 海外から輸入される多剤耐性結核(日本の外国人結核)実態調査と分子疫学解析 (岡田, 小林, 下内, 豊田, 加藤, 切替, 前田)
2. 日本・中国・韓国・台湾結核菌分子疫学解析 (加藤, 前田)
3. アジア諸国の多剤耐性結核・分子疫学研究 (HIV合併結核対策研究 (岡田, 加藤, 服部, 野内, 慶長, 櫻田))
4. HIV合併結核の把握 (永井, 藤田, 青木)
5. 新しい多剤耐性結核迅速診断入院法と新しい治療法 (鈴木, 露口, 竹田, 岡田)
6. 外国人結核の多いアジア諸国の結核対策情報収集 (岡田, 服部, 加藤, 野内, 慶長, 櫻田)

研究成果

I. 日本の外国人結核

1. 本邦の外国人結核の実態把握と対策。
(1)全国の外国人結核調査票(2012年)にて2121例(岡田)。(2009~2011年 全国保健所・病院 790施設) 年々増加。中国国籍、フィリピン、韓国の順。東京都、愛知県で増加。学生22%と著増。多剤耐性結核は2.4%と高頻度。HIV合併結核1.4%。(2)東京(小林, 豊田):MDR-TB, HIV合併結核は多し。複十字病院MDR-TB 26%と高率 (3)大阪(下内):学生が多く35%(50%以上日本語学校生)、学生健診強化の必要。(4)中国から日本移民にS-S MDR-TB。
2. 分子疫学研究(小林, 切替, 岡田)
外国人結核菌株のRFLP解析:クラスターI(中国, 韓国 多)と、クラスターIIを形成。外国人結核患者の間で感染の発見。外国人結核菌の全DNA解読を目的に、91株の結核菌ゲノムDNAの抽出完了。

II. 日本・中国・韓国・台湾分子疫学研究

1. VNTR解析で、日本、韓国の結核菌は“祖先型”、中国は“蔓延型”、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)
2. さらにより簡便に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)、(祖先型)の3分類の発見。
3. 東アジア地域内で広まっている結核菌遺伝子型の解析 (SNP + VNTR解析。共通のSNP部位23箇所を決定。より簡便なリアルタイムPCR系を作り非北京型、北京型(蔓延型)、(祖先型)の3分類できる19箇所の合成プローブ設計に成功。

III. アジア諸国の多剤耐性結核

1. タイ:MDR-TB再発例で23%と著増。HIV合併結核493名中活動性結核16%(野内)。再発結核患者では血清granulysin低下(櫻田)。TBGL診断有用(服部)
2. 中国東北部:治療歴なしで薬剤耐性結核58%と高率。多剤耐性結核で治療歴あり60%と高率。(服部)
3. ベトナム:INH代謝NAT2遅延型は多剤耐性結核で少い(慶長)。遺伝子MBL2(自然免疫)は変異型頻度が高い。
4. フィリピン:結核の疫学、診断(服部)

IV. HIV合併結核

1. HIV合併結核症例の解析。結核16,804例中HIV合併結核0.4%。このうちHIV合併多剤耐性結核4%。粟粒結核や死亡例。HIV合併多剤耐性結核は治療に難渋。(永井, 藤田)
2. HIV合併結核129例(国際医療セ)外国籍24%、多剤耐性結核2%。HIV合併結核患者におけるQFT-3G診断法は有用(特異度は高い)。(青木)

V. 多剤耐性結核に対する迅速診断・新治療剤の開発

1. rpoB変異を用いて多剤耐性結核患者の迅速隔離方法を構築。6施設に普及。(鈴木)
2. 多剤耐性結核治療剤を開発。皮内投与最適。(岡田)

VI. アジア諸国の結核対策・治療システム

外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集(岡田・加藤・服部・野内・慶長)を中国 Heping、韓国 Cho、タイ Srisin博士と、すでに確立した結核ネットワークで開始。

A.研究目的 (図1) (表5)

1. 近年、海外から輸入される多剤耐性結核が問題。
2. したがって
 - (1) 海外から輸入される多剤耐性結核 (日本の外国人結核・帰国者の結核) の分子疫学的解析 (表5、図1)
 - (2) 日本・中国・韓国・台湾の結核菌分子疫学研究
 - (3) アジア諸国の多剤耐性結核
 - (4) 多剤耐性結核とHIV合併の把握 (図1)
 - (5) 多剤耐性結核の迅速診断法・迅速治療法の確立 (図1) と多剤耐性結核の治療 (化学療法等) の確立 (図1)
 - (6) アジア諸国の結核対策研究ネットワークを活用したアジア諸国の結核対策治療システム (図1、図2)

具体的には (図3、4、5、6、7)

- (1) 近年、海外から輸入される多剤耐性結核が問題。
 - ①日本国内への流入・蔓延防止。②日本の外国人結核年々増加。③費用莫大。治療困難。新結核ワクチン・治療薬必要。近年、日本から中国、韓国、台湾への渡航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、欧米の諸国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。昨年までの共同研究で共通に利用できる反復配列多型 (VNTR) 分析システム (10-locus VNTR) を樹立した。また、各国で広まっている結核菌の遺伝型を網羅的に分析し、特徴を明らかにすることで、結核菌の由来や感染国の推定などに利用できる可能性がある。このような解析のための分析手法として次世代シーケンサーによる分析・解析情報から得られた一塩基多型 (SNP) を用いた。SNPは、結核菌の遺伝系統

に応じて発生し、蓄積されていくことからVNTRのような亜種型別ではなく、もっと安定した型別情報を提供するものと期待される。各国から結核菌の分子疫学を専門とする研究者を集めて会議を開き本研究について議論を行った。東アジア国々で共通の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迅速に共有することができる。

- (2) わが国における結核罹患率は年々減少しているが、その中の外国人の割合は増加傾向にあり、とくに20歳代の結核患者においては外国人の比率は29.6% (平成23年度) にまで増加している。新規の外国人結核患者は結核蔓延国を母国とすることが多いため、とくに多剤耐性結核のわが国への持ち込みは新たな脅威として認識されており、この問題に対して様々な方策が施されている。しかし、最近における外国からの結核菌、とくに耐性結核菌の国内への持ち込みの実態について、また、外国人結核対策の効果については明らかになっていない。国立国際医療研究センターは東京都新宿区に位置するため、新宿区在住の結核患者を多く診療しているが、外国人結核に関しては新宿区以外にも東京都各地域の患者を扱っている。本年度の研究では、外国人居住者の多い東京における外国人結核患者のうち当センターで診療している割合を調査し、東京における外国人結核の臨床像、経年的推移を明らかにする。また、新宿区保健所との共同研究により、新宿区に登録された外国人結核の臨床情報を収集し、外国由来菌の薬剤耐性について検討する。さらに、東京における外国人結核の感染状況を把握することを目的に、外国人由来結核菌の分子疫学調査を実施する。
- (3) 中国東北部 (ハルビン)、南部 (上海)、タイ、フィリピン、インドネシアとの共同研究を通じて、それぞれの国に特徴的な結核の発症因子特にHIVの重複感染、潜在性結核感染の問題を明らかにする研究を行っている。流布している結核菌の解析をして、結核菌の分子遺伝学的特性、薬剤耐性を解析すれば、これらの状況を総括して、国ごとでの結核感染者数の差をみることに

より結核感染の機構が明らかになり、その減少を講ずることができる。既にハルピン医科大学の検体を含めアジアに多く流布する北京型に特異的な変異を使用してのmultiplex assayで簡便な北京型の同定を可能にした(Nakajima et al J.Clin.Microbiol press)。アジアに多く流布す

る北京型に特異的な変異を使用しての結核菌の免疫学的診断を可能にすれば、そのLTBIの検索も容易になり、今後の結核の感染パターンの特性を解析できると思われる。今年度は、中国東北地域の黒竜江省に流布する結核菌のMDR比率に関する調査を実施した。

表5

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(平成23年度・24年度)		
海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究		
研究代表者	岡田全司 (独)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	研究の統括
研究分担者・研究目的	<p>I 日本における外国人結核の実態把握と分子疫学解析 小林信之 (国際医療研究センター) 東日本(東京) 岡田全司 下内 昭 (結核研究所, 大阪市保健所) 西日本(大阪・神戸)</p> <p>II 日本・中国・韓国・台湾との結核分子疫学研究(研究ネットワークを活用した) 加藤誠也 (結核研究所) 中国、韓国、台湾の結核菌分子疫学・日本の結核菌と比較</p> <p>III アジア諸国の多剤耐性結核 分子疫学研究と宿主要因解析(研究ネットワークを活用した) 服部俊夫 (東北大学) 中国、フィリピンの実態調査と分子疫学 野内秀樹 (結核予防会複十字病院) タイの結核菌分子疫学 慶長直人 (国際医療研究セ) ベトナム宿主要因 櫻田紳策 (国際医療研究セ) タイ・ベトナム</p> <p>IV HIV合併結核 永井英明 (国立病院機構東京病院) 国立病院機構ネットワーク活用HIV合併結核 藤田 明 (東京都多摩北部医療セ) 全国病院施設・保健所 青木孝弘 (国際医療研究セ) HIVによる免疫不全と結核</p> <p>V 多剤耐性結核に対する迅速診断・新治療剤の開発 鈴木克洋 (近畿中央胸部疾患セ) 多剤耐性結核迅速入院法 竹田 潔 (大阪大学) 新しい結核治療剤開発</p> <p>VI アジア諸国の結核対策・治療システム 岡田、加藤、服部、野内、慶長</p>	

表6

研究方法

アジア諸国のネットワークの活用による
多剤耐性結核・HIV合併結核制御

必要性

1. 日本国内への結核流入・蔓延防止。
2. 日本の外国人結核は年々増加。集団感染。
3. 日本のHIV増加、HIV合併多剤耐性結核は難治性。
4. 多剤耐性結核の迅速診断・迅速隔離重要。世界で50万人。莫大な費用。新治療剤必要。

- (4) 外国人結核の特定の結核菌株蔓延示唆。患者が多い新宿区の分子疫学調査が重要。

低蔓延の欧米先進諸国では結核患者の半数以上を外国出身者が占めている。これは国際交流がすすみ、人の行き来や交流のなかで起こってくる事態である。自国の高齢者が結核の半数以上を占めている日本でも、20代の結核患者では外国籍の患者が28.2%を占めており、83.4%が5年以内の発病であるという。高蔓延の母国で感染し、他国でのストレス等の要因で発病という一連の病態は納得しやすい説明である。実際には結核で入院治療する外国人患者は種々の状況で発病、診断され、治療されることは日本人の場合と変わらないが、言葉の問題や服薬支援ではより力を注ぐ必要がある。また結核の2大問題であるHIVと多剤耐性に注目し実態に迫りたい。

- (5) ①大阪市における外国出生結核患者の発生動向

2011年の本邦における外国出生結核患者の割合は、国籍不明を除くと921名(4.1%)であり、20代に限ると419名(30.0%)であった。一部の先進国では年間登録患者の半数以上を外国人が占めており、本邦においても外国人結核対策が重要になると予想される。外国人結核対策に資するため、大阪市において外国出生結核患者の発生動向を調査した。

- ②日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

大阪市の結核患者のうち外国出生者の占める割合は、2.2%(2007年)から2.9%(2011年)へと年々増加傾向にあった。20代に限ると、16%(2007年)から24.6%(2011年)と増加していた。20代の外国出生者が多く所属すると思われる日本語学校生に対し、結核健診を実施した。

- ③外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析

外国出生患者由来結核菌株のVNTR解析をすることにより、国内での伝播状況を考察した。

- (6) 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、結核中蔓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。国立病院機構病院におけるHIV合併結核について2007年より継続的に調査を行ってきた。その中でMDR-TBの実態調査を行っている。今年度も継続的実態調査を行った。

- (7) 多剤耐性結核は治療の難しい結核であるが、HIV感染を合併しているときわめて予後が悪いことが海外から報告され、なかには院内集団感染による死亡例も出ている。国内では最近、村上・加藤ら、村松ら、千葉らによって3本のHIV合併結核に関する臨床検討が報告されている。多剤耐性結核菌については、千葉らの報告では、2/129例1.6%(1996~2010年のエイズ治療・研究開発センター(ACC)における症例)また、全国HIV感染合併結核症アンケート調査報告(2003~2006年に診療)は3/105例2.9%、2007~2010年の国立病院機構病院調査(本研究班昨年度調査)では68例中3例(4.4%)、2007~2009年の全国病院・保健所調査(本研究班昨年度調査)では129例中2例(1.6%)に認められた。日本における多剤耐性結核とHIV合併について、昨年度実施の調査に引続いて実態を把握することを本研究の目的とする。

- (8) 結核の診断に関しては、本邦でもBCGの影響を受けない客観性を有する検査であるインターフェロン γ 遊離試験(Interferon γ Releasing Assay、以下IGRA)がツベルクリン反応に代わり施行されるようになった。IGRA法にはクオンティフェロン(QFT)とT-spot Tbの2種類がある。平成18年1月には第2世代のQFTであるクオンティフェロンTB-2G(QFT-2G)が保険収載され、本邦でも使用され始めた。さらに、QFT-2Gを改良した第3世代QFTであるクオンティフェロンTBゴールド(以下QFT-3G)が、本邦でも平成22年4月1日より保険診療で行なえるようになった。

た。当院でも同年8月よりQFT-3Gによる検査が開始された。本邦は結核中蔓延国であり、結核診断においてIGRAに関する報告は多数あるが、HIV感染合併結核におけるQFT-3Gの報告は限られている。

QFT-3Gは、結核菌特異抗原 (ESAT-6、CFP-10、TB7.7) により全血検体中に存在するT細胞を刺激し、放出されたIFN- γ を測定する。この際、陽性コントロールとしてPHA

(phytohem-agglutinin) で放出されたIFN- γ の量を測定し、抗原刺激で放出されたIFN- γ の量の差で、陽性、判定保留、陰性を判定する。HIV感染症では、病態が進行するとCD4陽性Tリンパ球 (CD4) が減少するため、IFN- γ が十分に放出されず、検査の結果が判定保留、または判定不可となる可能性が高くなるとされる。非HIV感染者におけるQFT-3Gの感度が90%以上であるのに対し、HIV感染者では、QFT-3Gの感度が80%前後とする報告もある。以上より、HIV感染者においてQFTが陽性、判定保留、判定不可となった患者の背景を検討することで、HIV感染者におけるQFT-3Gの検査特性を検討できると考えられる。

平成24年度は、次世代IGRAであるQFT-3GのHIV感染者における検査特性の解明と本邦独自の新たなHIV感染者での診断法としての検討を行なうことを目標とした。

- (9) 多剤耐性結核の多数発症が日本・世界 (特にアジア地域) で大問題。有効な治療法なし。
- (10) HIV、多剤耐性結核増加はDOTS戦略変更。DOTSプラス新治療剤、ワクチン開発必要。
- (11) BCGに代わる結核ワクチンは欧米でも臨床応用に未だ至らず。BCGは成人には無効。
- (12) 多剤耐性結核菌に対する宿主側の防御機構と菌側の要因との両面からの解明が切望。
- (13) 海外から輸入される多剤耐性結核・HIV 合併結核の実態把握と分子疫学的解析で対策・成果。
- (14) アジア諸国 (特に韓国、中国、台湾) との研究ネットワークを活用し、海外から流入する結核菌株を迅速に把握するシステム (分子疫学解析) 構築。結核菌型別データベース構築。
- (15) 日本における外国人結核の分子疫学解析による特定菌株蔓延の解析と治療実態把握。国際医療研・国立病院機構・保健所・結研の全国研究。

外国人同士や日本人への感染伝播分析。

- (16) 多剤耐性結核の診断の遅れは、患者本人の治療失敗に加えて周囲への感染拡大につながるため、迅速な感受性検査はきわめて重要である。ジェノスカラーRif-TB は、喀痰中の結核菌に存在する RFP 耐性遺伝子である *rpoB* 遺伝子領域の変異をラインプローブアッセイで検出することによる RFP 耐性迅速診断法であり、24 時間以内に結果を得ることができる。RFP 耐性結核の大部分は多剤耐性結核であるため、本法は多剤耐性結核のスクリーニング法としても期待できる。我々は本法の従来法との相関、有用性につき検討した。
- (17) 新結核ワクチン、新化学療法剤の開発。アジアの多剤耐性結核、XDR-TB 制御成果。
- (18) アジアとの多剤耐性結核・HIV 合併結核の分子疫学・宿主要因研究と対策・制御。多剤耐性結核、難治性結核患者の前向きコホートを含めた人と菌の検体バンクを活用し、日本への伝播も検討した疫学研究を目的とした。岡田班本体「海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究(H23-新興一般-002)」が掲げる①海外から輸入される多剤耐性結核の分子疫学的解析、②HIV 合併の把握、③多剤耐性結核の診断・治療に対応して、タイ NIH と共同して日本が建設してアジアの中心研究機関に育てているネットワークを基に疫学研究を行った。前岡田班時代より進めている多剤耐性結核を含む難治性結核(再発、治療失敗、慢性排菌例)患者の正常治癒例と比較した検体バンクとコホートを、日本には少ない HIV 感染毎の情報も持ちながら補強し、前記の研究目的の為の疫学研究を遂行した。
- (19) わが国に居住している外国人のうち、アジア系の集団は 70%以上を占めることが知られている。このためアジア人の結核対策は外国人結核対策の主要部分を占める。さらに日本人の結核発症者の中で多剤耐性結核の占める割合は低いが、アジアを含む発展途上国では、治療歴のない患者でも数%以上の頻度で多剤耐性結核が認められるのが通例であり、今後、外国人結核対策がわが国の多剤耐性結核対策の重要な部分を占めるようになるのではないかと懸念されている。

このような背景のもと、アジア人における発症増加が危惧される多剤耐性結核の発症要因を明らかにすることは、わが国を含むアジア地域全体の結核対策に貢献するものと期待される。ホーチミン市のファムゴックタック病院は、ベトナム南部の結核拠点病院である。多剤耐性結核についての共同研究として多剤耐性結核の発生に関わる宿主側の要因を検討すべく、断面研究を実施した。

(20) HIV 感染症と結核はともに世界主要感染症であり、合併症はアジア・アフリカ地域において公衆衛生上深刻な問題となっている。グラニューライシンは、NK 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、キラーT 細胞等の細胞溶解性顆粒に含まれるエフェクター分子で、強力な抗菌活性を持つと同時に細胞死を誘導し、組織障害にも関わっていると考えられる。

①グラニューライシンは、自然免疫から適応免疫まで広範にエフェクター分子として生体防御機構に関与している。アジア人の潜在結核における血漿グラニューライシン濃度についての報告はまだなされていないため、ベトナム・ハノイにおける結核関連医療施設の健全な医療従事者における血漿グラニューライシン濃度を測定すると同時に、質問票ならびに BCG 接種痕の肉眼による確認による臨床疫学的なデータを収集し、関連解析を実施する。

②結核においては、有意に血漿グラニューライシン濃度が低下し、進行例ではとくに顕著であることが報告されているが、タイ・チェンライ県で実施した先行研究では HIV 合併結核において有意に血漿グラニューライシン濃度が上昇しており、HIV 合併結核特異的な機構が働いている可能性が示唆された。本研究では、日本人患者血液検体（血漿、血清）を用いて、HIV 合併結核における血漿グラニューライシン値を測定し、タイ人患者から得られた所見を確認する。

③HIV 合併結核の劇症さや重篤さに関しては、

単球・マクロファージ系細胞の機能障害も関与しているのではないかという観点から、HIV 感染が活性化型ビタミン D3 によるマクロファージの活性化機構に与える影響を検討するため、タイ NIH との共同研究を開始する。

(21) 自然免疫系は、病原体の宿主内への侵入を最初に察知し、種々の炎症・免疫応答を誘導する重要な免疫系である。最近、Toll-like receptor (TLR)ファミリーの機能解析により、自然免疫系の活性化機構が明らかになり、TLR を介した自然免疫系の活性化の生体防御における重要性が明らかになった。結核菌に対する生体防御においても、自然免疫系が結核菌の認識が重要な役割を果たす可能性が考えられる。これまでに、マウスを用いた我々の解析から、リポカリン 2 や SLPI などの分子群が、結核感染における自然免疫応答で重要な役割を担っていることが明らかになっている。本研究では、自然免疫系による結核感染防御機構を明らかにし、多剤耐性結核菌に対する、自然免疫系の活性化を利用した新規治療ワクチンの開発への基盤を提供することを目的とする。

(22) 東アジア地域（日本、韓国、台湾、中国）において感染制御が重要となる多剤耐性結核（MDR-TB）に対して、予防・治療効果のある新規 DNA ワクチンの臨床応用の実現を目的として研究開発を実施した。

具体的には、新規 DNA ワクチンの重要な成分である HVJ-E を用いた研究を中心として安全性の実証と、有効性の向上を目的として非臨床試験（動物試験）を実施した。

これにより本事業で研究開発を進めている新規結核 DNA ワクチンの早期の臨床応用ための準備を進めた。また、新しいコンセプトのワクチンとして、東アジアの広範な国々への普及を目的として研究を展開した。

■ FIGURE 1.1
Estimated number of new TB cases, by country, 2007

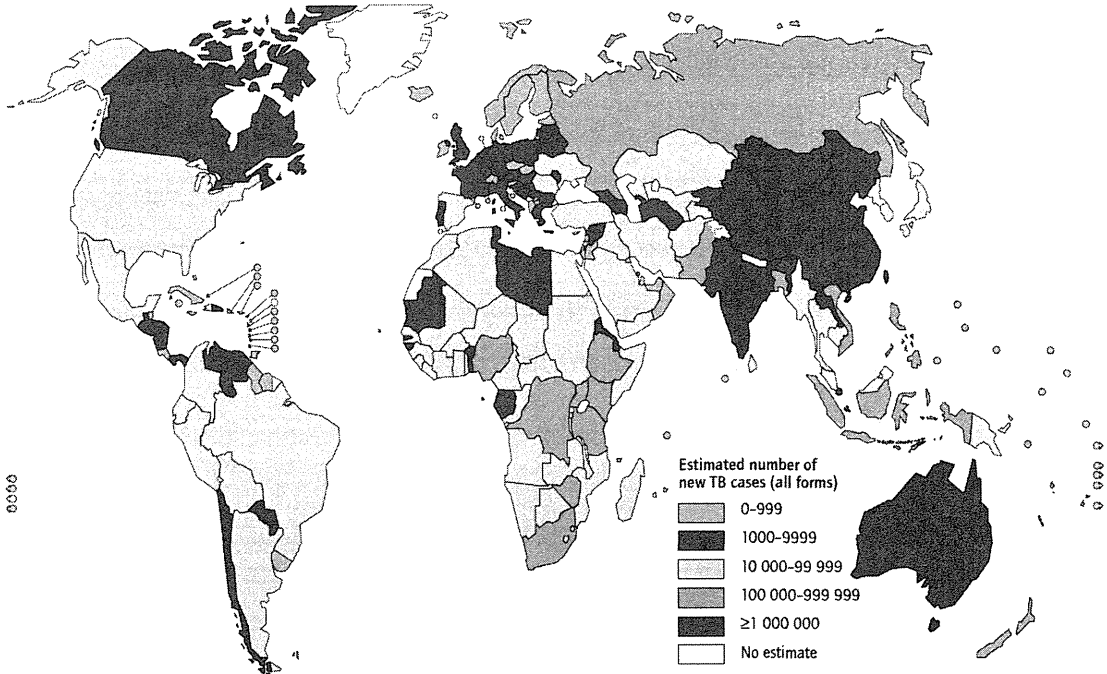


図2

【1】 海外から輸入される多剤耐性結核の分子疫学的解析

アジア諸国の結核菌遺伝子解析による感染伝播菌解明

【平成23～25年度計画】

中国株、韓国株、日本株、台湾株
分離可能の発見

結核菌	中国	韓国	日本	台湾
北京型 蔓延型 祖先型	○			
RD181(+)		○		
RD181(-)			○	
非北京型				○

(Kato, J. Med. Micro. 2010)

1. 左表の如く日本・中国・韓国・台湾の結核菌感染では、出身国(母国)を遺伝子解析同定しうる発見をした。
2. アジア諸国20カ国(ベトナム、フィリピン、タイ、インド等)にこの遺伝子解析を応用する。
3. 多くのアジア諸国の結核菌を区分する方法を開発する。
⇒感染伝播結核菌の母国からの入国等重点対策がたてられる。

図3



図4

[II] 結核・多剤耐性結核とHIV合併の把握と対策

本邦で最もHIV合併結核の診療・研究を行っている 永井 Kekkaku 2009
藤田 Clin Dev Immunol 2011

1. 永井英明	国立病院機構144施設
2. 藤田 明	エイズ拠点病院・保健所との連携
3. 青木孝弘(岡慎一)	HIVによるT細胞免疫不全と結核

AIDS患者は健常人の170倍のリスク。本邦のHIV増加。

1. 本邦でのHIV合併結核の実態把握(全国に調査票等)。
2. HIV陽性者のQFT早期診断の確立と潜在性結核患者の早期発見。
3. 結核患者のHIVスクリーニング。
4. HIV合併結核マニュアル作成。

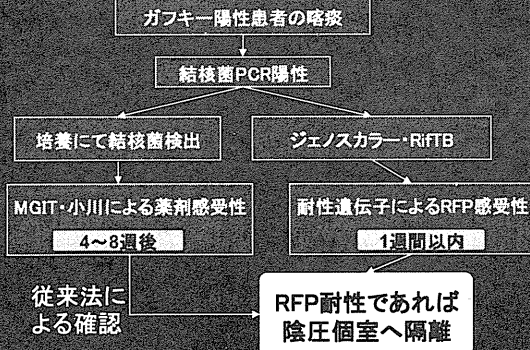
[III] アジアの多剤耐性結核とHIV合併結核の把握と分子疫学解析

1. 中国・フィリピンにおける多剤耐性結核とHIV合併結核。SNPsとVNTR法(加藤)でも解析。中国ハルビンでスーパープレッダー多剤耐性結核菌発見したことより中国の広い地域で解析(服部)。
2. タイでのHIV合併結核の実態把握と分子疫学解析(野内)。
3. ベトナムでのHIV合併結核の分子疫学と宿主要因解析(慶長)。
4. タイ及びベトナムのHIV合併結核のバイオマーカーの開発(櫻田)。

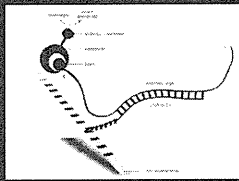
図5

[IV] 多剤耐性結核迅速診断・迅速入院(隔離)法

迅速入院法確立



- 1.初めての発見。現在6病院。
- 2.通常の方法では診断に30日以上。本法では5日以内。
⇒多剤耐性結核の蔓延・感染をブロックできる。
- 3.これを本邦270の結核診療施設に普及。
- 4.この診断法の簡易化、自動化。



診断法の簡易化・自動化

Line Probe assay

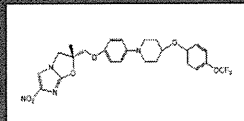
(鈴木、露口、岡田 Kekkaku 2008, 2009)

図6

[V] 多剤耐性結核の治療(新しい化学療法剤)

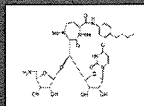
新しい化学療法剤

- [A] OPC-67683
(1-4. Nitroimidazo-oxazole)



1. 臨床応用
2. ICAAC (2005岡田)
3. 現在Phase II b臨床試験

- [B] CPZEN-45
(カプラザマイシン-B)



1. 前臨床試験
2. WHO にノミネート
3. 岡田特許

- [C] リファブテン、リネゾリド

図7