

## B. 研究方法 (図1) (表6)

### 1. 海外から輸入される結核菌・多剤耐性結核菌の分子疫学研究。

- (1) アジア地域 (日・韓・中・台) において広まっている結核菌の分子疫学研究。(加藤、前田) :

#### 日中韓台分子疫学研究会議

平成24年12月10-11日、東京都清瀬市、結核研究所で分子疫学担当者会議を開催した。

SNP解析については、全系統の結核菌を網羅的に分析できる22箇所SNP部位を選択した。この内、北京型と非北京型の型別ができる *fadD*: 3284855位と北京型結核菌の Ancient/Modernの型別ができる1477596位のSNPを最初に分析し、その後、非北京型: 7箇所、北京型-Ancient: 10箇所、北京型-Modern: 3箇所の分析を行った。

SNP検出に必要なサイクリングプローブや TaqMan MGB probe は、結核研究所でデザインを行い、実際に変異を検出できるか確認を行った。

- (2) 日本の外国人結核・帰国者結核の分子疫学解析と対策。

(a) 日本の外国人結核患者を最もよく診療・分子疫学解析研究する小林・切替・豊田 (東京・東日本)、下内・和田 (大阪・西日本) 等により分子疫学 (VNTR等) ・対策構築。

(b) 国立病院機構 (岡田)、国際医療研セ、保健所、結研で全国レベルで行う。全国の外国人結核の菌株をVNTRで解析し、特定の菌株蔓延があるか解明する。

当班で新たに外国人結核調査票を作成した。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、90%の回答。2121例 (重複なし) を解析した (岡田)。

国立国際医療研究センターにおいて2007年1月から2012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。そして、6年間を前半 (2007年~2009年) と後半 (2010年~2012年) に分けて、それぞれの項目を比較検討した。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 (島 史子先生) 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。さらに、東京都全体における外国人結核患者の実態、推移について調査した。東京に在住している日本人および外国人由来結核菌の網羅的分子疫学解析を目的に、外国人結核患者、および性別、年齢をマッチさせた日本人結核患者から分離された結核菌のゲノムDNAを抽出し、本年度から次年度にかけて全ゲノム配列を決定する。

(c) 国立病院機構東京病院結核病棟で2010年~2012年8月に入院治療した外国籍の活動性結核患者50例についてカルテ記載に基づいてレトロスペクティブに検討した。検討項目は年齢、性別、国籍、入国から発病までの期間、病型、排菌状況、薬剤耐性、合併症、言葉の問題の有無、結核治療成績である。(豊田)

- (3) (a) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向

2007年~2012年に大阪で新規登録された外国出生結核患者を対象とした。性別・年齢・出身国・職業などの年次推移を分析した。多剤耐性結核 (MDR-TB) 割合については2011年までの推移を分析した。

(b) 日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

2012年に実施した日本語学校17校に所属する外国出生者への結核健診について、受診者の出身国・年齢・性別・健診結果・精密検査結果を分析した。最終的に活動性結核と診断された者のうち、大阪市において登録された者については、来日から健診受診までの期間・症状・結核既往・病型・菌情報などについて分析した。

(c) 外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析

2011年～2012年に登録された外国出生結核患者は67名であり、うち培養陽性は37名(55%)であった。そのうちJATA12-VNTRを実施した者は23名であり、遺伝子増幅不良であった1名を除く22名(59%)を対象とした。対照として、2011年～2012年に登録された50歳未満の日本出生培養陽性結核患者297名の中でJATA12-VNTRを実施した103名のうち、遺伝子増幅不良であった4名を除く99名(34%)と比較した。

## 2. 結核・多剤耐性結核とHIV合併の把握：

(1) 永井、藤田、青木により実態把握。臨床的特徴・T細胞数や活性・治療・結核症状・HIV進行度等について調査・解析。

(a) 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。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た。

(b) 平成24年度に、全国531の保健所、全国248の結核病院(国立病院機構を除く)、全国231のHIV診療拠点病院(国立病院機構を除く)を対象に、HIV合併結核の症例の有無を尋ねる一次調査を実施した。その結果をもとに、症例を有した医療機関に対して匿名化症例調査票による二次調査を実施した(保健所に対しては二次調査を行わなかった)。今回は前年度調査に引き続き2010～2011年に診療した症例について収集した。一次調査、二次調査ともに郵送法で実施した。

一次調査として、結核病床を有する(有した)医療機関とHIV拠点病院(結核病床を有さない)には、2010年・2011年ごとの結核患者のうちHIV感染症合併例数・HIV感染症合併例のうちの多剤耐性結核例数、保健所には、結核新登録患者数(確定例)数・結核患者のうちHIV感染症合併例数・HIV感染症合併例のうちの多剤耐性結核例数を

尋ねた。また、HIV合併結核の患者を受け入れた経験がある施設に対して、病棟内での病室(陰圧室)を使用するか、前室の有無、などについてもアンケート調査を行った。

二次調査に使用した症例調査票は国立病院機構病院の症例調査票と共通のフォーマットとし、主として結核およびHIVに関する臨床的データに関して記載を依頼した。返送された調査票に基づき、とくに抗結核薬に対する耐性について検討した。

(c) 国立国際医療研究センターにおけるHIV合併結核患者について：平成23年4月から平成24年3月までに当センターを受診した新規HIV患者のうち抗HIV療法を導入前で、書面による研究参加の同意が得られた患者について、QFT-3Gを施行した。

QFT-3Gが陽性となった患者では、通常の保険診療の範囲内で精査を施行し、結核症の有無の診断を進める。結核症の存在が示唆された場合は、潜在性、活動性を問わず、通常の保険診療の範囲内で適切な治療を行う。

QFT-3Gの結果が判定保留または判定不可であった患者は、患者の受診に併せてQFT-3Gを施行し検査結果を経過観察することで、QFT-3Gの結果に影響を与える因子について検討する。

QFT-3Gの結果が陰性であった患者では、QFT-3G検査時より1年間結核発症の有無について経過観察を施行し、結核発症が疑われた場合は、結核症の精査とQFT-3Gを施行する。

(2) 中国・フィリピンは服部、タイは野内、ベトナムは櫻田、慶長。HIV合併結核のバイオマーカー(Gra等)解析。

(3) 永井は国立病院機構144病院にHIV合併結核の調査アンケート。

(4) 藤田は全国エイズ拠点病院、結核診療病院(国立病院機構を除く)、保健所に調査。

(5) 症例の有無を尋ねる1次調査と症例調査票による2次調査。

## 3. 多剤耐性結核の迅速診断・迅速隔離法の確立。

(1) 全国国立病院機構及び全国結核診療施設に

普及。

(2) 外国人結核QFT診断。

日本語学校・外国人雇用事業所で。

(3) 結核を疑われて当院を受診した患者で、喀痰検査でアンプリコマイコバクテリウムによるPCR検査を行って結核菌群陽性と判定された331例を対象とした。対象患者の喀痰を用いてジェノスカラーRif-TBを行いRFP感受性の有無を判定した。同時に、喀痰検体から培養された結核菌に対して通常のMGIT及びウェルパックによる小川比率法を用いた薬剤感受性検査を行って、結果を比較検討した。

4. 多剤耐性結核の新治療法の確立。(鈴木・岡田)

(1) リファブチン等による治療。

(2) (a)新化学療法剤(デラマニド(OPC-67683))。認可が降り次第臨床応用。[岡田、松本(大塚研)]

(b)カプラザマイシンCPZEN。すでにXDR-TB治療効果。WHOのpreclinical治療に指名された。INH、RFPとの治療期間短縮(マウス)(微化研野本博士らと)。

(3) Hsp65+IL-12 DNAワクチンを用いた多剤耐性結核・XDR-TB治療ワクチン開発。

(a)サル(ヒトの結核感染に最も近いモデル)、SCID-PBL/huで解析。(岡田、Tan)

(b)毒性・安全性試験。前臨床試験。(中島)

(c)岡田はキラーT分化因子(結核免疫に必須。IL-6等)の発見者、ヒトTハイブリドーマを初めて確立し、IL-6の発見に貢献より、治療ワクチンの結核免疫解析。

(d)抗原たん白質であるHSP65と細胞性免疫活性化に有用なIL-12を一つのプラスミドDNAで同時に発現させるDNAワクチンを、感染症の予防と治療に有効な新しいコンセプトのワクチンとして開発するために必要なデータの取得を行った。そのために、新規DNAワクチンのアジュバント兼DDSとして使用しているHVJ-Eに関して動物を用いて安全性や有効性に関する非臨床試験データの取得を実施した。

これまでに基礎的なデータの取得については完了しているので、本年度は大阪大学医学部附属病院が実施している、抗癌剤としての臨床試験からの安全性、有効性(免疫活性化)に関するフィードバック情報を参考にして以下のような非臨床試験データの取得を進めた。

(4)細胞内DNAセンサーとして同定されたAbsent in Melanoma 2(AIM2)の結核感染における役割を、遺伝子欠損マウスを定法により作製し、このマウスに結核菌を経気道的に感染させ、野生型マウスと感受性を比較する。

5. アジアの結核研究ネットワークを活用した、多剤耐性結核の分子疫学。中国(服部・岡田)、フィリピン(服部・岡田)、タイ(野内・櫻田)、ベトナム(慶長・櫻田)で分子疫学研究、S・S多剤耐性結核菌・XDR-TB解析。宿主要因(結核免疫・薬剤代謝)解析。

(1)中国での多剤耐性結核菌の解析：

ハルビン医科大学での結核菌の培養はBACTEC BACTEC Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT)を用いて、行う。結核菌の同定はチールニールセン染色で行う。薬剤感受性試験(DST)はまずisoniazid(INH)、リファンピシン(RFP)、ストレプトマイシン(SM)またはエタンブトール(EB)を用いた。さらにlevofloxacin(Lfx)、sparfloxacin(Sfx)、moxifloxacin(Mfx)、gemifloxacin(Gmx)、gatifloxacin(Gfx)などのキノロン薬についても薬剤感受性試験を実施した。MIC法によりMiddlebrook 7H9 agar(Becton Dickinson and Company Sparks, MD 21152 USA.)を用いてNational Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)により96穴プレートを用いた。それぞれのウエルは $2.85 \times 10^5$ CFU/mlとなるように調整し、37℃で16日から18日間の培養を行った。

(2)結核の感染・発病と治療転帰のモデルに基づき、難治性の結核患者(再発例、治療失敗例、慢性排菌例等)の要因に関して研究を継続している。

(1)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前回の岡田班より継続している。(1)の群に関しては、菌側のタイピングを活用して、厳格に内因性の再燃と外来性再感染を区別している。(2)結核治療に反応が良く再発をしなかった群、(3)結核に罹患していない正常人のコントロール群を設定し、比較の対象としている。ケース・コントロール研究の形態にて、(1)と(2)の比較により結核症の難治に関する種々の要因検討、(3)と結核症群(1-2)の比較により結核自体の発症に関連する様々な疫学的因子の検討を進めている。日本においては、公益財団法人結核予防会・複十字病院臨床検査部にて、タイ国においては、結核予防会・結核研究所とタイ保健省の共同プロジェクトが設立母体となり、現在はタイNIH等とコンソーシアムを組んで運営しているタイ国チェンライ県の結核研究フィールドに参画して、検体バンクと臨床データ管理を実施している。

複十字病院は厚生労働省より2011年5月に独立行政法人国立病院機構・近畿中央胸部疾患センターと共に日本で2カ所の結核医療の「高度専門施設」に指定されて先駆的役割を期待されている。抗結核薬開発と共に抗酸菌診断法の研究開発の参加依頼が来る。複十字病院は数多く多剤耐性結核症例が多く紹介されるので、多剤耐性結核が少なく再発、治療失敗、慢性排菌例を含めて難治性結核として症例数を増加させて研究する必要があるタイと異なり、多剤耐性結核を単独で検討できる。

- (3) ベトナム南部のホーチミン市にあるファムゴックタック病院は、ベトナム国内南北2カ所の薬剤感受性検査を実施する結核レファランスセンターのうちベトナム南部の結核対策の責任病院である。耐性結核の宿主要因の候補遺伝子の特徴的な遺伝子変異、アジア人の遺伝子分布の特徴を明らかにすることを目的として研究を実施している。エントリー基準は、薬剤感受性試験で多剤耐性結核 (INH, RFP耐性) と診断された16歳以上70歳までの患者で、18か月の治療観

察期間を完遂できる見通しがあり、書面同意を得たものとし、HIV陽性、悪性腫瘍、免疫抑制剤の使用者を除外した。外来通院中の多剤耐性結核患者58名から血液サンプルを収集し、EDTA添加血より血漿（血中タンパク濃度測定用）および血球（ゲノムDNA抽出用）を得た。またRNA安定化剤を付加して凍結した全血よりtotal RNAを抽出した。

- (4) ①本研究では、ベトナムのハノイ肺病院との連携研究を立ち上げ、ベトナム人健常医療従事者の血漿（血清）中グラニューライシン濃度のELISAによる測定を行う。ハノイ市内の6地区の保健センターとハノイ肺病院から健常な医療従事者を100～120名を文章によるインフォームドコンセントを得た上で登録し、末梢血を1ml採血する。同時に、年齢・性別・職歴・現職種・BMI・喫煙歴・飲酒歴・既往歴・マスク着用の有無等について質問紙に基づいて調査を実施する。BCG接種については問診とともにBCG痕を肉眼で確認する。また、全例胸部X線写真を撮影し、ハノイ肺病院の放射線科医がチェックする。グラニューライシン濃度のELISAによる測定後、臨床疫学的データの各項目とグラニューライシン濃度について単変量および多変量解析を実施する。
- ②国立国際医療研究センターの倫理委員会からの承認を得た後、現在生存している患者からのインフォームドコンセントを取得し、国立国際医療研究センター・エイズ治療開発センターからの検体提供を受ける。HIV合併結核及び健常ドナー各々約20例の血漿ならびに血清中のグラニューライシン濃度をELISAにて測定する。
- ③タイNIHのPanadda上級研究員との共同研究で、同施設のBSL2ならびにBSL3実験室において、HIV感染が25(OH)D<sub>3</sub>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ことを目的としてマクロファージにおける抗酸菌の感染系を作製する。健常者の末梢血から単球を分離し、M-CSFおよびGM-CSF存在下にそれぞれ分化したマクロファージを得る。濃度を振った25(OH)D<sub>3</sub>

または同時にIFN- $\gamma$  (100ng/ml)を培養上清に加えてBCG (MOI=3-5)を感染させ、0、3、6、12と24時間後に全RNAを抽出する。Real-time PCRにてCYP27B1、CYP24、IL-15、vitamin D receptor、cathelicidinの遺伝子発現を検出する。さらに同様の系で、

将来macrophage tropicなHIV-1を感染させたM-CSF分化マクロファージ (M-M $\phi$ ) (HIV感受性) を用いて同じ遺伝子の発現を検出し、比較検討するための準備を整える。

## C.研究結果

### I. 日本の外国人結核（岡田）

#### （I）日本における外国人結核

当班であらたに外国人結核調査票(2012)を作成し、日本全国保健所と結核診療施設の合計790施設に送付し、多数の714施設(90%)より回答を得た(表7)。この2121症例を解析した。20歳台(48%)が最も多く、次いで30歳台であった(表8)。男性も女性も同じ傾向であった。女性の方がやや多くを占めた(55%)。国籍では、中国が最も多く、次いでフィリピン、韓国・北朝鮮、インドネシア、ネパールの順であった(図8)インドネシア、ネパールが増加した。入国1～3年の発症が多く(表9)、外国(母国)での結核感染が示唆された。

東京都の外国人結核が最も多く、次いで愛知県、神奈川県であった(表10)。大阪府4位、千葉県5位と千葉県が増加した。愛知県ではブラジル国籍の外国人が多い傾向を示した。

学生(22.4%)が著増したのが特徴であった(表11)。学生(高校)0.8%、学生(大学)9.4%、学生(専門学校)2.4%と学生(日本語学校)9.8%と外国人結核の学生の合計22.4%であった。2006年～2008年外国人結核調査では外国人結核の学生の合計14.5%であり、これに比較して1.5倍以上増加した。3年前の調査では、定期健診や学校健診による発見は少なかったが、大阪市保健所等の積極的な健診で日本語学校健診が増加した(表12)。

細菌塗沫陽性が35.0%であり、培養陽性が42.4%であった(表13)。

肺結核が77.7%であり、肺外結核として胸膜

炎、リンパ節結核が報告された(表14)。合併症としては糖尿病合併結核が2.9%、HIV合併結核が1.4%であった(表15)。

日本における外国人結核の結核菌の薬剤耐性について解析した(表16)。

多剤耐性結核(MDR-TB)は4.4%と、明らかに日本人結核(0.7%)より高い頻度を示した(表16)。また、外国人結核のINH単独耐性(12.0%)は日本人結核のINH単独耐性(3.8%)より高く、RFP単独耐性(5.4%)は日本人結核のRFP単独耐性結核(1.2%)より高い頻度を示した(表16)。

転帰としては治療途中の帰国が12.3%も存在し、大きな問題点であった(表17)。

具体的な問題点として、

①言語の問題が大きく、通訳対策の重要性が示された(表18)。

②翻訳パンフレットは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少なく問題点であった(表19)。

治療上困難であった問題点を表20に示した。言葉の問題のみでなく、生活習慣の違いや宗教上の食事の問題が指摘された。

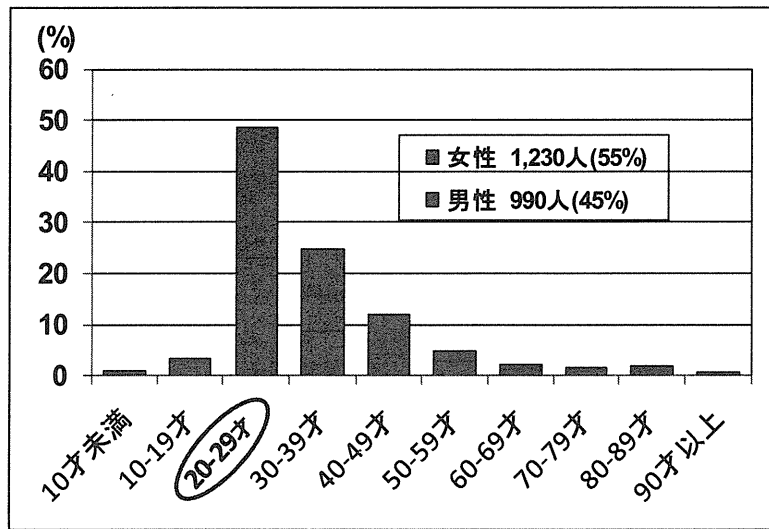
#### （II）2009年、2010年、2011年の日本における外国人結核の推移と傾向

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。2009年～2011年の日本における外国人結核調査票集計結果と、2006年～2008年の日本における外国人結核調査票集計結果を比較解析した。(表21、22、23、24、25、26、27)(岡田)

表7 対象者 : 外国人結核 (外国生まれ・外国国籍)  
調査施設

|            | 送付    | 回答        | 2121例 |
|------------|-------|-----------|-------|
| 保健所        | 528施設 | 503施設     |       |
| 国立病院機構     | 52    | 46        |       |
| 結核病床を有する病院 | 210   | 165       |       |
| 計          | 790   | 714 (90%) |       |

表8 性別・年齢



青：男性  
赤：女性

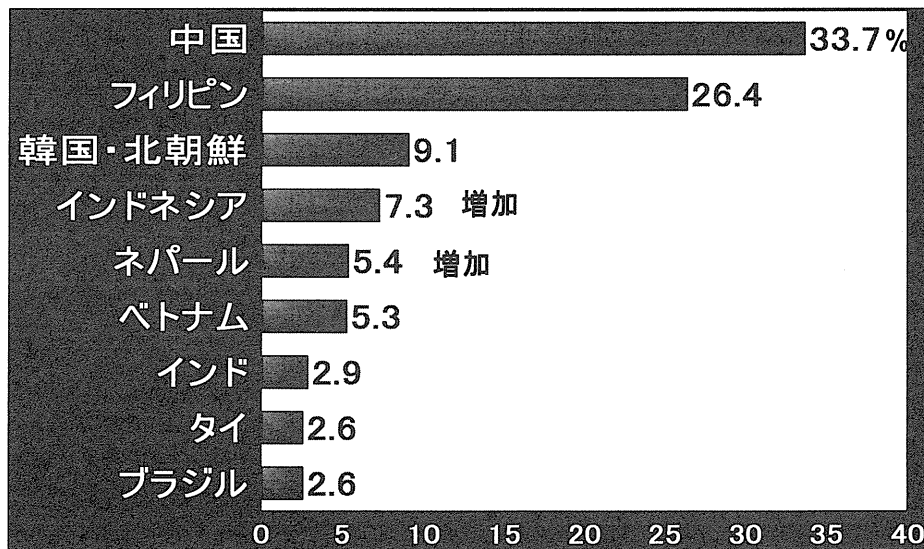


図8 国籍

表9 来日年数

| 月・年数     | 人数  | 累計    |
|----------|-----|-------|
| ～6ヶ月     | 264 | 12.7% |
| 6ヶ月～12ヶ月 | 232 | 11.2  |
| 1年～3年    | 524 | 25.3  |
| 3年～5年    | 216 | 10.4  |
| 6年～9年    | 289 | 13.9  |
| 10年～     | 346 | 16.7  |

表12 発見方法

|                    |        |
|--------------------|--------|
| 医療機関受診             | 61.8 % |
| 定期健診(学生)           | 9.2    |
| 定期健診(学生)を受けたことがある  | 0.0    |
| 定期健診(労働者)          | 12.7   |
| 定期健診(労働者)を受けたことがある | 0.4    |
| 個別健康診断             | 2.6    |
| 接触者検診(家族)          | 2.9    |
| 接触者検診(集団)          | 5.7    |
| 日本語学校健診            | 4.2    |
| 外国人を対象とした健診        | 0.4    |

表10 都道府県

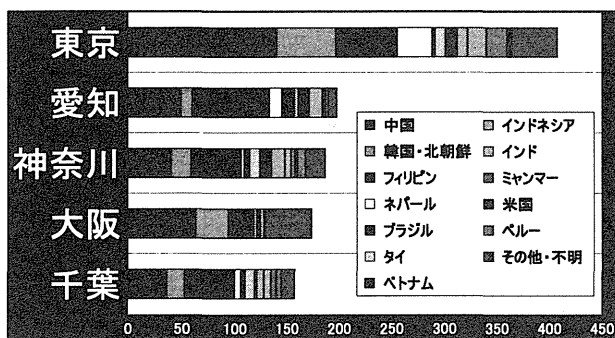


表13 菌情報

|       |       |
|-------|-------|
| 塗抹陽性  | 35.0% |
| 塗抹陰性  | 50.3  |
| 培養陽性  | 42.4  |
| 培養陰性  | 28.2  |
| PCR陽性 | 37.2  |
| 未実施   | 6.7   |

表11 職業

|           |       |         |
|-----------|-------|---------|
| 接客業       | 9.5 % |         |
| 学生(高校)    | 0.8   | } 22.4% |
| 学生(大学)    | 9.4   |         |
| 学生(専門学校)  | 2.4   |         |
| 学生(日本語学校) | 9.8   |         |
| その他常勤者    | 25.9  |         |
| その他臨時雇・日雇 | 14.4  |         |
| 主婦        | 11.2  |         |
| 無職        | 14.7  |         |
| 不明        | 1.9   |         |

表14 結核診断名

|      |      |       |
|------|------|-------|
| 肺結核  | 塗抹陽性 | 77.7% |
| 肺外結核 | 胸膜炎  | 8.5   |
|      | リンパ節 | 11.5  |
|      | 粟粒   | 1.5   |
|      | 骨関節  | 1.0   |
|      | 中枢神経 | 0.3   |
|      | その他  | 6.3   |

表15 基礎疾患(合併症)

|                       |       |
|-----------------------|-------|
| なし                    | 77.3% |
| 糖尿病                   | 2.9   |
| 空洞の有無**               | 10.0  |
| HIV                   | 1.4   |
| 胃切除後                  | 0.2   |
| 慢性肝疾患(肝炎・肝硬変)         | 0.5   |
| C型肝炎ウイルス陽性            | 0.3   |
| HBSキャリアー              | 0.4   |
| 膠原病                   | 0.6   |
| 慢性呼吸器疾患(塵肺、COPD、喘息など) | 0.7   |
| その他                   | 4.5   |



表16 薬剤耐性

日本人多剤耐性結核 0.7%  
 外国人結核の多剤耐性結核は  
 日本人多剤耐性結核の 6.4倍

|       | 外国人結核<br>(2009~2011) | 日本人結核<br>(療研2007) | 外国人結核<br>(2006~2008) |
|-------|----------------------|-------------------|----------------------|
| 多剤耐性  | 4.4 %                | 0.7 %             | 3.8 %                |
| INH耐性 | 12.0                 | 3.8               |                      |
| RFP耐性 | 5.4                  | 1.2               |                      |
| EB耐性  | 3.9                  | 1.4               |                      |

表17 転帰

|         |        |
|---------|--------|
| 治療完了    | 73.8 % |
| 継続中     | 5.1    |
| 帰国      | 12.3   |
| 治療中断・失敗 | 2.1    |
| 死亡      | 1.0    |

表19 翻訳パンフレット等の有無

翻訳パンフレット等の利用の有無  
 有 701 (41.1%) 無 1004 (58.9%)

|               |        |
|---------------|--------|
| 英語            | 25.5 % |
| 中国語           | 35.7 % |
| タガログ語 (フィリピン) | 7.1 %  |
| 韓国語           | 4.1 %  |
| ポルトガル語 (ブラジル) | 0.4 %  |
| インドネシア語       | 0.9 %  |
| ネパール語         | 1.3 %  |
| ベトナム語         | 1.3 %  |
| ヒンズー語         | 0.7 %  |
| その他           | 19.5 % |

表18 言語障壁への対応

通訳の有無  
 有835 (41.6%)  
 無1,170 (58.3%)

|         |        |
|---------|--------|
| 行政サービス  | 14.5 % |
| ボランティア  | 4.4    |
| 友人・知人   | 19.2   |
| 職場・学校など | 45.7   |
| その他     | 20.2   |

表20

| 医療上困難であった問題点と対応 |
|-----------------|
| 1. 言葉の問題        |
| 2. 生活習慣のちがひ     |
| 3. 食事の問題 (宗教上)  |
| 4. 不法滞在         |
| 5. 経済的な問題       |

表2 1

### 年度別登録患者数

|       |       |
|-------|-------|
| 2009年 | 528 人 |
| 2010年 | 697 人 |
| 2011年 | 725 人 |

表2 2

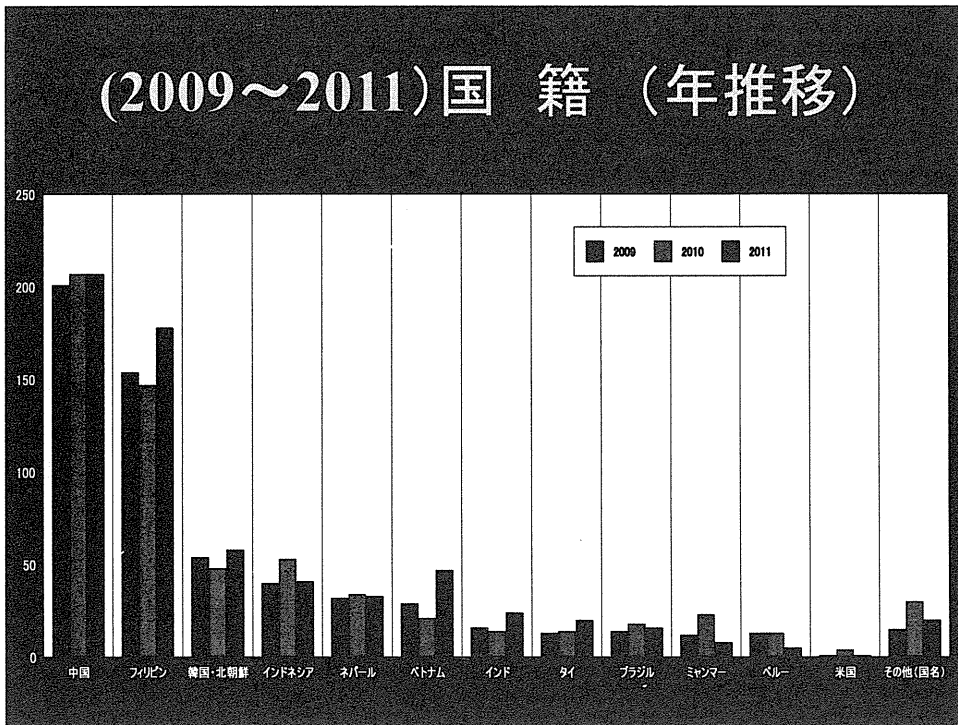


表 2 3

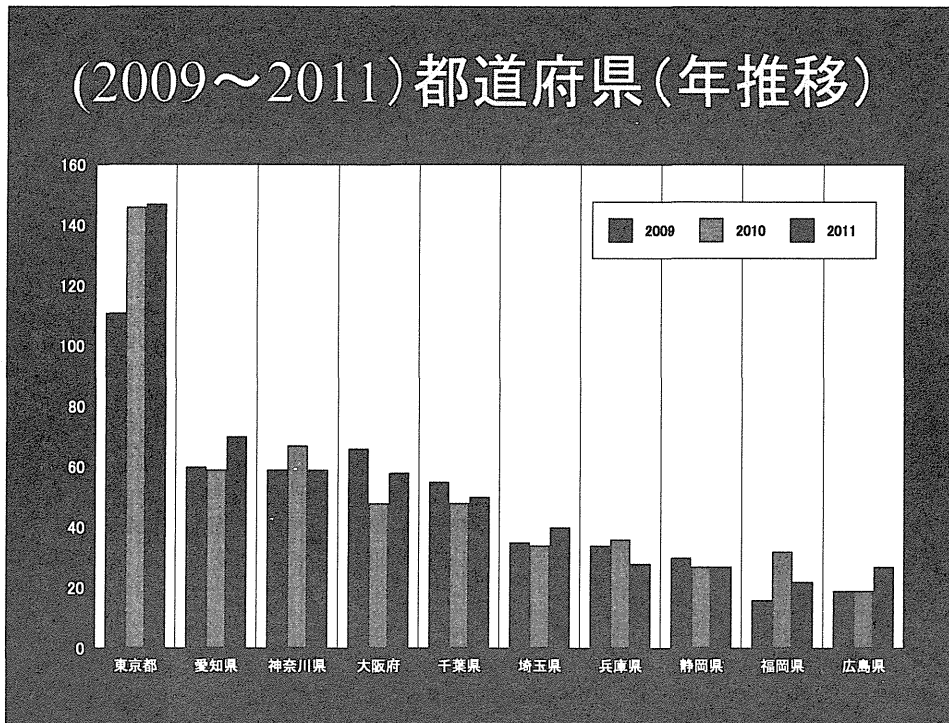


表 2 4

2012年の(2009年～2011年)外国人結核調査票と  
2009年(2006年～2008年)外国人結核調査票の比較

(1) 国籍

- (a) 1位 中国、2位 フィリピン、3位 韓国・北朝鮮は同じ。
- (b) インドネシア(5.4% →7.3%と増加)4位に(5位から)。
- (c) ネパール5.4%に増加。5位に(9位から)。
- (d) ブラジル(5.6% →2.6%に減少)。
- (e) 中国、フィリピンの比率各々増加。

表 2 5

2012年の(2009年～2011年)外国人結核調査票と  
2009年(2006年～2008年)外国人結核調査票の比較

- (2) 性別
  - (a) 今回(2009～2011年)20才台48%、30才台25%、40才台12%。  
今回と前回はほぼ同じ。
  - (b) 今回(2009～2011年)女性55%、男性45%と前回とほぼ同じ。
- (3) 都道府県
  - (a) 今回(2009～2011年)  
1位東京、2位愛知、3位神奈川、4位大阪、5位千葉  
前回(2006～2008年)  
1位東京、2位神奈川、3位愛知、4位大阪、5位埼玉
  - (b) 愛知県、千葉県、上位に。
  - (c) 東京(中国国籍↑)(ネパール国籍↑)
  - (d) 愛知(フィリピン国籍↑、ネパール国籍↑)

表 2 6

2012年の(2009年～2011年)外国人結核調査票と  
2009年(2006年～2008年)外国人結核調査票の比較

- (4) 来日年数
  - 来日 1～3年以内 25.3% (2009～2011年)で  
(2006～2008年)とほぼ同じ
- (5) 職業
  - (a) 学生 22.4% (2009～2011年)と増加。  
(2006～2008年)は学生 14.5%
  - (b) 常勤者 (前回29.1%から25.9%に)
- (6) 多剤耐性結核
  - (a) MDR-TB 4.4% (前回 3.8%)
  - (b) INH耐性 12.0% (前回10.0%)、RFP耐性5.4%(前回3.7%)



表 2 7

| 2012年の(2009年～2011年)外国人結核調査票と<br>2009年(2006年～2008年)外国人結核調査票の比較 |            |            |
|---|------------|------------|
| (7) 基礎疾患  | 2009～2011年 | 2006～2008年 |
| 糖尿病   | 2.9%       | 3.5%       |
| HIV   | 1.4%       | 1.3%       |
| (8) 通訳の有無   | 2009～2011年 | 2006～2008年 |
| 行政サービス  | 14.5%      | 8.2%       |
| (9) 翻訳パンフレット等の有無  |            |            |
| (a)パンフレット有が少し増加   |            |            |
| 2009～2011年  | 41.1%      |            |
| 2006～2008年  | 38.7%      |            |
| (b)タガログ語(フィリピン)   |            |            |
| 韓国語   |            |            |
| ポルトガル語(ブラジル)  |            |            |
| 2009～2011年は2006～2008年と同じく少ない                                  |            |            |

2. 東京都における平成 22 年の新規登録外国人結核患者は 211 名で、過去 5 年間で最大であり、全国の 6.9%を占めていた。このうち 56 名は喀痰塗抹陽性患者であった。新宿区で発症した外国人結核は東京都全体の 9.0%、塗抹陽性肺結核に限っても 9.0%を占め、いずれも都内で最も多かった。国立国際医療研究センター (NCGM) では東京都における外国人結核の 11%、新宿区における外国人結核の 32%を診療していることになる。そして、外国人塗抹陽性肺結核患者に限ると東京都全体の 23%、新宿区全体の 40%を診療していることが明らかとなった。

平成 23 年の新宿区における外国人結核は 20 名で、最近 3 年間ではほぼ一定しており、年齢別では 15-19 歳が 2 名、20-29 歳が 10 名、30-39 歳が 5 名、40-49 歳が 2 名、70-79 歳が 1 名であった。国籍別では中国 8 名、韓国 7 名、フィリピン 2 名、ネパール 1 名、その他 2 名で、入国から発病までの期間が 1 年未満のものは 4 名と少なかった。職業

別では学生が 12 名、接客業が 3 名、無職その他が 5 名であった。

国立国際医療研究センターで診療している外国人結核患者は 2007 年以降の 6 年間で 168 名であり、3 年ずつの前後半に分けてその臨床像について検討した。国籍別では中国が最多で変わりなかったが、韓国が減少したのに対し、フィリピンの増加がみられた。職業では学生と主婦が減少し就労者が増加した。入国時期は 1 年以内が減少傾向であり、また、治療成績は改善し、脱落者は 5 名から 1 名に減少した。薬剤感受性に関する日本人結核との比較では、外国人結核では RFP 耐性、多剤耐性の頻度がやや多いものの有意差はみられなかった。しかし、H23 年の新宿区全体における調査では外国人結核 8 名中 3 名が多剤耐性結核であった (新宿区保健所)。

結核菌の分子疫学解析に関しては、2001 年 2 月から 2012 年 6 月までに、国立国際医療研究センターにおいて診療した東京に在住している外国人および日本人結核患者由来の結核

菌 263 株（日本人由来 172 株、外国人由来 91 株）のゲノム DNA の抽出を完了した。現在、シーケンサーにアプライする作業を行っており、今年度中に予備的な解析データを得る。次年度には illumina 社の MiSeq を用いて全ゲノム配列を決定する。

3. 東京病院において、対象は 50 例（男性 15・女性 35）で、41 例（82%）が 50 才未満であった。（豊田）対象は 50 例（男性 15・女性 35）で、41 例（82%）が 50 才未満であった。出身国はフィリピン 13、中国 12、韓国 8、ネパール 4、タイ 4、ベトナム 2、ミャンマ 3、パキスタン 1 でアジア地域が 47 例、アフリカ 2 例、東欧 1 例であった。発病の時期は入国前 8 例、5 年以内 23 例、5～10 年未満 8 例、10 年以上 9 例であったが、20 才代では入国前 3 例、5 年以内 10 例で、5 年以内の発症は 93% であった。20 才代 14 例に限ると、すでに入国前に発症し、入国後間もなく診断・入院となったもの 3 例、1 年以内 5 例で半数以上は 1 年以内に発見されていた。日本滞在の事由は 1) 留学、就学、職業研修 10 例、2) 仕事 6 例、3) 日本人と結婚 17 例、4) 中国残留孤児として帰国 2 例、5) 家族を訪問中 3 例、6) その他 1 例であった。日本人と結婚している女性が最も多かった。病型は肺結核 44 例（有空洞 20 例、気管支結核合併 2 例）、粟粒結核 2 例、胸膜炎 1 例、頸部リンパ節炎 3 例で、喀痰塗抹陽性 41 例、何らかの検体から培養陽性 47 例中主要薬剤耐性 8 例（INH 4 例、SM 3 例、INH・RFP・SM・EB 耐性 1 例）及び多剤耐性 1 例（および前医の結果のみ 1 例）を認めた。合併症は、15 例（HIV 2 例、DM 5 例、肝障害 3 例、SLE 1 例、腎障害 1 例、気管支喘息 2 例、大動脈炎症候群 1 例）に認めた。初回治療 46 例、治療歴のあるもの 5 例であった。レジメンは、HREZ(L) 37 例、HRE 9 例、REZL 1 例、HRLZ 1 例で、肝障害、皮疹、発熱、血球減少等の副作用は 9 例に認め一時中断、一部薬剤変更された。治療歴のある 60 才代症例では、HRES 耐性が判明 KMTH, CS, PAS, MFLX に変更治療した。治療成績は、2012 年開始を除く 39 例中完了

16 例、退院後帰国 2 例、転出 15 例、中断・脱落 1 例、治療中 5 例である。（前回保留）言葉の問題が指摘されているのは 20 才代 4 人、30 才代 1 人、50 才代 2 人、60 才代 1 人、70 才代 3 人で、計 11 人であった。

4. 分子疫学研究（小林、下内、切替、石川、大角、村瀬、島）（表 2 8、表 2 9）  
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の RFLP 解析から、91 株のうち 26 株(28.6%)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。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 67%と多く、薬剤耐性率は 8%に認め、HIV 陽性率は 12%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%、グループ II で 0%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。国立国際医療研究センター（小林、切替）外国人結核の間で特定の菌株蔓延示唆 ⇒ 全 DNA 解読  
①東日本在住外国人結核由来 91 株と日本人由来 172 株結核菌  
②次世代シーケンサ (NGS) で全ゲノム DNA 配列を決定。  
③結核薬剤耐性変異検索およびバーチャルスポリゴタイピングによる系統解析を実施。  
イ) 薬剤耐性と NGS の解析結果の一致率良好。  
ロ) 北京型を含む複数系統から構成。  
ハ) 正確で再現性の高いタイピングや薬剤耐性判定が判明。
5. (1)大阪市における外国出生結核患者の発生動向（表 2 9）  
外国出生患者は、2007 年の 30 名以降毎年 30 名余りで推移しており、2012 年は 35 名であった。そのうち入国 5 年以内の者は、2007 年 22 名（73%）から年々減少し 2010 年 16 名（48%）が最も少なく、その後増加し 2012 年 20 名（57%）へと推移していた。

性別については、日本出生者で男性の割合が多いのとは対照的に外国出生者では女性が多く約半数を占めており、2012年15名(43%)であった。年齢の中央値は、この期間はいずれも20代後半であった。中央値の推移をみると、2008年29.5歳をピークに年々若年化し、2011年は25.5歳、2012年は28歳であった。一方平均年齢は2009年37.4歳をピークに毎年30代であり、2012年は35.5歳であった。

出身国を見ると、2007年には中国と韓国が同数で9名(30%)、次いでフィリピンの4名(13%)であった。その後中国の割合が増え、韓国の割合が減少し、2012年には中国が18名(51%)を占め、韓国は2名(6%)まで減少した。職業については、学生の割合は2008年7名(23%)から年々増加し、2011年には14名(44%)を占めていた。学生のうち日本語学校に所属していた者の割合は、2007年3名(33%)から年々増加し、2012年には6名(55%)を占めた。多剤耐性結核(MDR)割合については、日本出生では2007年14名(1.5%)から2009年6名(0.7%)まで低下し、2011年は7名(1.0%)であった。一方外国出生では2007、2008年0名であったが、2009年3名(27.3%)、2010年2名(28.6%)、2011年1名(11.1%)と推移した。

#### (2)日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

日本語学校17校に在籍する外国出生者1927名に健診を実施した。日本出生および出身国不明であった9名をのぞく1918名の平均年齢±標準偏差は23.3±4.2歳、14~49歳であった。男性は978名(51%)であり、男女とも20代が75%を占めていた。出身国は、中国873名(45.5%)、韓国387名(20.2%)、台湾254名(13.2%)、ベトナム155名(8.1%)等であり、本邦より結核罹患率の高い地域(WHO report 2010)出身の者は1875名(97.8%)であった。来日年月日が明らかであった1608名について、入国から健診受診

日までの平均日数は195.3±214.4日、中央値134.0日(5~3877日)であった。健診の結果、結核が疑われた者は24名(1.3%)であった。精密検査の結果、最終的に活動性結核と診断された者は10名(0.5%)であった。10名のうち6名は大阪市において登録があり、年齢は18~27歳、男性5名、女性1名、出身国は中国2名、ネパール2名、台湾1名、ベトナム1名であった。ネパール出身の2名のみ症状を認め、喀痰塗抹陽性であった。1名は塗抹陰性培養陽性、他3名は塗抹培養陰性であった。

(3)外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析  
平均年齢は、日本出生群34.9歳、外国出生群34.5歳、男女比は、日本出生群1.8、外国出生群1.0であり、いずれも有意差を認めなかった。JATA12-VNTRすべてが一致した場合をクラスター形成ありとすると、クラスター形成率は、日本出生群49名(49%)、外国出生群9名(41%)であり、有意差を認めなかった。29歳以下と30歳以上に分けてクラスター形成率を検討したところ、29歳以下では、日本出生群16名(47%)、外国出生群7名(58%)がクラスターを形成していた。一方30歳以上でクラスターを形成していたのは、日本出生群33名(51%)、外国出生群2名(20%)であった。

外国出生者と日本出生者とがクラスターを形成していたものは4グループ認められ、①中国出身者2名と日本出生者2名の計4名、②中国出身者2名と日本出生者1名の計3名、③ブラジル出身者2名と日本出生者1名の計3名、④中国出身者1名と日本出生者1名の計2名であった。そのうち③のブラジル出身者1名と日本出生者1名については、Hypervariable 4領域を含む追加12領域も一致していたが、他の患者については追加領域の一致は認められなかった。またこれらすべての患者について、疫学的なつながりは認められなかった。

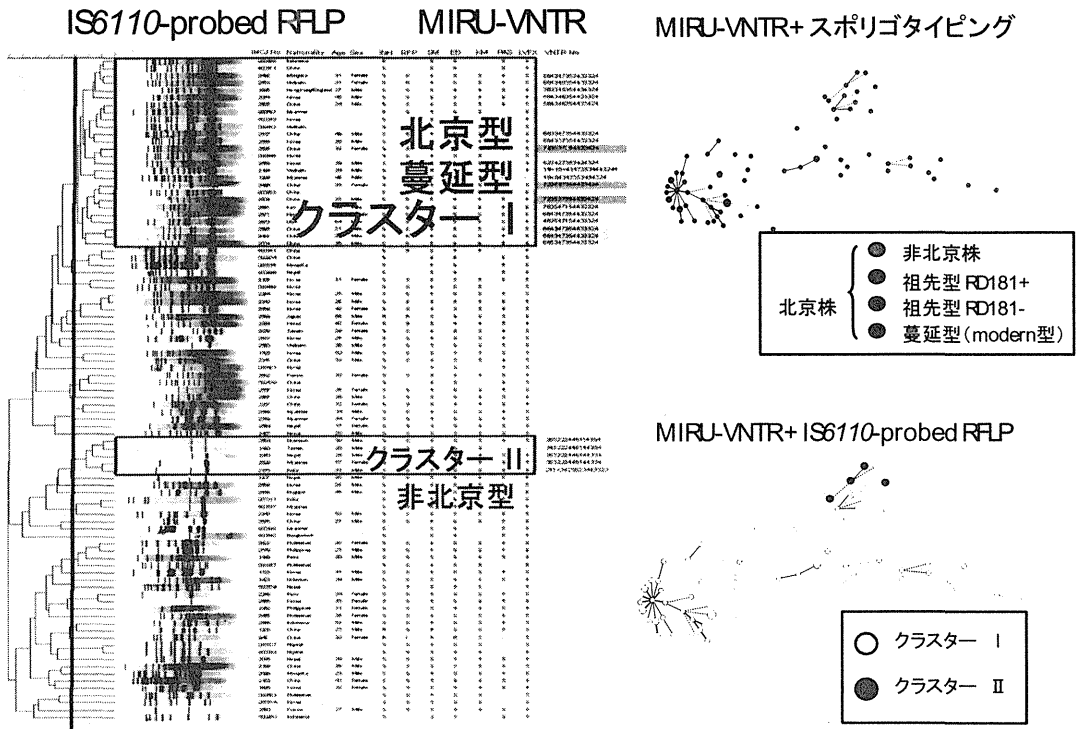
# 外国人結核菌の分子疫学解析

## 外国人結核の国内流行示唆

- ① RFLP解析で2種のクラスター形成を発見より特定の菌株蔓延示唆 (小林・切替)
- ② VNTR解析でクラスター I は北京型蔓延型で形成。クラスター I は91株中26株 (28.6%)
- ③ クラスター II は非北京型結核菌

(結核2012、U.W.Conf. 2012)

| RFLP解析<br>クラスター    | I<br>(26例) | II<br>(5例) |
|--------------------|------------|------------|
| 国籍 東アジア<br>(中国、韓国) | 62<br>(%)  | 20<br>(%)  |
| 居住地 新宿区            | 31         | 0          |
| クラスター形成率           | 63         | —          |
| 入国1年未満             | 38         | 0          |
| HIV陽性              | 12         | 0          |
| 薬剤(H,R)耐性あり        | 8          | 0          |
| 北京型 蔓延型            | 67         | 0          |
| 非北京型               | 0          | 100        |





# 東京・大阪・神戸の外国人結核の分子疫学解析と実態把握

## 国立国際医療研究センター

(小林、切替)

### 外国人結核の間で特定の菌株蔓延示唆 ⇒ 全DNA解読

- ・東日本在住外国人結核由来91株と日本人由来172株結核菌
- ・次世代シーケンサ(NGS)で全ゲノムDNA配列を決定。
- ・結核薬耐性変異検索およびバーチャルスポリゴタイピングによる系統解析を実施。

- ①薬剤耐性とNGSの解析結果の一致率良好。
- ②北京型を含む複数系統から構成。
- ③正確で再現性の高いタイピングや薬剤耐性判定が判明。

### 薬剤耐性変異の検索

|          | drug resistance<br>by hosp.lab. | mutations  |            |            |
|----------|---------------------------------|------------|------------|------------|
|          |                                 | RIF        | INH        | CFX        |
| sample 1 | SM10                            |            | katG R463L |            |
| sample 2 | -                               | rpoB D545E | katG R463L |            |
| sample 3 | -                               |            | katG R463L |            |
| sample 4 | -                               |            |            | gyrA A463S |
| sample 5 | -                               |            | katG R463L |            |
| sample 6 | -                               |            |            | gyrA N262K |

### バーチャルスポリゴタイピング

| #  | sample<br>name | Spoligo type |   |   |   |   |   |
|----|----------------|--------------|---|---|---|---|---|
|    |                | 1            | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 6  | J 018          | 0            | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7  | J 044          | 0            | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8  | J 046          | 0            | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9  | J 049          | 0            | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | J 032          | 0            | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 11 | J 008          | 1            | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 12 | J 027          | 1            | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |

## 東京

- ・新宿区の外国人結核は多剤耐性 37.5%(小林)
- ・HIV合併 4%(豊田:東京病院)
- ・結核1958名中外国人結核 5.7%  
うち多剤耐性 26.1%(野内:複十字病院)

## 大阪

(下内)

- ①学生35%と多し(うち日本語学校生50%)
- ②日本語学校の健診重要。

### 日本語学校結核健診 (2226名)

結核の疑い 1.8% ↑  
活動性結核 0.4% ↑

### 日本人(大阪市)健診 結核発見率0.03%

## 神戸

(藤山)

多剤耐性結核  
(中国人)北京型蔓延型

同じVNTRパターン(外国人結核の間で特定の菌株蔓延)

## II. 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9、10、11、12、表29)

最初に2箇所のSNP分析、すなわち *fadD* 3284855位と1477596位を分析することで結核菌は、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る。これらのグループ毎に各遺伝型に特徴的なSNP分析を行うことで、遺伝的背景に基づき20のサブグループに分類することができるシステムができた。

### 2. SNP タイピング用のプローブのデザインと型別能力の確認

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プローブを利用したリアルタイムPCRでSNP分析する系を22箇所のローカスについて検討した。サイクリングプローブの委託合成料金は、TaqMan MGBプローブの半分程度なので、サイクリングプローブを最初に選択し、プローブがデザインできない場合や確認実験でうまく検出できないローカスは、MGBプローブに変更するなど再合成を行った。最終的に22箇所すべてのSNPサイトの変異を検出できるSNP分析系を構築した。

### 3. SNP 解析の解析例

PCR法でNTF領域へのIS6110の挿入が確

認できている100株の北京型-Modern結核菌をについて1477596、1059643、2532616、1692069位のSNP分析を行った。その結果、北京型Modern結核菌の内、63株がBJ09、15株がBJ09.1に分類され、合計78株がBJ09グループの株だった。次いでBJ10グループ(21株)、BJ11グループが1株だった。北京型-Modernは、日本国内での存在頻度がそれほど高くないが、VNTR分析においても多型性が低く型別が難しい。SNP解析でも報告されているSNPローサイが少なく、十分に型別することが難しいと考えられる。

### 4. 各国で分析を行う株について

本システム検証のため、各国で約200株程度の結核菌を分析することとした。既にストックしてある株から各国の事情に応じて、出来るだけバイアスがつかないように分析する株の選択を行うこととした。

### 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。

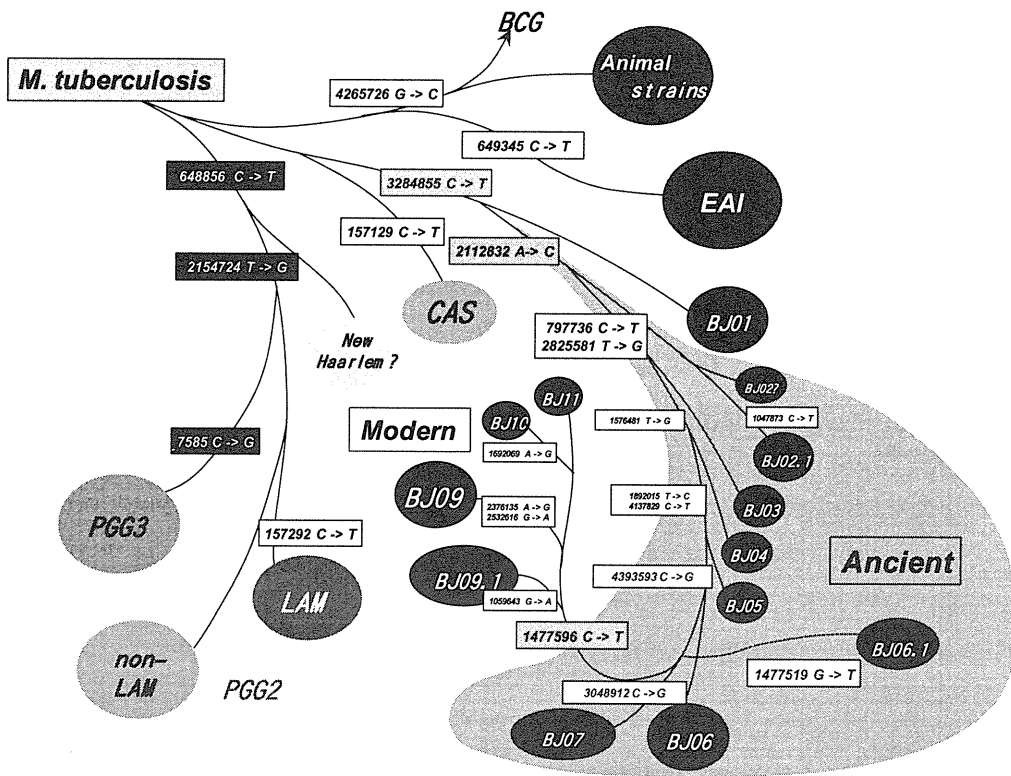


図9. 臨床分離結核菌のSNPs解析  
 本SNP遺伝系統解析により結核菌は23系統に区分できる

東アジアで分離される結核菌のSNP分析による系統解析

リアルタイム  
PCRによる  
SNP検出系  
の確立

リアルタイム  
PCRは  
シーケンスより  
①迅速 ②簡便

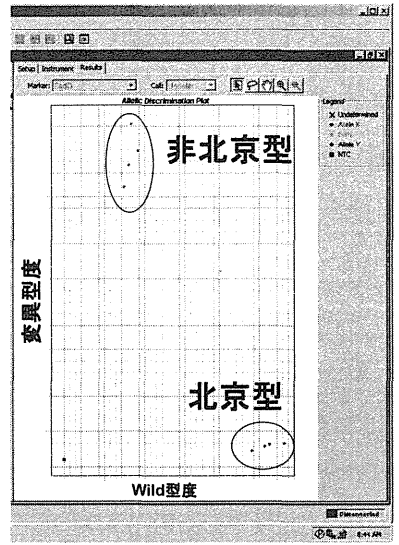
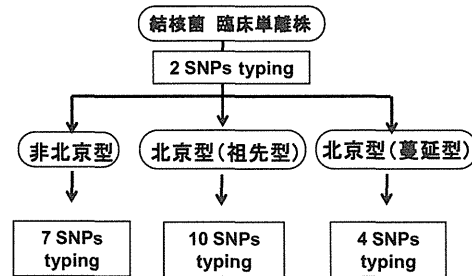


図 10

東アジアで分離される結核菌のSNP分析による系統解析

SNP解析 パイプライン



共通に利用する結核菌SNP部位23箇所を設定した

- (1) 非北京型、北京型祖先型と北京型蔓延型の三つのグループに分離成功。
- 3284855: 北京型と非北京型を区分  
1477596: 北京型蔓延型と祖先型を区分
- (2) 次にグループ毎に分析。  
①非北京型は7箇所のSNP部位。 ②北京型祖先型は10箇所  
③北京型蔓延型は4箇所  
合計17箇所SNPプローブ設計成功

図 11