

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 24 年度分担研究報告書

研究課題： アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に関する研究（H23 - 新興—指定—020）

研究代表者： 国立感染症研究所・副所長 倉根 一郎

分担研究課題： 非結核性抗酸菌感染症の研究

研究分担者： 国立感染症研究所・免疫部長 小林 和夫

研究協力者： 台湾行政院衛生署疾病管制局分枝桿菌実験室・請負人 周 如文

研究協力者： 国立台湾大学医学院附設医院内科部・主治医師 王 振源

研究協力者： 国立感染症研究所・免疫部第二室長 阿戸 学

研究協力者： 国立感染症研究所・免疫部第二室研究員 松村 隆之

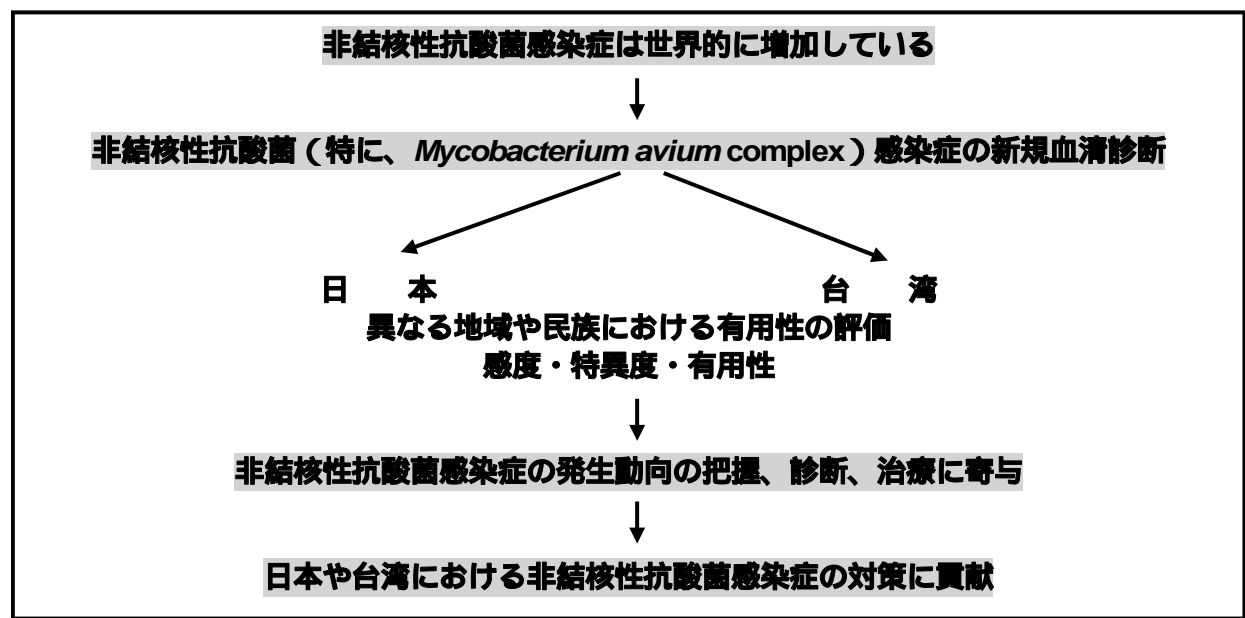
研究協力者： 大阪市立大学大学院医学研究科・細菌学准教授 松本 壮吉

研究協力者： 国立病院機構刀根山病院・副院長 前倉 亮治

研究協力者： 国立病院機構刀根山病院・呼吸器内科医長 北田 清悟

研究要旨

活動性非結核性抗酸菌（特に、*Mycobacterium avium complex*：MAC）感染症の迅速簡便血清診断（所要：約 3 時間）の研究開発に関し、台湾-日本（台日）共同研究を推進した。研究分担者は血清診断キット（キャピリア® MAC 抗体 ELISA タウンズ）の開発に寄与し、本キットは体外診断用医薬品製造販売承認（厚生労働省）され、保険医療対象検査項目となった。しかし、本キットの異なる地域や民族における有用性に関する国際評価は未了である。平成 24 年度の共同研究成果として、1）台日でヒトを対象とする医学研究倫理審査の承認、2）台湾の MAC 感染症患者血清を収集、3）MAC 抗体価を測定し、感度：59%、特異度：91%であった。今後、症例を蓄積し、血清診断キットの性能を評価する。



A. 研究目的

非結核性抗酸菌（NTM）感染症は結核など抗酸菌感染症の約 10-20%（世界：100-200 万人、日本：2,500-5,000 人/年）を占め、世界的に増加している。

特に、*Mycobacterium avium complex*（MAC）感染症は非結核性抗酸菌感染症の 70-80%を占め、最頻である。MAC は特異的細胞壁表層糖ペプチド脂質（GPL）を有し、化学的に GPL は全ての MAC に共

通な GPL 核と可変的な糖鎖部分から構成される。アメリカ合衆国胸部疾患学会および感染症学会の診断基準（2007 年）に合致した活動性 MAC 感染症に関し、感度や特異度を指標として、MAC 共通抗原である GPL 核抗原に対する血清 IgA 抗体検出の診断キットを開発した。国内検体では診断感度：84%、特異度：100%、また、所要時間は 3 時間（従来法では約 1 か月）であり、高い臨床的有用性を示し、厚生労働省は体外診断用医薬品製造販売承認し、保険医療品目として収載されている（2011 年 8 月）。

この診断キットは GPL 特異的 IgA 抗体応答を指標しているため、人種による免疫応答の差異が臨床的有用性に影響を与える可能性がある。加えて、非結核性抗酸菌感染症は地域により、原因菌種の頻度が異なることが知られている。

本診断キットの国際的有用性を検証するため、日本と異なる地域や民族（台湾）における性能評価を目的とした。

B. 研究方法

活動性抗酸菌感染症の血清

抗酸菌感染症（MAC を含む非結核性抗酸菌抗酸菌、結核）患者の血清を収集する。

キャピリア[®] MAC 抗体酵素免疫測定（ELISA）による血清抗体価の測定

MAC 感染症の MAC 特異抗原に対する血清 IgA 抗体を検出する迅速血清診断キット（所要：約 3 時間、カットオフ値：0.7 U/mL、キャピリア[®] MAC 抗体 ELISA タウンズ）を用い、血清抗体価を測定する。

倫理面への配慮

ヒトを対象とする医学研究倫理に関し、国立感染症研究所や国立台湾大学病院で申請書を作成、機関承認を得る。なお、利益相反はなかった。

C. 研究結果

対象患者候補の選定

抗酸菌感染症（MAC を含む非結核性抗酸菌抗酸菌、結核）患者候補を選択した。現在まで、診断基準（2007 年）に合致した活動性肺 MAC 感染症：42 症例、MAC 混入（contamination）：11 症例、その他の肺疾患（細菌性肺炎、慢性閉塞性肺疾患、肺がんなど）：10 症例から血清を収集した。

キャピリア[®] MAC 抗体酵素免疫測定（ELISA）による血清抗体価の測定

活動性肺 MAC 感染症で血清抗体陽性は 25、陰性は 17 症例、MAC 混入（contamination）：陽性は 1、陰性は 10 症例、その他の肺疾患で陽性は 2、陰性は 8 症例であり、血清診断キットの感度は 59%、特異度は 91%であった。

ヒトを対象とする医学研究倫理審査

血清検体の収集や抗体価の測定に先立ち、台日の双方において研究計画に関するヒトを対象とする医学研究倫理審査が承認された。

D. 考察

非結核性抗酸菌（NTM）感染症は結核など抗酸菌感染症の約 10-20% を占め、世界的に増加している。特に、*Mycobacterium avium complex*（MAC）感染症は非結核性抗酸菌感染症の 70-80% を占め、最頻である。NTM 感染症の診断は米国胸部疾患学会 / 感染症学会の診断基準（2007 年）により、診断される。その骨子は 1）臨床症状（慢性咳嗽、喀痰、発熱など）、2）画像所見（浸潤、空洞、気管支拡張）および 3）細菌学的所見（喀痰培養：2 回以上陽性）から構成されている。MAC は遅発性（集落形成に約 2 週間が必要）であり、細菌学的所見（喀痰培養：2 回以上陽性）を満足するため、MAC 感染症の確定診断に約 1 か月が必要となる。

この血清診断キットは MAC 特異的細胞壁抗原（GPL）を用い、特異的血清 IgA 抗体応答を指標としている。日本国内の多施設共同研究による性能評価では感度（84%）、特異度（100%）、迅速性（所要時間：3 時間）など、高い有用性を示している。しかし、宿主抗体応答は人種による免疫応答の差異が臨床的有用性に影響を与える可能性がある。

目標症例数には達していないが、台湾における活動性 MAC 感染症の血清診断の感度は 59%、特異度は 91%であった。この成績は日本国内の多施設共同研究による性能評価に比し、特に、感度が低下していた。その可能性として、1）人種による抗体免疫応答の差異、2）臨床的背景の差異（喀痰培養で 2 回以上陽性の時間的間隔や臨床像など）や 3）カットオフ値の再考が考えられた。なお、MAC の微生物学的性状には差異はなかった。今後、さらに、症例を蓄積し、性能評価を進める。

E. 結論

- 活動性 MAC 感染症の血清診断に関し台日の双方において研究計画に関するヒトを対象とする医学研究倫理審査が承認された。
- 目標症例数には達していないが、台湾における活動性 MAC 感染症の血清診断の感度は 59%、特異度は 91%であった。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tateishi, Y., S. Kitada, K. Miki, R. Maekura, Y. Ogura, Y. Ozeki, Y. Nishiuchi, M. Niki, T. Hayashi, K. Hirata, **K. Kobayashi**, and S. Matsumoto. 2012. Whole-genome sequence of the hypervirulent clinical strain *Mycobacterium intracellulare* M.i.198. *J. Bacteriol.* 194: 6336.
- 2) Niki, M., M. Niki, Y. Tateishi, Y. Ozeki, T. Kirikae, A. Lewin, Y. Inoue, M. Matsumoto, J. I. Dahl, H. Ogura, **K. Kobayashi**, and S.

Matsumoto. 2012. A novel mechanism underlying growth phase-dependent tolerance to isoniazid in mycobacteria. J. Biol. Chem. 287: 27743-27752.

- 3) Tamaru, A., C. Nakajima, T. Wada, M. Inoue, R. Kawahara, R. Maekura, Y. Ozeki, H. Ogura, **K. Kobayashi**, Y. Suzuki, and S. Matsumoto. 2012. Dominant incidence of multidrug and extensively drug-resistant specific *Mycobacterium tuberculosis* clones in Osaka prefecture, Japan. PLoS One 7: e42505.
- 4) 松村隆之、阿戸 学、**小林和夫** .2012 .解説 . 結核および非結核性抗酸菌感染症の診断 . リウマチ科 47 : 427-435.
- 5) **小林和夫**、松村隆之、阿戸 学 .2012 .解説 . 結核や非結核性抗酸菌感染症の動向と最近の話題 . JBSA Newsletter 2 (3) : 6-10.

2. 学会発表

- 1) 佐藤法仁、山崎利雄、**小林和夫**、大原直也 . 2012 . ストレプトマイシン依存性結核菌 18b 株の依存性に関する遺伝子変異の解明と新たなストレプトマイシン耐性を誘導する遺伝子発見の発見 . 結核、87 : 231、2012 . 第 87 回日本結核病学会総会 (広島、6 月) .

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 特になし
2. 実用新案登録 特になし
3. その他 特になし