

前回の 2007 年の調査から 5 年が経過し、同時に感染症法も施行後 5 年となった。前回の調査では LVFX の未治療耐性率が INH に匹敵するほど既に高率であることが判明するなど、新たな発見があった一方で、研究参加施設の減少や疫学研究上の倫理指針の取扱など、研究実践上の問題点も数多く指摘されている。特に結核診療施設の集約化で一部の施設に調査上の大きな負担がかかっている。

今回、前回の調査での問題点（三種病原体の輸送、一部施設への過剰な負担、研究倫理、研究期間の長期化、等）を可能な限り回避し、さらに療研調査独自の優位性（感受性試験精度保証と疫学的地域バランス）を最大限に生かすよう研究デザインを変更し、第 15 回となる耐性結核菌全国調査の実施を企画する。

B. 研究方法

参加施設：全国の療研委員施設のうち研究参加の要請を諾とした施設を対象とする。なお、疫学調査としての代表性を確保するため可能な限り参加協力を得る必要がある。

I. 目的

1. 総合目標

日本における耐性結核菌の総合的な情報を全国レベルで収集・解析する

2. 個別目標

- 研究期間内に分離された結核菌について Isoniazid (INH)、Rifampicin (RFP)、Ethambutol (EB)、Streptomycin (SM)、Levofloxacin (LVFX) の薬剤耐性を調査する。
- 未治療、既治療患者における薬剤耐性菌の頻度を評価する。
- 疫学的情報（年齢、性別、地域、合併症）と薬剤耐性との関連を解析する。
- 多剤耐性菌について、二次抗結核薬（ETH、KM、PAS、CS）、LVFX、Pyrazinamide (PZA) 等の薬剤感受性試験を実施する。
- 多剤耐性結核菌について VNTR 等の遺伝子タイピングと系統解析を行う。

II. 方法：

1. 調査対象

研究期間内の全ての結核菌培養陽性症例

2. 調査対象期間

研究期間（情報収集対象期間）は 2012 年 1 月～12 月とする。

3. 調査対象数

2007～2008 年に実施した第 14 回の療研調査から RFP の耐性率を未治療患者に於いて 0.7%、既治療患者で 6.7%とし、以下の式より必要数を算出する。

$$n = (N * z^2 * p * (1-p)) / (d^2 * (N-1) + z^2 * p * (1-p))$$

N: 全結核菌陽性患者数, z: z-value (信頼度 95%として 1.96), d: absolute precision (not more than 20% of p value), p: 期待される RFP 耐性率

(参照：Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis - 4th ed. WHO/HTM/ TB/2009.422)

2011 年の結核統計から結核菌陽性患者数（総数：14,425, 新規罹患数：13,074, 再治療者数：1,351）を各 N として、新規患者における $p=0.007$ 、 $d=0.0014$ 、既治療患者での $p=0.067$ 、 $d=0.01$ (1%) と設定すると、未治療患者での必要数は $n=6,672$ となる。同様に、既治療患者での必要数は $n=865$ となる。やはり 2011 年の罹患数から地域毎の予定必要数を表 1（別紙）の様設定する。

4. 調査方法

今回の耐性調査では、基本的に結核菌を分離株として収集しない。感受性試験に関する精度保証を行っていることを前提として、対象薬剤の感受性試験結果のみを収集し、解析する。ただし、多剤耐性結核菌のみ二次抗結核薬感受性試験のため最終段階で輸送・収集する。^{註)}

註：この点は調査対象期間との関連で設定する。2012 年中に分離された多剤耐性結核菌株は既に廃棄されている可能性があるため、調査を開始した時点で前述の「譲渡を前提とした保管」を了承してもらう必要がある。

a) 結核菌の薬剤感受性試験結果

INH、RFP、SM、EB について、各施設で実施（外注を含む）している感受性試験方法とともに、試験結果を耐性 (R) あるいは感受性 (S) の二つのカテゴリーデータとして調査票（スプレッドシート）に記入する。LVFX については実施してい

る場合のみ記入する。

データの精度保証上の要件として、3年以内に薬剤感受性試験に関する精度保証（外部精度評価）を実施し、これに合格していることとする。外注データを利用する場合は、外注先の施設（検査センター等）が同様の精度評価基準に達していることを前提とする。基本的に耐性既知の結核菌 10 株を使用したパネルテストを実施する。合格基準は、INH と RFP に対する感度・特異度が 95%以上であり、対象となる主要 4 薬剤 (INH, RFP, SM, EB) 全てで一致率が 90%以上であることとする。

b) 患者情報

複数の方法を策定し、検討した。（結果参照）

c) 多剤耐性結核菌

多剤耐性結核菌と同定された菌株については、データ収集期間終了前後にまとめて分与を依頼する。輸送手配は結核研究所抗酸菌レファレンス部・御手洗聡が各施設の担当者と直接連絡し、基本的に専門輸送業者（日本通運航空部）を利用して感染症法に則って実施する。

なお、感染症法上、譲渡を前提とした一時的保管には三種病原体等取扱基準は適用されない。基本的に施錠された管理区域内に於いて施錠された保管庫において保存しておくことができる。

収集した多剤耐性結核菌については、標準比率法に従って Isoniazid (INH)、Rifampicin (RFP)、Rifabutin (RBT)、Ethambutol (EB)、Streptomycin (SM)、Ethionamide (TH)、Kanamycin (KM)、Para-aminosalicylate (PAS)、Cycloserine (CS)、Pyrazinamide (PZA)、Levofloxacin (LVFX)の薬剤耐性を調査する。また、Supply 24（領域追加の可能性あり）に基づく VNTR により分子疫学的解析を実施する。

5. 倫理上の配慮

疫学研究に関する倫理指針（文部科学省・厚生労働省：平成 14 年 6 月 17 日 平成 20 年 12 月 1 日一部改正）の基本的な考え方によれば、その適用範囲は「人の疾病の成因及び病態の解明並びに予防及び治療の方法の確立を目的とする疫学研究」である。しかし以下の研究はこの指針の対象とならないとしている。

- a. 法律の規定に基づき実施される調査
- b. 資料として既に連結不可能匿名化されている情報のみを用いる研究
- c. 手術、投薬等の医療行為を伴う介入研究

今回の研究手法は、結核研究所にデータを集積する時点で資料として連結不能・匿名化されている情報のみ（対応表を作成しない）となる。また、収集する情報も個人を特定できないため、個人情報にはあたらないと考えられる。しかしながら上記 a-c のいずれにも該当しないため、基本的には倫理審査と研究対象者の同意（インフォームド・コンセント）を必要とすると考えられるが、当該指針には同時にインフォームド・コンセント等の簡略化あるいは免除に関する以下の様な記載がある。

①当該疫学研究が、研究対象者に対して最小限の危険を超える危険を含まないこと。

②当該方法によることが、研究対象者の不利益とならないこと。

③当該方法によらなければ、實際上、当該疫学研究を実施できず、又は当該疫学研究の価値を著しく損ねること。

④適切な場合には、常に、次のいずれかの措置が講じられること。

(ア) 研究対象者が含まれる集団に対し、資料の収集・利用の内容を、その方法も含めて広報すること。

(イ) できるだけ早い時期に、研究対象者に事後的説明（集団に対するものも可）を与えること。

(ウ) 長期間にわたって継続的に資料が収集又は利用される場合には、社会に、その実情を、資料の収集又は利用の方法も含めて広報し、社会へ周知される努力を払うこと。

⑤当該疫学研究が社会的に重要性が高いと認められるものであること。

(ア) 今回の研究は日常診療（診断）の一環として実施される薬剤感受性検査の結果を収集・解析するものであり、診療上の不利益を与える可能性はない。患者の多くは研究実施以前に退院していると考えられ、インフォームド・コンセントを得ることは実際上困難である。また研究の内容や収集の方法は施設に於いて広報可能であり、もとより結果は社会的に周知される。当該研究が社会的に重要な情報

を提供することは過去の歴史からも明白である。

(イ) 従って、今回の研究方法に関する限り、研究対象者からインフォームド・コンセントを受けける手順は免除されうるものと考えられる。しかしながら、研究の目的を含む研究の実施についての情報を各施設で事前に公開する必要があり、また各研究参加施設に於いて倫理審査委員会にインフォームド・コンセント免除の判断を諮問する必要がある。

C. 結果

研究の方法に関連し、臨床データの収集について多くの問題が想定されたため、データ収集法の検討を主に行った。

<第一案>

1 対象患者

検査精度を考慮し、対象患者は耐性の事前確率が高いと考えられる治療歴のある再治療患者のみとする。

2 検体情報

実施年の前年一年間の耐性結核菌情報を収集する。各医療施設で実施されている薬剤感受性検査の結果のみを情報として収集し、菌株の収集は行わない。ただし多剤耐性結核菌のみは二次抗結核薬の薬剤耐性検査及び分子疫学的解析を実施することを前提に、全株をまとめて収集し、結核研究所にて解析を実施する。薬剤感受性検査情報の提供にあたっては、事前の外部精度評価の実施を前提とする。

3 臨床情報

以下の情報に限定する。

3.1 年齢

3.2 性別

3.3 国籍

3.4 診断名（肺結核・肺外結核）

3.5 治療歴（脱落後再治療・再発後再治療・治療失敗）

3.6 合併症

3.7 感受性検査方法

対象患者を再発例のみとして患者数を限定し、さらに臨床情報を限定することで各施設での情報入力にかかる負担を可能な限り軽減する。

4 対象薬剤

薬剤感受性検査の精度と外部精度評価活動の実践性を考慮し、従来通りイソニアジド、リファンピシン、エタンブトール、ストレプトマイシンの4薬剤を対象として耐性情報を収集する。

5 実施期間

持続的サーベイランスとして実施することを前提とし、毎年実施する。集計・解析結果も毎年報告する。

6 データ形式

エクセルデータとしての入力ファイルを作成して配布する。情報はウイルス感染等による漏洩に配慮し、電子メールによる送受信は行わず、CD-ROMの郵送とする。

<第二案>（ここに記載していない事項は「方法」の内容に準ずる）

1 対象患者

研究期間内の全ての結核菌培養陽性症例（未治療・既治療を共に含む）

2 患者情報

研究参加施設の実質的負担を最小化するため、基本的に以下の情報に限定する。

① 年齢：結核診断時の満年齢

② 性別：男性あるいは女性

③ 国籍：日本国籍あるいは外国籍

④ 診断名：肺結核あるいは肺外結核

⑤ 治療歴：初回治療・再発後再治療・脱落後再治療・治療失敗後再治療・慢性排菌・その他の再治療

⑥ 合併症：糖尿病・ステロイド使用・悪性腫瘍・循環器障害・脳血管障害・腎機能障害・肝機能障害・その他

なお、脱落後再治療は「連続2ヶ月以上治療中断で治療に復した場合」とし、治療失敗後再治療は「治療5ヶ月目以降に菌陽性があつて再治療されている場合」と定義する。また慢性排菌については「排菌状態が間欠的であっても1年以上継続している場合」とする。

<第三案>

コンセプトとして、各参加施設からの収集する臨床情報を最小限とし、必要なその他の臨床情報

は結核登録者情報データでマッチングして収集する方法である。

1. 対象患者

研究期間内の全ての結核菌培養陽性症例（未治療・既治療を共に含む）

2. 患者情報

研究参加施設の実質的負担を最小化するため、基本的に以下の情報に限定する。

- ① 年齢：結核診断時の満年齢
- ② 性別：男性あるいは女性
- ③ 生年月日
- ④ 登録保健所名

スプレッドシート（Microsoft Excel）としての入力ファイルを作成して配布する。あるいは、スプレッドシートに変換できるテキストデータで送付を依頼する。情報はウイルス感染等による漏洩に配慮し、電子メールによる送受信は行わず、CD-ROM の郵送とする。

3. 臨床情報と感受性試験データのマッチング

各病院から収集した情報をとりまとめ、それぞれの登録保健所にデータの提供を依頼する。具体的には性・生年月日によって発生動向調査情報から患者を特定し、必要な臨床情報を抽出する。基本的に以下の情報を抽出する。

- ① 診断名
- ② 出生国
- ③ 入国時期
- ④ 外国国名
- ⑤ 職業分類
- ⑥ 治療区分
- ⑦ レントゲン病型
- ⑧ 合併症
- ⑨ 検体の種類
- ⑩ 塗抹検査結果

マッチングされた情報を結核研究所にて解析する。なお、保健所でのマッチングを行うためのプログラム（エクセル上で動作）を開発し、それぞれ送付する。

< 第四案 >

1. 対象患者

研究期間内の全ての結核菌培養陽性症例（未治療・既治療を共に含む）

2. 患者情報

厚生労働省健康局結核感染症課に協力を依頼し、保健所に患者データの提供を依頼する。基本的に以下の情報を抽出する。

- ① 年齢：結核診断時の満年齢
- ② 性別：男性あるいは女性
- ③ 生年月日
- ④ 登録保健所名
- ⑤ 診断名
- ⑥ 出生国
- ⑦ 入国時期
- ⑧ 外国国名
- ⑨ 職業分類
- ⑩ 治療区分
- ⑪ レントゲン病型
- ⑫ 合併症
- ⑬ 検体の種類
- ⑭ 塗抹検査結果

収集された情報のうち、研究参加施設から登録された患者情報のみを選別し、結核研究所にて解析する。

D. 考察

2012年度の結核療法研究協議会総会（2012年5月10日於広島）において、療研2012年度研究課題（第15回薬剤耐性調査・第一案）の提案を行った。これに対して委員からは、初回治療耐性は重要であり、必要な情報である。これを除外することは望ましくない、という意見が出された。諸外国も未治療及び既治療耐性を報告しており、日本だけが同データを提示しないことに対する問題も示唆された。

一方で、2011年に茨城で発生したドライアイスの不適切な使用による国連容器爆発事故により、結核菌を輸送する主要な手段であるゆうパックに四次容器（ジュラルミンケース）の使用が義務化され（2012年6月1日施行）、大量輸送が困難となっている。これは結核菌の収集ばかりか、精度保証のためのパネルテストの実施も妨げる要因となる。（ゆうパックの規定は厳密には感染症発生動向調査関連の運搬に限られているものの、実際にはあらゆる検体について要求されている。）また、その他にも結核菌薬剤耐性調査に関連する種々の実践上の制限（倫理、三種輸送、情報入力等）が引き続き存在している。調査実施上の実践

的問題点は以下の通りである。

まず、統計的に必要な研究対象者数が未治療患者で6,672名、既治療患者で865名と計算される。これは各々年間の菌陽性患者数（2011年のデータで算出）の51.0%と64.0%に相当する。療研参加施設全ての協力を得たととしても、これだけのデータを得られるかどうか疑問である。実際に2007年の調査でも必要数2,800に対して2,292名分のデータしか得られていない。近年臨床の現場は相当に忙しく、全ての対象者から説明の上同意を得るという形式を取る限り、想定される必要数が得られる可能性は低いと考えざるを得ない。

2007年に収集された結核菌株は2,950株である。しかしながら臨床情報が2,292名分しか得られなかった主要な理由は、少数施設に数百例分の症例が集中し、臨床情報の入力的大幅に遅れた（多くは得られなかった）ためである。今回の必要数は耐性率の低下を反映して前回の2倍以上となっており、臨床データ収集の困難性が予想される。

三種病原体の保管・運搬の問題（あるいは誤解）は解決されていない。譲渡前提の一時保管では三種の届出は必要ないことを周知する必要がある。また、検査センターの場合、個別に事前依頼しておく必要があるが、会社によっては内部規定上保管・譲渡を拒絶する可能性がある。

多剤耐性結核菌について収集を予定した場合、1回の輸送にかかる費用が高額であることからある程度の期間保管が必要となる。譲渡を前提とした一時的保管は期限を定めていないものの、「速やかに」との記述があることから、1年所持することが問題になる可能性がある。

療研耐性調査の結核登録者情報との最大の違いは、検査の精度保証がなされていることであり、今回の調査についても外部精度評価を実施することで最小限の精度を保証することを考慮したが、精度保証に必要な手間とコストを確保する必要がある。さらに、耐性率が極めて低いRFPやEBについては、感度98%・特異度99%としても未治療患者で適中率が50%に達しない。試験精度上も問題があると言える。

倫理上の配慮について、免除の適用を考慮しているが、本来は個々にインフォームド・コンセントを得ることが好ましいと思われる。各施設の倫理委員会でこの適用除外とならない可能性があ

る。同意を得るプロセスを必要とする場合、症例数が減少する一因となる。

上記の問題点を再考し、適切な方法を再検討する必要があるが、対象患者と結核登録者情報をリンクして医療機関の負担を軽減し、かつ詳細な臨床情報を収集するという案については現時点で厚生労働省の同意が得られていない。従って数千株（症例）の情報を収集することは物理的に困難であり、統計的に有意な結果を得られない可能性がある。

結核の特定感染症予防指針には病原体サーベイランスシステムの確立が謳われており、薬剤耐性情報も含まれる。結核登録者情報は既に主要な薬剤の耐性情報を含んでおり、これを精度的に充実させることによって間欠的サーベイよりも有用な適時的情報が得られると思われる。療研調査は、この全体的サーベイランスシステムでは対処できない耐性菌の二次抗結核薬耐性調査等に移行するのが望ましいと考える。

E. 結論

第15回となる2012年度の薬剤耐性結核菌全国調査の準備を行った。継続的に低下している薬剤耐性率を背景に、疫学的に有意な結果を得るためのサンプルサイズが増大しており、具体的な結核菌収集及び臨床情報収集に支障を来すまでになっていることが明確となった。効果的な実施のために複数の案を検討しているが、現時点で明確な結論が得られていない。引き続き議論が必要であるが、疫学的あるいは細菌学的適正性は確保しなければならない。

F. 健康危惧情報

なし

G. 研究発表

1. 御手洗聡, 水野和重, 近松絹代, 青野昭男, 山田博之, 菅本鉄広, 山岸文雄. 第14回結核療法研究協議会調査による全国の結核菌薬剤耐性状況(1) 結核 2012; 87: 270. 第87回日本結核病学会総会 広島 2012年5月10-11日
2. 御手洗聡, 水野和重, 近松絹代, 青野昭男, 山田博之, 菅本鉄広, 山岸文雄. 第14回結

核療法研究協議会調査による全国の結核菌
薬剤耐性状況(2) 結核 2012; 87: 271. 第87
回日本結核病学会総会 広島 2012年5月
10-11日

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

<研究協力者>

御手洗聡

結核予防会結核研究所抗酸菌部部長

吉山 崇

結核予防会複十字病院診療部付部長

表 1 2011 年の結核罹患数に基づく必要予測数

ブロック	罹患数	比率	必要検体数			
			未治療	未治療+10%	既治療	既治療+10%
北海道・東北	1,652	0.073	486	535	63	69
関東甲信越	8,269	0.365	2,432	2,676	315	347
中部・北陸	3,291	0.145	968	1,065	126	138
近畿	4,852	0.214	1,427	1,570	185	204
中国・四国	1,909	0.084	562	618	73	80
九州	2,708	0.119	797	876	103	114
計	22,681	1	6,672	7,339	865	952

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
研究分担報告書

- 1.新化学療法剤を含めた治療方法の開発と臨床応用
- 2.患者血清中の Granulysin や Ksp37 等による慢性排菌や再発の予後診断法開発

研究分担者

岡田全司 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター長

研究要旨

1. 新化学療法剤を含めた治療方法の開発と臨床応用

- (1) 新しく開発された OPC-67683 (デラマニド) は臨床試験でヒト・多剤耐性結核に有効であることが報告されているが、多剤耐性結核患者への応用は本邦の認可を受けてから行う予定。
- (2) 臨床応用に向けてデラマニドと結核ワクチン (HVJ-エンベロープ/HSP65DNA+IL-12DNA) を併用して、結核に対する相乗的治療効果の解析をマウスの系で開始した。
- (3) デラマニド (OPC67683) を用いた結核治療効果
 - a 新規治療剤 Delamanid の多剤耐性結核 (MDR-TB)、感染力の強いスーパー・スプレッダー (S・S) 多剤耐性結核に対する治療効果。AIDS モデルマウスで Delamanid 結核治療効果。
 - b Delamanid のヒト多剤耐性結核患者第 II b 相臨床試験を終了。
- (4) カプラザマイシン (CPZEN-45)
 - a XDR-TB に対し治療効果 (マウス)。
 - b INH+RFP 治療法とカプラザマイシンは相乗的結核治療効果。
 - c カプラザマイシン+新規結核治療ワクチン (HSP65+IL-12DNA) 併用治療にて結核治療相乗効果。T細胞増殖の相乗効果。IL-6 産生に対する相乗効果。特許を取得中。Current Global TB Drug パイプラインに preclinical drug としてノミネートされた。
- (5) 調査票 (新しい結核治療剤使用) を全国結核診療施設 (259 施設) に送付し、123 施設より回答があった。(47.5%) 国立病院機構 52 施設中 30 施設より回答あり。
 - (1) リファブチン
 - (2) リネゾリド
 - (3) メロペネム-クラブラン酸
 - (4) リファペンチン
 - (5) モフロキサシンの効果、副作用を調査した。2010 年から 2013 年 2 月までの 3 年 2 ヶ月
 - ① リファブチン 34 例、リネゾリド 21 例、メロペネム-クラブラン酸 2 例、リファペンチン 0 例、モフロキサシン 15 例の報告があった。(合計 66 症例の報告)
 - ② リファブチンでは 35 例中 28 例 (84.8%) に有効。リネゾリドでは 21 例中 20 例 (95.2%) に有効。メロペネム-クラブラン酸では 2 例中 2 例 (100%) に有効。モフロキサシンでは 15 例中 12 例 (80%) に有効。
 - ③ 多剤耐性結核は約 1/2 の患者数の 30 例に投与された。リネゾリド及びリファブチンは多剤耐性結核に有効であった。
 - ④ 副作用はリファブチンで白血球減少症、血小板・汎血球減少症、肝機能異常、リネゾリドで骨髄抑制等であった。

2. 患者血清中の Granulysin や Ksp37 等による慢性排菌や再発の予後診断法開発

- (1) MDR-TB 患者や難治性結核患者では CD8 陽性 T 細胞からの結核菌殺傷タンパク granulysin 産生低下が著明。MDR-TB 患者 CD8 陽性 T 細胞内の granulysin 発現は薬剤感受性結核患者のそれより有意に低下。血清中 granulysin も健常人に比較し、再発性結核患者で低下。
- (2) CD8 陽性キラー T 細胞から産生される Ksp37 (Killer specific secretory protein of 37 k Da) の血清中濃度は結核患者 (31 例) で健常人 (60 例) に比較し有意な低下の発見。キラー T 細胞分化誘導作用。IL-2、IFN- γ 、IL-6 産生誘導。
- (3) granulysin と Ksp37 はキラー細胞分化相乗効果。
- (4) Ksp37 遺伝子導入マウスを用いて Ksp37 は生体内での結核増殖抑制効果を初めて発見した。

研究協力

豊田恵美子 NHO 東京病院呼吸器科医長
阿部聖裕 NHO 愛媛病院 副院長
神徳 済 NHO 山口宇部医療センター
呼吸器内科 医師
田尾義昭 NHO 福岡東医療センター
呼吸器感染部長
松本智成 大阪府立呼吸器・アレルギー
医療センター 臨床研究部長
鈴木克洋 NHO 近畿中央胸部疾患
センター 統括診療部長
露口一成 NHO 近畿中央胸部疾患
センター臨床研究センター部長
松村晃秀 NHO 近畿中央胸部疾患
センター 副院長
NHO (国立病院機構) 呼吸器疾患研究
ネットワークグループ (65 施設)

A. 研究目的

1. 近年開発が進んでいる新抗結核薬による多剤耐性結核、難治性結核治療方法の開発を目的。
治癒の可能性と治癒期限の短縮をもたらす。
2. 近年、新抗結核薬の開発が進んでおり、これら新抗結核薬の承認と発売後の活用が待たれている。
3. このため、治療困難な慢性排菌患者の治癒を目指して、新薬のデータ収集、レジ

メンの開発を行う。

4. 全国的な研究体制の構築など周到な準備の下に慢性排菌患者への適用を検討する。
5. また、治療期間の短縮や治癒率の向上のために標準治療や結核エイズ合併例への適用の検討を行う。
6. 結核患者血清中の granulysin や、Ksp37 は結核の重症度につれ低下し、結核免疫に相関することから、慢性排菌や再発の予後診断の可能性を検討する。

B. 研究方法

[I] 新化学療法剤を含めた治療方法の開発と臨床応用

1. 多剤耐性結核患者及び慢性排菌結核患者のデラマニド (OPC67683) 治療。
2. 現在の結核標準治療の INH の代わりにデラマニドを用いて解析する。
3. デラマニドの臨床応用認可が下りるまで動物実験
デラマニドと他の新規抗結核剤や結核治療ワクチンとの相乗的治療効果の解明
4. カプラザマイシン (CPZEN-45) +新規結核治療ワクチン

[II] 患者血清中の Granulysin や Ksp37 による慢性排菌や再発の予後診断法開発

1. 多剤耐性結核患者の血清中及び患者リンパ球を結核抗原で刺激した培養上清

の Granulysin、Ksp37 を ELISA 法を用いて測定した。

2. 結核重症度、難治性の関連を解析した。

[Ⅲ]「新化学療法を含めた治療方法の開発と臨床応用：調査票」を全国結核診療施設（259 施設）に送付した。

①リファブチン ②リネゾリド ③メロペネムークラブラン酸 ④リファペンチン ⑤MFLX の臨床における実態調査（使用調査）を行った。

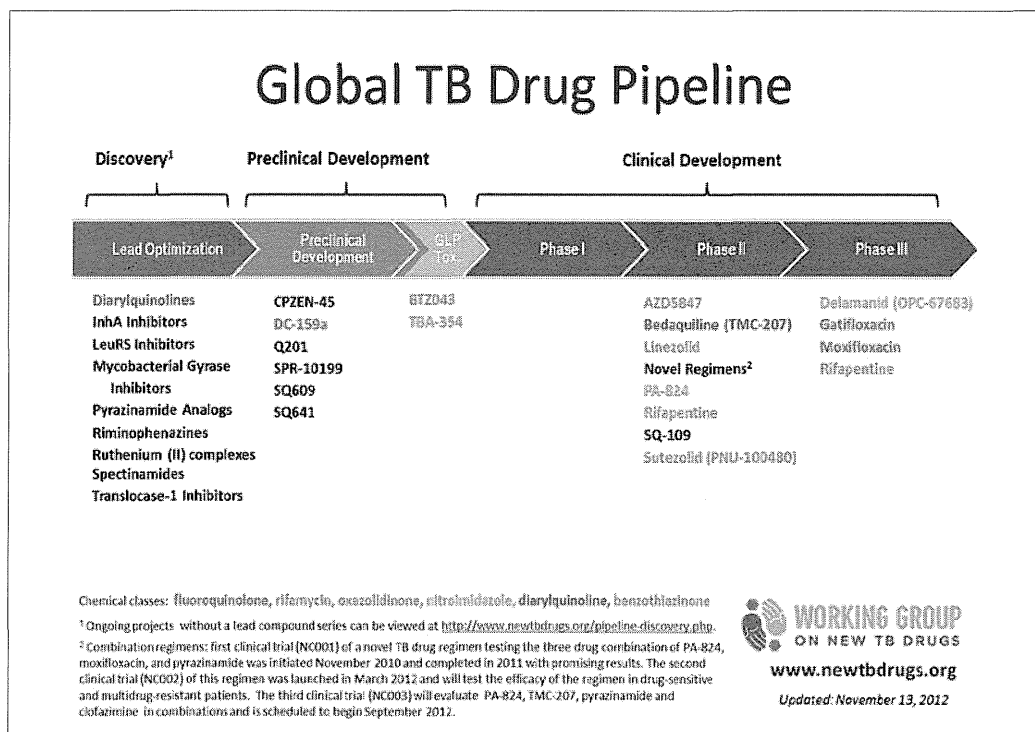
（倫理面での配慮）

国立病院機構近畿中央胸部疾患センターの IRB（臨床試験審査委員会）で「新化学療法剤を含めた治療方法の開発と臨床応用：調査票（新しい結核治療剤使用）」調査票の倫理審査を行い、承認された後に全国結核診療施設に送付した。

C. 研究結果

[I] 新化学療法剤を含めた治療方法の開発と臨床応用

図1



1. 新しく開発された抗結核剤として、図1に示したが如く、デラマニド (Delamanid: OPC67683)、ベダキリン、カプラザマイシン (CPZEN-45) 等が有効であり、特にデラマニド (図2) に大きな期待が寄せられる。すでにデラマニドに関しては我々は表1の如く、多剤耐性結核や感染力の強いスーパー・スプレッダー (S・S) 多剤耐性結核に対する治療効果 (マウス) を ICAAC の学会等に発表してきた。

表1

[現在までの結果]

Delamanid (OPC67683) を用いた結核治療効果

① 新規治療剤 Delamanid の多剤耐性結核や感染力の強いスーパー・スプレッダー (S・S) 多剤耐性結核に対する治療効果 (マウス)。AIDSモデルマウスで結核治療効果。

② Delamanid のヒト多剤耐性結核患者第 II b 相臨床試験を終了。

図2

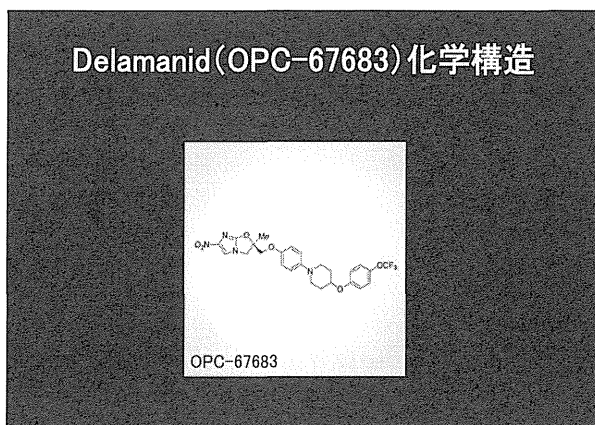


表2

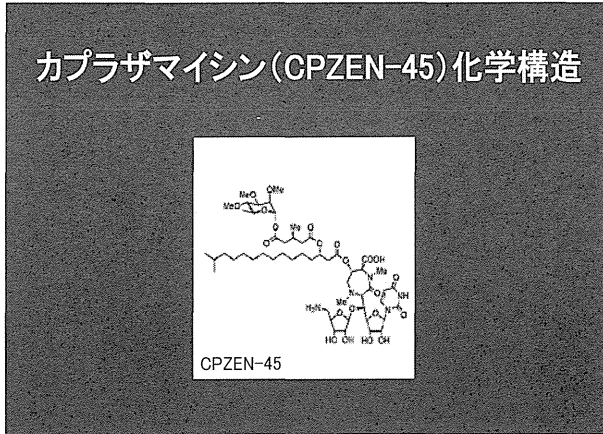
Synergistic therapeutic effect of the combination of (HIV)-Envelope/HSP65 DNA+IL-12 DNA vaccine and chemotherapy (Delamanid) on TB infection.

Group	N	H37Rv Intratracheal Inf. 1000CFU/mouse	Therapy
G1	6	+	(-)
G2	6	+	HSP65+IL-12DNA
G3	6	+	Delamanid 0.0078mg/mouse
G4	6	+	Delamanid 0.03125mg/mouse
G5	6	+	Delamanid 0.125mg/mouse
G6	6	+	HSP65+IL-12DNA
			+ Delamanid 0.0078mg/mouse
G7	6	+	HSP65+IL-12DNA
			+ Delamanid 0.03125mg/mouse
G8	6	+	HSP65+IL-12DNA
			+ Delamanid 0.125mg/mouse
G9	6	+	(-)
G10	6	(-)	(-)

さらに、現在表2のように、デラマニド+HVJ-エンベロープ/HSP65 DNA+IL-12 DNAワクチンの相乗的抗結核治療効果を解析中である。

2. カプラザマイシンの抗結核効果

図3



カプラザマイシン(CPZEN-45)の化学構造は図3に示した如くであり、CPZEN-45がWHOのStop TBのCurrent Global TB Drugパイプラインにpreclinical drugとしてノミネートされた。

現在までの結果を表3に示した。

表3

【現在までの結果】

カプラザマイシン(CPZEN-45)はpreclinical drug。

- ① XDR-TB(超薬剤耐性結核)に対し治療効果(マウス)。
- ② INH+RFP治療法とカプラザマイシンは相乗的結核治療効果。
- ③ CPZEN-45+新規結核治療ワクチン(HSP65+IL-12DNA)併用治療にて結核治療相乗効果。T細胞増殖の相乗効果。IL-6産生に対する相乗効果。
- ④ 我々が特許を取得中のCPZEN-45がWHO Stop TBのCurrent Global TB Drugパイプラインにpreclinical drugとしてノミネートされた。

すなわち①XDR-TB(超薬剤耐性結核)に対し治療効果(マウス)、②INH+RFP治療法とカプラザマイシンは相乗的結核治療効果、③CPZEN-45+新規結核治療ワクチン(HSP65+IL-12DNA)併用治療にて結核治療相乗効果。T細胞増殖の相乗効果。IL-6産生に対する相乗効果、を示唆する予備実験結果を得た。

CPZEN-45はマウスの系でT細胞免疫を増強する結果を得たことより、正式に表4の実験を計画している。

表4

新規化学療法剤(カプラザマイシンCPZEN-45)とHVJ-エンベロープ/HSP65 + IL-12 DNAワクチンとの結核治療相乗効果

グループ	N	H37Rv 感染	治療
G1	6	+	(-)
G2	6	+	CPZEN HSP65 + IL-12 DNA
G3	6	+	CPZEN
G4	6	+	HSP65 + IL-12 DNA
G5	6	+	(-)
G6	6	(-)	

[II]患者血清中のGranulysinやKsp37による慢性排菌や再発の予後診断法開発
研究協力者及び国立病院機構65施設の呼吸器ネットワーク共同研究グループを活用して研究を行った。(表5、表6)

表5

【 II 】患者血清中のGranulysinやKsp37による慢性排菌や再発の予後診断法開発

1. 多剤耐性結核患者の血清中及び患者リンパ球を結核抗原で刺激した培養上清のGranulysin、Ksp37をELISA法を用いて測定する。
2. 結核重症度、難治性の関連を解析する。
3. 研究協力者
 - ・NHO呼吸器疾患研究ネットワークグループ
 - ・複十字病院等との共同研究

表6

国立病院機構研究ネットワークグループ(呼吸器疾患)

呼吸器疾患(結核を含む)
グループリーダー施設 近畿中央胸部疾患センター

メンバー施設 4施設
茨城東 東京 相模原 福岡

研究協力施設 60施設
道北 札幌南 西新潟中央 千葉東 天竜 東名古屋 南京都 奈良
和歌山 刀根山 岡山 南岡山 広島 松江 山口中部 愛媛
高知 福岡東 大牟田 西別府 熊本 南九州

他国立病院機構結核診療施設

合計 65施設

1. 多剤耐性結核や難治性結核ではCD8⁺T細胞からのgranulysin低下。
MDR-TBではキラーTリンパ球中のgranulysinの有意な低下を（薬剤感受性結核患者に比較して）発見した（Human Vaccine 岡田、喜多 2010）。MDR-TB患者のT細胞からのgranulysin産生（in vitroでPPDや結核死菌抗原刺激で40時間培養上清中）低下が健常人に比較して認められた。（図4、5、6）

図4

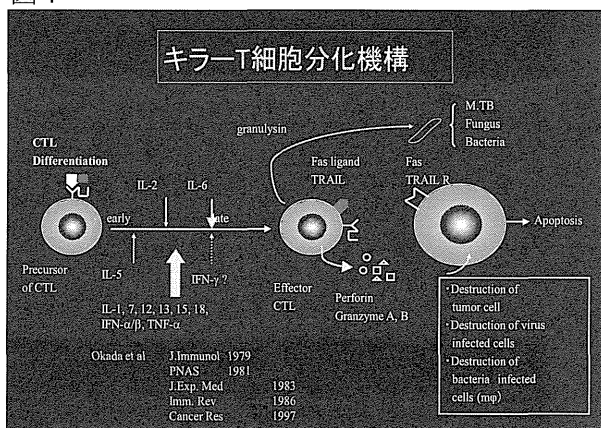


図5

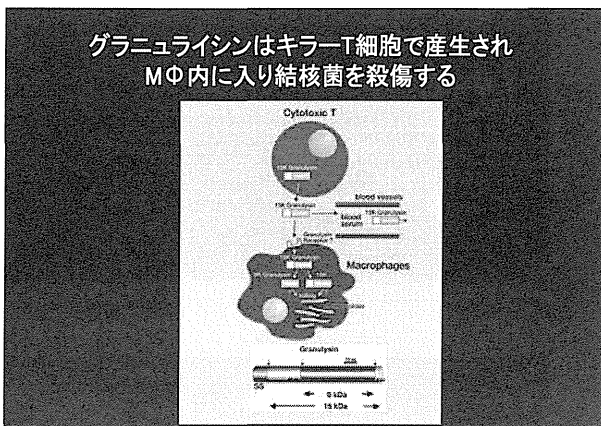
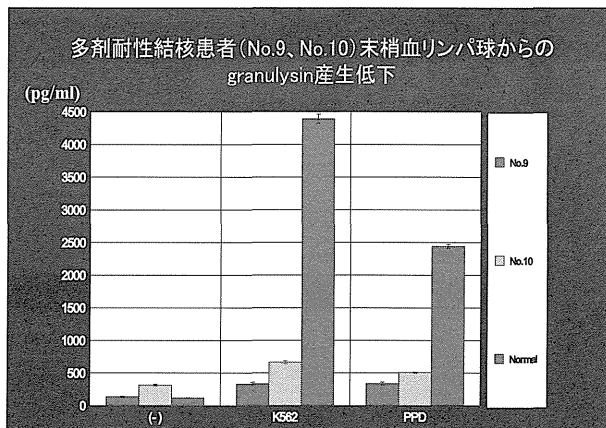


図6

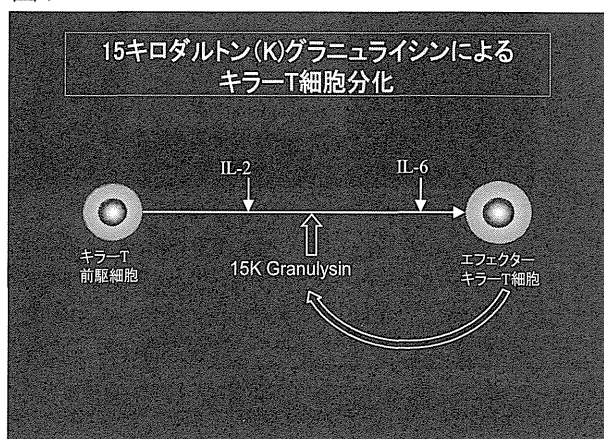


さらに結核患者では健常人に比較して血清中のgranulysin低下をタイの結核患者で明らかにした。（Pitabut、Srisin、野内英樹、岡田）。

一方、granulysinは結核菌を直接殺傷する機能のみでなく、キラーT前駆細胞からエフェクターキラーT細胞へ分化させる強力なキラーT分化因子活性を有することを発見した（Human Vaccine 2010）（図7）。

KSP37はキラーT細胞分化誘導作用、IL-2、IFN- γ 、IL-6産生誘導。granulysinとKSP37はキラーT細胞分化相乗効果。

図7



2. さらに、キラーT細胞から産生されるKs p37蛋白（killer-specific secretory protein 37kDa）が結核患者の血清中で有意に低下していることを発見した。これを用いた新しい細胞免疫診断法の確立を行っている。

図8

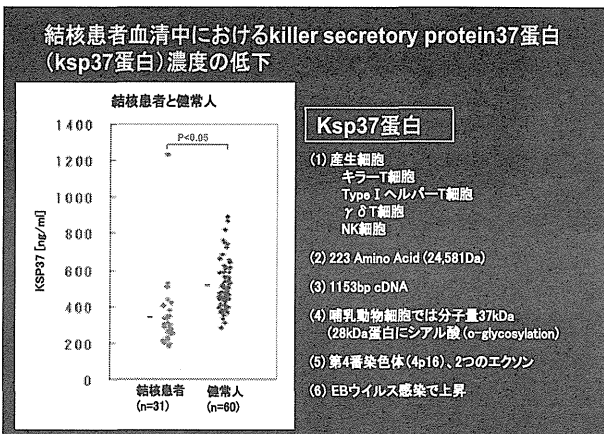
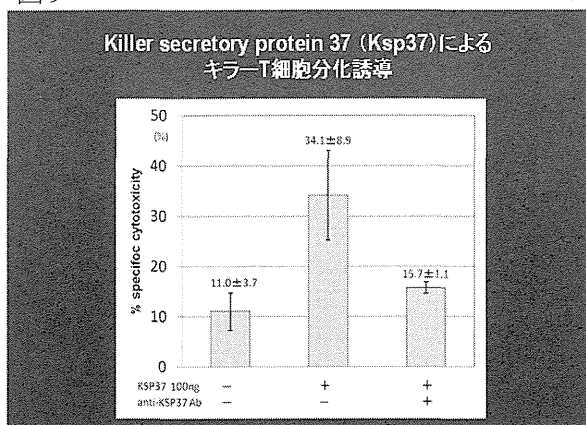


図8に示した如く、KSP37蛋白はキラーT細胞、Type I ヘルパーT細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、NK細胞から産生される蛋白である。KS

P37蛋白は223個のアミノ酸よりなる分子量24,581Daの分子である。KSP37遺伝子は1153bp cDNAによりコードされる。哺乳動物細胞では分子量37kDaのKSP37蛋白となる。それは、28kDa蛋白にシアル酸 (o-glycosylation) が結合するからである。第4番染色体 (4p16) にKSP37遺伝子が存在し、2つのエクソンよりなる。KSP37蛋白の生理学的な活性は不明であり、EBウイルス感染でヒト血液中のKSP37蛋白が上昇することが言われている。しかしその機能は不明である。ある種のヒト卵巣癌やある種のヒトgliomaでKSP37の発現が報告されており、発症している癌は予後が良いタイプが示唆されているか、不詳である。このようにKSP37の生理学的機能、免疫学的機能、結核に対する役割は全く不明である。一方、キラーT細胞はヒトのchronicな結核感染に対する抵抗性の免疫担当細胞として最も重要なリンパ球であることが世界的なコンセンサスである。このキラーT細胞からKSP37が分泌されることより、我々は結核患者血清中のKSP37を測定して、健常人のKSP37の値と比較検討した。結核患者31例及び健常人60例の血清中におけるKSP37蛋白濃度を測定した。その結果結核患者の血清中のKSP37濃度は200ng/ml~500ng/mlであった。一方健常人の血清中のKSP37濃度は300ng/ml~900ng/mlであった。すなわち、結核患者では健常人に比較して血清中のKSP37濃度の低下が認められた。(p<0.05)。これらの結果よりKSP37蛋白は結核免疫(抵抗性)になんらかの関与をしていることが示唆された。

- したがって、次にリコンビナントKSP37蛋白の作製とこれを用いた、免疫応答調節機構を解析した。リコンビナントKSP37をin vitroの系に加えてキラーT分化誘導活性を測定し、キラーT細胞誘導活性を示した (図9)。

図9



さらに、このリコンビナントKSP37はIL-2の産生増強効果、IFN- γ の産生増強効果、ならびにIL-6の産生増強効果を発揮した。我々の一連の研究より、IL-6、IL-2及びIFN- γ はキラーT細胞分化因子として作用することを世界に先駆けて明らかにしたが、KSP37のキラーT細胞分化誘導活性とIL-6、IL-2及びIFN- γ 産生増強作用は、結核免疫(抵抗性)にとって重要な機能をKSP37が有することが示され、極めて興味深い結果を得た(図10、11、12)。

図10

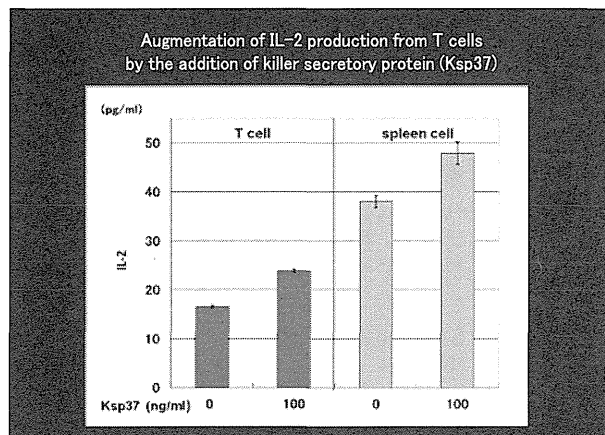


図11

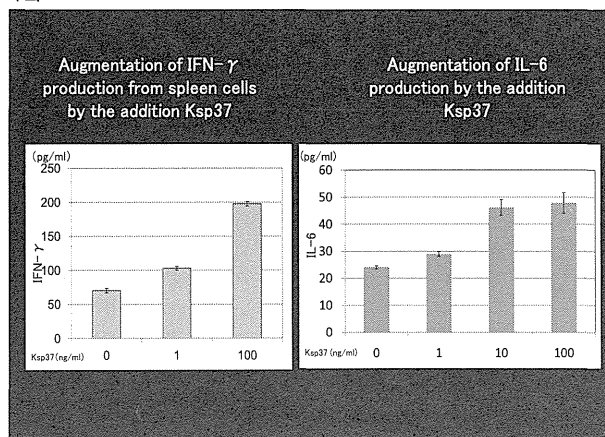
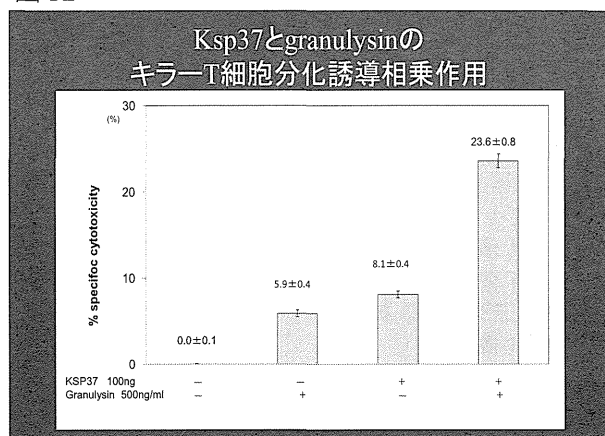


図12



さらに、KSP37 transgenicマウスを作製して抗結核効果を生体内で発揮するか否かを解析した。その結果、KSP37 transgenicマウスにヒト結核菌H37Rvを静注した場合、正常マウスに比較して結核菌の増殖を抑制した。すなわちKSP37は生体内抗結核作用を有することが示唆された。

[Ⅲ]「新化学療法を含めた治療方法の開発と臨床応用：調査票」を全国結核診療施設（259施設）に送付し評価。

1. 調査票（新しい結核治療剤使用）を返答しやすいように1ページにまとめて作成した。新しい結核治療剤として、本邦で厚生省の認可が下りている①Rifabutin、②Linezolid及び③Meropenem hydrate＋クラブラン酸、④リファペンチン、⑤モキシフロキサシンを対象とした（表7）。メロペネム（Meropenem）＋クラブラン酸はScience 2009年にクラブラン酸の存在下でメロペネムを用いるとXDR-TBに有効（in vitro及びマウス）の報告がなされたことよりヒトで臨床応用している施設がすでにあることが考えられたことより加えられた。調査票は12項目よりなる。1. 性別、2. 年齢、3. 結核診断名、4. 薬剤耐性、5. 基礎疾患（合併症）、6. 治療内容、7. 投与量・投与期間、8. 効果、9. 副作用、10. 退院・転帰（入院の場合）、11. 転帰、12. 診療上の問題と対応。（表7）この調査票を全国結核診療施設259施設の院長宛に、①リファブチン②リネゾリド③メロペネムークラブラン酸④リファペンチン⑤モキシフロキサシンを対象とした理由、ならびに新しい結核治療剤使用の情報がいかに必要であるかを記載した文章を添付（表8）して依頼した。その結果、259施設中123施設（47.5%）より回答が得られた（表9）。新しい結核治療剤使用症例は、①リファブチン 34症例、②リネゾリド 21症例、③メロペネムークラブラン酸 2症例、④リファペンチン 0例、⑤モキシフロキサシン 15例、合計66症例であった。1年以上前から抗結核剤として認可されているリファブチンが多く認められた（表10）。リファブチン33症例のうち、有効例は28例（82.3%）で、無効例5例（17.7%）であった。（表11）。

MDR-TB 11症例に対するリファブチンの効果は有効7例（63.6%）、無効4例（36.4%）であった（表12）。一方、リネゾリド（21症例）の効果は有効（20例）と95.2%で効果が認められた（表13）。リネゾリドは19例のMDR-TBに対し94.7%有効であった。メロペネム-クラブラン酸では2例中2例（100%）に有効。モフロキサシンでは15例中12例（80%）に有効。リファブチンの副作用として、白血球減少、血小板減少、肝機能異常が認められた（表14）。一方、リネゾリドの副作用として骨髄抑制が報告された。

表 7

調査票(新しい結核治療剤使用)

施設名: _____

登録年月日 _____ 年 月 日

氏名: _____ (匿名化して下さい)

該当項目に○印をつける、又は記入。
その他の項目は記入して下さい。

1. 対象者の性別

① 男性	<input type="checkbox"/>
② 女性	<input type="checkbox"/>

2. 年齢(診断時) _____ 才

3. 結核診断名

1肺結核	<input type="checkbox"/>
2肺外結核	<input type="checkbox"/>
① 胸膜炎	<input type="checkbox"/>
② リンパ節	<input type="checkbox"/>
③ 粟粒	<input type="checkbox"/>
④ 骨関節	<input type="checkbox"/>
⑤ 中枢神経	<input type="checkbox"/>
⑥ その他	<input type="checkbox"/>

4. 薬剤耐性

① RFP耐性	<input type="checkbox"/>
② INH耐性	<input type="checkbox"/>
③ SM耐性	<input type="checkbox"/>
④ EB耐性	<input type="checkbox"/>
⑤ PZA耐性	<input type="checkbox"/>
⑥ その他薬剤 ()	<input type="checkbox"/>
⑦ なし	<input type="checkbox"/>
⑧ 不明	<input type="checkbox"/>

5. 基礎疾患(合併症)

① なし	<input type="checkbox"/>
② 糖尿病	<input type="checkbox"/>
③ 空洞の有無**	<input type="checkbox"/>
④ HIV	<input type="checkbox"/>
⑤ 胃切除後	<input type="checkbox"/>
⑥ 慢性肝疾患(肝炎・肝硬変)	<input type="checkbox"/>
⑦ C型肝炎ウイルス陽性	<input type="checkbox"/>
⑧ 膠原病	<input type="checkbox"/>
⑨ 塵肺、COPD、喘息など	<input type="checkbox"/>
⑩ その他	<input type="checkbox"/>

**保健所では、合併症は正確には把握できないのでここに入れた

6. 治療内容

① 治療(リファブチン)	<input type="checkbox"/>
② 治療(リネゾリド)	<input type="checkbox"/>
③ 治療(メロペネム-クラブラン酸)	<input type="checkbox"/>
④ 治療(リファペンチン)	<input type="checkbox"/>
⑤ 治療(モキシフロキサシン)	<input type="checkbox"/>
⑥ 標準1. HRE(SZ)	<input type="checkbox"/>
⑦ 標準2. HRE(S)	<input type="checkbox"/>
⑧ その他	<input type="checkbox"/>

7. 投与量・投与期間

	投与量	投与期間
① リファブチン	／日	週
② リネゾリド		
③ メロペネム-クラブラン酸		
④ リファペンチン		
⑤ モキシフロキサシン		

8. 効果

1 リファブチン	① 有効	<input type="checkbox"/>
	② 無効	<input type="checkbox"/>
2 リネゾリド	① 有効	<input type="checkbox"/>
	② 無効	<input type="checkbox"/>
3 メロペネム-クラブラン酸	① 有効	<input type="checkbox"/>
	② 無効	<input type="checkbox"/>
4 リファペンチン	① 有効	<input type="checkbox"/>
	② 無効	<input type="checkbox"/>
5 モキシフロキサシン	① 有効	<input type="checkbox"/>
	② 無効	<input type="checkbox"/>

9. 副作用

1 リファブチン	① 白血球減少症	<input type="checkbox"/>
	② 貧血	<input type="checkbox"/>
	③ 血小板・汎血球減少症	<input type="checkbox"/>
	④ 肝機能異常	<input type="checkbox"/>
	⑤ その他	<input type="checkbox"/>
2 リネゾリド	① 骨髄抑制	<input type="checkbox"/>
	② 視神経症	<input type="checkbox"/>
	③ ショック	<input type="checkbox"/>
	④ その他	<input type="checkbox"/>
3 メロペネム-クラブラン酸	① 急性腎不全	<input type="checkbox"/>
	② その他	<input type="checkbox"/>
4 リファペンチン	① 肝障害	<input type="checkbox"/>
	② その他	<input type="checkbox"/>
5 モキシフロキサシン	① 不整脈	<input type="checkbox"/>
	② アナフィラキシーショック	<input type="checkbox"/>
	③ その他	<input type="checkbox"/>

10. 退院・転帰(入院の場合)

退院時

① 塗抹陰性	<input type="checkbox"/>
② 培養陰性	<input type="checkbox"/>
③ 塗抹陽性	<input type="checkbox"/>
④ 培養陽性	<input type="checkbox"/>

11. 転帰

① 治療完了	<input type="checkbox"/>
② 継続中	<input type="checkbox"/>
③ 帰国	<input type="checkbox"/>
④ 治療中断・失敗	<input type="checkbox"/>

12. 診療上の問題点と対応(記載してください)

表 8

<p>調査票（新しい抗結核剤使用）</p> <p>(1) リファブチン投与症例について 結核患者（多剤耐性結核患者）にリファブチンと治療投与</p> <p>(2) リネゾリド linezolid (LZD) 投与症例について ザイボックス (Zyvox)</p> <p>(3) メロペネム - クラブラン酸 投与症例について</p> <p>(4) リファペンチン (Priftin)</p> <p>(5) モキシフロキサシン (MFLX)</p> <p>[I] リファブチン</p> <ul style="list-style-type: none"> ・リファブチン (RBT, rifabutin) はリファンピシン (RFP, rifampicin) と同じリファマイシン系抗生物質であるが、RFP と比べて薬剤相互作用が弱く、抗ウイルス剤を投与している HIV 感染者に対しても併用が可能です。 ・平成 20 年 7 月、国内において RBT が抗結核薬として承認されたことから、副作用や多剤耐性結核 (MDR-TB) のために RFP が使用できない患者に対して RBT の使用が期待されます。 ・したがって、貴施設ですでにリファブチン投与された結核症例について、その効果、副作用、投与症例について調査票で調査を致したく存じます。 <p>[II] リネゾリド</p> <ul style="list-style-type: none"> ・リネゾリド (LZD, linezolid) は MRSA、特にバンコマイシン耐性菌に適用がありますが、最近 MDR-TB に対しても使用され有効例が国内外の論文・学会で発表されつつあります。 ・したがって、貴施設ですでにリネゾリド投与された結核症例について、その効果、副作用、投与症例について調査票で調査を致したく存じます。 <p>[III] メロペネム - クラブラン酸</p> <ul style="list-style-type: none"> ・メロペネム (MEPM, meropenem) は β - ラクタマーゼ阻害剤のクラブラン酸 (Clavulanate) を併用投与すると、MDR-TB に有効 (vitro) の報告が Science (2009) に発表されました。 ・したがって、貴施設ですでにメロペネム - クラブラン酸投与された結核症例について、その効果、副作用、投与症例について調査票で調査を致したく存じます。 <p>[IV] リファペンチン (Rifapentine)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・(Priftin) 1 週に 2 回投与でよい。 <p>[V] モキシフロキサシン (MFLX)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・アベロックス (Avelox) <p>WHO Stop TB パートナーシップの Global TB Drug パイプラインでは第 III 相試験中。</p>

表 9

新化学療法を含めた治療方法の開発と臨床応用 調査票(新しい結核治療剤使用)	
全国結核診療施設 259施設	
調査票送付	259施設
回答	123施設
回答率	47.5%

表 10

調査票(新しい結核治療剤使用)	
1.リファブチン	34症例
2.リネゾリド	21症例
3.メロペネムークラブラン酸	2症例
4.リファペンチン	0症例
5.モキシフロキサシン	15症例
合計 (複数回答あり)	66症例

表 11

リファブチン(33症例)効果		
有効	28例	84.8%
無効	5例	15.2%
合計	33例	

表 12

リファブチン(MDR-TB 11症例)効果		
有効	7例	63.6%
無効	4例	36.4%
合計	11例	

表 13

リネゾリド(21症例)効果		
(a)		
有効	20例	95.2%
無効	1例	4.8%
(b) リネゾリド(MDR-TB 19例) 効果		
有効	18例	94.7%
無効	1例	5.3%

表 14

リファブチン [副作用]
①白血球減少症
②血小板・汎血球減少症
③肝機能異常

D. 考察

1. 新薬（デラマニド等）が認可されれば、下記の方法と組み合わせて極めて強力な多剤耐性結核に対する新しい治療法が確立できる。マウスの系で強力な治療効果。現在、新規結核治療ワクチンと相乗的治療効果解析中。
2. カプラザマイシンはXDR-TBに治療効果（マウスの系）を示し、INH+RFP治療法と相乗的治療効果を示したことより、結核のみならず、MDR-TBやXDR-TBに対して治療期間短縮やファースト・ライン抗結核剤の投与量を減少させることが期待できる。
さらに、カプラザマイシンは新規結核治療ワクチンと相乗的治療効果を発揮したが、これはカプラザマイシン自身が単独でキラーT細胞活性やサイトカイン産生等、結核菌に対する細胞性免疫を増強する作用を示すことより、ワクチンと相乗的な治療効果が発揮されたことが示唆された。
3. 「新化学療法剤を含めた治療方式の開発と臨床応用：調査票（新しい結核治療剤使用）」を全国結核診療施設（259施設）に送付し、調査を行った。新しい抗結核薬リファブチン及びリネゾリド、メロペネム-クラブラン酸の三種の新しい化学療法剤の投与症例数、多剤耐性結核に対する有効性、副作用等を調査。リファブチンはRFP耐性結核患者の82.3%に有効。リネゾリドは95.2%に有効。
4. 行政施策への貢献の可能性
 - (1) 結核の短期治療、MDR-TBの新しい治療法開発で医療費においても厚生行政に大きく寄与。
 - (2) 結核患者のGOL向上となる。
 - (3) 結核患者血清中のgranulysinや、Ksp 37は結核の重症度につれ低下し、結核免疫に相関することから、慢性排菌や再発の予後診断となり、治療方針の決定に大きく貢献する。
5. 今後の課題
 - (1) 新規開発中のDelamanid。大塚製薬松本真博士の承認・協力。INHの代わりに用いる。
 - (2) 2013～2015年臨床応用。国立病院機構 結核・呼吸器ネットワーク研究グ

ループ（65施設）を活用して、Delamanidの多数の結核患者への臨床応用を行う。

- (3) 慢性持続排菌結核・多剤耐性結核患者に対するDelamanidの治療完了率の向上。
- (4) Delamanidを加えた治療期間の短縮。XDR-TB及びS・S多剤耐性結核に対する有効性の改善。潜在性結核感染も標的とする。
- (5) 新化学療法剤〔特にカプラザマイシン、PNU-100480(スラゾリド：リネゾリドの骨格の新しい化学療法剤)、リファブチン、モキシフロキサシン、リネゾリド、リファペンチン、ベタキリン等〕を含めた新治療方法の開発と臨床応用。
- (6) 細胞性免疫予後診断法(granulysin、KSP37)の開発・臨床応用。

E. 結論

1. 新化学療法剤を含めた治療方法の開発と臨床応用
 - (1) 新しく開発された OPC-67683（デラマニド）は臨床試験でヒト・多剤耐性結核に有効であることが報告されているが、多剤耐性結核患者への応用は本邦の認可を受けてから行う予定。
 - (2) 臨床応用に向けてデラマニドと結核ワクチン（HVJ-エンベロープ/HSP65DNA+IL-12DNA）を併用して、結核に対する相乗的治療効果の解析をマウスの系で開始した。
 - (3) デラマニド（OPC67683）を用いた結核治療効果
 - a 新規治療剤Delamanidの多剤耐性結核(MDR-TB)、感染力の強いスーパー・スプレッダー（S・S）多剤耐性結核に対する治療効果。AIDSモデルマウスでDelamanid結核治療効果。
 - b Delamanidのヒト多剤耐性結核患者第Ⅱb相臨床試験を終了。
 - (4) カプラザマイシン（CPZEN-45）
 - a XDR-TBに対し治療効果（マウス）。
 - b INH+RFP治療法とカプラザマイシンは相乗的結核治療効果。 ○カ

プラザマイシン+新規結核治療ワクチン(HSP65+IL-12DNA)併用治療にて結核治療相乗効果。T細胞増殖の相乗効果。IL-6産生に対する相乗効果。特許を取得中。Current Global TB Drugパイプラインにpreclinical drugとしてノミネートされた。

- (5) 調査票(新しい結核治療剤使用)を全国結核診療施設(259施設)に送付し、123施設より回答があった。(47.5%)国立病院機構52施設中30施設より回答あり。国立病院機構以外の病院207施設中93施設より回答あり。

(1) リファブチン (2) リネゾリド (3) メロペネム-クラブラン酸 (4) リファペンチン (5) モフロキサシンの効果、副作用を調査した。2010年から2013年2月までの3年2ヶ月

- ① リファブチン34例、リネゾリド21例、メロペネム-クラブラン酸2例、リファペンチン0例、モフロキサシン15例の報告があった。(合計66症例の報告)
- ② リファブチンでは33例中28例(84.8%)に有効。リネゾリドでは21例中20例(95.2%)に有効。メロペネム-クラブラン酸では2例中2例(100%)に有効。モフロキサシンでは15例中12例(80%)に有効。
- ③ 多数の患者は薬剤耐性(2/3の患者)であり、多剤耐性結核は30例の患者に投与された。
- ④ 副作用はリファブチンで白血球減少症、血小板・汎血球減少症、肝機能異常、リネゾリドで骨髄抑制等であった。

2. 患者血清中のGranulysinやKsp37等による慢性排菌や再発の予後診断法開発

- (1) MDR-TB患者や難治性結核患者ではCD8陽性T細胞からの結核菌殺傷タンパクgranulysin産生低下が著明。MDR-TB患者CD8陽性T細胞内のgranulysin発現は薬剤感受性結核患者のそれより有意に低下。血清中granulysinも健常人に比較し、再発性結核患者で低下。
- (2) CD8陽性キラーT細胞から産生されるKsp37(Killer specific secretory protein of 37 k Da)の血清中濃度は結核患者(31例)で健常人(60例)に比較し有意な

低下の発見。キラーT細胞分化誘導作用。IL-2、IFN- γ 、IL-6産生誘導。

- (3) granulysinとKsp37はキラー細胞分化相乗効果。
- (4) Ksp37遺伝子導入マウスを用いてKsp37は生体内での結核増殖抑制効果を初めて発見した。

F. 健康危険情報なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Okada M., Kita Y., Nakajima T., Hashimoto S., Nakatani H., Nishimatsu S., Nishida Y., Kanamaru N., Kaneda Y., Takamori Y., McMurray D., Tan E V., Cang ML., Saunderson P. and Cruz ECD., The study of novel DNA vaccines against tuberculosis: Induction of pathogen-specific CTL in the mouse and monkey models of tuberculosis., Hum Vaccines and Immunotherapeutics:9(3)515-525.2013.
- (2) Kita Y., Hashimoto S., Nakajima T., Nakatani H., Nishimatsu S., Nishida Y., Kanamaru N., Kaneda Y., Takamori Y., McMurray D., Tan EV., Cang ML., Saunderson P., Cruz ECD. and Okada M., Novel therapeutic vaccines [(Hsp65+IL-12)DNA-, granulysin- and Ksp37-vaccine] against tuberculosis and synergistic effects in the combination with chemotherapy., Hum Vaccines and immunotherapeutics:9(3)526-533.2013.

2. 学会発表

- (1) 金丸典子, 喜多洋子, 林清二, 岡田全司. 本邦における多剤耐性結核の調査(2010年)研究. 結核. 2012; 87(3): 270.
- (2) 喜多洋子, 橋元里実, 林清二, 岡田全司. 結核患者血清中及び末梢血リンパ球から産生されるGranulysinやKsp37等による結核慢性排菌や再発の予後診断法開発. 平成25年結核病学会総会(千葉) 2013.3月