

## 参考文献リスト

1. 総務省統計局, e-Stat, <http://www.e-stat.go.jp>, 2014年2月22日アクセス
2. 厚生労働省, 介護サービス施設・事業所調査 <http://www.e-stat.go.jp/>, 2014年2月23日アクセス
3. H24年(2012)結核登録者情報調査年報
4. 山口泰弘, 他. 高齢者肺結核の臨床所見の特徴についての検討, 結核, 76(6), 447-454, 2001
5. 豊田恵美子, 他. 高齢者結核の臨床的検討, 結核, 85(8), 655-610, 2010
6. 堀田信之. 結核患者の生命予後, 結核, 88(6), 565-570, 2013
7. 伊藤邦彦. 高齢者結核の現状と対策, 日本胸部臨床, 72(5), 481-490, 2013
8. 老人福祉法
9. 厚生労働省, 平成25年版厚生労働白書
10. 厚生労働省, 介護保険施設について, 第75回社会保障審議会介護給付費分科会資料
11. 一般社団法人高齢者住宅財団, <http://www.koujuuzai.or.jp>, 2013年11月30日アクセス
12. 全国老人福祉施設協議会, <http://www.roushikyo.or.jp>, 2013年11月30日アクセス
13. 橋本正明. 特別養護老人ホームの個室化とユニットケアの課題. 社会福祉研究, 第100号, 62-69, 2011
14. 小室豊允. 高齢者施設用語辞典, 中央法規社, 2008
15. 黄京性. 図表で学ぶ高齢者福祉, 中央法規社, 2009
16. 宍戸真司, 森亨. 特別養護老人ホームにおける結核感染予防対策, 結核, 77(4), 341-346, 2002
17. 大森正子, 他. 老人保健施設の結核早期発見に影響する要因, 結核, 78(6), 435-442, 2003
18. 下内昭, 他. 大阪市における高齢者施設結核感染防止対策の現況, 結核, 82(3), 179-184, 2007
19. 鈴木祐子, 曾根智史. 高齢者施設における平常時の結核対策に関する研究, 結核, 86(4), 437-444, 2011
20. 奈良市保健所, 高齢者施設における結核と感染症対策に関する調査結果報告書, 2011年
21. 徳島県保健局, 高齢者施設における結核健康診断等実地状況調査, 2012年
22. 厚生労働省. 軽費老人ホームの設備及び運営に関する基準(平成20年制定, 平成24年改正)
23. 厚生労働省. 養護老人ホームの設備及び運営に関する基準(昭和41年制定, 平成24年改正)
24. 厚生労働省. 特別養護老人ホームの設備及び運営に関する基準(平成11年制定, 平成24年改正)
25. 厚生労働省. 指定介護老人福祉施設の人員, 設備及び運営に関する基準(平成11年制定, 平成24年改正)
26. 厚生労働省. 介護老人保健施設の人員, 施設及び設備並びに運営に関する基準(平成11年制定, 平成24年改正)
27. 厚生労働省. 有料老人ホーム設置運営標準指導指針(平成14年通知, 平成25年改正)
28. 感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律
29. 厚生労働省. 結核集団感染事例報告の徹底等について, 1998年
30. 森亨, 他. 結核院内(施設内)感染予防の手引き, 厚労省新興再興感染症研究事業, 1999年
31. 三菱総合研究所. 高齢者介護施設における感染対策マニュアル, 2013年
32. 京都市. 高齢者介護施設における感染症対策のすすめ方ー集団感染をおこさないためにー  
<http://www.city.kyoto.lg.jp>, 2008年
33. 奈良県郡山保健所. 高齢者施設における感染対策マニュアル <http://www.pref.nara.jp>, 2009年
34. 香川県, 高松市. 香川県高齢者介護施設等における感染対策マニュアル【第1版】,  
<http://www.pref.kagawa.lg.jp>, 2006年
35. 沖縄県北部保健所, 介護者のための結核予防マニュアル, 2001年

36. 千葉県安房保健所, 安房地域高齢者入所施設における結核早期発見のための地域連携クリティカルパス手引書, 2010年
37. 徳島県, 高齢者施設における結核早期発見のためのチェックリスト, 2010年
38. 愛知県津島保健所, 高齢者施設などにおける結核対策マニュアル, [www.pref.aichi.jp](http://www.pref.aichi.jp), 2010年
39. 長野県諏訪保健福祉事務所, 社会福祉施設等における結核対策マニュアル, <http://www.pref.nagano.lg.jp>, 2011年
40. 福岡県久留米市保健所, 高齢者施設等における結核対策マニュアル編,第1版, <https://www.city.kurume.fukuoka.jp>, 2012年
41. 山口県岩国健康福祉センター, 平成24年度版 介護保険施設向け 結核早期発見のための対策, 2012年
42. 厚生労働省. 結核集団感染事例一覧, 2013年
43. 大森正子, 他. 中高年齢者に対するイソニアシドの結核発病予防に関する研究, 平成12年度国際共同研究 和田・大森班報告書

## 資料 5

### Smoking Cessation and Smokefree Environments for Tuberculosis Patients(第 2 版)

2010 年 和訳

大角晃弘、泉清彦、吉松昌司（結核研究所臨床・疫学部）、石川信克（結核研究所）

#### 目的

国際結核・肺疾患予防連合（IUATLD）が 2010 年に出版した“Smoking Cessation and Smokefree Environments for Tuberculosis Patients ver.2”を和訳して、website に掲載することにより、わが国の結核対策での禁煙活動普及のための基礎資料を提供すること。

#### 方法

IUATLD より和訳と website での掲載許可を得た上で、報告者により和訳を行う。図表についても、適宜和訳を行う。和訳した本文と図表とは、結核研究所臨床・疫学部の website に掲載し、自由にダウンロード可能な状態とする。

#### 結果

IUATLD より和訳と website での掲載許可を得た上で、当該書籍全文を報告者により和訳を行った。図表についても、適宜和訳を行った。

和訳した本文と図表とは現時点では website に未掲載であるが、今後早急に、結核研究所臨床・疫学部の website に掲載し、自由にダウンロード可能な状態とする予定である。

#### 考察

現時点で、結核対策における禁煙活動を実施するための日本語ガイドは無く、本研究事業により得られた和訳ガイドは、今後のわが国における結核対策での禁煙活動の普及に資すると考えられる。

和訳した本文及び図表については、専門用語の用法について、更に検討が必要である。本和訳ガイドを website に掲載した後に、適宜より適切な用語に変更する予定である。

今後は、日本の保健・医療施設において禁煙活動を実施するために、本日本語ガイドを用いることの有用性についての検討が必要である。

参照資料

1) K Bissell, T Fraser, CC Yuan, DA Enarson. Smoking Cessation and Smokefree Environments for Tuberculosis Patients ver.2. IUATLD, Paris. 2010.

Downloadable at

[http://www.theunion.org/what-we-do/publications/technical/english/pub\\_smokingcessation\\_eng.pdf](http://www.theunion.org/what-we-do/publications/technical/english/pub_smokingcessation_eng.pdf)

## 資料 6

「糖尿病と結核（糖尿病を管理・治療する医療関係者の方へ）」作成に関する検討

公益財団法人結核予防会複十字病院 呼吸器センター 呼吸器内科

診療主幹 佐々木結花

### 1 背景

糖尿病は動脈硬化を生じ、心臓、脳血管、腎臓をはじめとする多くの臓器に影響をもたらし、死亡数を押し上げるだけではなく、三大合併症である、網膜症、神経症、腎症のいずれを生じても、著しく患者の Quality of life を低下させる。高齢者人口の増大に伴い疾患を有する高齢者は高率となり、生活に支障を有する人口は増加傾向にあり、いわゆる「寝たきり」高齢者数も増加しているものと考えられる。

糖尿病は特定健診で発見される平易な疾患であるが、食事や運動といった生活習慣によって悪化し、自覚症状に乏しいことから受領率も悪い。厚生労働省による平成 24 年国民健康・栄養調査結果の概要によると、40 歳以上の糖尿病を強く疑われる者における治療の状況では（表 1）、持続的に治療を受けているものは男性で 63.9%、女性で 63.3%で、中断は男性 7.0%、女性 4.3%、治療を受けたことがないものは男性で 26.8%、女性で 30.4%と、約三分の一が治療されていないのが現状である<sup>1)</sup>。

糖尿病の合併症の一つとして感染症があげられる。免疫低下の機序には諸説あるが、一般細菌感染、結核菌感染とも糖尿病の悪化との関連について言及されている。糖尿病合併結核は現在全結核患者の 2011 年は 13.7%<sup>2)</sup>、2012 年は 14.3%<sup>3)</sup>と大きな集団を形成している（図 2）。糖尿病の関与が結核発病に影響するとすれば、糖尿病および合併症の罹病による身体機能の低下が内因性再燃をもたらして発症する場合、糖尿病患者に新規に感染性結核患者との接触があり感染・発病が生じる場合に分けられるが、後者では、感染を受ける危険率は一般人口と同様であるものの、発病する危険は一般人口より高くなると考えられる<sup>4)</sup>。

糖尿病のコントロールが悪化した場合結核発病率が高くなることから、本邦の糖尿病合併結核患者減少のためには、糖尿病患者の減少、糖尿病罹患患者のコントロールが重要となる。結核患者における糖尿病患者は 2012 年では 3036 人に過ぎず<sup>3)</sup>、20 歳以上の糖尿病を強く疑われる者は 950 万人と、糖尿病診療を行う医師に結核を常に意識していくことは困難である。しかし、糖尿病を重視し、労働者の健康管理上健康診断や生活指導を行っていくよう特定健診上重点項目となっており、糖尿病という第二の国民病を減少させることが結核患者減少にも寄与すると考えられる。

### 2 糖尿病合併結核を診療する医師から糖尿病を発見、指導、加療する医療従事者への要望

圧倒的多数の糖尿病患者の中で、結核を発症する患者は年間 3000 人程度である。結核は第一の国民病であり、社会構造の変化の中で、患者数が減少し、過去の疾患へと変貌した。しかし、結核は空気感染であり長期間人体に潜在することが可能であり、発病危険率は個々の細胞性免疫能に関連する対応が難しい疾患である。糖尿病コントロールが不良な既感染者に対し、結核発病リスクの評価を行っていただき、患者の呼吸器症状や無症状期の胸部異常陰影の見逃しを減ずるように、糖尿病を発見、指導、加療する医療機関、産業保健従事者に情報伝達を行う必要がある。そのため、情報をコンパクトにまとめたパンフレットの作成を試み、2013 年度作成を行った（別紙参照）。

### 3 まとめ

糖尿病は健診で容易に発見され、軽症であれば食事指導、内服治療でコントロール可能であり、患者の生活の質は維持可能である。そのため産業医の指導、一般診療所医師による糖尿病指導が重要であるが、それらの医療者に簡易に糖尿病患者からの結核内因性再燃について注意を喚起することは容易ではない。今回、インターネット等の媒介で検索可能、かつ、医療従事者への啓発を行う目的で簡易なパワーポイントによるスライドを作成した。簡単に目に触れる資料が、糖尿病患者を発見する産業医、診療所医師に容易に提供できれば、軽症のうちから糖尿病患者に様々な指導を行うことが可能と考えられる。

今後結核患者対策として、産業医、診療所医師等のプライマリーケアに従事する医師に対しても働きかけを行っていく必要があると考えられた。

### 4 倫理的配慮

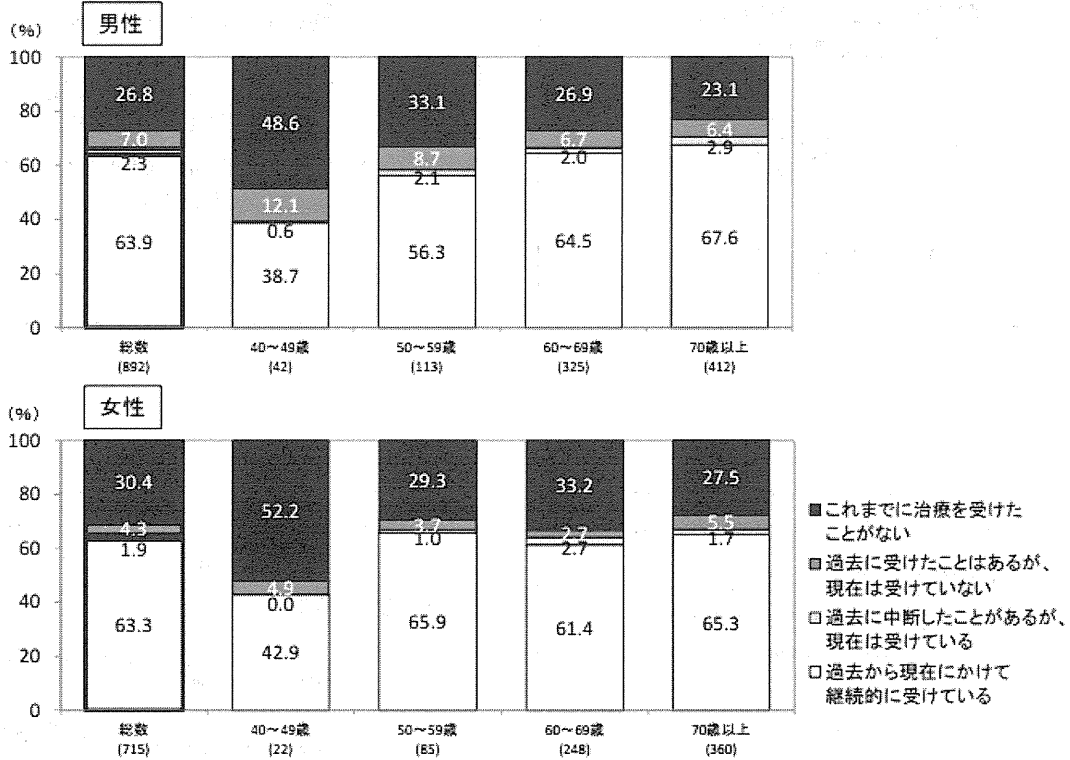
本資料作成は、患者データを扱っておらず、倫理的問題はない。

### 文献

- 1) 厚生労働省：平成 24 年 国民健康・栄養調査結果の概要。  
<http://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10904750-Kenkoukyoku-Gantaisakukenkouzou-shinka/0000032813.pdf> .
- 2) 財団法人結核予防会：新登録－登録時総合患者分類コード、合併症（糖尿病、HIV）の有無別、結核の統計2012. 初版. 東京. 財団法人結核予防会；2013. 71.
- 3) 財団法人結核予防会：新登録－登録時総合患者分類コード、合併症（糖尿病、HIV）の有無別、結核の統計2012. 初版. 東京. 財団法人結核予防会；2012. 75.
- 4) 日本結核病学会予防委員会・治療委員会：潜在性結核感染症治療指針、結核, 2013;88: 497-512.

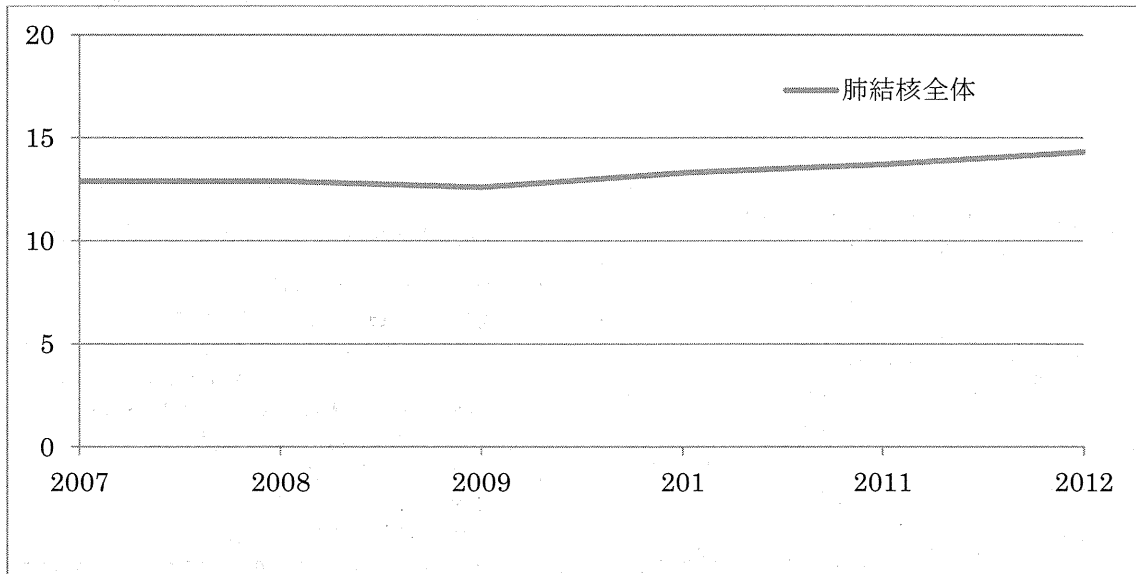
表 1

「糖尿病が強く疑われる者」における治療の状況  
(40歳以上、性・年齢階級別、全国補正值)



※「これまで治療を受けたことがない」は、「医師から糖尿病と言われたことがない」者を含む。

図 2 結核の統計にみる活動性結核における糖尿病の比率（結核全体）



## 糖尿病と結核 糖尿病を管理・治療する 医療関係者の方へ

厚生労働科学研究費補助金  
平成25年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業  
研究課題：地域における効果的な結核対策の強化に関する研究  
(研究代表者：石川信克)

公益財団法人結核予防会榎十字病院 呼吸器センター呼吸器内科  
佐々木緒花

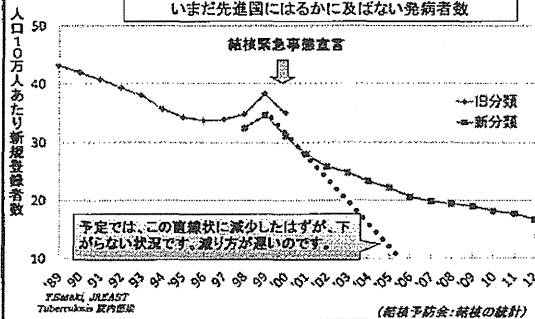
結核は今、合併症のある方と  
高齢者に偏在しています。

今、先生方に結核患者減少対策に  
ご協力を頂きたく思います。

結核は気を緩めるとすぐ勢いを盛り返す  
疾患です

## 結核罹患率は減少しているのでしょうか

新登録結核患者数 21,283人  
喀痰塗抹陽性肺結核患者 8,237人(2012年)  
いまだ先進国にはるかに及ばない発病者数



結核は感染してすぐ発病する疾患では  
ありません。

結核菌⇒感染

感染成立

潜伏→→→→→

発病

軽症⇒重症

感染拡大

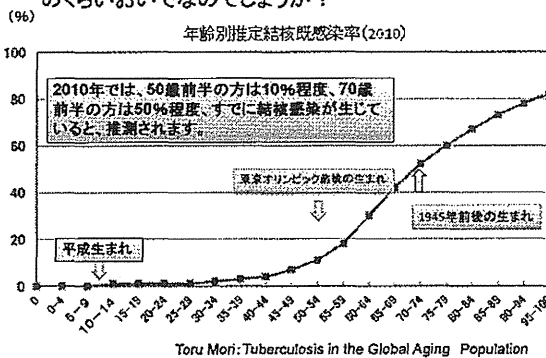
この時期を潜在性結核感染症と称します。

発病は免疫の低下、高齢化等が影響します。

感染してから発病するまで、発病する確率は感染後2年間が最も高いとされます。健康の免疫能を持たれる方なら発病には6か月以上経過してからが多いとされます。

千葉保之、他：結核初感染の臨床的研究、東京：保徳同人社、1948。  
青木正和：結核菌発見100周年記念総説 結核菌学の歴史 発病論 結核1963;58:371-8,407-13.

## 結核菌をすでに感染していると考えられる方は、どのくらいおいてなのでしょう？



## 結核患者減少のために何ができるでしょうか

1) 発病前の潜伏期に診断する。

- ① 感染したばかりの患者さんを診断する。  
→ 発病した周囲の患者さんの保健所による健診で発見されます
- ② 過去に感染していた患者さんからの発病を防ぐ。  
→ 現場で患者さんを診察している先生方の出番です。

2) 発病した患者さんを早期に発見する。

- ① 定期健診で発見する。  
→ 先生方による画像診断が重要です。
- ② 症状がある時に早期に発見する。  
→ 先生方による、喀痰検査、画像検査が重要なきっかけです。



## 糖尿病は結核発病を高めているのでしょうか？

【糖尿病管理中の結核発病】  
JR職員の検討から

結核の発病は  
糖尿病群から 0.238%  
非糖尿病群から 0.029%

各群の年齢構成にあわせた補正を行っても  
相対危険度は5.7倍と高かった。

内山寛子：職場環境アセスメント特に関係対策(1)職場環境から見た最近の結核について、交通医学、1998;52:147-149.

この結論から、糖尿病が結核発病率を高めていることは明らかです。

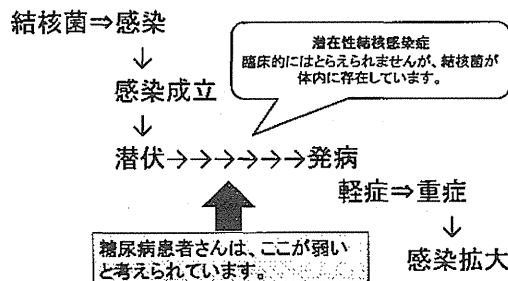
感染者中の活動性結核発病リスク要因としては、  
どのくらい危険度が高いでしょうか。

日本結核病学会予防委員会が2013年にまとめた指針では、発病リスクはコントロール不良の糖尿病患者さんは、結核に感染した場合、糖尿病を合併していない方に比較すると、1.5~3.6倍、発病率が高くなります。

対象	発病リスク	備考
コントロール不良の糖尿病患者	1.5-3.6	コントロール良好ではリスクは高くない

日本結核病学会予防委員会・治療委員会：潜在性結核感染症治療指針、結核、2013;88:497-512.

糖尿病患者さんの弱みは、結核菌の感染から発病までの間の、感染して潜伏している時期です。



## 結核感染を検査するには IGRAs検査

IGRAs=Interferon-gamma Releasing Assays

従来結核感染診断にはツベルクリン反応が用いられてきましたが、BCG接種やある種非結核性抗酸菌症の感染の影響を受けること、皮内注射・判定技術精度の問題、注射と判定の2回受診が必要であることなど、問題がありました。IGRAs検査は、結核菌に存在する特異抗原ESAT6とCFP-10が発見されたことで開発された、結核感染を診断する検査方法です。

## 結核感染を検査するにはIGRAs検査2

結核菌の感染により結核菌抗原でTリンパ球は感作されます。結核菌感染が生じている人の血液をESAT-6,CFP-10で刺激するとTリンパ球はIFN-γを産生することを利用し、結核感染の有無を診断することができ、これをInterferon-gamma release assays(IGRA)検査と称します。

本邦ではIGRAs検査は  
Cellectis社が開発したクオンティフェロン®TBゴールド  
Oxford Immunotec社が開発したTスポット®TB  
の二つの方法が保険適応となっています。

過去に結核感染していた患者さんを発見したら  
どうしたらよいでしょうか

患者さんは、感染したのはいつか分からないので

結核治療歴がなければ、糖尿病コントロール不良、ないしは透析導入、ないしは非常に感染症に陥りやすい病状の患者さんには、IGRAs検査を実施していただき、陽性であるか、あるいは結核感染を疑い未治療の病巣を疑う画像があれば、潜在性結核性感染症の治療を考慮してください。

潜在性結核感染症の治療

INH6~9か月投与。成人 5mg/kg、上限は300mg  
発病していないか、治療前に画像検査で行ってください。  
治療時には、保健所への届け出が必要です

## 結核の発病について

発病はどうしたら  
早期発見ができるのでしょうか

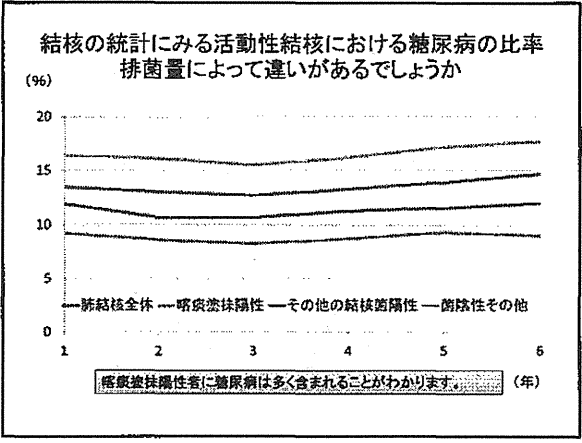
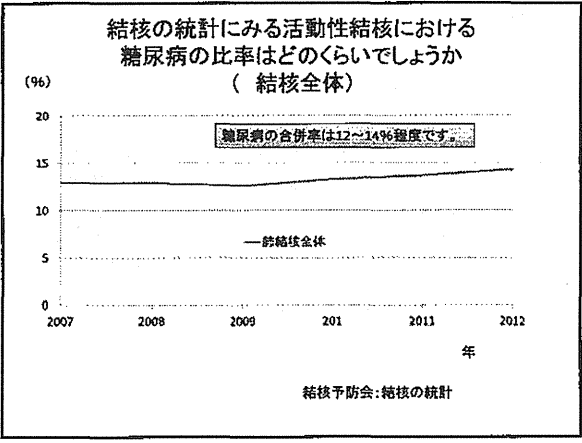
### 診察の基本である問診での鑑別は可能でしょうか

肺結核症の5主要症状  
咳、痰、発熱、胸痛、血痰  
(または咯血)

菌陽性肺結核患者の症状  
結核の統計2011

特に14日以上を経ても治らない  
咳嗽がある場合  
市販薬を併用していったん改善して  
増悪した場合  
結核も鑑別診断として精査を行って  
ください。  
右のグラフのように、呼吸器症状が  
ない方もいらっしゃるので要注意で  
す。

呼吸器症状のみ  
その他の症状のみ  
不明  
呼吸器症状+その他  
無症状

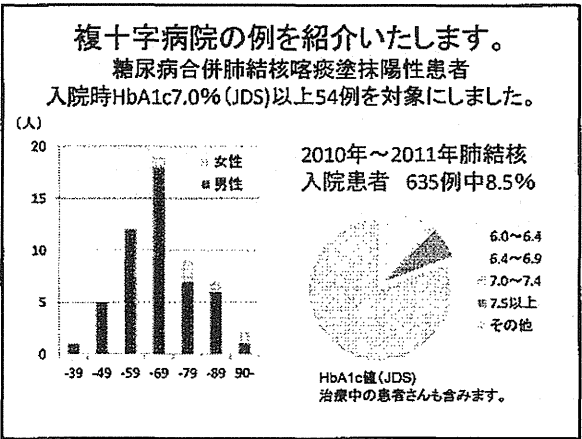


### 結核発見の遅れが、糖尿病合併結核患者で 指摘されています。

糖尿病合併肺結核症例21例の、肺結核発見前の胸部エックス線写真を取り寄せて調査した結果、陳旧性病変、活動性病変を有していた症例が21例中15例(71.4%)であった。

山岸文雄、他：糖尿病合併肺結核患者の肺結核診断前の管理状況、および化学予防の可能性、結核、2000;75:505-509

\* 症状が軽微で、画像所見から見分けなくてはならない患者さんも少なくありません。  
胸部異常影を有する糖尿病患者さんには慎重な対応をお願いいたします。



## 糖尿病の治療状況(複十字病院)

今回肺結核発症時に発見	24例
糖尿病治療中	13例
受診中指摘食事療法のみ施行	3例
糖尿病治療中断放置	6例
糖尿病を指摘されるも放置	4例

54例中16例(29.6%)のみ、結核発症予防に介入できた可能性がありますが、残念ながら、結核と糖尿病の同時発見、あるいは、せっかく先生方に指摘いただいたも放置している症例への対応は困難です。  
介入可能なこの30%から結核患者を減らしていきましょう。

## 結核を診断するための最小限の喀痰検査とは？

### 喀痰塗抹・培養検査＋核酸増幅法

3日間行う

初日か2日目に行う

なお、初回の検査で塗抹2+以上なら3回の検査は不要。

なぜ3回検査を行うのでしょうか

	初日	2日目	3日目	合計
塗抹検査	64%	81%	91%	98%
培養検査	70%	91%	99%	100%

一回では検出率が低いのです。

Al Zahran K, et al: Yield of smear, culture and amplification test from repeated sputum induction for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 2001; 5:855-60.

## 糖尿病を管理あるいは治療して下さる先生へ

1. HbA1c7.0%(NGSP)以上でコントロールされている患者様は、結核既感染ですと発病率が高くなります。
2. 糖尿病コントロールが難しい患者さんや、腎機能悪化例など免疫低下がさらに予想される患者さんには、結核既感染の有無をIGRAsでご確認ください。潜在性結核症と診断された場合、患者さんのご病状によっては、治療を考慮したほうがよいでしょう。
3. 症状(食欲不振、微熱、咳、痰、等)がある時、または市販薬や対症療法でいったん改善した後の悪化では、結核を鑑別診断に挙げてください。

## 糖尿病を管理あるいは治療して下さる先生へ

4. 高齢者では呼吸器症状がとらえにくく、長期にわたる微熱や食欲不振から、発展することも稀ではありません。
5. 胸部画像所見はなるべく(必ず)二重読影で、できれば以前のフィルムとの比較読影もお願いいたします。
6. 今後も結核対策のためにご協力をお願いいたします。

本資料は、平成25年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業、研究課題：地域における効果的な結核対策の強化に関する研究(研究代表者 石川信充)の援助で作成されました。

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

地域結核対策における病原体サーベイランスの確立

研究分担者

御手洗聡 結核予防会結核研究所抗酸菌部細菌科

研究要旨

結核菌病原体サーベイランスの確立は、低まん延化及び国際化する結核感染の現状を正確に把握する上で、必要不可欠な要素である。しかしながら、日本における分子疫学調査あるいは薬剤耐性調査の現状は全国的に不均一であり、地域的なばらつきが大きい。今回の研究では病原体サーベイランスの確立のため、地域における分子疫学調査システムの確立と評価、及び薬剤感受性試験外部精度評価の方法について具体的に検討することを目的とした。

富山県衛生研究所と協力し、地域分子疫学立ち上げのモデル地域として富山県全県での結核菌 VNTR 解析及び疫学調査のシステムを確立した。具体的に実地疫学との一致あるいは相違が示され、効果的な感染対策に有効であることが示された。また、首都圏など結核高まん延地域からの流入を示唆する新興型北京株も同定されており、今後の感染対策の策定上重要な情報を提供できる可能性が示されている。同時に、日本全国で 2010-2011 年に分離された約 1,000 株の結核菌の VNTR プロファイルの解析も行っており、地域における結核の流行状況を確認する上で有用なデータであると思われた。

薬剤感受性試験外部精度評価方法の検討では PZA の薬剤感受性試験について MGIT PZA AST、PZase 試験、*pncA* 遺伝子解析を相対評価し、MGIT による PZA 感受性での一致率は 100%であるものの、PZA 耐性に関して MGIT による PZA 薬剤感受性試験の結果と *pncA* 遺伝子変異および PZase 試験の結果が乖離する株が認められた。MGIT PZA 薬剤感受性試験濃度を現行の 100 µg/ml より高く設定すべきとする見解に一致するものと考えられた。また、これまでに報告されていない新しい遺伝子変異や欠失が同定されており、効果的な遺伝子感受性試験の実施と評価に貢献すると思われた。さらに *pncA* において同一の遺伝子変異を示す株で異なる MIC 値を示す株が存在すること、また *pncA* に変異を認めず高 MIC 値を示す株が認められたことから、*pncA* 以外の耐性機序の存在を示唆するものと思われた。

研究協力者

金谷潤一・磯部順子・佐多徹太郎 富山県衛生研究所

加藤朋子，三浦隆史，村瀬良朗 結核予防会結核研究所抗酸菌部

青野昭夫，近松絹代，山田博之 結核予防会結核研究所抗酸菌部

## A. 研究目的

結核の病原体サーベイランスには、主に分子疫学解析と薬剤耐性調査の二つの重要な因子が含まれる。

日本における結核患者の多くは高齢者であることから、過去の高まん延期の感染による再燃と考えられ、基本的に現在の感染動態を反映していない。その一方で現在の流行株で新たに感染・発病する青・壮年層の罹患は感染動態上重要な問題であり、青年層の結核患者の多くが外国籍であることを考えると、海外からの輸入感染症として考える必要もある。いずれにしても結核感染はヒトが媒介するものであり、地域の長期的人口動態を反映する。不特定多数の人口が大きく入れ替わる都市部とそれ以外の地域では状況異なることが予想され、感染対策上それぞれの地域サーベイランスが重要となる。また近年の日本の結核対策は集団ではなく個々に対するものであり、その意味で分子疫学調査手法は今後しばらくの結核対策の主要因子と思われる。

結核菌サーベイランスのもう一つの重要な因子は、薬剤耐性調査である。薬剤耐性の動向は結核対策の有効性を判断する上でも重要であるが、その精度保証は方法・実施状況を含めて必ずしも十分であるとは言えない。

これらの状況をふまえ、この研究では地域分子疫学調査システムの確立と評価、薬剤耐性評価における精度保証に寄与することを目的とした。

## B. 研究方法

### 【地域結核病原体サーベイランス】

《富山県内での結核菌分子疫学調査体制の確立》

富山県の結核罹患率は 12.9 であり、全国平均 (16.7) より低いものの、高まん延地域である東京や愛知、大阪と地理的な距離が均等であり、結核罹患に関して地理的にユニークである。そこで本研究では、富山県における結核菌のまん延実態とその動向を把握することを目的とし、結核菌の疫学調査のデータとともに分子疫学調査を実施する。また本研究において構築されるデータベースが、隠れている集団発生の早期探知に有用であるかも検証する。平成 23 年度は、本研究を実施するにあたり、個人情報の一部を利用するという観点から、当所で設置している研究倫理審査委員

会へ審査を申請した。そして、これら一部の臨床情報の利用には書面で患者の同意を得ることで承認された。また、県の健康課や各厚生センター、富山市保健所、県内医療機関などと協議を行い、菌株収集の体制を整備した。平成 24 年度以降は、実際に収集した結核菌の分子疫学解析を実施している。今年度は、引き続き回収した菌株の分子疫学解析結果を報告する。

### 【対象患者及び菌株】

富山県内で結核を発症した患者から分離された全ての結核菌のうち、患者の同意を得られた菌株を研究対象とする（診断時に患者から分離された結核菌株を対象とし、1 患者から 1 株とする）。

### 【菌株の分離と輸送】

結核菌の分離は通常の結核診断の一部として実施されるものとする。分離された結核菌は、結核菌と同定された直後に四種病原体として富山県衛生研究所細菌部職員が医療機関から衛生研究所へ自動車で搬入する。輸送には国連容器を使用し、三重包装にて搬送する。なお国連容器は研究費より支出する。

結核診療施設が独自の微生物検査室を有していない場合、外注先と事前に連絡し、分離菌株の保管と輸送を依頼する。その際の輸送には国連容器を使用し、四重包装にてゆうパックのシステムを利用して送付する。

### 【結核菌 DNA 抽出】

2%小川培地に発育した結核菌を釣菌し、100  $\mu$ l の Instagene Matrix (Bio-Rad Laboratories) に懸濁後 100°C で 10 分加熱し、遠心上清をテンプレートとして用いた。

### 【遺伝子タイピング法】

VNTR 法を使用する。解析に使用するローカスは、結核研究所が配布した VNTR スターターキット Ver. 2 により、以下のローカスとする。

JATA (12) : VNTRs-0424、0960 (MIRU10)、1955、2074、2163b (QUB11b)、2372、2996 (MIRU26)、3155 (QUB15)、3192 (MIRU31)、3336、4052 (QUB26) および 4156

JATA (15) のための追加プライマー：VNTR-1982 (QUB18)、2163a (QUB11a) および ETR-A

### 【検体に付随する臨床情報】

疫学研究指針に基づいた場合、基本的には個人が特定できないように一部の情報を利用不可と

する必要がある。具体的には住所、氏名等がこれに当たると考えられる。したがって、疫学研究指針に基づく場合は、年齢、性別、居住地域（町名まで）、居住年数、過去の結核高まん延地域（東京、大阪、愛知）での居住歴を収集する。

#### [倫理的配慮]

感染症法及び特定感染症予防指針が規定する積極的疫学調査あるいは病原体サーベイランスとして保健所が主体となり、行政調査として実施する場合は疫学研究指針には抵触しないため、接触者健診目的に収集した全ての臨床情報を使用できるものと考えられる。しかしながら、これを公表しようとする場合は、個人情報保護の観点から個人は匿名化される。

#### [遺伝子タイピングと臨床情報の解析]

結核菌株から得られた遺伝子タイピング情報を患者間で相互比較し、同一の VNTR パターンを示す菌株群をクラスターとする。同一の菌株で発症していると思われる症例については、疫学的なつながりがあるかどうかを検討する。

#### [結核菌株の型別（北京型）]

北京型及び非北京型の分類は、Warren らの方法に従い PCR で行った<sup>1)</sup>。さらに北京型株については、PCR で祖先型及び新興型に分類した<sup>2)</sup>。

#### 《日本全国で分離された結核菌の遺伝子型解析》

結核の地域分子疫学を理解するためには、その周辺地域を含む広範なエリアでの結核菌の遺伝子型分布状況を知ることでもある。これまでに国内のさまざまな施設で MIRU-VNTR が実施されてきたが、これらのサンプリングはその施設が所在する地域に限定されていることが多い。日本全体の結核の流行状況を把握するためには、全国から網羅的にサンプリングを行う必要がある。

本研究では、日本全国から収集された 987 株について MIRU-VNTR 36 loci の大規模調査を行った。本研究は以下を目的とする。

- ① 日本における結核菌の流行株を明らかにする。
- ② 地域毎における流行株の傾向を解析する。
- ③ 日本全国及び各地域において VNTR を実施する場合、分解能の高い locus を明らかにする。
- ④ 年齢毎の流行株を明らかにする。

#### [対象となる結核菌株]

2010～2011 年に株式会社ミロクメディカルラ

ボラトリーにおいて分離され、結核研究所に譲渡された結核菌 1,720 株のうち 1,012 株を無作為に抽出した。都道府県あたりの検体数は 1～167 株であった（10 県は検体なし）。2%小川培地上に発育がみられた 987 株から DNA を抽出し、以降の実験に使用した。

#### [結核菌遺伝子タイピング（VNTR）]

VNTR 解析は既報にしたがって実施した (Maeda et al. Kekkaku. 2008)。検討した locus は、0154, 0424, 0577, 0580, 0802, 0960, 1612, 1644, 1895, 1955, 1982, 2059, 2074, 2163a, 2163b, 2165, 2347, 2372, 2401, 2461, 2531, 2687, 2996, 3007, 3155, 3171, 3192, 3232, 3239, 3336, 3690, 3820, 4052, 4120, 4156 および 4348 の 36 loci とした。各 PCR 産物は 2%アガロースゲル電気泳動または QIAxcel (QIAGEN) を用いてサイズを同定し、Maeda らの報告にある換算表に基づいてコピー数を決定した。PCR 増幅不良がみられた検体については、アニーリング温度を 63°C から 60°C に下げ、あるいは Type-it microsatellite (QIAGEN) を用いて PCR を行った。最終的に増幅産物が得られなかった検体については増幅不良とした。また、PCR 増幅産物のサイズが 1,000 bp 以上で、サイズの同定が困難な検体については、確実にサイズが同定できるリピート数までを同定し、それ以上のものは“>15”といった形で処理した。

#### [VNTR データ解析]

VNTR データの解析には BioNumerics (Applied Math) を用いた。地域別、年代別に MST を作成し、クラスター形成が見られるか検討した。また、MIRUplus を用いて系統の解析を行った。

#### [結核菌薬剤感受性試験精度評価]

Pyrazinamide (PZA) は主要な抗結核薬のひとつであるが、外部精度評価の方法が確立していない。今回、精度評価を実施する上での PZA 薬剤感受性試験の基礎的方法の検討を目的とした。

#### [対象検体]

2002～2007 年の全国調査で収集され、多剤耐性結核菌 (MDR-TB) と判定された 83 株の結核菌を使用した。

#### [感受性試験方法]

PZA 薬剤感受性試験法 (Phenotype) および *pncA* 遺伝子変異 (Genotype) について比較検討した。

Phenotype として BACTEC™ MGIT™ 960 PZA Kit (MGIT PZA AST: 日本ベクtonディッキンソン) 及び PZase 試験 (結核菌検査指針 2007 に準拠) を実施し、Genotype として *pncA* 遺伝子のシーケンス解析を Sreevatsan らの方法に従って実施した<sup>3)</sup>。

それぞれの方法の結果を相互に比較検討した。

### C. 研究結果

#### 【地域結核病原体サーベイランス】

##### 《富山県内での結核菌分子疫学調査体制の確立》

2013 年度は 8 か所の医療機関から 55 株の結核菌を収集し、52 株について JATA (12) 及び JATA (15)-VNTR を実施した。52 株は全てのローカスで増幅産物が得られ、型別可能であった。JATA (12) では 47 の遺伝子型に分類され、クラスター形成率は 17.3%、JATA (15) では 49 のクラスターに分類され、クラスター形成率は 11.5%であった (表 1)。

疫学的に関連があると推定された 2 事例について JATA (15)-VNTR を実施した結果、2 事例とも 3 か所以上のローカスで異なる反復数であった。一方、疫学的関連のない株が同じクラスターに分類されたものが JATA (12) -VNTR では 4 クラスター (9 株)、JATA (15)-VNTR では 3 クラスター (6 株) 検出された (表 3)。

富山県で分離された 52 株のうち、35 株 (67.3%) が北京型に分類され、さらにそのうち 30 株が祖先型 (85.7%)、5 株が新興型 (14.3%) に分類された (表 4)。新興型 5 株のうち、3 株 (60%) は 40 歳未満の患者、2 株 (40%) は外国籍の患者から分離された。過去に東京での居住歴のあった患者から分離された新興型は 1 株 (20%) であった。

##### 《日本全国で分離された結核菌の遺伝子型解析》

1,012 株のうち、最終的に非結核性抗酸菌と特定された 7 株、発育不良 13 株、雑菌汚染 5 株を除いた 987 株について VNTR を行った。男性 486 名、女性 298 名、年齢不明 203 名であり、年齢情報がある患者の平均年齢は男性で 65.8 歳 (366 人)、女性で 67.2 歳 (232 人) であった。各年代別の検体数を図 1 に示した。

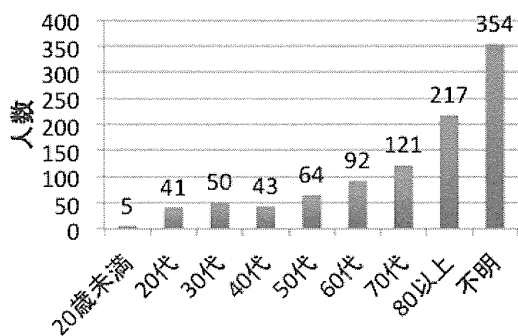


図 1 年代別サンプル数

地域別のサンプル数を図 2 に示した。地域の定義は以下の通りとした。

1. 北海道・東北: 北海道, 青森, 岩手, 秋田, 宮城, 山形, 福島
2. 関東: 新潟, 茨城, 栃木, 群馬, 埼玉, 千葉, 東京, 神奈川, 山梨
3. 中部: 富山, 石川, 福井, 長野, 岐阜, 静岡, 愛知
4. 近畿: 三重, 滋賀, 京都, 大阪, 兵庫, 奈良, 和歌山
5. 中国・四国: 鳥取, 島根, 岡山, 広島, 山口, 徳島, 香川, 高知, 愛媛
6. 九州・沖縄: 福岡, 佐賀, 長崎, 大分, 熊本, 宮崎, 鹿児島, 沖縄

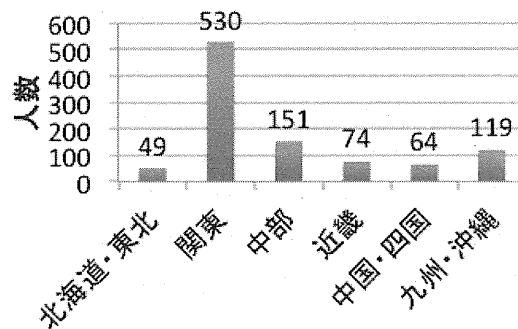
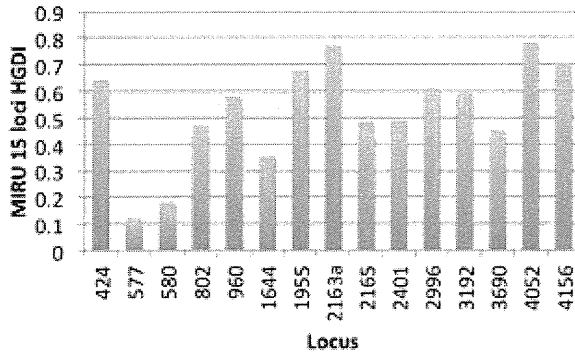


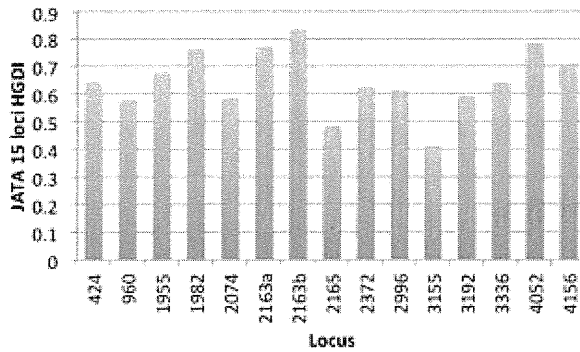
図 2 地域別サンプル数

36 loci の分解能 (HGDI) を図 3 に示した。36 loci のうちもっとも分解能が高かったのは 4120 で 0.901、最も低かったのは 1612 で 0.022 であった。これらのローカスのうち、MIRU 15-loci および JATA 15-loci の組み合わせを図 4 に示した。MIRU 15-loci の HGDI は 0.120~0.783 に分布しており、平均で 0.528 であった。一方、JATA 12-loci の HGDI は 0.410~0.836 に分布し、平均で 0.648 と MIRU 15-loci と比べて高い分解能を示した。

各ローカスの PCR 不能検体数を表 7 に示した。



A; MIRU 15-loci



B; JATA 15-loci

図 4 MIRU 15-loci (A)および JATA 15-loci (B)の各ローカスでの分解能 (HGDI 値)

地域別に各ローカスの分解能を計算し、表 5 (別紙) に示した。全国平均と各地域の HGDI に大きな差は認められなかった。次に全国および各地域のクラスター形成率および HGDI を示した (表 6)。全国株のクラスター形成状況は、最も大きなクラスターで 7 株、次いで 6 株のクラスターが 1 つ、5 株のクラスターが 3 つ、4 株のクラスターが 4 つ、3 株のクラスターが 3 つ、2 株のクラスターが 30 認められた。

表 6 全国および各地域におけるクラスター形成率および HGDI

地域	クラスター形成率	HGDI
全国	13.0%	1.000
北海道・東北	0%	1.000
関東	15.20%	0.999
中部	1.30%	1.000
近畿	0%	1.000
中国・四国	3.10%	1.000
九州	0%	1.000

表 7 各 locus における PCR 増幅不良サンプル数

0154	0424	0577	0580	0802	0960	1612	1644	1955	1955	1982	2059
0	0	0	0	0	0	0	0	4	2	10	0
2074	2163a	2163b	2165	2347	2372	2401	2461	2531	2687	2996	3007
4	48	44	21	4	7	1	0	1	0	4	0
3155	3171	3192	3232	3239	3336	3690	3820	4052	4120	4156	4348
4	0	20	20	8	26	14	2	8	12	13	5

上段：ローカス名、下段：増幅不良サンプル数

2163a および 2163b は分解能が高いが、それぞれ 4.9% および 4.5% で増幅不良となった。3336 も分解能が比較的高いが 2.6% で増幅不良が認められた。2163a と 2163b で増幅不良だった検体のうち 33 検体が同一であった。

MST を作成し、地域別に色分けした図 (図 5) を示した。いくつかのクラスターが認められたが、いずれのクラスターにおいても、地域ごとの偏りは見られなかった。次に、年代別に色分けした図を図 6 に示したが、年齢別に見ても VNTR 遺伝子型に偏りは認められなかった。

#### 【結核菌薬剤感受性試験精度評価】

対象 83 株のうち、雑菌混入を理由に 3 株を除外し、計 80 株について結果を得た (昨年より 8 株解析を追加)。

MGIT AST で PZA 感受性と判定されたのは 31 株 (38.8%)、耐性と判定されたのは 49 株 (61.2%) であった。MGIT PZA AST 感受性の 31 株はすべて PZase 試験陽性・*pncA* 変異陰性であった。耐性を示した 49 株のうち、*pncA* 変異陽性・PZase 試験陰性の株が 39 株 (79.6%)、*pncA* 変異陰性・PZase 試験陽性を示した株が 6 株 (12.2%)、*pncA* に変異を認めたものの PZase 試験陽性を示したものが 1 株 (2%) 認められた。

*pncA* を標的とする PCR で増幅産物が得られなかった 3 株 (6.1%) で、*pncA* の上流側および下流側へ、増幅産物が得られる領域の検索を実施した。菌株 33 は Rv2040 と Rv2047 で、菌株 47 は Rv2041 と Rv2045 で、菌株 61 は Rv2031 と Rv2046 で PCR 増幅産物を得ることができた。次にそれぞれの株において増幅が確認できた上流側の forward primer と下流側の reverse primer を用いて PCR およびダイレクトシーケンスの結果から、これら 3 株において *pncA* を含む広い領域での遺



伝子の欠損を認めた。すなわち菌株 33 では Rv2041 から Rv2046 までの 4,475bp の欠損を、菌株 47 では Rv2042 から Rv2044 までの 1,565bp の欠損を認め、さらに菌株 61 では Rv2037 から Rv2045 までの 6,258bp の欠損を認めた。MGIT による PZA の MIC、*pncA* の遺伝子変異、PZase 試験の結果を表 6 に示した。

#### D. 考察

##### 【地域結核病原体サーベイランス】

##### 《富山県内での結核菌分子疫学調査体制の確立》

収集した結核菌 52 株を用いて、JATA (12)及び JATA (15)-VNTR の評価を行った。クラスター形成率を、過去に全国の収集株で行われた JATA (12)-VNTR の結果 (12.6%)<sup>4)</sup>と比較すると、JATA (15)-VNTR では同等の形成率であったが、JATA (12)-VNTR では高かった。しかしながら、ある一定の地域で解析するとクラスター形成率が高くなることが報告されており<sup>5)</sup>、実際、東京都の収集株のクラスター形成率は JATA (12)-VNTR で 45.9%、JATA (15)-VNTR で 36.3%である。これは他の地域でも同様の傾向であり、ある一定の地域内での分子疫学解析には JATA (15)-VNTR あるいはそれ以上の追加領域の解析が必要である。今回の我々の結果は、東京都のクラスター形成率よりも低く、JATA (15)-VNTR においては全国の株で行った JATA (12)-VNTR の結果と同様であった。また、今回の解析で 1 つのクラスターに含まれた最大の菌株数は JATA (15)-VNTR で 2 株という結果で、ある特定のクラスターの株が多く検出される状況は認められなかった。したがって、JATA (15)-VNTR は富山県内の分子疫学解析に有用である可能性が示された。

疫学的に関連があると推定された 2 事例の調査では、どちらの事例においても JATA (12)-VNTR で 2 か所以上、JATA (15)-VNTR で 3 か所以上のローカスの反復数が異なっていたことから、異なる由来の株による感染であると判断した。今回の調査から、集団感染疑い事例の際は、JATA (12)及び JATA (15)-VNTR どちらでも判断できると考えられた。ただし、疫学的関連のない株が同じクラスターを形成する場合があるので、JATA-VNTR は菌株の異同を判断する方法の 1 つではあるが、同一感染源由来の判定には疫学調査と合わ

せた判断が重要であると考えられた。また 1 事例については、居住地が同じ地区である一定の時期に患者が 3 名発生したため、VNTR を実施した。菌株を収集・解析する体制が構築されていたため、すばやく解析し、結果を返すことができた。このように、VNTR 解析は集団感染疑い事例の際に有用であるため、菌株を収集・解析する体制の構築は非常に重要であると思われた。

富山県で分離された結核菌は、北京型が 67.3% を占め、そのうち祖先型が 85.7%、新興型が 14.3% であった。この結果は、岩本が報告した日本全国における割合 (北京型 73.8%、祖先型 81.7%及び新興型 18.3%)と同様であった<sup>6)</sup>。この報告によると、新興型は若年層の患者から有意に分離されている。富山県においても、40 歳未満の患者から分離された 6 株のうち 3 株 (50.0%) は新興型であった。新興型は祖先型に比べ伝播や発病が優れている可能性があることから<sup>7)</sup>、富山県内において新興型を監視していくことは重要である。また、外国籍の患者から分離された 3 株のうち 2 株 (66.7%) は新興型であった。一方、前年度の結果では新興型は、過去に東京での居住歴のあった患者から多く分離される傾向であったが、今年度は 1/5 株 (20.0%) のみであった。今後解析株数を増やすことで、富山県において新興型が若年層や外国籍の患者から有意に多く分離されるかどうか明らかになると思われる。また、新興型が東京から伝播してきたかどうかを解析するためには、全国的なデータベース構築による情報の共有が必要である。

今後も県内で分離された結核菌について VNTR を行い、解析株数を増やすことで、結核の伝播状況やその動向が解明される可能性がある。また、早期に集団感染事例の探知を行うことで、感染拡大防止にも貢献できると考えられる。

##### 《日本全国で分離された結核菌の遺伝子型解析》

地域における結核菌の分子疫学を理解するため、日本全国で分離された結核菌株をやや大規模に、最近の分離株を用いて解析し、VNTR プロファイルのスナップショットを作製した。

今回解析した結核菌株に地域的な偏りはないと考えられた。年齢情報が得られなかった検体が多かったため、正確な判断はできないものの、年

年齢が判明している検体の分布は近年の新規結核患者の罹患数に相似しており、年齢分布においても近年の結核罹患状況を反映しているものと考えられた。

今回対象とした結核菌の VNTR 解析において、Maeda らによって決定された JATA12/15 はいずれも高い分解能を示した。しかしながら、本研究の結果で最も分解能の高かった 4120 が含まれおらず、さらに一部のローカスで標的遺伝子が増幅されない例が比較的多く認められた。Maeda らの研究が実施されたのは 2002 年頃の分離株を対象としており、今回の分離株とは約 10 年の差がある。分離年の違いによる結核菌株のポピュレーションの違いが原因である可能性が考えられ、今回のデータを元に新たな VNTR 解析のためのローカス選定を行う必要が考えられた。

VNTR 遺伝子型のスナップショットと同様に、他の地域からの結核の流入等を考慮するため、北京型における新興・祖先型の鑑別も必要と考えられる。また、最近の流行が報告されている M 株についても解析するため、引き続いてそれらのデータを追加する予定である。

#### 【結核菌薬剤感受性試験精度評価】

日本国内で近年分離された多剤耐性結核菌を使用し、PZA の感受性試験に関して MGIT PZA AST、*pncA* 遺伝子変異、PZase 試験を相対評価した。これにより、それぞれの方法に過剰あるいは過小評価がどの程度あるのか明確となった。また、この評価を実施する過程で多剤耐性菌以外の PZA 耐性菌を同定できており、今後 PZA 感受性試験の外部精度評価を実施する際に利用可能と思われた。すでにプロトコールを作成し、PZA 感受性試験の外部精度評価の準備を進めている。

これまでに報告された *pncA* 遺伝子の変異が Tuberculosis Drug Resistance Mutation Database に登録されているが、今回の研究により新たにアミノ酸変異で 3 種類、塩基の挿入が 4 種類、塩基の欠損が 6 種類検出・同定された。特に *pncA* の PCR で増幅産物が得られなかった 3 株では *pncA* (Rv2043) 全体が欠損していた。3 株とも MIC 値は 1,600 µg/ml 以上と高い値を示していた。一般的に *pncA* 遺伝子を目的とした PCR で増幅産物が得られない場合、菌の PZA に対する感受性か耐性か

の判断において、遺伝子学的手法での推測は不可能である。しかし今回の結果から *pncA* を含む広い範囲で、遺伝子の欠落を有する結核菌の存在が明らかとなったことで、*pncA* 遺伝子の PCR で増幅産物が得られなかった場合、PZA に耐性である可能性を念頭に置く必要があることが示された。

また Y34D のアミノ酸変異を示した株が 4 株認められ、これらの MIC 値は 2 株が 1,600 µg/ml 以上、1 株が 1,600 µg/ml、1 株が 400 µg/ml と同一のアミノ酸変異でありながら MIC 値に差を認めた。これらのことから、*pncA* 以外の耐性機序の存在が示唆された。今後、これらの株の全ゲノムシーケンスを行い、新たな耐性機序の解析を実施する予定である。

#### E. 結論

##### 【地域結核病原体サーベイランス】

富山県内で分離された結核菌 52 株について、JATA (15)-VNTR 解析を行った。特定の株がまん延しているという状況は見られなかった。また、分子疫学解析及び集団感染疑い事例において、JATA (12)及び JATA (15)-VNTR が有用である可能性が示された。今後解析株数を増やすことで、富山県において新興型の株が若年層や外国籍の患者から有意に多く分離されるかどうか明らかになると思われた。

日本全国に近年分布している結核菌の VNTR プロファイルを解析した。このデータは地域における結核菌の分布を解釈する上で有用な情報となると考えられた。

##### 【結核菌薬剤感受性試験精度評価】

MGIT による PZA 薬剤感受性試験の結果と *pncA* 遺伝子変異および PZase 試験の結果が乖離する株が認められた。これは MGIT PZA 薬剤感受性試験濃度を現行の 100 µg/ml より高く設定すべきとする見解もあるものの、*pncA* において同一の遺伝子変異を示す株で異なる MIC 値を示す株が存在すること、また *pncA* に変異を認めず高 MIC 値を示す株が認められたことから、*pncA* 以外の耐性機序の存在を示唆するものと思われた。

#### F. 健康危機情報

多剤耐性菌を含む結核菌の取扱に関してバイ

オハザード上の危険があるが、GMT を基礎とした適切な実験・検査施設 (BSL3) を用いて研究を実施しており、危険は最小限と考えられる。

#### G. 研究発表

(学会発表)

1. 近松絹代, 青野昭男, 山田博之, 村田正太, 結城 篤, 三澤成毅, 小栗豊子, 御手洗聡. 抗酸菌塗抹検査外部精度評価の試み 日本臨床微生物学会雑誌 2012; 22: 140. 第 24 回日本臨床微生物学会総会 横浜 2013 年 2 月 2-3 日
2. 青野昭男, 近松絹代, 山田博之, 御手洗聡. PZA 薬剤感受性試験法の評価 日本臨床微生物学会雑誌 2012; 22: 142. 第 24 回日本臨床微生物学会総会 横浜 2013 年 2 月 2-3 日

(論文発表)

1. Ueyama M, Chikamatsu K, Aono A, Murase Y, Kuse N, Morimoto K, Okumura M, Yoshiyama T, Ogata H, Yoshimori K, Kudoh S, Azuma A, Gemma A, Mitarai S. Sub-speciation of *Mycobacterium tuberculosis* complex from tuberculosis patients in Japan. *Tuberculosis* (Edinb). 2014 Jan; 94(1): 15-9.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

#### I. 参考文献

- 1) Warren et al. 2004. Patients with active tuberculosis often have different strains in the same sputum specimen. *Am J Respir Crit Care Med*. 169:610-614.
- 2) Wada et al. 2009. Genetic diversity of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family in East Asia revealed through refined population structure analysis. *FEMS Microbiol Lett*. 291:35-43.
- 3) Sreevatsan, S., X. Pan, Y. Zhang, B. N. Kreiswirth, and J. M. Musser. 1997. Mutations associated with pyrazinamide resistance in *pncA* of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms. *Antimicrob. Agents Chemother*. 41: 636-640.

- 4) Maeda et al. 2008. 国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型 (VNTR) 分析システム. *結核*. 83:673-678.
- 5) Maeda et al. 2009. 結核菌の反復配列多型 (VNTR) 標準分析法の確立と型別情報データベースの構築. *結核*. 84:784-786.
- 6) Iwamoto et al. 2009. 結核菌北京型ファミリーの集団遺伝学的解析から推察される日本国内定着型遺伝系統群の存在と遺伝系統別薬剤耐性化傾向の違い. *結核*. 84:755-759.
- 7) Hanekom et al. 2007. A recently evolved sublineage of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strain family is associated with an increased ability to spread and cause disease. *J Clin Microbiol*. 45:1483-1490.
- 8) 大角晃弘, 村瀬良朗, 森 正明, 他: 首都圏におけるストレプトマイシン耐性結核菌 M 株の伝播状況. *結核*. 2009; 84: 388.

<研究協力者>

<地域結核病原体サーベイランス>

金谷潤一, 磯部順子, 佐多徹太郎

富山県衛生研究所

加藤朋子, 三浦隆史, 村瀬良朗

結核予防会結核研究所抗酸菌部

<結核菌薬剤感受性試験精度評価>

青野昭男, 近松絹代, 山田博之

結核予防会結核研究所抗酸菌部細菌科

表1 JATA (12)及びJATA (15)-VNTR における型別能

方法	VNTR パターンの数	クラスター数	クラスター 形成率 (%)	1つのクラスターに 含まれた最大の菌株 数
JATA (12)- VNTR	47	4	17.3	3
JATA (15)- VNTR	49	3	11.5	2

表2 疫学的に関連のある2事例のJATA (15)-VNTR

		JATA-VNTR ローカス														
事例 No.	菌株 No.	0424	0960	1955	2074	2163b	2372	2996	3155	3192	3336	4052	4156	1982	2163a	ETR-A
1	96	2	2	2	4	3	2	5	4	3	5	8	3	5	24	3
	136	4	1	3	2	8	4	7	4	5	7	7	5	10	9	4
	137	4	4	4	4	3	3	5	4	3	6	6	4	9	7	3
2	156	3	3	3	4	7	3	4	2	5	7	2	5	10	8	3
	157	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	10	8	4

表3 疫学的に関連はないがJATA (12)またはJATA (15)-VNTR が一致した事例

		JATA-VNTR ローカス														
事例 No.	菌株 No.	0424	0960	1955	2074	2163b	2372	2996	3155	3192	3336	4052	4156	1982	2163a	ETR-A
3	120	4	3	3	3	3	2	7	4	2	4	8	4	10	3	4
	149	4	3	3	3	3	2	7	4	2	4	8	4	10	3	4
4	126	4	3	3	3	3	3	7	4	5	7	7	4	10	8	2
	169	4	3	3	3	3	3	7	4	5	7	7	4	11	8	2
5	132	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	10	8	4
	157	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	10	8	4
	161	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	10	28	4
6	142	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5	10	9	4
	147	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5	10	9	4