

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。

### ③ 出生結核患者由来菌株のVNTR解析

2010年～2013年に登録された外国出生結核患者は141名であり、うち培養陽性は74名(52.5%)であった。そのうちVNTR解析を実施した者は54名(73.0%)であった。対照として、2010年～2013年に登録された40歳未満の日本出生培養陽性結核患者338名の中でJATA12-VNTRを実施した216名(63.9%)と比較した。VNTR解析は、JATA12-VNTRを行い、完全一致した場合にはHV4領域を含む12追加領域を解析した。

## 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143施設に対して調査票を送り、2012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25年度に、全国513の保健所、全国247の結核診療医療機関(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、国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センターを含む)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。ただし、調査機関数は統廃合・追加等のため過年度の数とは必ずしも一致しない。一次調査の結果をもとに、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)。一次調査、二次調査ともに各施設の担当者に記入を依頼し、郵送法により実施した。

一次調査の内容は以下である。

結核病床を有する(有した)医療機関には、年次ごとの結核入院患者のうち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、HIV拠点病院(結核病床を有さない)には、HIV感染症合併結核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)・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である。

関連調査として、25年度の単年度調査では、結核医療機関を対象に「結核入院患者に対するHIVスクリーニング検査の実施率(概数)を教えてください。」と質問し、20%区切りの選択肢による回答を求めた。

HIV感染合併結核症例を有すると返答があった医療機関に対して、症例に関する匿名化二次調査を行った。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。

(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：

① センターにおけるHIV合併結核患者について、その臨床像(喀痰塗抹検査、抗結核療法の有害事象、免疫再構築症候群など)を診療録や画像などより後視的に検討した。対象は、平成8年1月から平成22年8月末までの抗結核療法を導入された129例のHIV合併結核患者とした。

免疫再構築症候群を以下の通り定義する。

抗HIV療法を導入前に結核と診断し、抗結核療法を開始し有効であった症例の中で、ART開始後3ヶ月以内に、結核の他覚的所見の悪化(浸潤影悪化など)、または結核の臨床症状の悪化(発熱、咳嗽など)を認めた症例とする。なお、結核治療失敗例は除外する。

② 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。

③ 平成25年10月から平成26年2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、T-スポットTBを施行した。

- (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ア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<sup>r</sup>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・竹田)
- (1) 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・フィリピンでの多剤耐性結核菌の解析：  
フィリピン・マニラのサンラザロ病院 (50人の結核患者と30人の正常人)、上海公衆衛生臨床センター、復旦大学と金山病院 (45人の肺結核患者、26人の肺外結核患者、16人のエイズ/結核患者と39人の正常人)、複十字病院、東北大学病院 (35人結核患者、6人潜在性結核、15正常人) の検体を用いてRv0679c抗体と30種以上のバイオマーカーを測定した。フィリピンの患者の喀痰を用いて結核菌をLAMP法で確認し、spoligotyping法で遺伝子型を同定した。
  - (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(公財)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(独)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紹介されるので、タイでは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。

多剤耐性結核患者58名のゲノムDNAか

らPCRにて*DUSP1*遺伝子のプロモーター領域、エクソン領域を増幅し、ダイレクトシーケンスにより遺伝子配列を決定した。見いだされた遺伝的多型間の連鎖不平衡構造解析を行った。

- (4) ①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。
- ②健常者の末梢血から単球を分離し、M-CSF存在下に分化した活性型マクロファージを得る。MOI=30でH37Rvをマクロファージに感染させ、3日後の培養上清を濾過滅菌し、Differential Solubilization法による血漿低分子抽出を行い、ペプチドーム解析を実施した。解析結果から、抗菌活性の高い分画に含まれていたdermidicinに着目した。
- ③実験に使用したヒト血液は分担研究者自身の自己血である。患者材料は用いていない。従って、本研究においてはとくに倫理上の問題はないと考えられる。
6. 細胞外マトリックスを構成するヒアルロン酸の肺における蓄積を結核菌感染後に解析した。ヒアルロン酸合成酵素hyaluronic acid synthase 1 (HAS1)、HAS3の機能を解析するため、遺伝子欠損マウスを作製し、結核感染に対する感受性を解析した。

## C. 研究結果

### I. 日本の外国人結核 (岡田)

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7)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)。高校生0.8%、大学生9.4%、専門学校生2.4%と日本語学校生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(6.4倍)(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。

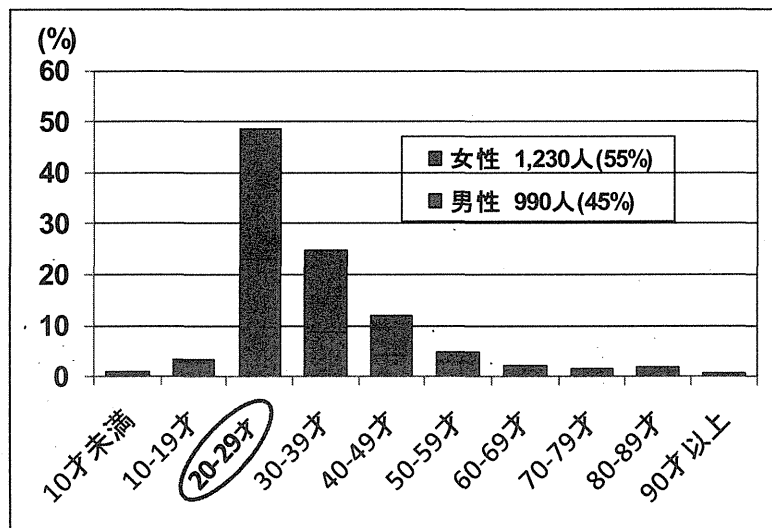
2009年、2010年、2011年の日本における外国人結核の推移と傾向

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

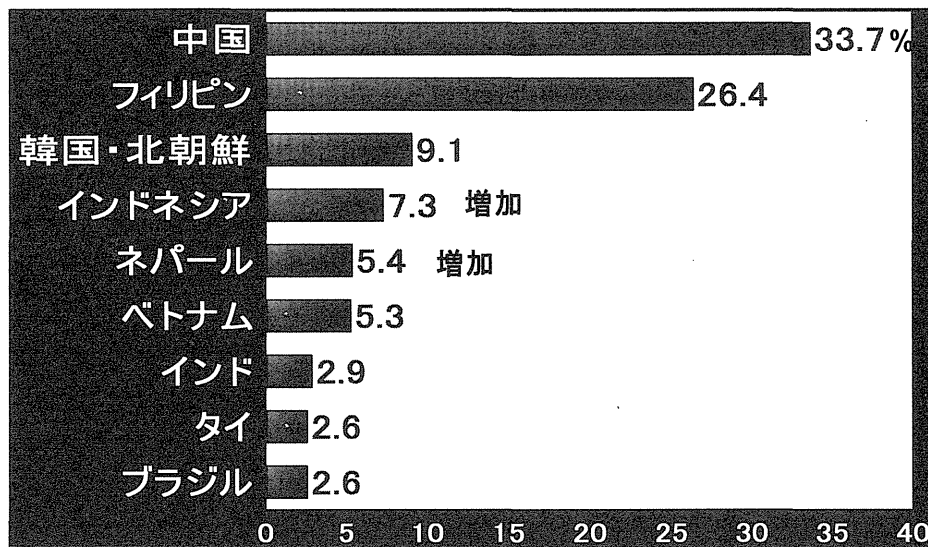


図7 国籍

表9 来日年数

月・年数	人数	累計
～6ヶ月	264	12.4%
6ヶ月～12ヶ月	232	10.9
1年～3年	524	24.7
3年～5年	216	10.2
6年～9年	289	13.6
10年～	346	16.3
不明	201	9.5
無回答	49	2.3

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

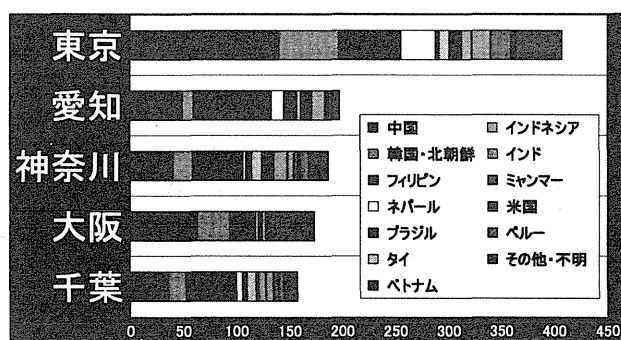


表13 菌情報

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11 職業

接客業	9.5 %
学生(高校)	0.8
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 (2009~2011)	日本人結核 (療研2007)	外国人結核 (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

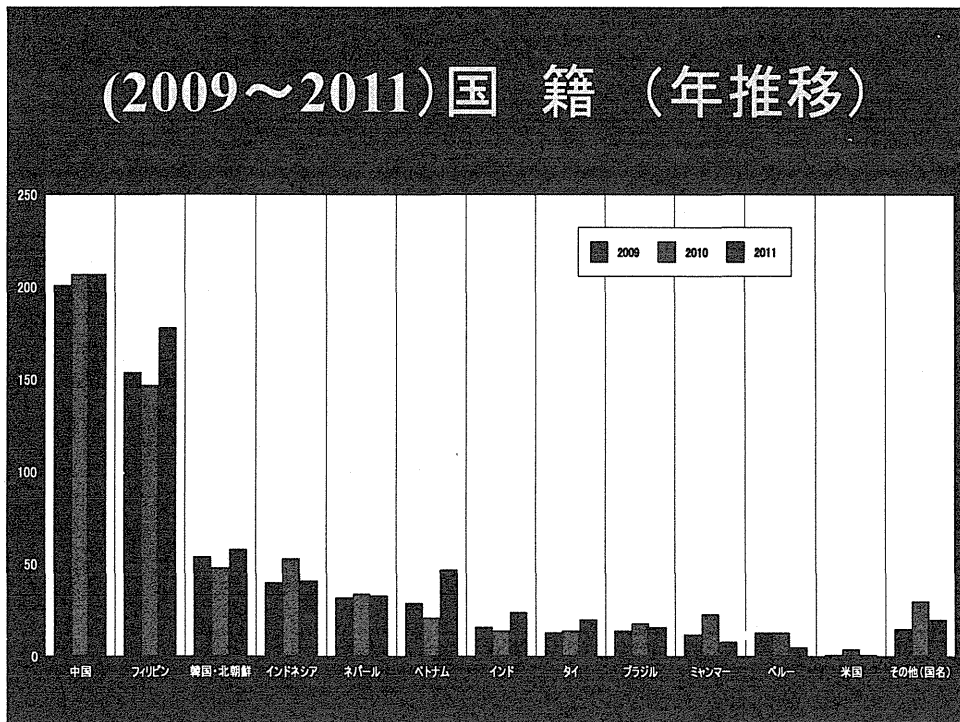




表 2 3

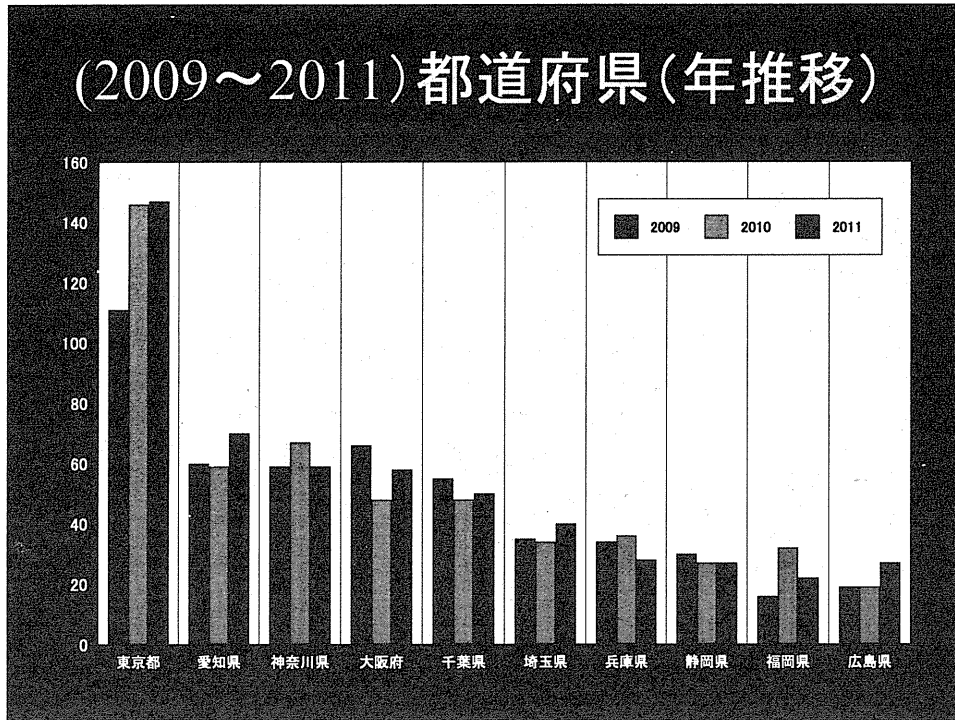


表 2 4

### 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25

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26

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  
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

II. 分子疫学研究(小林、切替)(表28、表29、  
図8)

1. 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178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。前半は2007-2009年で95例、後半は2010-2012年で83例であった。前半と後半を比較し、国籍別では中国が最多で変わらなかったが、韓国が減少したのに対し、フィリピンの増加がみられた。性別ではフィリピンの女性の増加が目立っていた。なお、新宿区の外国人居住者数については、国籍別にみると、最近3年間で韓国または北朝鮮の減少、中国の増加がみられ、韓国または北朝鮮と中国がほぼ同数となり、他国と比べて圧倒的に多数であった。職業では学生と主婦が減少し就労者が増加した。入国時期は結核診断の1年以内が24%から30%へと増加傾向であり、また、治療成績は改善し、脱落者は5名(5.3%)から3名(3.6%)に減少した。薬剤感受性については、外国人133名と日本人1300人の結核患者の検

査結果を比較した。2007-2009年では外国人結核でRFP耐性率が有意に高く( $p=0.003$ )、2010-2012年では外国人結核で多剤耐性率が高い傾向がみられ、全体の2007-2012年を総合すると外国人結核では日本人結核と比較して、RFP耐性率( $p=0.002$ )と多剤耐性率(0.018)が有意に高値であった。

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259株(外国人由来91株、日本人由来168株)の全配列を決定し、得られたIlluminaの配列はDDBJに登録した(accession No. DRA001219)。本研究で解析した全臨床分離結核菌259株は、Beijing lineage(70.3%)、Euro-American lineage(17.8%)、Indo-Oceanic lineage(8.9%)およびEast African-Indian lineage(3.1%)に分類された。しかし、その遺伝系統における外国人由来株と日本人由来株の比率は全ての系統で有意に異なった

(表 2 9)。特に、外国人由来株の大部分は Beijing lineage (47.3%)、Euro-American (25.3%) および Indo-Oceanic (20.9%) だったが、日本人由来株は 82.7% が Beijing lineage だった。また、Beijing lineage の中で、外国人由来株では 67% が modern 型であるのに対し、日本人由来株では 63% が ancient 型だった。図 8 は、臨床分離 259 株およびゲノム公開されている 18 株を用いた全ゲノム配列による系統樹を示す。各灰色の楕円内の臨床株は記載されている各系統 (lineage) に属した。

## 2. (1) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向 (下内)

外国人患者は、2008 年の 33 名以降毎年 30 名余りで推移しており、2012 年は 34 名であった。性別は、日本出生者で男性の割合が多いのとは対照的に外国人では女性が多く約半数を占めており、2012 年 15 名 (44.1%) であった。年齢の中央値は、2008 年 33.0 歳から 2012 年 27.5 歳へと推移していた。出身国を見ると、2008 年は中国 10 名 (30.3%)、韓国 9 名 (21.2%)、次いでフィリピン、タイがともに 3 名 (9.1%) 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 19 名 (56.3%) を占め、韓国は 2 名 (6.3%) まで減少した。また入国から登録までの期間は、1 年未満が 43 名 (25.1%)、1~4 年が 48 名 (28.1%) であった。日本語学校に所属していた者の割合は、2008 年 4 名 (12.1%) から 2012 年 8 名 (23.5%) へと増加傾向にあった。

## (2) 日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診 (図 9)

日本語学校 16 校に在籍する外国出生者 2109 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 7 名をのぞく 2109 名の平均年齢は  $23.2 \pm 4.5$  歳、14~70 歳であった。男性は 1186 名 (56.2%) であり、20 代が 73.9% を占めていた。出身国は、中国 999 名 (47.4%)、ベトナム 548 名 (26.0%)、韓国 349 名 (16.5%)、

インドネシア 50 名 (2.4%)、タイ 27 名 (1.3%)、その他 136 名 (6.4%) であった。複数回受診者 274 名を除く 1835 名のうち、不明 586 名を除く 1249 名の入国から健診受診日までの平均日数は  $116.9 \pm 143.3$  日、中央値 53 (3-1655) 日であった。健診の結果、結核が疑われた者は 24 名 (1.1%) 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 5 名 (0.2%) であった。5 名の性別は、男性 3 名、女性 2 名であり、年齢は 20~25 歳であった。出身国は中国 4 名、ネパール 1 名であり、入国から健診受診までの期間は 41~108 日で 4 か月以内に受診していた。健診時の胸部 X 線で空洞を認める者はなく、4 名が塗抹培養とも陰性、1 名は塗抹陰性で培養結果は不明であった。

## (3) 外国出生結核患者由来菌株の VNTR 解析

平均年齢は、外国出生群  $37.1 \pm 18.7$  歳、日本出生群  $29.8 \pm 6.8$  歳、男女比はどちらも 1.8 であった。外国出生群内で、追加領域を含む 24 領域すべて一致したものはなく、JATA12 一致かつ追加領域不一致は 15 例 (27.8%)、JATA12 一致かつ追加領域不明は 1 例 (1.9%)、JATA12 不一致は 38 例 (70.4%) であった。一方、日本出生群内で追加領域を含む 24 領域すべて一致したのは 44 例 (20.4%)、JATA12 一致かつ追加領域不一致は 43 例 (19.9%)、JATA12 一致かつ追加領域不明は 37 例 (17.1%)、JATA12 不一致は 92 例 (42.6%) であった。

外国出生者と日本出生者との型別を比較したところ、追加領域を含む 24 領域すべて一致したのは 2 例 (3.7%)、JATA12 一致かつ追加領域不一致は 12 例 (22.2%)、JATA12 一致かつ追加領域不明は 2 例 (3.7%)、JATA12 不一致は 38 例 (70.4%) であった。24 領域が一致した 2 組は、① 49 歳ブラジル出生者 1 名 (入国 8 年) と 29 歳日本出生者 1 名、② 64 歳ペルー出生者 1 名 (入国 3 年) と 24 歳日本出生者 1 名であった。

RFLP解析		グループ I (26)	グループ II (5)	その他(56)
年齢 (歳)		33	35.2	30.8
性別 男性 (%)		20 (76.9%)	4 (80%)	33 (58.9%)
国籍 東アジア (%)		16 (61.5%)	1 (20%)	27 (48.2%)
居住地 新宿区 (%)		8 (30.7%)	0%	12 (21.4%)
クラスター形成率		5/8 (62.5%)	—	4/12 (33%)
入国1年未満 (%)		10 (38.4%)	0%	21 (37.5%)
HIV陽性 (%)		3 (11.5%)	0%	2 (3.5%)
薬剤(H,R)耐性あり (%)		2 (7.6%)	0%	2 (3.5%)
肺結核 (%)		22 (84.6%)	4 (80%)	52 (92.8%)
塗抹陽性率 (%)		14 (53.8%)	5 (100%)	40 (71.4%)
遺伝子型	北京型 Modern	12 (67%)	0 (0%)	3 (8%)
	北京型 Ancient	6 (33%)	0 (0%)	9 (23%)
	非北京型	0 (0%)	5 (100%)	28 (70%)

表28

表 2 9

Lineage	Isolates from patients				p-value*
	Foreign-born		Japan-born		
	n	%	n	%	
East-Asian (Beijing)	43	47.3	139	82.7	5.80E-09
{ typical Beijing	29	67.4	52	37.2	1.01E-03
{ atypical Beijing	14	32.6	87	62.8	1.01E-03
Euro-American	23	25.3	23	13.7	0.03089
Indo-Oceanic	19	20.9	4	2.4	1.87E-06
East African-Indian	6	6.6	2	1.2	0.04306

\* Statistical analysis done using Fisher's exact test.

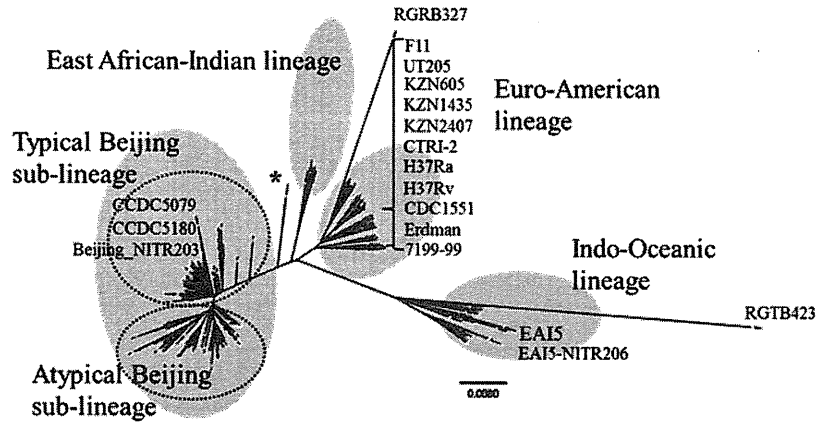


图 8

## 大阪の外国人結核の分子疫学解析と実態把握

大阪 (下内・小向)

- 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。

結核発見率	
日本語学校	日本人(大阪市)
結核の疑い 1.8% ↑	0.08%
活動性結核 0.4% ↑	

### ③ 早期発見に貢献

- a. 入国後1年未満 94.1%
- b. 塗抹陰性割合 87.5%

日本語学校健診は  
より軽症で発見

### 日本語学校健診受診者の推移

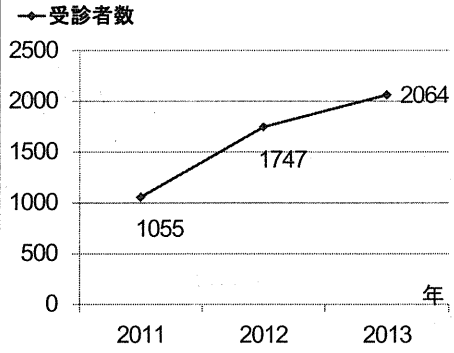


図9

### Ⅲ. 日本・中国・韓国・台湾の分子疫学研究 (加藤、前田)

#### 1. SNP 解析のローサイと分析法 (図10、11、12、13)

##### (1) SNP タイピング用のプローブの型別能力の確認

リアルタイム PCR で SNP 分析する 23 箇所について、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 プローブを合成した。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 SNP を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試みた。そして 23 箇所すべての SNP サイトの変異を検出できる分析系を構築した。SNP 分析での野生型陽性コントロールとして H37Rv のゲノム DNA が使用できる。しかし、分析用の変異型陽性コントロールが無いので、各ローカスの変異型陽性コントロール DNA も作成した。

##### (2) SNP 解析のローサイ

北京型結核菌と非北京型結核菌を区別する SNP として今まで 3284855 を使用していた。しかし、最近、中島らによって新しい 779615 部位の SNP が報告された。どちらの SNP 部位が型別に適切か検討を行った。スポリゴタイピングで北京型と判定された 318 株と非北京型と判定された 318 株について、3284855 と 779615 の SNP 分析を行い型別しスポリゴタイピングの型別結果と比較した。779615 位を使った型別では、北京型と非北京型ともすべての例でスポリゴタイピング結果と一致した。一方、3284855 部位の SNP 型別では、318 株の非北京型結核菌株の内、313 株はスポリゴタイピング結果と一致したが、5 株は本部位の SNP 分析で北京型と判定され、1.6%が不一致となった。

##### (3) SNP 法による分析

日本 (東京都内: 191 株) と台湾 (210 株) で

分離された結核菌について本 SNP システムで分析した。779615 位で北京型と非北京型、北京型はさらに 1477596 位の分析で ancient と modern 型のへ型別を行い、結核菌を 3 グループに分けた。各グループはさらに非北京型は 7 箇所、北京型 ancient は 10 箇所、北京型 modern は 4 箇所の SNP 部位の分析を行った。東京と台湾で分離された結核菌について、北京型 ancient と北京型 modern についてサブタイプの存在比を比較した。

東京で分離された北京型 ancient 株は、大きく 4 グループに分けることが可能で最大グループは BJ06-II サブグループで 36.4%であった。台湾で分離された ancient 株も、4 グループに分けることが可能で最大グループは東京の場合と同じく BJ06-II で 30%であった。台湾で 20%を占めている BJ06-I と BJ07-III は日本では 2%しか存在していなかった。また、BJ04-I グループは台湾では存在せず、日本だけで存在 (全体の 19.2%) する型の結核菌であることがわかった。

日本の modern 株の分析では、BJ09 (72.1%) と BJ11-III (23.3%) の 2 グループで大部分を占めていた。台湾の modern は BJ09 型が 45.6%で最も多く、他に 4 つのサブタイプが存在した。また、BJ11-IV 型は、台湾で 11.8%占める型であるが、日本では検出されなかった。同じ北京型 ancient あるいは北京型 modern のグループの結核菌でも、分離された地域によってサブタイプの種類やその割合が異なることが明らかになった。

今までの型別法では NTF 領域への IS6110 の挿入の有無で、北京型結核菌は ancient 型と modern 型の 2 グループにしか分けることができなかった。しかし、本 SNP 分析システムで日本と台湾からの結核菌を分析すると少なくとも ancient 型は 4 グループ、modern 型も 5 グループに分けることができた。



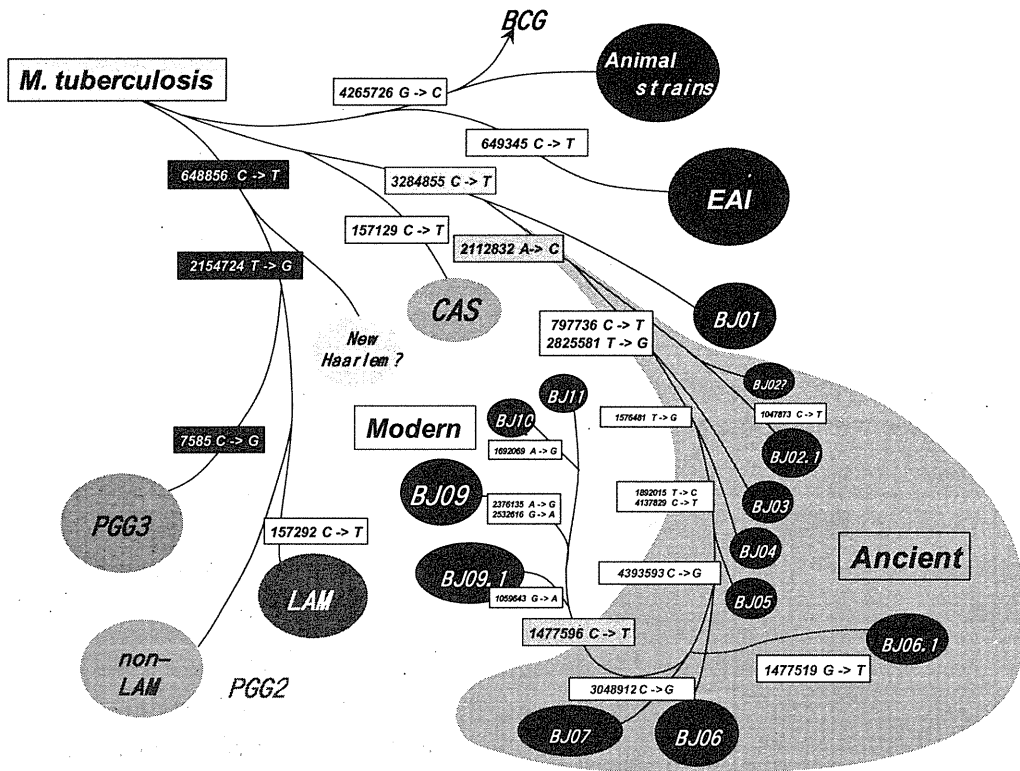


図 10. 臨床分離結核菌のSNPs解析  
 本SNP遺伝系統解析により結核菌は23系統に区分できる

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

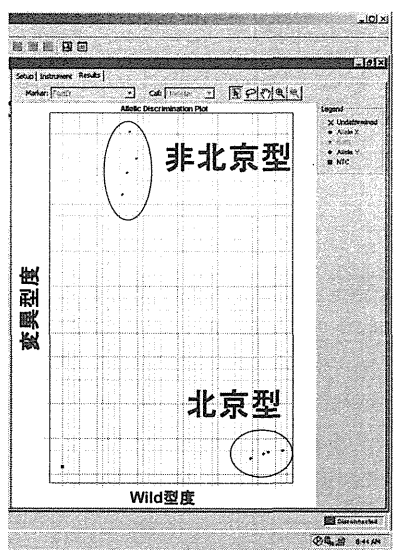
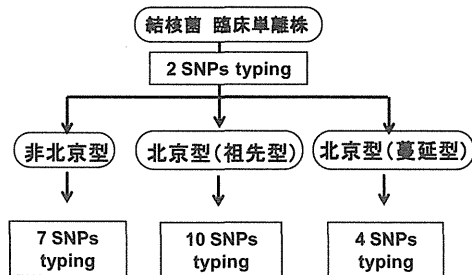


図 1 1

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 1 2

#### IV. アジア諸国の多剤耐性結核 (表30、31)

##### 1. フィリピンの未治療結核患者の喀痰を用いて

DNAを抽出し、LAMP法ですべての53例において結核菌感染症を同定した。同じDNA検体の spoligotyping解析によってすべてマニラ型結核菌が検出された。

結核グループと正常人との間の最も特徴的なバイオマーカーを同定するため、多変量判別方法で判別関数解析を行った。OPN、IP-10、好中球、IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$ 、MCP-1、血小板、gal-9、とWBCが高い判別性があった。これらのマーカーの組み合わせによって、すべての結核患者と健常者の96.3%が正しく識別できる。

中国の結核遺伝子型を血清学的に識別するため我々は腸菌を用いてRv0679cの遺伝子を導入することによって精製した組換え蛋白質 Rv0679cを得て、ELISAを行った。またこのELISA法の結果を抗TBGL IgG・IgA抗体測定キットとの比較分析を行った。正常人に比べて肺結核患者において高値の抗Rv0679cIgA抗体が検出された。多くの肺結核患者では抗Rv0679cのLys型に対してのIgG抗体は見られたがAsn型に対するIgG抗体は低値であった。また抗Asn型IgGと抗Lys型IgGとの間では相関は認められなかったが、Asn型のIgAとLys型IgAとの間で相関関係 ( $P<0.0001$ ,  $R=0.71$ ) を認めた。Rv0679cのタイターと臨床バイオマーカーとの分析を行い、Rv0679c-LysのIgGのタイターは、炎症性因子であるC反応性蛋白質レベルと相関していることが分かった。

我が国の感染者の潜在性結核感染者 (L) と結核患者 (T) のリンパ球を用いて、種々の結核菌由来抗原を用いて、T-Spotを行った。ESAT-6に対する結核患者の反応は潜在性結核感染者に比べて高かった。CFP-10の反応性はESAT-6に比べて劣った。年齢とともにESAT-6の反応は下がり、ESAT-6 とESAT-6/CFP-10の反応はリンパ球数に依存していることが分かった。

HBHAに対する反応は結核患者に比べて正常人グループでは有意に高かった。ACR, Ag85A, Ag85Bの陽性反応はそれぞれのグループで陽性に出たが、

有意差は見られなかった。日本など、BCG接種が日常的に使用される国では、HBHA、ACR、Ag85AとAg85Bの診断ユーティリティは低いと考える。

MDP-1とMDP-1H37Rvによって我々は潜在性感染者と結核感染者を鑑別できた。

##### 2. タイ (野内)

公益財団法人結核予防会複十字病院は10年以上の菌体を保持しており、また文部科学省オーダーメイド医療実現化プロジェクトに2003年開始の第一期より参加協力している。検査残余検体を活用した難治性要因研究は、2014年3月現在380名より同意が得られている。再発31例、治療失敗13例、治療中断後再治療3例、多剤耐性37例(外国居住歴16例)の難治性結核症例がある。外国に関連ある結核患者での多剤耐性率はない患者に比し有意に高い。2013年は実数でも外国関連のない日本人と同一になっている。事例としては、フィリピンでスラムのボランティアをした高校生の一次MDR症例も入院している。

国際的に結核菌のlineages分類法として標準化されたThe large sequence polymorphism(LSP)とregions of deletions (RD)を活用したLSP/RD解析法では、EAI株が524人から531株(39.8%)、非EAI株として、北京株が591人より595例 (44.6%)、Euro-American株が184人より187株(14.0%)、CAS株が11人より11株 (0.83%)、その他9人より9株 (0.68%)であった。

この結核患者1319人での1年間での死亡に関しての危険因子を示す。

Cox-Proportionalハザード比モデルによる単回帰解析で、EAI株による結核患者が非EAI株による患者よりハザード比で2.7倍1年死亡の危険が高かった。EAI株は死亡率が高い事が多い年齢が高い群で比率が大きいので、年齢やHIV感染状況、体重など死亡に影響する因子による交絡を多変量回帰で調整しても、調整ハザード比は1.75で菌株の種類の影響が独立して存在する事が示された。

EAI株の比率が高い55歳以上のHIV陰性(希に不明)の結核患者での1年生存のカプラン・マイヤー法生存曲線を示す。この群でもEAI株の比率が低い55未満の群でも有意の差で死亡率の差が認められている。

表 3 0

### 〔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 (結核研究ネットワークを活用した)

**中国** (服部)

- ① 肺結核の患者においてはRv0679c-Lys (結核菌北京遺伝子型に存在する点突然変異)IgGの高値を明らかにした。(J. Clin. Micro.2011)
- ② Rv0679c multiplex PCR法を北京型結核菌感染の新しい診断法として開発に成功。
- ③ 薬剤耐性は35%で、MDRが23%。

**フィリピン** (服部)

- ① 潜在性結核のTBGL診断はQFTと相関し有用。(服部 Int.J.TLD.2012 Clin Dev Imm.2012)
- ② 流行型結核菌がマニラ型。

**タイ** (野内、櫻田)

- ① 難治性結核の分子疫学解析(野内)(Microbio.Imm.2012)
  - (1) 再治療結核はRFLPパターンより外因性再感染。
  - (2) 初回多剤耐性12.5%が、再発で22.5%と高。
- ② HIV合併結核493名中活動性結核は15.6%。

表 3 1

### 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

**タイ** (野内、櫻田)

- ③ 難治性結核250例を含む655例(マヒドン大)。北京株44%、EAI株40%、非北京・非EAI株16%。
- ④ タイNIHとの共同研究(櫻田) 活性化ビタミンDより活性化されるヒトM型マクロファージはHIV感染により、結核菌殺菌能低下。
- ⑤ 再発結核患者では血清granulysin値低下。  
(櫻田、野内、岡田、Surisin, Micro. Imm.2011)

タイでの結核患者の血清中granulysin

**ベトナム** (慶長)

ファムゴックタック病院(ホーチミン市)における  
多剤耐性結核の宿主要因の検討

研究参加者  
多剤耐性結核の法医学  
検体 58例

↓

背景因子  
年齢、性別、職業、  
HIV感染合併症、  
結核の法医学

← 後ろ向き →  
多剤耐性結核

↓

遺伝子タイピング  
関連解析  
薬用代謝関連  
免疫系統、エフェク  
ター分子  
MPL2 (免疫応答)  
MBL2 (免疫応答)

- 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は代謝遅延型が少い。
- ② 自然免疫関連遺伝子MBL2(マンノース結合レクチン)は変異型(欠損型)が、ベトナムの多剤耐性結核では高い。