

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23年9月1日、平成24年12月10-11日、平成26年1月14-15日と全体で3回、結核菌の分子疫学担当者会議を開催した。VNTR分析は株ごとに複数ローサイをPCRにかけ、得られたPCR産物の分子量を測定し、コピー数に換算する必要がある。しかし、SNP解析なら最初にプローブとプライマーの設計さえ行えば、リアルタイムPCRの系で簡単に分析・型別することができる。本研究所でまとめた北京型と非北京型結核菌の双方を網羅的に型別できるSNP型別システムを各国参加者に提案した(図1)。このシステムで各国の結核菌を分析して広まっている結核菌の遺伝型を比較することにした。

リアルタイムPCRを利用したSNP分析システムの構築

次世代シーケンサーを使った結核菌株の分析から明らかになったSNP部位を遺伝系統毎に選択して、結核菌を遺伝系統的に型別するSNP分析システムを作成した。SNP部位の塩基は、リアルタイムPCRを利用した分析系で検出した。本システムを使って各国で分離された結核菌(200株以上)の解析を行った。

- (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)。

①国立国際医療研究センターにおいて2007年1月から2012年12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(2007-2009年)と後半(2010-2012年)に分けて、それぞれの項目を比較検討した。結核菌の薬剤感受性に関しては、同期間における日本人結核菌株の感受性結果と比較した。

②前研究班では、国立国際医療研究センターで診療した外国人結核患者由来株を用いたIS6110-probed RFLP分析(解析ソフトFingerPrinting II (Bio-Rad)を使用して解析)により、70%以上の相同性を認める2つの「グループ」が検出されたことを報告した。今回の研究班では、それぞれのグループに属する外国人結核患者の臨床情報を収集し、その特徴や遺伝子型について検討した。その中で、新宿区在住の外国人結核患者20名については、新宿区の結核患者の分子疫学データをもとにクラスター形成率を求めた。なお、新宿区における結核患者の分子疫学解析については、新宿区保健所(島 史子先生)と結核研究所(石川信克先生、大角晃弘先生、村瀬良朗先生)にご協力をいただいた。

③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、外国人結核患者由来91株、および性別、年齢をマッチさせた日本人結核患者168名から分離された結核菌のゲノムDNAを抽出し、MiSeq (Illumina Inc.) を用いて全ゲノム配列を決定した。Illuminaの配列の解析にはCLC genomics workbench ver.6.5 (CLC bio)を用いた。*in silico* genotypingは、

Gagneux S.らの定義を用いて、Indo-Oceanic (Lineage 1)、East Asian (Lineage 2 or Beijing)、East African-Indian (Lineage 3)、Euro-American (Lineage 4)、West African I (Lineage 5) および West African II (Lineage 6)の系統分類を行った(Gagneux S. *et al.*, 2006)。北京型結核菌は、NTF領域へのIS6110の挿入および*mutT2*遺伝子のGly58Argの変異の有無によってmodern型とancestral型に分類した。系統樹は、PhyML3.0を用いて最尤法で作製した。

(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) ①大阪市における外国出生結核患者の発生动向

2008年～2012年に大阪府で新規登録された外国人(外国出生)結核患者の発生动向を調査した。性別・年齢・出身国・入国から結核登録までの期間・職業について分析した。

②日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

2011～13年に日本語学校19校に所属する外国出生者に対し結核健診を実施した。日本出生者、国籍不明、再受診者を除いて分析を行った。受診者の年齢・性別・出身国・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。

③外国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) NHO病院143施設に対して調査票を送り、2007年～2012年の間に入院した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。調査項目は、結核患者数、HIV陽性者数、HIV陽性者については年齢、性別、国籍、結核の病態、結核の治療、HIV感染症の治療、免疫再構築症候群の合併、転帰等である。

(b) 平成23～25年度に、全国531の保健所、全国248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・追加等のため調査年度間で必ずしも一致しない。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)。過去に村上、加藤らによる全国HIV感染合併結核症アンケート調査報告(2003～2006年)が行われているので、今回は2007年以降2012年まで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感染症合併の結核例数・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)・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である。

関連調査としては、24年度の単年度調査では、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、病棟内でどの病室（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。また、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%区切りの概数選択方式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。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、HIV耐性結核の臨床像および抗結核薬に対する耐性状況について検討した。

(c) 国立国際医療研究センター：(1)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。いずれかのIGRAが陽性の被験者では、結核症の有無について精査を施行する。抗酸菌が確認された場合は、菌種の同定と耐性検査を施行する。IGRAが判定保留または判定不可となった患者では、受診毎にIGRAを施行し経過観察を行う。IGRAが陰性であった患者では、初回検査時より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、両IGRAを施行し、結核症の精査を施行する。

(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及びブエルク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-45）。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) 結核菌がマクロファージに侵入後、貪食胞の成熟を抑制し、増殖をするが、貪食胞の成熟を抑制するメカニズムには不明な点が多い。結核菌の病原性因子として分泌たんぱく質であるESAT-6が知られていて、これらの遺伝子はワクチン株としてももちいられるM. bovis BCG株で欠損していることが知られている。ESAT-6は、T細胞に対する強い抗原性を有していることが知られているが、マクロファージの機能に及ぼす影響は明らかになっていない。そこで、マクロファージ内の貪食胞で分泌されるESAT-6が宿主細胞とどのように相互作用するかを解析した。GST融合ESAT-6タンパク質を作製し、これをマクロ

ファージ細胞株RAW264.7細胞の溶解液と混合し、その後GST pull downを行うことにより、ESAT-6に会合する宿主分子の同定を試みた。

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した。

ヒアルロン酸合成酵素HAS1, HAS3の遺伝子欠損マウスを作製し、結核菌を経気道的に感染させ、感受性を解析した。

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：

1. ハルビン医科大学で収集した44例の喀痰からの結核菌を培養し、抽出したDNAの分析を日本で行った。PCRを用いて

Rv0679c, RD105, RD207, TbD1の領域を調べた。複旦大学で肺結核45人、肺外結核26人、AIDS 結核16人を含め、87例の結核患者39例健康者ともに血漿中のRv0679c IgGとIgA抗体をELISA法で測定した。

2. サンラザロ病院の未治療結核患者（37例）の喀痰と血漿を集めた。喀痰からDNAを抽出し、現場でLAMP法を用いてMTB complexを確認した。また日本において spoligotyping法で結核菌遺伝子型を同定した。血漿中の38種のサイトカインとケモカインをLuminex法で、osteopontin (OPN), galectin-9 (gal-9) とTBGLIgG・IgAをELISA法で測定した。

- (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. ベトナム・ハノイ市の肺病院及び地区の結核センターの医療従事者109名を対象に、インタビューと採血を実施した。IFN- γ 遊離テスト (QuantiferonTM-Gold in tube) にて診断された潜在性結核感染における末梢血グラニュリシン発現レベルをELISAにて検討し、質問紙から得られた臨床疫学的情報と併せて統計解析を行った。(倫理面への配慮)

国立国際医療研究センターの倫理委員会とベトナム保健省の倫理委員会の審査を受け、研究の承認を得た。

2. M-CSF存在下にヒト末梢血単球より活性型マクロファージ (M-M ϕ) を得た。培養液中の十分な濃度の25(OH)D₃或いは25(OH)D₃とIFN- γ の存在下においてBCGを感染させ、CYP27B1、VDR、cathelicidin、IL-15遺伝子の発現を定量的RT-PCRにて検討した。さらに、別研究でM-M ϕ に結核菌 (H37Rv) を感染させた3日後の培養上清中に同定された抗菌ペプチドdermicidinの遺伝子の発現検討を試みた。

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)。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。

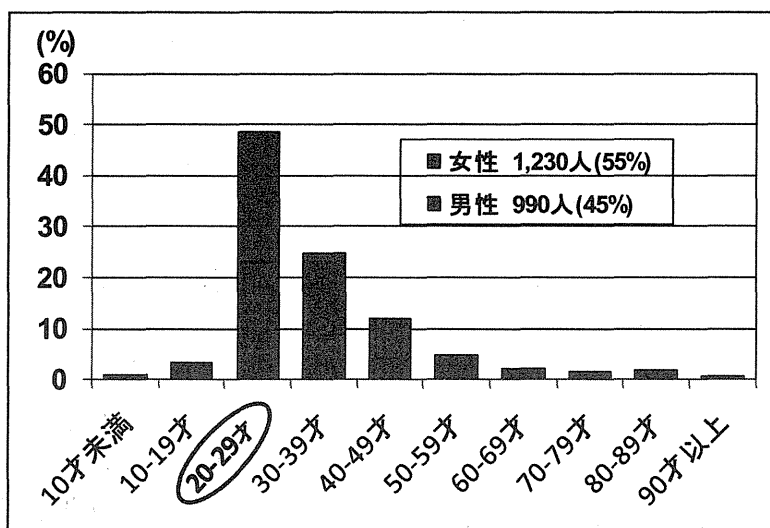
2009年、2010年、2011年の日本における外国人結核の推移と傾向

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

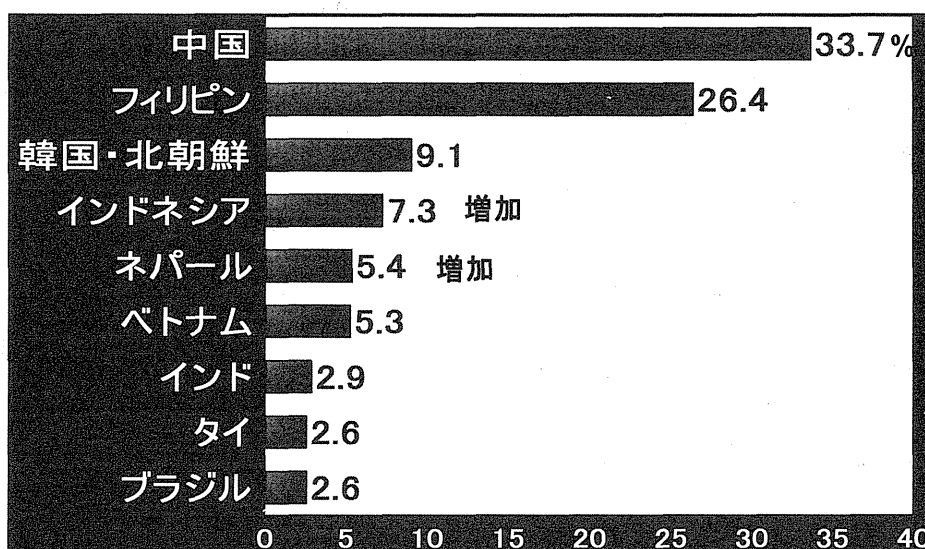


図8 国籍

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

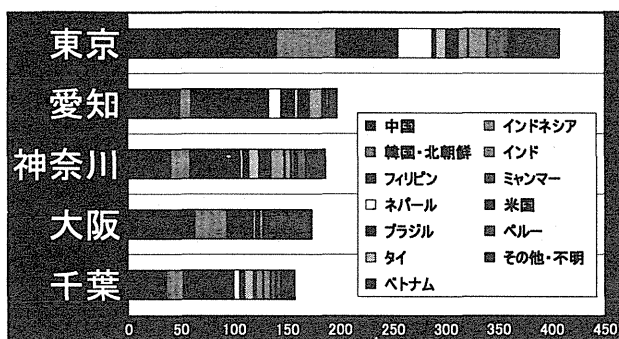


表13 菌情報

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	} 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

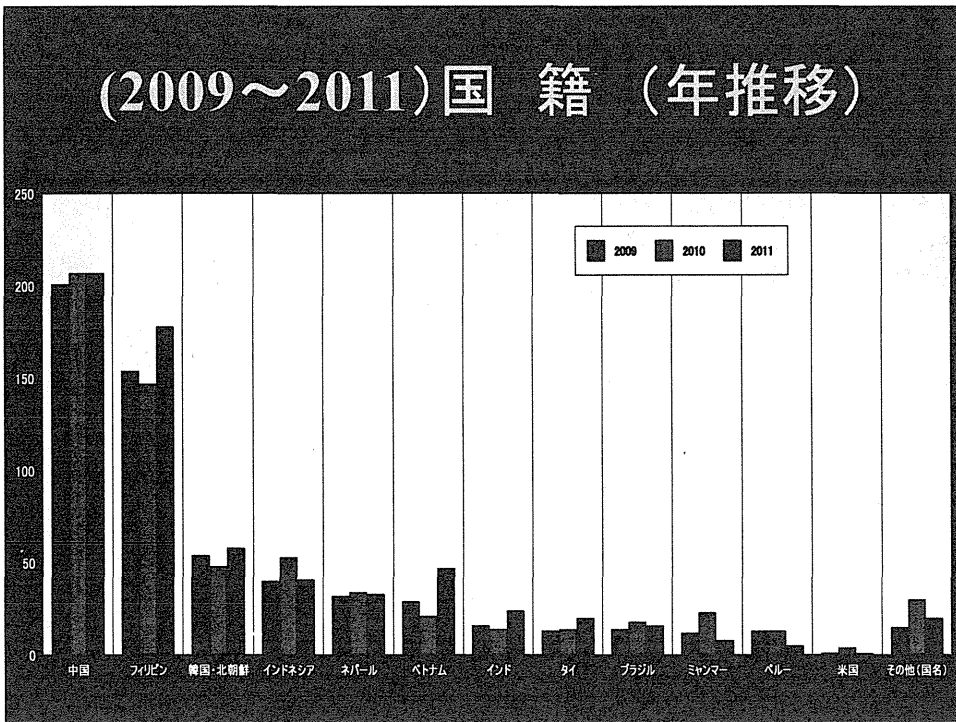


表2 3

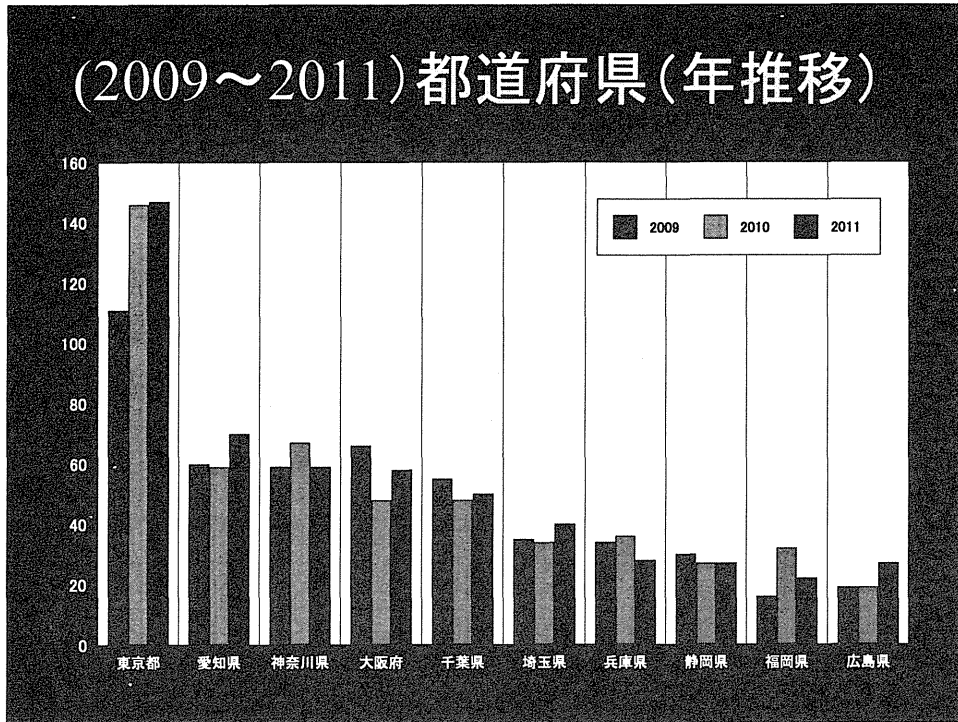


表2 4

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27

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

2. 東京における外国人結核の臨床像：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(31.7人/年)、後半は2010-2012年で83例(27.6人/年)であった。年齢・性別では、前半、後半ともに20歳代が最も多く、次に30歳代であり、男性が女性よりも多かった。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。

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)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(INH4例、SM3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(HIV2例、DM5例、肝障害3例、SLE1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、HRE9例、REZL1例、HRLZ1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28、表29、図9)

RFLP法による分子疫学解析:国立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、86株のうち26株(30%)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(表28)。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61.5%と多く、薬剤耐性率は7.6%に認め、HIV陽性率は11.5%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38.4%、グループIIで0%、その他で37.5%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。新宿区に居住している外国人結核患者は20名で、そのうち8名はグループIに属し、日本人とクラスターを形成しているのは5例(62.5%)であった。グループIIに属している者はいなかった。グループI、II以外の12例については、日本人とのクラスター形成者は4例(33%)であった。

全ゲノムシーケンス法による解析: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29)。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9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。

5. ①大阪市における外国出生結核患者の発生動向

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

日本語学校において3年間で5091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16名、および外国出生者で再受診者546名を除く4529名を対象として分析を行った。平均年齢は 23.3 ± 4.4 歳、14~70歳であった。男性は2394名(52.9%)であり、20代が全体の73.9%を占めていた。出身国は、中国2378名(52.5%)、韓国920名(20.3%)、ベトナム739名(16.3%)、インドネシア101名(2.2%)、タイ68名(1.5%)、モンゴル44名(1.0%)、その他279名(6.2%)であった。入国時期不明1384名を除く3145名の入国から健診受診日までの平均日数は 145.9 ± 167.9 日、中央値63(3-3877)日であった。健診の結果、結核が疑われた者は71名(1.6%)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19名(0.4%)であった。19名の性別は、男性14名(73.7%)、女性5名(26.3%)であり、年齢は中央値23

歳、18~29歳であった。出身国は中国12名(63.2%)、韓国2名(10.5%)、ネパール3名(15.8%)、ベトナム1名(5.3%)、フィリピン1名(5.3%)であり、入国から健診受診までの期間は中央値137日(17~401日)であった。健診時の胸部X線で空洞を認めた者は2名(10.5%)であり、2名とも塗抹陽性であった。他は塗抹陰性培養陽性が2名(10.5%)、塗抹陰性培養陰性は9名(47.4%)、塗抹陰性培養不明、菌情報不明ともに3名(15.8%)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 ± 18.7 歳、日本出生群 29.8 ± 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、①49歳ブラジル出生者1名(入国8年)と29歳日本出生者1名、②64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 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.

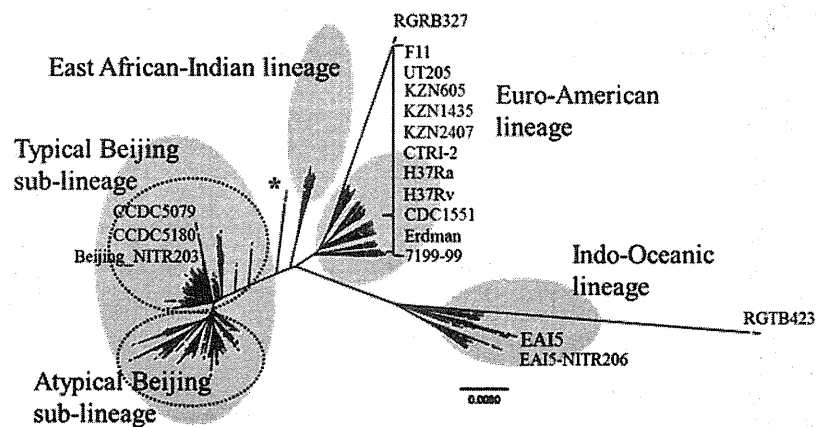


图 9

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10、11-a、11-b、12、13)

1. SNP タイピング用のプローブのデザイン

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りリアルタイムPCRでSNP分析する系を23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。そして最終的に23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。

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。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部位が型別に適切に検討を行った。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 ローサイと解析法

共通な10-locus VNTRについては、それぞれの国で実際に分析に使っている共通のローカスを集めたものなので、参加者の同意が得られた。しかし、それらのVNTRとしての識別能は低いと考えられた。そこで、VNTR分析だけでなくSNP解析も行い、各国で広まっている結核菌の遺伝子的背景等の比較を進めた。既出の報告を検索し、適切に分類できると考えられるSNPローカスを抽出し、組み合わせで構成したSNP解析システムを原案として日本

から提案し、これを元に議論を進めた。結核菌を各グループに分けるにあたり、複数のSNPサイトが報告されている場合は、どちらかひとつに絞り分析ローカスを減らした。

結果とし、示すようなSNP解析システムで解析を進めることになった。本システムでは、まず2箇所のSNP分析、すなわち779615位で北京型(C)と非北京型(G)を区別、1477596位で北京型結核菌は、ancient (C)とmodern (T)に分けた。これら2箇所の分析で結核菌は、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た。3つのグループは、非北京型結核菌はさらに7箇所のSNP分析、北京型(ancient)はさらに10箇所、北京型(modern)はさらに4箇所のSNP分析を行うことで遺伝的背景に基づき、全体を21のサブグループに分類することができた。

4. 各国で分析する株について

各国で200株程度の結核菌を分析することとした。各国結核菌のサブグループの存在比等の比較を行うためには、一定期間内に分離されたpopulation-baseの株を用いる必要があるが、本システムが国際比較に活用可能であるか等、有用性を早く検証することを優先して各国の事情に応じて出来るだけバイアスがかからないように株を選択することとした。

5. 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別のSNP部位の分析を行った。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。一方、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（図 1 2-a）。

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

（図 1 2-b）。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、北京型結核菌は NTF 領域への IS6110 の挿入の有無で、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。

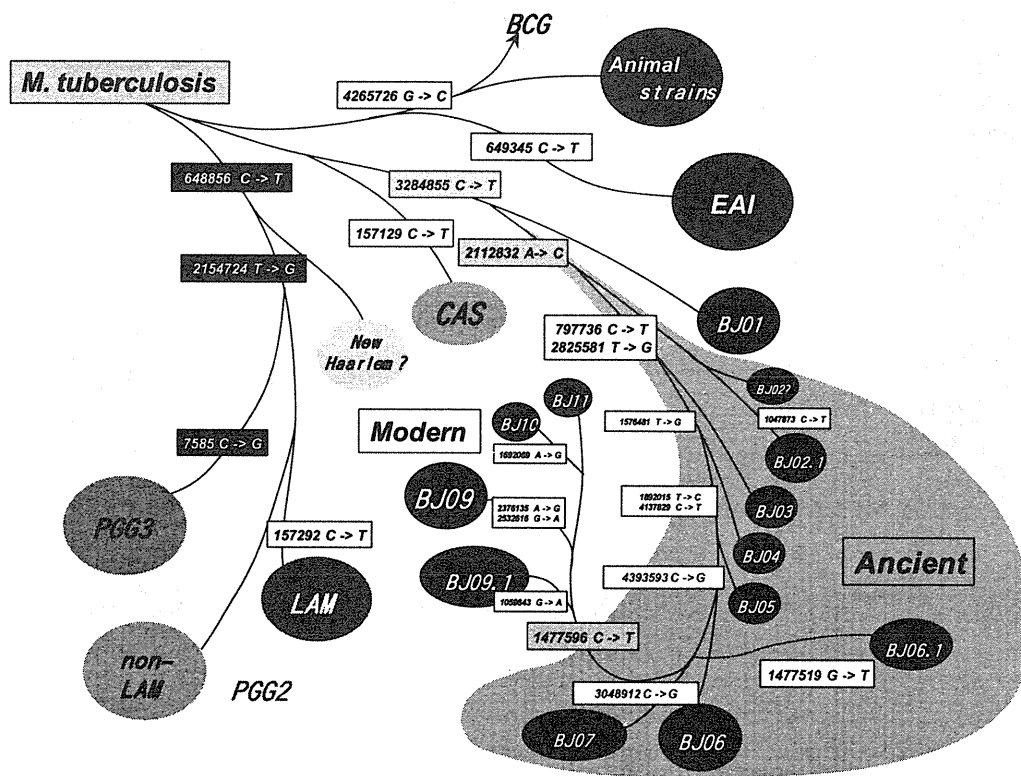


図10. 臨床分離結核菌のSNPs解析
 本SNP遺伝系統解析により結核菌は23系統に区分できる