

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11-a

東アジアで分離される結核菌のSNP分析による系統解析

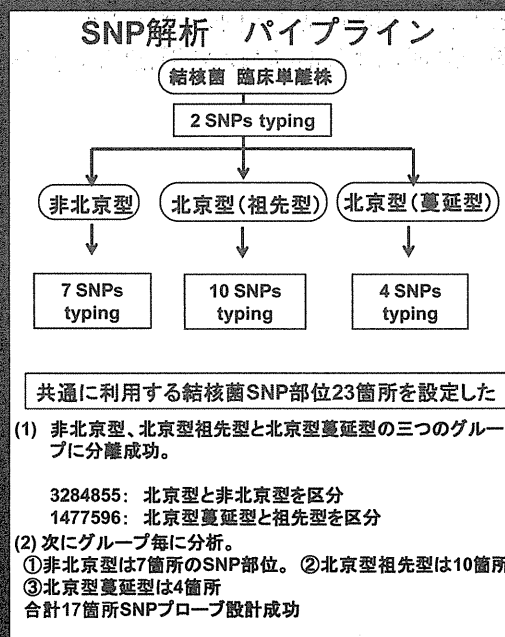
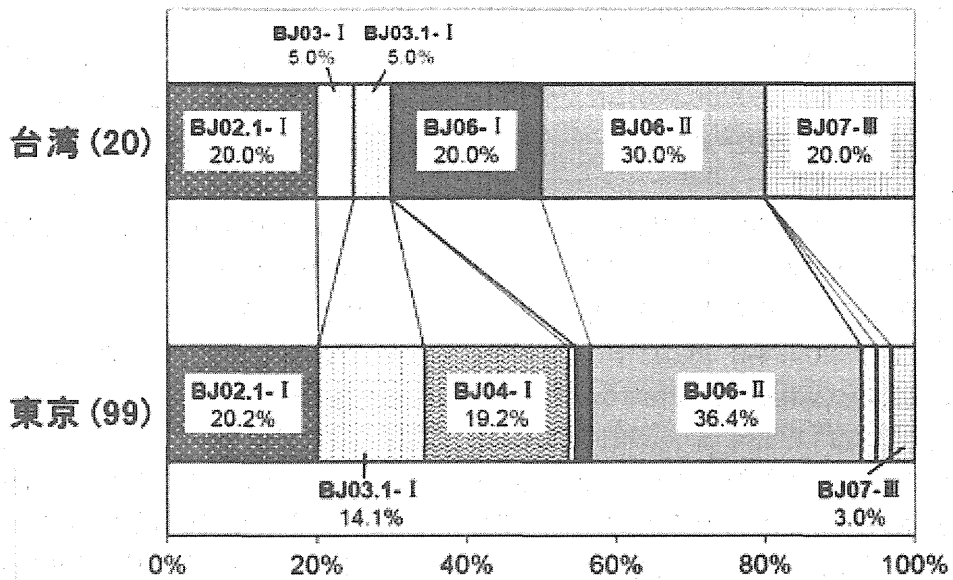


図11-b

(a)



(b)

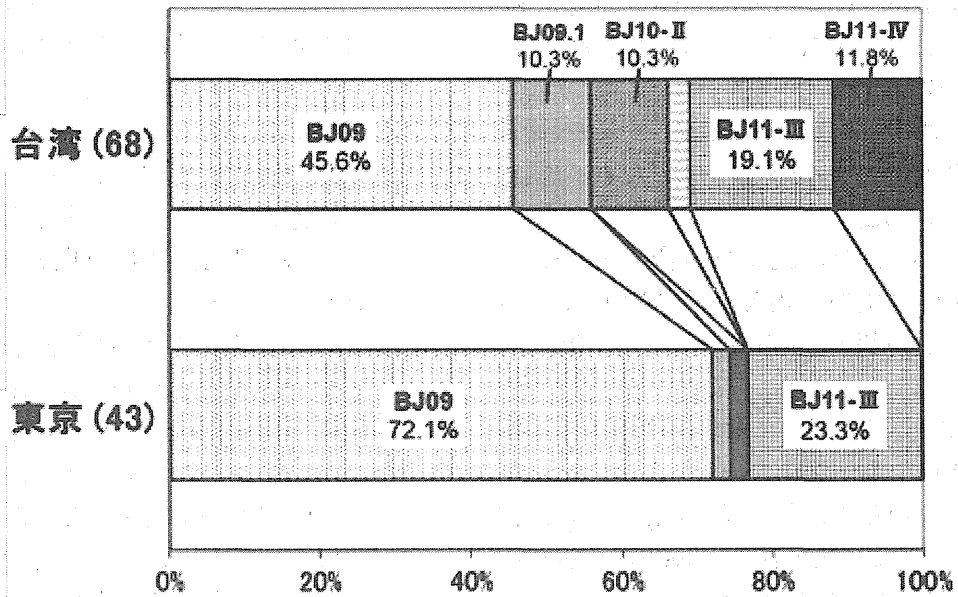


図12. 樹立したSNP分析システムを用いた結核菌の分析

779615部位と1477596部位のSNPを調べることで結核菌を非北京型、北京型ancient (a)、北京型modern (b)に分けて、それぞれのグループ毎にSNP解析を行った。各グループ内でSNP分析により型別できたサブグループの割合を示した。

Ⅲ. アジア諸国の多剤耐性結核 (表30、31)

1. A:中国. 黒竜江省の結核菌の解析では44例中42例 (95%) は北京型であり、その中2例は新たな北京型を同定した。他の2例(5%)はまだ分類されていない新たな非北京型のサブタイプであった。さらに薬剤耐性結核の解析を行い黒竜江省の結核菌の解析では1,230株の解析を行い、通常の抗結核剤あるいはフルオロキノロンに対する抵抗性を検討した。その結果、通常の抗結核剤に対する抵抗性は2007年から2011年までの薬剤耐性株は58.4%でMDRは23.3%であった。耐性株の比率は2009年が最も高く、2011年が最も低かった。2011年では新規患者の8.1%が、治療歴のある患者の31.9%がMDR-TBであった。期間全体では、何らかの薬剤耐性を示したものが35%、MDRが23%であった。

さらにRv0679c点突然変異を検出するため単純なmultiplex PCR法を開発し、619臨床分離株に適用した。この法によって非北京型と北京型の株を100%の正確さで鑑別できる。この迅速なかつ費用対効果の高いmultiplex PCR法を北京型結核菌感染の有病率を監視するために使用することができた。

復旦大学に所属する上海公衆衛生臨床センターで200検体の結核患者及び正常人のサンプルを検索した。肺結核中TBGL-IgG抗体の検出感度及び特異度はそれぞれ 67.4%と81.0%であった。またTBGL IgA抗体の検出感度及び特異度はそれぞれ45.7%と89.7%である。Rv0679c蛋白のBCG型 (Asn)と北京型(Lys)とのIgG・IgA抗体を検索した。肺結核患者中にRv0679c-Asn IgA及びRv0679c Lys IgAの高値を検出した。空洞と胸水のある症例ではRv0679c-Asn IgA及びRv0679c Lys IgAが低い傾向があった。上海での45例の肺結核中の24例(53.3%)はRv0679c Lys142に対するIgG抗体を検出した一方、4例(8.9%)はRv0679c Asn142 IgGを検出しなかった。Lys142 IgGとC-Reactive Protein (CRP) の相関を初めて発見した。

B:フィリピン・マニラのサンラザロ病院の抗酸菌染色陽性菌は100% MTB complexであることをLAMP法で確認した。Spoligotypingによって結核菌の遺伝子型は全てマニラ型であること

を明らかにした。判別関数解析およびレシーバオペレータ特性曲線分析によってバイオマーカーの予測能力を評価し、最大限に検討グループ間を区別検体のセットを選択するカットオフ値を同定した。OPN, IP-10と好中球は結核発症のマーカーとして使用できた。またOPN, IP-10, 好中球, IL-6, IL-8, TNF- α , MCP-1,血小板, gal-9, 及び白血球数との組み合わせで結核を96.3%正確に予測できた。フィリピンにおいてはTBGL IgGの適切なカットオフは4 U/mlが妥当と思われた。

2. タイ (野内)

日本では、複十字病院の結核登録を活用した検討をした。2007年1月1日より2013年12月末までに登録された結核患者2,748名において、外国と関連がある結核患者は5.9%の162名で、そのうち多剤耐性結核患者は49名(30.2%)であった。これは、外国と関連のない結核患者2,586名での、多剤耐性結核患者91名(3.5%)と比べて、オッズ比11.89(95%信頼区間8.01-17.65)と有意に高かった。

HIV合併結核研究としては、タイにおけるHIV感染者コホートの研究での保存血清を活用した潜在性結核感染診断法の検討を目指し、臨床情報を整理した。

難治性結核の分子疫学解析をタイで進めて来た成果論文(Sukkasem S, et al. Microbiology and Immunology 2013 Jan;57(1):21-9)で、その主な内容は、再治療の為に結核菌培養が得られた42人について検討したところ、40人は同一のRFLPパターンであったが、2人は異なるRFLPパターンがあり外因性再感染が疑われた。初回では多剤耐性が12.5%であったのが、2回目では22.5%と有意に高かった。これらの難治性結核で北京株は66.7%と全国平均の20.8%に比して高かった。

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。

Spoligotyping (polymorphisms of the direct repeat (DR) region) による1,123株の菌体分類では、北京株が548例 (48.8%)、EAI株が406例(36.2%)、Euro-American株が157例(14.0%)、CAS株が11例 (0.98%)、その他1株(0.09%)で、LSP/RD法と相関していた。

菌の分類と臨床情報との相関の検討では、前述のRFLPでの研究と同様に、年齢共に薬剤耐性が相関を示した。45歳で区別した場合、若年者での北京株は51.0%(353/692)と年配者での37.8%(242/641)とくらべオッズ比1.72(95%信頼区間 1.38-2.14, $p < 0.0001$)と有意に高かった。また、多剤耐性菌の主であるRFP耐性菌での北京株の割合は56.5%(35/62)とRFP感受性菌での割合の44.0%(519/1180)とくらべオッズ比1.65(95%信頼区間 0.99-2.76)と高かった。体重、結核病変の部位 (肺外病変の有無等)、胸部レントゲン所見 (空洞の有無、広がり)、喀痰塗抹検査での菌量は、菌の分類と相関はなかった。

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ため、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30

〔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31

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)

- 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は代謝遅延型が少ない。
- 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。

3. HIV合併結核バイオマーカーとしてgranulysin有望 (タイ 櫻田)

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名において、血漿グラニュリシン値と潜在性結核との関連性が示唆された。IFN- γ 遊離テスト陽性者では健常者と比較して有意にグラニュリシンの発現が低下していた。年齢や性別により補正しても結果は変わらなかった。また、他の臨床疫学的要因ではBMI以外では潜在性結核感染と関連する要因はなかった。

2. 活性型マクロファージの一種と考えられるM-M ϕ においては活性型ビタミンD₃による活性化メカニズムが働いていることが明らかとなった。すなわち、培養液中の十分な濃度の25(OH)D₃の存在下においてCYP27B1、VDR、cathelicidin遺伝子の発現が増幅されることが示された。また、IFN- γ はCYP27B1の発現のみを増幅した。BCG感染後一方、GM-CSF存在下に分化したGM-M ϕ は抗原呈示細胞としての性格を示し、抗結核菌活性を示さないが、活性型ビタミンD₃による活性化メカニズムは働いていないと考えられた。ただし、IFN- γ によるIL-15の誘導は双方のマクロファージにおいて認められた。

dermnicidin遺伝子の発現検討は現在行っているところである。

4. ベトナム INH代謝NAT2遅延型は多剤耐性結核で少ない (慶長) (表31)

1) NAT2遺伝子型

ベトナム人のNAT2遺伝子型は、他の東南アジア集団における報告と同様、イソニアジド迅速代謝型(F)と代謝遅延型(S)の割合は、ほぼ1:1であり、日本、韓国など東アジア集団より遅延型(S)が多く、ヨーロッパ集団よりは遅延型(S)が少なかった。

多剤耐性結核では、表に示すように、対照集団より、遅延型(S)がより少ない傾向を示す結果が得られたが、対照集団の遺伝子型分布の偏位、検出力の問題が未解決で残っており、今後、より大規模な研究で、この結果を確認する必要がある。

2) MBL2遺伝子型

MBL2遺伝子は高発現型(YA/YA)、中発現型(YA/XA)、低発現型(それ以外)に分けられた。MBLの高発現型と低発現型遺伝子型の比率をみると、MDRの例数が少ないので有意差は出ないが、高発現型(YA/YA)の遺伝子型頻度は、多剤耐性結核群では健常対照群に比べてやや低値を示した(データ省略)。

MBLは急性期蛋白質であり、結核患者では健常者より血中MBL濃度が高いことが報告されている。今回の検討で治療中(治療開始3-6か月後)の患者群でも、MDR-TBの血漿中のMBL濃度はYA/YAで高値、YA/XAでは中程度、それ以外は低値を示すことが明らかになった

次にMBLの濃度が血中サイトカイン量と関連するかどうか蛍光ビーズアレイを用いてスクリーニングしたところ、インターフェロン γ (IFNG)濃度が最も確かな正の相関を示した(Spearmanの相関係数=0.34, P=0.0099)。

MBL血中濃度とIFNG濃度の相関がみられたので、さらにMBLのYAアレル(野生型)の保有数との関係を調べたところ、YAの本数はIFNG濃度と有意に相関していた(P=0.006)。

一方、全血中の免疫関連分子の遺伝子発現量とMBL血中濃度の関連を検討したところ、インターロイキン12(IL12)の α 鎖(p35)の遺伝子発現は血中MBL値と逆相関を示した(Spearmanの相関係数=-0.43, P=0.003)。

3) DUSP14遺伝子型

ベトナム人58名のプロモーターおよびエクソン領域のシーケンス解析で、15カ所の部位で塩基の違いが認められ、Barreiroらの報告したDUSP14のイントロン1内に存在するrs712039 SNPは、プロモーター領域にあるrs853196およびrs853197、エクソン2の5'UTR内rs1051838と完全な連鎖不平衡状態にあることが明らかになった。

全血より抽出したtotal RNAから定量的RT/PCRにより、DUSP14のmRNA発現量と上記遺伝子配列解析で得られた各遺伝的多型との関連を検討したが、有意差はみられなかった(P=0.57)。一方、全血球細胞のTNF遺伝子発現量は、Barreiroらによるrs712039のDUSP14高発

現アレルとして知られるCの数に依存して低くなる傾向がみられた ($P=0.0121$)。

DUSP1 遺伝子プロモーター領域にあるC/G SNP rs62076700とrs712039によって3ハプロタイプH1, H2, H3の存在が推定され、このうち高発現型と予想されるH2のハプロタイプ数に依存して、全血中の*IL12RB1* mRNA発現が有意に低値を示した ($FDR<0.05$)。他のいくつかのTh1系免疫関連遺伝子のmRNA発現量でも同様の傾向がみられたが、多重比較を考慮すると有意差には至らなかった。既報と同様にベトナムにおいても、*DUSP1* 遺伝子多型頻度が結核症と関連 (疾患感受性) を示すか否かについて現在も検討中である。

IV. HIV合併

1. (永井) (調査票の項目のすべてに回答が得られているわけではないので、回答数の少ない項目は除いた)

表3 2に年別症例数を示した。毎年、3,502-4,388人の結核患者が入院し、そのうちHIV陽性者は0.29-0.46% (平均0.39%) であった。ほぼ毎年、同程度の率でHIV陽性者が入院していたが、2012年はやや減少していた。HIV合併結核総数は96例であったが、そのうち82例 (85.4%) は東京・大阪・愛知の大都市圏に集中していた。この地域だけで見ると、結核患者8,990例中82例となり、HIV陽性率は0.91%となる。

HIV合併結核患者96例 (1例は症例の詳細が不明のため以下は95例のデータ) の男女比は90:5、年齢の中央値は43歳であった。年齢分布を見ると、外国人も日本人も30歳代、40歳代が多かった。

結核発病を契機にHIV陽性と判明した症例は56%に及んだ。

CD4数の平均値は156 (2-765) / μ lであり、CD4数別の患者数の分布を見ると、CD4数200/ μ l以下の症例が67.0%、100/ μ l以下の症例が48.3%と免疫機能低下例が多かった。肺結核患者は48例、肺外結核患者は39例 (このうち25例は粟粒結核) であった。

結核菌の耐性なしは60例、何らかの耐性がある症例は9例 (MDR-TB 3例、INHのみ耐性3

例、SMのみ耐性3例) であった。

結核の治療は、HREZ 56例、HEZ-RBT 12例、HRE 6例、HE-RBT 6例、HRS-FQ 2例、RZSL 1例であった (H:isoniazid, R:rifampicin, E:ethambutol, Z:pyrazinamide, RBT:rifabutin, S:streptomycin, FQ:fluoroquinolone, L:levofloxacin)。

結核薬による副作用について、回答のあった83例中、副作用ありは53例 (63.9%) と高頻度であった。主な副作用は肝機能障害 (20例)、発熱 (12例)、薬疹 (11例)、白血球減少 (9例)、血小板減少 (3例)、聴力障害 (4例) であった。原因薬剤としては、RFP (9例)、PZA (9例)、INH (4例)、RBT (2例) があげられていた。対処法の記載があった症例は、減感作療法例9例、薬剤の変更例12例であった。抗HIV薬による副反応について回答があった64例中、副作用ありは18例 (28.1%) であった。おもな副作用は肝障害が14例、腎障害が2例であった。

結核の治療中にARTを開始した症例は42例あり、結核の治療開始後8週以内に始めた症例が最も多く、4週以内に開始した症例では全例が免疫再構築症候群 (immune reconstitution inflammatory syndrome:IRIS) を発症していた。対処法としてはNSAIDsのみ17例、ステロイドのみ9例、NSAIDsとステロイド3例であった。

ARTの内容が分かっている39例の治療内容では、key drugとしてefavirenz (15例)、raltegravir (12例)、atazanavir (4例)、darunavir (4例) lopinavir/r (3例)、fosamprenavir (1例)、が用いられていた。結核の転帰について回答のあった68例中、治癒32例、治療中28例、死亡8例であった。

外国人のHIV合併結核例は13例あり、アジア5例、アフリカ3例、南米2例、出身地不明3例であった。このうちMDR-TB症例が1例あった。MDR-TB症例は日本人で2例あり、合計3例であるが、2009年以降は認められていない。HIV合併結核例の中におけるMDR-TBの頻度は3.1% (3/96) である。MDR-TB症例のデータを示したが、1例は死亡、1例は治癒、1例は治療中という経過であった。

2. 全国のHIV合併の結核患者と多剤耐性結核の症例数調査。全国保健所、結核病院、HIV診療拠点病院に一次アンケート調査。(藤田) (表32)

(1) 一次調査の結果

各調査年別の回収率は、結核医療機関は40.9%~53.7%、HIV拠点病院(結核病床を有さない)は55.2%~61.9%、保健所の74.6%~82.7%と、保健所からの回収率が高かった。施設の統廃合など理由が判明した場合には施設数を調整し回収率を算定した。また、返答数には症例のない施設も含まれる。なお、結核医療機関数については、25年度には235施設と減少し、また結核患者の受け入れを休止した医療機関もあることから回収率が低かった可能性があり、一方24年度調査については結核入院患者総数を尋ねなかったため、調査の簡易化により回収率がやや高くなったと推定される。

国立病院機構の病院を除く医療機関から報告されたHIV感染合併結核の症例数は、平均で年9例、うち多剤耐性結核は0例であった。HIV感染合併結核症例数に関しても経年的な増加傾向は認められなかった。

一方、保健所を対象とした調査からは、症例数は結核登録情報システムによるHIV合併例患者数統計よりも回収率見合いで下回り、新登録患者に対するHIV感染合併結核症例の割合は結核登録情報システムとほぼ同様の0.2%~0.3%前後であったが、2011年症例に関しては回収率を勘案しても本調査で症例を拾い切れていないと思われる結果となった。多剤耐性結核は6年間で3例であった。地域的な集積傾向も認められなかった。結核病床を有さないHIV拠点病院の症例数を加えた結果を示す。6年間でHIV拠点病院の症例数168例、結核医療機関

(結核病院) 54例の計222例であり、HIV拠点病院において少なからずHIV感染合併結核患者を診療している状況であった。多剤耐性結核についてはHIV拠点病院から合計2例の報告があった。なお、本分担研究には国立病院機構の症例は含まれていないが、国立病院機構分を加えると保健所調査による症例数をやや上回ると思われた。

(2) 二次調査の結果

症例を有すると回答した医療機関に対して二次調査を行った結果、222例中191例の症例調査票が回収された(86.0%)。男性168例、女性17例、性別記載なしが6例と9割弱が男性であった。外国人は48例(25.0%)、出身国は東南アジアが31例、アフリカが6例、と結核高蔓延国が多くを占めた。結核診断時のCD4陽性リンパ球数は1~707とばらつきがみられたが、平均は $148 \pm 144/\mu\text{L}$ であった。粟粒結核を除く肺外結核は75例(39.3%)、粟粒結核は48例(25.1%)と肺外結核が多いのが特徴であった。何らかの検体で結核菌陽性(塗抹陽性または培養陽性)であったものは144例(75.4%)で、喀痰検体で陽性は94例(49.2%)、喀痰陰性・胃液陽性は15例(7.9%)と、感染性またはその疑いありの例は約半数であった。

(3) 抗結核薬に対する耐性の状況

何らかの薬剤に耐性があったと記載された例は22例で、少なくともINHに耐性は最も多く12例、うちINH単独耐性は5例であった。二次調査で確認された多剤耐性結核は2例(日本人と中国人)で、そのパターンは前者がINHとRFPの2剤耐性、後者がINH、RFP、SM耐性であった。外国人においては、何らかの薬剤耐性を有する例が48例中6例であり、日本人と頻度に差を認めなかった。しかしながら、RFP耐性の2例の出身国は東南アジアであり、1例はRFP単独耐性、1例はRFPとSMに耐性であった。

結核菌陽性例中の薬剤耐性頻度をに示す。国内における耐性頻度については、結核発生動向調査によるデータや結核療法研究協議会による菌株検査の報告は存在するが、本調査は各施設あるいは委託施設の薬剤感受性試験結果によるものであり、また詳細な結核治療歴などは調査しておらず、単純な比較が困難である。しかしながら、結核発生動向調査の結果と比較して明らかな差はないように思われた。

(4) HIV合併結核の患者を受け入れた施設における病室環境(24年度単年度調査)

2010年と2011年にHIV感染症合併結核患者（喀痰塗抹陽性およびその恐れ）を受け入れた病室については、結核医療機関10施設のうち、「結核病棟内の病室」が6施設、「結核病棟内のHIV専用室」が1施設、その他が3施設であった。「前室あり」が3施設、「前室なし」が5施設、未記入2施設であった。「陰圧換気あり」が6施設、「陰陽圧を調整可能」が2施設、未記入2室で、患者入室時に毎日陰圧を確認した施設は設備を有する8施設中7であった。

一方、HIV拠点病院17施設では、「一般病棟内の個室」3施設、「一般病棟内の専用室（陰圧室を含む）」5施設、「感染症病棟内の病室」4施設、「感染症病棟内の専用室」2施設、その他3施設であった。「前室あり」が9施設、「前室なし」が5施設、未記入3施設であった。陰圧換気ありが9施設、陰陽圧を調整可能が2施設、未記入が6施設で、患者入室時に毎日陰圧を確認した施設は設備を有する11施設中8施設であった。

(5) 結核医療機関における結核入院患者に対するHIVスクリーニング検査の実施率（25年度単年度調査）

HIVスクリーニング検査の実施率について、101施設におけるアンケート調査結果を図3に示す。56.4%の施設はHIV検査を「ほとんど実施していない」と回答した。「ほぼ全例に検査」は7施設6.9%で、60%以上と80%以上の検査実施を併せても10施設9.9%であった。

3. HIV感染結核における次世代IGRAのQFTゴールドアッセイに関する研究：(青木) (表3-3)
- (1) HIV合併結核症例129例は、男性117例(90.6%)、平均発症年齢 39.3 ± 11.3 歳で、31例(24.0%)は外国籍であった。当院通院中に発見された例が35例(26.5%)で、89例(67.4%)は結核発症を機にHIV感染が判明していた。発症時平均CD4数は $165.3 \pm 158.3/\mu\text{l}$ 、平均HIV-RNAは $5.53 \pm 5.98 \log \text{ copies/ml} (\pm \text{SD})$ であった。当センターの平成21年度の初診患者225例を対照として比較すると、性別、年齢、及びHIV-RNA量は有意差を認めないが、CD4数は結核群で有意に低値であった。

薬剤耐性試験が施行された102例のうち12例(11.8%)に、薬剤耐性(INH 5例、RFP 3例、その他 6例)を認めた。多剤耐性(INHとRFP)は2例(2.0%)のみであった。

抗結核薬で有害事象を生じた症例は、128例中70例(54.6%)であった。その内訳は、INH 13.4%、RFP 26.1%、RBT 17.6%、EB 14.3%、PZA 18.1%、キノロン 21.2% (重複有)と、RFPが最も多かった。年齢、性別、国籍、体重、CD4値、HIV-RNA量と抗結核薬の有害事象について検討したところ有害事象発生群では、有意に体重が軽く、CD4値 <100 の症例が多いことが判明した。

結核症自体の経過はおおむね良好であり、結核を直接の原因とする死亡の症例はなかった。経過中に死亡した7例はいずれも、結核以外のエイズ関連疾患での死亡であった。

129例の症例の中、結核発症時に抗HIV療法を施行していなかった症例が105例中で、抗結核治療導入後に抗HIV療法の導入を確認できた症例が74例であった。74例のうち、免疫再構築症候群を生じた症例は5例であった。5例中2例では抗HIV療法の中断を余儀なくされた。4例でステロイドの使用を認めた。5例ともHIV・結核の経過は良好であった。

(2) 登録患者数は149例で、男性が140例(94%)、年齢の中央値は38歳(18-63)、国籍は日本131例(87.9%)、男性同性愛者126例(84.6%)、CD4の中央値は $240(4-819)$ であった。同期間の当院の新規HIV患者は220例で、その患者背景と有意差はなかった。149例中に活動性結核4例(2.7%)、潜在性結核4例(2.7%)を認めた。

QFT-3Gの判定結果は、陽性例7例(4.7%)、判定保留11例(7.4%)で、日本国籍131例に限ると、陽性例は5例(3.8%)、判定保留8例(6.1%)であった。判定不可は、8例(5.4%)で、全例QFT-3G施行時のCD4値が $50/\mu\text{L}$ 以下であった。QFT-3Gの判定別の患者背景を見ると、判定不可群で有意にCD4値が低い以外には、年齢、性別、国籍、および感染経路に群間差はなかった。

QFT-3G陽性例7例中、活動性結核が3例、潜在性結核が4例であった。活動性結核例は、全例標準的結核治療に反応し奏功したが、QFT

値は必ずしも低下を認めなかった。潜在性結核例は、全例イスコチン300mg/日にて9ヶ月治療を行ったが、QFT値は必ずしも低下を認めなかった。

判定保留例11例では、1例は活動性結核(QFT値0.30)、1例は判定保留持続、7例は以後2回連続陰性、1例は2・5回目が陽性で3・4回目は陰性となった。2例は追跡不能であった。

判定不可例8例では、抗HIV療法を開始後、全例でQFT判定可能となった。CD4 1桁(CD4値 $4/\mu\text{L}$)でも判定可能な症例を認めた。また、1例は判定可能となった後にQFT陽性となった。

陰性例は123例で、初診時の胸部単純写真上で、明らかな結核患者は認めなかった。QFT

施行後1年間経過観察を施行し、明らかな結核発症例は認めなかった。陰性例の1例でQFT陽転化を生じた。この症例では、吃逆の精査時にQFT陽性と判明した(初診時QFT値-0.13→8か月後5.1)。気管支肺胞洗浄液などにて精査するが、確定診断は得られなかった。抗酸菌症については、各種検体で塗抹・培養・PCRともに全て陰性であった。抗酸菌症の治療は導入しなかったが、症状、画像、QFT値とも改善傾向となった。(3)QFT-3Gの判定結果は、陽性例0例(0%)、判定保留例2例(7.7%)、判定不可例1例(3.8%)であった。T-スポットTBは26例全例で陰性であった。HIV合併活動性結核症例は当該期間に1例で、両IGRA共に陽性であった。

表 3 2

〔IV〕 HIV合併結核			
国立病院機構呼吸器ネットワーク (永井)		全国病院施設・HIV拠点病院・保健所との連携 (藤田)	
NHO病院におけるHIV感染症合併結核患者数の推移			
年	結核患者数	HIV感染症合併数	HIV合併多剤耐性結核患者数
2007	4388	15 (0.34%)	1
2008	4165	19 (0.46%)	2
2009	4129	18 (0.44%)	0
2010	4122	16 (0.39%)	0
2011	4091	18 (0.44%)	0
2012	3502	10 (0.29%)	0
合計	24397	96 (0.39%)	3
外国人HIV合併結核の薬剤耐性結核 9.8%			
HIV感染合併結核：日本人と外国人における抗結核薬耐性例数 (二次調査全191例)			
	日本人	外国人	合計
症例数	140	48	191*
何らかの薬剤耐性	16	6	22
MDR	1	1	2
INH耐性	10	2	12
RFP耐性(MDR以外)	0	2	2
SM単独耐性	2	2	4
PZA単独耐性	3	0	3
LVFX耐性	1	0	1
* 国籍記載なし3例を含む			
(1) 国立病院機構病院 ● (2007年～2012年)6年間 結核23213名中 HIV合併結核0.4%。 ● HIV合併結核多剤耐性結核そのうち3.3%。死亡例や粟粒結核等治療に難渋。CD4陽性T細胞100以下。		(2) 全国病院施設、HIV拠点病院 症例調査票を用いた二次調査: ● 外国人HIV合併結核 薬剤耐性 11.1% ● 結核患者の57%がHIVスクリーニング実施せず	

表 3 3

HIV合併結核	
国立国際医療研究センター	
(1996～2010年) 129例 (青木)	
外国籍、薬剤耐性多	
HIV合併結核	%
外国籍	24 ↑
薬剤耐性結核	12 ↑
多剤耐性結核	2 ↑
HIV合併結核患者のQFT-3G 早期診断法(特異度は高い)	
HIV 149例(2011～2012)	
QFT3G 陽性 7例(4.7%)	
陽性全例結核(100%)	
3例	活動性結核
4例	潜在性結核
QFT3G HIV患者の潜在性結核早期発見に有効	

V. 新しい迅速診断の開発

1. *rpoB*の変異を用いて、多剤耐性結核患者の迅速隔離方法を構築。6施設に普及。(鈴木、岡田) 331例のうち、培養陰性であった8例を除く323例で比較検討を行った。ジェノスカラー-Rif-TBでRFP感受性と判定されたのは308例であり、307例は通常の薬剤感受性検査でもRFP感受性であったが、1例はMGIT法では感受性であったが小川比率法では耐性であった。この例は臨床的には排菌陽性が遷延しておりRFP耐性と考えられた。また、ジェノスカラー-Rif-TBでRFP耐性と判定された15例中、14例はMGIT法・小川比率法いずれもRFP耐性であったが、1例はMGIT法で感受性であった。RFP耐性の14例中11例(78.6%)はINHにも耐性を示す多剤耐性菌であった。
2. 多剤耐性結核患者の迅速発見法(*rpoB*変異)を用い、多剤耐性結核患者迅速入院法及び病院内で多剤耐性結核が感染しない体制を構築した(鈴木、露口、岡田)。現在この方法を6施設に普及した。これの普及をさらに進める。
3. GST融合ESAT-6タンパク質を用いたGST pull down解析で、ESAT-6に会合する宿主分子を探索した。その結果、従来ESAT-6に相互作用することが報告されている、TLR2, MHC class I分子が同定された。このことから、この解析系は、ESAT-6の会合分子を解析するのに適した実験系であることが示唆された。そこで、さらにプルダウンされてきたタンパク質のシークエンスを行った結果、これら分子以外にLAMP-1を同定した。次に、LAMP-1とESAT-6遺伝子をそれぞれ動物細胞様発現ベクターに組み込み、HEK293細胞に導入し、免疫沈降法により両分子の会合を解析した。その結果、ESAT-6を発現した細胞では、LAMP-1の発現が抑制されることが明らかになった。また、ESAT-6の種々のdeletion mutantを発現させた解析から、ESAT-6のN末端から30-60塩基の領域が、LAMP-1の発現抑制に関与することが明らかになった。

AIM2欠損マウスに結核菌を経気道的に感染させ、その後の生存率を野生型マウスと比較した。その結果、AIM2欠損マウスは、全例が7週以内に死亡した。また、感染4週後の肺や

肝臓の結核菌数もAIM2欠損マウスで有意に増加していた。このように、AIM2欠損マウスは、野生型マウスに比べて有意に結核感染に対する感受性が高いことが明らかになった。AIM2はインフラマゾームを活性化させ、IL-1beta/IL-18などのIL-1ファミリーサイトカインの分泌を誘導することが知られている。そこで、結核菌感染後の血清中のIL-18の濃度を測定した。野生型マウスでは結核感染3週後に血清中IL-18濃度が上昇したが、AIM2欠損マウスでは全く上昇しなかった。IL-18はTh1応答に関与していることが知られているので、次に結核感染3週後の脾臓のCD4陽性T細胞からのIFN-gamma産生を解析した。その結果、AIM2欠損マウスでは、IFN-gamma産生が野生型マウスに比べて有意に低下していた。

さらにAIM2の結核感染防御機構を解析した。AIM2欠損マウス由来の腹腔マクロファージは、結核菌感染によるcaspase-1 (p10)の発現が誘導されなかった。また、結核菌ゲノムDNA刺激によるIL-1beta, IL-18分泌が認められなかった。またcaspase-1 (p10)の発現も誘導されなかった。結核菌DNAをHoechst 33342で蛍光ラベルし、マクロファージ細胞株RAW264.7に感染させ、貪食胞を認識する抗Rab7抗体で免疫染色すると、貪食胞とマージする結核菌だけでなく、マージしない結核菌が認められた。結核菌感染により、肺組織でヒアルロン酸が著明に蓄積した。ヒアルロン酸合成酵素HAS1, HAS3の発現が結核菌感染によりマクロファージや肺上皮細胞で高くなった。HAS3欠損マウスは、結核感染に対する感受性が正常マウスとの間に有意な差を認めなかった。一方、HAS1欠損マウスでは、結核感染4週間後の肺での結核菌数が有意に多くなっていた。

4. これらの上記の新しい迅速診断法の普及を国立病院機構呼吸器ネットワーク65施設を用いて行う予定である。幸い当院はこの65施設呼吸器ネットワークグループリーダーを岡田が担当している(図13)。

VI. 外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報

収集 (図14)

中国Heping博士、韓国Cho博士、タイSrisin博士等と確立した結核ネットワークで開始。中国のMDR-TBの頻度 (特に上海) 等や対策の情報をすでにHeping博士より入手した (図14)。

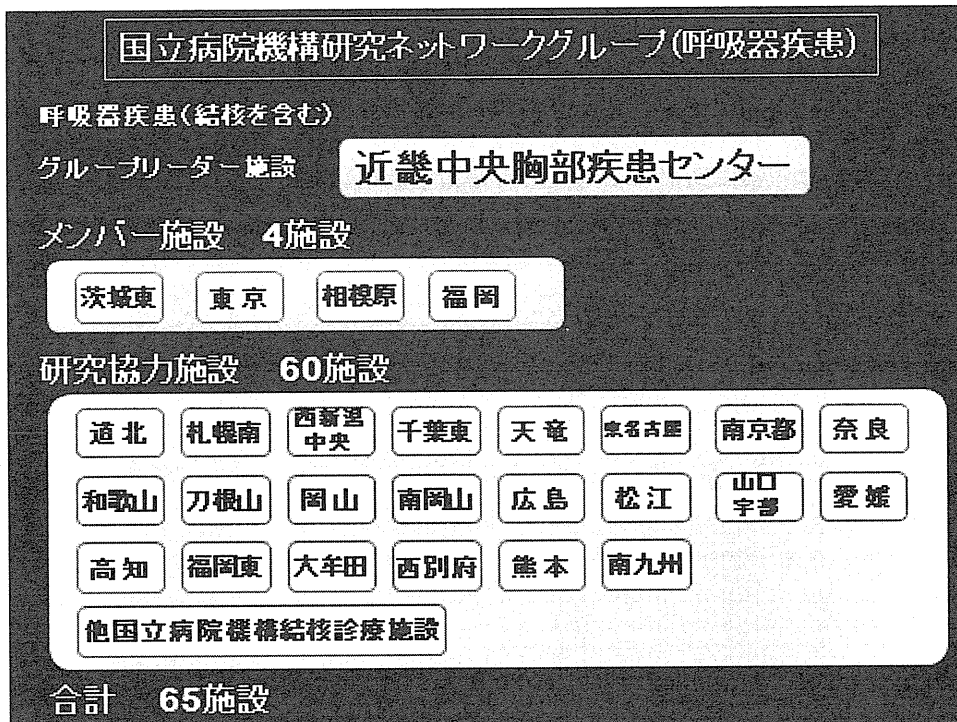


図13

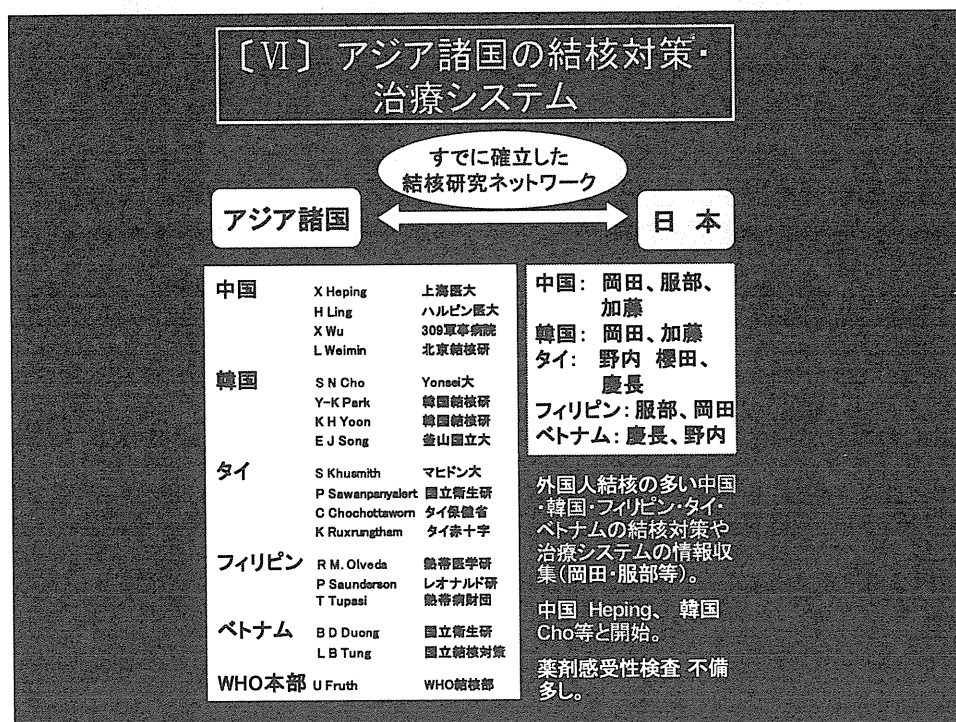


図14

表34

行政施策への貢献

1. 外国人由来の特定結核菌株の蔓延対策により厚生行政に貢献。
2. 東アジア諸国、結核菌が由来した国の同定を可能とした。各国結核菌のデータベース構築。
3. 外国人結核手引書作成。
4. 日本語学校健診普及。
5. HIV合併結核の早期発見。
6. 多剤耐性結核迅速診断隔離法

今後考えられる新たな課題

1. 外国人結核に対する手引書作成。
2. 外国人結核が多いアジアの国(中国、フィリピン、韓国、タイ、ベトナム)の結核対策や情報収集と治療連携システム構築。
3. 外国人結核由来株分子疫学(全ゲノム解読)解析。
4. SNPでアジア各国の結核菌解析。
5. HIV合併結核診療ガイドライン

D. 考察

行政施策への貢献 (表34)

1. 外国人由来の特定結核菌株の蔓延対策により厚生行政に貢献。
2. 東アジア諸国、結核菌が由来した国の同定を可能とした。各国結核菌のデータベース構築。
3. 外国人結核手引書作成。
4. 日本語学校健診普及。
5. HIV合併結核の早期発見。
6. 多剤耐性結核迅速診断隔離法

今後考えられる新たな課題 (表34)

1. 外国人結核に対する手引書作成。
2. 外国人結核が多いアジアの国 (中国、フィリピン、韓国、タイ、ベトナム) の結核対策や情報収集と治療連携システム構築。
3. 外国人結核由来株分子疫学 (全ゲノム解読) 解析。
4. SNPでアジア各国の結核菌解析。
5. HIV合併結核診療ガイドライン

(1) 外国人結核の問題点

外国人結核の問題点として「外国人結核：医療上困難であった問題点と対応」に記載された問題点をまとめた。この指摘の問題点は当班が初めて詳細に調査したものと考える。

まとめると、5つの大きな問題点がある。

- (1) 言葉の問題
- (2) 転帰としての治療途中の帰国 (不法滞在等)
- (3) 食事の問題 (宗教上)
- (4) 生活習慣の違い
- (5) 経済的な問題

である。

(1) の言葉の問題として、通訳対策の重要性が明らかとなった。翻訳パンフレットは英語と中国語は多く (24%~35%) 認められた。一方、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0.4%~7.1%と非常に少なく大きな問題点であった。今後これらの韓国語、ポルトガル語、タガログ語の翻訳パンフレット作成が重要であると考え。

(2) 転帰としての治療途中の帰国は12%も存在

し、大きな問題点である。さらに連絡 (国外のみでなく国内においても) が非常に困難であることが調査の結果、明白となった。

(3) 食事の問題について：宗教上の理由により豚肉等の摂取困難が多く報告された。

(4) 生活習慣の違いで、うつ状態になる報告も多く認められた。このうつ状態等による服薬が順調にいかないことも示された。

(5) 経済的な問題も深刻である。結核と判ると退職させられるかもしれないとの思いを多くの外国人結核患者が抱いているようである。

一方、これらの障壁に対し、通訳などの積極的なサポートがなされている。職場、学校などでの通訳が45.7%にものぼり、又友人・知人の通訳サポートが19.2%認められた。これらの対応をさらに進展させるとともに、外国人結核に対する新しい治療剤の開発 (デラマニド等) の可能性が示された。(岡田)

- (2) 新宿区は東京都のなかで最も多くの外国人結核患者を診療しているが、外国人登録者の絶対数が多いのがその原因と考えられる。また、国籍別では韓国人のコミュニティーが存在するため、韓国人の結核患者の率が大きいのが特徴といえるが、最近では韓国人の減少、中国人の増加がみられている。国立国際医療研究センターにおいて最近6年間で診療を行った外国人結核患者は、20~30歳代の若年者が多く、女性の割合が日本人結核患者と比較して多くみられたが、この傾向は以前の調査と同様の傾向であった。6年間で前半3年と後半3年に分けて、その差について検討した。特徴的なことは、韓国人とくに韓国人女性が減少し、フィリピン人が増加していることである。職業については学生と主婦の率の減少がみられている。いずれも原因は明らかではないが、東日本大震災の影響があるのかもしれない。治療成績については、後半では脱落例が減少し、外国人結核対策強化の効果と考えられる。結核菌の薬剤耐性については、RFP耐性と多剤耐性の率が日本人と比較して高率にみられた。外国人結核患者の多剤耐性率は1.5%であり、統計学的に日本人結核より高いが、全国集計の4.4%に比べて低かった。その原因は明らかではないが、本研究は1つの病院における結果であり、集計数が少ないための誤差である可能性も

ある。また、外国人結核といっても日本の地域により国籍や職業、滞在年数などが異なるため、薬剤耐性率や多剤耐性率についても地域により異なる可能性がある。2011年の新宿区全体の結核患者の統計では、外国人結核8名中に多剤耐性結核が3名（中国2名、韓国1名）みられた。いずれも20歳代前半の学生であり、初回治療1名、再治療2名であり、外来での治療経過中に発見された。母国から日本への持ち込み例と考えられ、多剤耐性結核の流入に関しては、さらなる検討と対策が必要と思われる。

東京における外国人結核患者由来株87株のRFLP解析によると、そのうち30%は相同性70%以上の「グループI」を、6%は「グループII」を形成していた。「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多く、薬剤耐性率やHIV合併率が高い傾向であった。さらに、「グループI」では新興型の北京型株が多く、日本人とのクラスター形成率が高い傾向にあった。以上のことから、中国、韓国など東アジアから新興型の北京型株が日本国内に入りこみ、日本人とクラスターを形成している可能性が示唆された。とくにグループIでは薬剤耐性率やHIV陽性率が高い傾向にあり、その日本国内での拡がりには公衆衛生の上で脅威となりうると考えられる。

全ゲノムシーケンス法による分子疫学解析研究で得られた遺伝子配列、患者情報、系統樹の解析によって、東京における臨床分離結核菌株の特徴を明らかにした。まず、今回解析した外国人由来91株および日本人由来コントロール168株において、両者は異なる遺伝系統の結核菌に感染していることが示された。さらに、日本国内において外国人と日本人は異なる結核菌に感染し、各コミュニティで維持されていることが示唆された。同時に、外国人あるいは旅行者を通じて、これまで国内に存在しなかった新たな表現型を持つ結核菌が、国内に持ち込まれる可能性が示された。（小林、切替）

- (3) 東アジア諸国の結核菌の遺伝的背景が異なり、結核菌が由来した国の同定を可能とした。各国結核菌のSNP解析系統情報とVNTR解析を総合したデータベース構築による行政施策への貢献：本年度は、リアルタイムPCRでSNPを検出する

ためのプローブ合成と型別能確認作業に手間と時間が必要だった。結核菌標準株のH37Rvを鋳型DNAとして利用することで、ほとんどのローカスの野性型コントロールが得られた。一方、分析した結核菌中で変異の割合が高い場合は、容易に臨床分離株から変異体の陽性コントロールは入手できるが、頻度が低い場合はそれが難しかった。そこで、今回の実験では8ローサイで、変異を持ったPCR産物が得られる様に鋳型となるDNAを人工合成し、変異コントロールとした。これらの変異コントロールの取得によって、リアルタイムPCR系でSNPがうまく検出できているかを容易に確認することができた。

次年度は、この完成したSNP分析システム（各ローカスは、野性型と変異型の2種類のプローブ、PCRプライマー、野性型と変異型コントロールからなる）及び分析用試薬を各国の施設に送付し、それぞれの地域内で分離された結核菌の分析を行ってデータを提供してもらう予定である。この点について、各国の研究者からは既に承諾を得ている。

このような共同研究によって確立した共通な方法を使って結核菌を解析することで、各国で広まっている結核菌の特徴を明らかにできると考えられる。本システムの有用性が確立され、本会議参加国だけでなく他のアジアの国々で広く活用できるようになれば、各地域における結核菌の伝搬状況や由来地域等の推定に関する研究も飛躍的に進展すると期待される。（加藤、前田）

- (4) 2011年日本の活動性結核新登録患者数は22681人で人口10万対17.7%と報告されている。そのうち外国人結核患者数は921人（4.1%）で、20才代が419人と最多で、同年代の結核患者数1417人の29.6%をしめており、実数が増加しているわけではないが日本人の結核が減少するに相まって年々この割合は上昇している。欧米諸先進国の状況を見ても、国際交流と諸外国の結核状況のギャップの流れのなかで、外国人結核は日本の結核において無視できないものとなっている。若年者結核の多くが外来患者であるように、入院を要する外国人結核患者はむしろ少数である。一方で日本の結核患者の半数以上が高齢者で殆どが日本人であるが、外国人高齢者

の結核も散見されるようになった。今回の対象では、中国残留孤児で帰国した人や子育て支援に観光ビザで入国した人が含まれている。学校検診や会社検診を除く、一般外国人の健診制度はなく、欧米諸先進低蔓延国においても有効なシステムは見当たらない。日本人と結婚している女性の結核が目立っている。外国人に限らず20~40才台の主婦層は結核の発見が遅れやすいグループと思われる。受診しやすい環境が望まれる。

病型や排菌状況については他の日本人の結核と殆ど差はなかった。HIVは30代、40代の女性2例で今回判明した(4.0%)。これは日本全国の0.9%と比較すると高値である。

糖尿病の合併は5例(10%)で全国の19.0%と比較して低い。当院の2010年~2011年の新規活動性結核入院患者数821例中、HIV5例(0.6%)、糖尿病150例(18.2%)となっており、一つには年齢層の偏り、HIVでは出身国の状況を反映しているものと思われる。耐性菌については、821例中いずれか主要薬剤耐性68例(INH19例、SM25例、EB3例、RFP1例、SH12例、HE3例、SE2例、SHE3例)および多剤耐性3例であった。何らかの主要耐性率8.4%vs16%、多剤耐性率0.4%vs4.0%で外国人結核では高いと思われる。多剤耐性やINH耐性を除き殆どの症例は標準治療を実施し、帰国や転出が半数を占めるが、当院で治療中のもの22例中1例が脱落となっている。言葉の問題は若年者では滞在期間が短いこと、高齢者では外国語になかなかできない状況と思われるが、家族や友人、雇用者、日本語学校の職員、東京都から派遣される通訳の協力を得て、退院後も保健所との連携で安心して治療を継続できるよう支援することが重要である。

当院における外国人結核患者は種々の状況で発病、診断され、治療されることは日本人の場合と大差ないが、言葉の問題や服薬支援ではより力を注ぐ必要がある。結核で入院治療する外国人は、診断・治療・服薬管理に日本人と大きな差はない。HIVや耐性は日本人よりも高率と思われるが、対象が少ないため比較は困難である。将来的なことを考慮して、若年層の外国人結核を対象とした、焦点を絞った検討と対策が必要と思われる。(豊田)

- (5) ①大阪市における外国出生結核患者の発生動向
全結核患者に占める外国人結核患者の割合は年々増加しており、特に20代で外国人の占める割合が高く、2012年には29.3%に達していた。年齢の中央値は2012年27.5歳であり、ここ3年は大きな変化は見られなかった。出身国は、5年間の合計では中国・韓国・フィリピンの順に多かったが、特に近年韓国が減少し、中国の増加がみられた。また入国から5年未満で登録された者は約半数を占めていた。日本語学校生の割合は、2008年には12.1%であったが、2012年には23.5%を占めていた。これらの結果より外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。
- 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年の日本語学校健診において発見された活動性結核は19名(0.4%)であり、2014年大阪市の定期・住民健診における患者数6名(0.09%)より発見率は有意に高かった($p<0.001$)。結核と診断された19名のうち、入国後1年未満である者は不明2名を除く17名中16名(94.1%)を占めていた。これは大阪市における外国人結核(2007~11年、20~29歳79名)で入国後1年未満である者の割合38.0%より高かった。また、塗抹陰性は16名中14名(87.5%)であり、より軽症で発見されていた。以上より日本語学校における健診は結核の早期発見に寄与していると考えられた。

③外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析

外国出生者内で24領域一致したものは1例もなかったが、日本出生者内では44例(20.4%)と日本出生のほうが有意に高く、外国人由来株が日本人由来株同様に国内で感染伝播しているとはいえなかった。日本出生と外国出生で24領域が一致していたのは2組4名であったが、疫学的なつながりは見いだせなかった。(下内、小向)

- (6) SNP分析で各国、地域で分離された約200株の結核菌解析を行う。各国を代表できる結核菌株を選択。さらに細区分できるVNTRシステムを構築。簡易ラインプロブ・アッセイ系構築。(加藤ら)
- (7) 中国との結核ネットワーク研究を活用した多剤耐性結核の分子疫学低解析:

中国とフィリピンにおける結核の共同研究体制を確立した。この3年間のデータをもとに、結核菌の北京型同定のための抗Rv0679c抗原に対する血清診断の試みとIgA抗体産生機序とその意義についてさらに研究を行う。さらにインドネシアの検体もHuman security courseの教育経由で入手が可能であり、既にLTBI, TB患者由来の血漿は入手済みである。さらにインドネシアの留学生結核患者の結核菌も現在解析中であり、その遺伝子型の解析にも努める。また東北地方はの外来結核菌の侵入程度を検索するための東北地方の結核菌の遺伝子型も検索する。

この研究において、で中国における北京型・薬剤耐性の頻度が極めて高いことが再確認された。またフィリピンにおいては北京型がいまだに確認されておらず、その理由の解明も必要である。今後我が国の結核菌型も同定しながら、我が国に留まらず近隣諸国の結核感染阻止対策を提言したい。(服部)

- (8) 複十字病院での多剤耐性結核患者で外国との関連が強くあり、日本の輸入感染症としての結核対策と関連し、諸外国で認められる多剤耐性結核を含む難治性結核の菌が日本へ伝播していると考えられる。タイ国を含めて菌体の分子疫学解析により理由を検討すべきである。菌体と宿主要因のそれぞれと相互作用の研究を症例数が大きく必要であり、日本での研究基盤が輸入感染症の検討という観点でも必要である。臨床疫学因子、細菌学的因子、免疫遺伝学的因子を測定し、それらの因子の難治化に及ぼす影響を相互作用も含めて定量化する。

タイでの大規模でより詳細な菌解析は、論文報告した古典的なRFLP解析による少数の解析による北京型菌株がより難治性に関与するという仮説を検証する結果が得られている。多剤耐性に対する検討や、多変量解析を使用している検討など詳細な検討を進め、論文化を進めている。

日本の複十字病院での検討は、輸入感染症としての多剤耐性結核の重要性が明らかになった。2011年度は日本国籍であるが米国滞在42歳、タイ在住42歳、19歳、2012年度はインドネシアに長期在住していた66歳、2013年度はフィリピンでボランティアをしていた2名を経験しており、

海外渡航歴の聴取が重要と考えられる。

複十字病院では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プロジェクトに協力してヒト検体も収集してきた。倫理委員会の承認を得て、検査残余検体を活用した菌と人の検体バンクによる結核研究を継続している。菌体の分子疫学解析に先立つ疫学因子解析の結果を報告する。タイ国も同様に菌と人検体を臨床データと共に長期に保存しており、並行した菌体バンクを活用して伝播の検討や比較検討などの相乗効果が期待される。(野内)

- (9) ベトナム人における多剤耐性結核と宿主要因の関連について、本研究班で、初めてアプローチを実施している。

ベトナム人における多剤耐性結核と宿主要因の関連について、本研究班の3年間で、初めてアプローチした。

NAT2遺伝子の遺伝子型は、これまでイソニアジドによる肝障害が遅延代謝型(S)に多いことが報告されてきたが、薬剤動態研究の結果により、迅速代謝型(F)では不十分な治療によりイソニアジドの濃度が十分に上がらない可能性が強く疑われる。最近、迅速代謝型(F)が治療失敗や薬剤耐性の獲得に関連するとの報告があるが

(Pasipanodya JG, et al. Clin Infect Dis. 55:169-77, 2012.)、多剤耐性結核とNAT2遺伝子型との関連解析については十分な報告が無く、今後、さらに検討を進める必要がある。

MBL遺伝子多型は多剤耐性結核自体とは強い関連は示さなかったが、MBL 遺伝子多型は非炎症状態のみならず、結核治療中のような炎症状態でも血中濃度に強い影響を与えていた。同時に測定された患者のCRP値などの炎症指標には大きなばらつきがあったが、MBL血中濃度はむしろ宿主側要因により明確に規定されていることが明らかになった。またMBLはインターフェロン γ 血中濃度と正の相関を示し、IL12 α 鎖(p35)遺伝子発現と負の相関を示した。

自然免疫系の分子として知られるMBL遺伝子多型が疾患におけるTh1応答に関連することは、MBLが従来言われている菌のオプソニン化のみならず、宿主のTh1応答とも緊密に関連していることを示唆するものであった。また別のTh1系遺伝子であるIL12 α 鎖(p35)のmRNA発現が

MBLの高濃度と逆相関するという事は、すでに病変局所に動員されているのか、何らかのnegative feedbackメカニズムによって抑制されている、などが考えられた。

DUSP14は、T細胞が刺激された時、早期に発現誘導され、CD28と相互作用し、MAPKを不活化して副刺激分子からのシグナルを抑制する分子MKP6 (MAP kinase phosphatase-6)として見いだされた (Marti F, *et al.* J Immunol 166: 197-206, 2001)。しかしながら、他のDUSPファミリーと比べてDUSP14に関する知見はまだ少なく、その発現や役割に関しては不明な点が多い。我々の多剤耐性結核患者の全血由来のtotal RNAからの検討では、遺伝子型とmRNA発現量に有意な関連がみられず、それぞれの細胞の感染時のDUSP14の発現についてはさらに検討が必要である。

一方、今回の我々の結果から、DUSP14の遺伝的多型のハプロタイプとTh1系免疫関連遺伝子であるIL12RB1 mRNA発現量には有意な関連がみられており、DUSP14遺伝的多型によってTh1系免疫関連遺伝子発現がトランスに影響を受けているのではないかと推測される。また、既報のrs712039 SNP単独の効果より、プロモーター領域のSNPを含めたハプロタイプの方が、遺伝子発現とより強く関連する可能性が示唆されたため、プロモーター領域のSNPの機能的意義が注目された。

今回の結果から、DUSP14の低発現型がTh1応答の増強を通じ、結核の発病や病態において宿主に有利に働く可能性があると考えられた。多剤耐性結核患者において、DUSP14によるTh1応答や炎症性サイトカイン反応の制御がどのように病態に影響するか等については、今回の検討では症例数が少ないため、今後、より大規模な研究で検討する必要がある。

この3年間、ベトナム人多剤耐性結核について、迅速に研究を実施することができたことは、長い共同研究の歴史に基づく信頼関係によるものである。多剤耐性菌は、ベトナムにおいても最近、深刻な問題としてとらえられており、さらに両国に裨益する研究成果が期待される。(慶長)

- (10) 1. 今回の研究では、血漿グラニューリン値とIFN- γ 遊離テスト陽性の関連が示唆されたが、

末梢血中のグラニューリンの発現レベルの低下が、活動性結核発症のリスクと相関するマーカーになり得るかを明らかにするためには、潜在性結核感染者を同定し前向きコホート研究を行う必要がある。前向きコホート研究等を実施することで、潜在性結核感染症から活動性結核への発症リスクと血漿グラニューリン値の発現が関連すれば、活動性結核発症のリスクマーカーとして、潜在性結核感染者のなかのハイリスクグループを特定できる可能性がある。この場合、開発途上国等の高蔓延国においては、ハイリスクグループに的を絞っての予防的治療を行うことによって、コストを削減することができる(約十分の一)。

2. 同じように末梢血単球から分化したマクロファージであっても、GM-M ϕ においては、活性型ビタミンD $_3$ による関連遺伝子の発現増幅はまったく認められなかった。遊走性食細胞としての性格の強いM-M ϕ と比較するとGM-M ϕ はresidential macrophageとしての性格が強い細胞である。また、双方のマクロファージにおいてIFN- γ により発現が増幅されるIL-15は、キラーT細胞におけるグラニューリンの発現を誘導すると言われている。現在、dermicidinの発現は検討中であるが、活性化ビタミンD $_3$ の活性化メカニズムが働かないような低濃度の25(OH)D $_3$ の存在下でもM-M ϕ は結核菌を効率的に殺菌することが分かっている。この細胞においては、活性化ビタミンD $_3$ の活性化メカニズム以外の殺菌メカニズムがより重要であることが示唆された。(櫻田)

- (11) 1996年にARTが導入されてからHIV感染症の予後は著明に改善し、AIDS関連疾患の減少とHIV感染者の死亡率の減少が認められている。ARTはHIV感染症における活動性結核の合併リスクを減少させたという報告もみられ1)2)、HIV感染者を早期に発見し適切な時期にARTを開始することが、結核発病を防ぐ上できわめて重要と言える。

HIV対策と結核対策を進める上で、サーベイランスは非常に重要であるが、わが国における結核患者におけるHIV合併率は明確ではない。

結核登録者情報調査年報(「結核の統計」)では、2007年から結核患者におけるHIV陽性者