

## 【 】 東京における外国人結核 臨床像の推移と分子疫学解析

研究分担者	小林信之	国立病院機構東京病院 統括診療部長
研究協力者	切替照雄	国立国際医療研究センター研究所 感染症制御研究部長
	秋山 徹	国立国際医療研究センター研究所 感染症制御研究部
	加藤雅子	国立国際医療研究センター研究所 感染症制御研究部
	菅野芳明	国立国際医療研究センター 呼吸器内科
	高崎 仁	国立国際医療研究センター 呼吸器内科

### 研究要旨

外国人結核患者は結核蔓延国を母国とすることが多いため、とくに多剤耐性結核のわが国への持ち込みは新たな脅威として懸念されている。本研究では、東京における外国人結核の臨床像の経年的推移を明らかにするため、2007年1月から2012年12月の6年間に国立国際医療研究センターで診療した外国人結核患者を対象として、前半（2007-2009年）と後半（2010-2012年）に分け、その臨床的特徴の推移について検討した。前半と後半を比較し、国籍別では中国が最多で変わりなかったが、韓国が減少したのに対し、フィリピンの増加がみられた。職業では学生と主婦の減少、就労者の増加がみられ、治療成績は後半で改善し、脱落者は減少した。2007-2012年に診療した外国人133名と日本人1300人の結核患者の薬剤感受性を比較したところ、外国人結核では日本人結核と比較してRFP耐性率と多剤耐性率が有意に高値であった。結核菌の分子疫学解析は2通りの方法によって行った。東京の外国人結核患者由来株87株についてRFLP解析を実施した結果、相同性70%以上の株を「グループ」と定義すると、全体の30%は「グループ」を、6%は「グループ」を形成していた。「グループ」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」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。次に、東京における外国人由来91株および日本人由来コントロール168株の全配列を用いて分子疫学解析を行った。その結果、外国人および日本人から得られた計259株の結核菌は4つの遺伝系統に分類されたが、それぞれ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ていた。このことから、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、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、外国人あるいは旅行者から国内に持ち込まれる可能性が示された。

### A. 研究目的

わが国における外国人結核の割合は日本人結核とは逆に増加傾向にある。2012年の外国人患者の新登録結核患者数に占める割合は5.2%であり、若年層、とくに20歳代では37.0%にまで増加した。新規の外国人結核患者は結核蔓延国を母国とすることが多いため、とくに多剤耐性結核のわが国への持ち込みは新たな脅威として懸念されている。実際、岡田班の第2次調査では外国人結核の4.4%が多剤耐性であり、日本人結核に比べて高率であることが明らかとなった。また、同調査では都道府県別にみて、最も多くの外国人結核が発症しているのは東京都であった。国立国際医療研究センターは東京都新宿区に位置し、東京都各地域の外国人結核患者を扱っている。本分担研究では、東京における最近の外国人結核の発病と治療の現状、および臨床像の経年的推移を把握することを目的に、国立国際医療研究センターにおいて過去6年間に診療した外国人結核の臨床像について、さらに、新宿区保健所のデータをもとに新宿区における外国人結核患者の経時的推移を含めて検討する。さらに同期間における外国人由来結核菌の薬剤耐性について日本人結核患者と比較検討する。また、東京における外国人結核の感染状況を把握し、外国人結核患者が母国で感染してわが国に入国したのか、わが国で結核を感染したのかを推定することを目的に、東京に在住している外国人結核患者から分離された結核菌の分子疫学調査を実施する。

### B. 研究方法

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 (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、M iSeq( Illum ina Inc.) を用いて全ゲノム配列を決定した。Illum ina 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 R の定義を用いて、I n d 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 I 6110 の挿入および mut T 2 遺伝子の G ly58A rg の変異の有無によって modern 型と ancestor 型に分類した。系統樹は、PhyML 3.0 を用いて最尤法で作製した。

**(倫理面への配慮)**

外国人結核の臨床像の推移に関しては後ろ向き研究となり、国立国際医療研究センターの倫理審査委員会の承認を得た。外国人結核の分子疫学解析の研究計画については同センターの倫理審査委員会の承認 ( NCGM -G-001467-0 9) を得てから開始した。

**C. 研究結果**

1 ) 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 ( 図 1 )、籍別では中国が最多で変わりなかったが、韓国が減少したのに対し、フィリピンの増加がみられた ( 図 2 )、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 ( 図 3 )、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 ( 図 4 )、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 R F 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 ( 表 1 )、

2 ) 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」を、5 株 ( 6% ) は「グループ」を形成していた ( 表 2 )、グループ 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、H M 陽

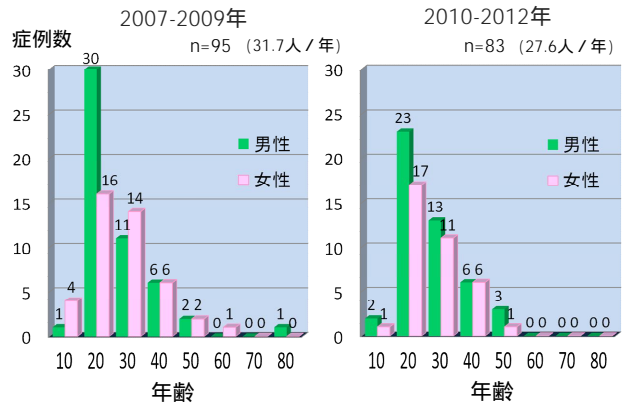


図 1 外国人結核患者の年齢・性別分布

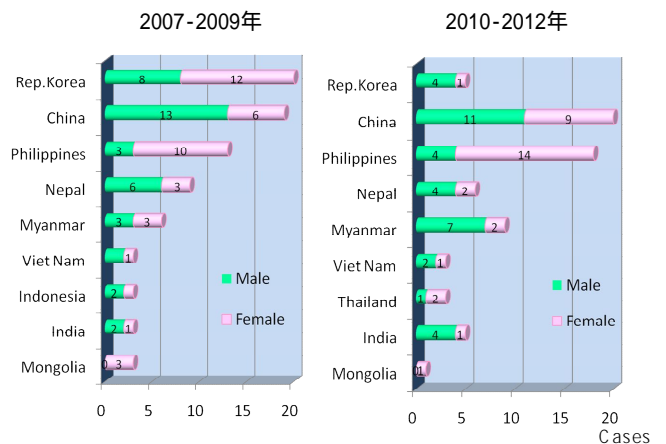


図 2 外国人結核患者の出身国別分布

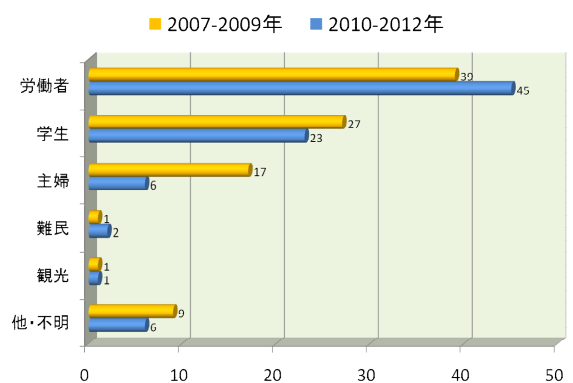


図 3 外国人結核患者の職業

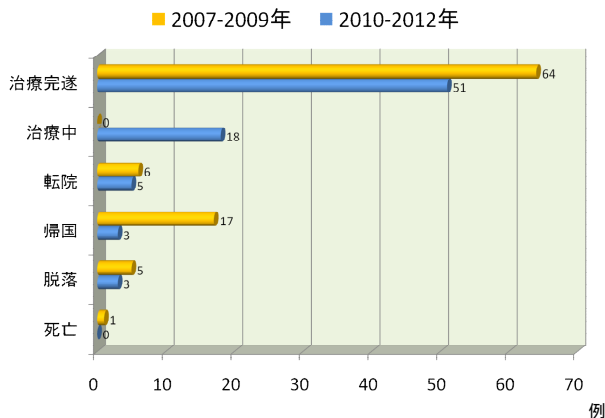


図4 外国人結核患者の治療経過

	日本人 2007-2012 n=1300	外国人 2007-2012 n=133	有意確率p
INH0.2	73 5.6 %	6 4.5 %	0.595
RFP40	4 0.31 %	3 2.3 %	<u>0.002</u>
SM10	102 7.8 %	9 6.8 %	0.657
EB2.5	10 0.77 %	1 0.75 %	0.983
KM20	5 0.38 %	0 0 %	0.474
LVFX1	21 1.6 %	0 0 %	0.140
INH/R/F	3 0.23 %	2 1.5 %	<u>0.018</u>

Pearsonの 2乗検定

表1 結核菌の薬剤耐性 日本人と外国人の比較 2007-2012年

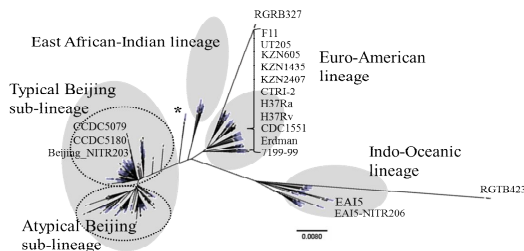


図5 全ゲノム配列による系統樹

RFLP解析	グループ (26)	グループ (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%)

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 で 38.4%、グループ 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 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 では非北京型が 100%であった。グループ、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 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 に属している者はいなかった。グループ、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。

3) 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%)

表2 外国人結核菌株の RFLP 解析と臨床データ

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.

表3 外国人または日本人由来結核菌の結核菌型別

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3)。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5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。

#### D. 考察

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」を、6%は「グループ」を形成していた。「グループ」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HM合併率が高い傾向であった。さらに、「グループ」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。とくにグループでは薬剤耐性率やHM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9株および日本人由来コントロール16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。

#### E. 結論

東京における最近の外国人結核の特徴としては、国籍別では中国人が最多で変わらないが、韓国人の減少、フィリピン人の増加がみられ、職業では学生と主婦が減少した。治療成績は改善がみられ、治療脱落者は減少した。外国人結核菌株は日本人結核菌株と比べてRF耐性率と多剤耐性率が有意に高かった。結核菌全ゲノム解析によって、外国人から分離される結核菌株の集団は、日本人から分離される結核菌の集団とは異なっていることが明らかになった。すなわち分子疫学上、日本在住の外国人の結核は日本人にとって一定のリスクがあることが推定される。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

- 菅野芳明、小林信之、森野英里子、高崎 仁 . 当センターにおける外国人結核患者の臨床像の推移 . 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会、東京、平成 25 年 4 月 .
- 加藤雅子、秋山徹、小林信之、切替照雄 . Whole genome sequencing analysis of Mycobacterium tuberculosis isolates from residents in Tokyo . 第 87 回日本細菌学会総会、2014 年 3 月 .

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし