

培養 5 日目以降に乖離が見られたことから、菌数が少ないときと多いときで PMA の作用が異なる可能性があるか、菌濃度が高いときの DNA 抽出効率が低下する可能性が考えられた対数増殖期にあるにも関わらず、結核菌の半数から 8 割の菌が生物活性を持たないと考えられた。低濃度の菌液で生菌比率が高く検出されることを考慮すると、結核菌の細胞密度による生物活性の制御系の存在が考えられた。

活動性結核患者の生体内での結核菌感染状態は、活動性・半休眠・休眠・死菌の混合状態と考えられ、ヒトの体内では免疫機能が働いていることもあり、妥当な結果と考えられた。

(4) 次世代シーケンサーを用いた感染性が高いと考えられる結核菌のゲノム解析

全ゲノム解析の結果、SNP から推定される菌の遺伝系統進化状態と接触者調査による疫学情報が一致しない例であった。ヒトからヒトへの感染においてどの段階で変異が生じているのか、例えば、1) Index case の体内で微小変化した複数株が存在し、それらが他のヒトへの感染に関与する、2) 体外で浮遊している際に変異が生じる、3) 2 次感染者の体内で変異が生じるなどが考えられるが、未だに詳細は明らかになっていない。今後、同様なケースの分析を進めることでこれらのメカニズムが解明されると考えられる。

(5) 結核菌株のゲノム情報と臨床的・疫学的・細菌学的特徴との関連性の解明 *rpoC* 遺伝子のアミノ酸置換を伴う非同

義置換の保有率 42.3%は、諸外国の状況 (20-30%) に比べて高く、わが国の多剤耐性結核菌は潜在的な感染拡大リスクが高いものと思われる。

遺伝型別解析により検出された巨大クラスター (large cluster A, B) のうち、A は *rpoB* コドン 531 変異株で *rpoC* 遺伝子の変異が認められており、B はコドン 516 変異株で *rpoC* 変異は認められなかった。補填的変異として検出された *rpoC* 変異は、*rpoB* コドン 531 変異株に特徴的に出現する変異であり、*rpoB* 531 以外の変異による耐性菌については、未知の補填的変異が存在する可能性が高いと考えられた。

再排菌事例で、初回時には認められなかった *rpoC* 変異が再排菌時分離株で認められたことから、特に多剤耐性結核菌の場合は、遺伝型別解析のみで菌株の同一性を判断するのではなく、薬剤耐性関連遺伝子変異の変化、ならびに補填的変異の出現についても注意する必要があることを示された。

(6) 結核菌臨床分離株ゲノム情報の集積と統合的解析

M 株 10 株の比較ゲノムによって見いだされた固有の変異情報に基づいて同株の再定義を行うことによって、VNTR 型別が変化した場合においても株追跡を可能となった。さらに、M 株内の微小なバリエーションを利用することにより、VNTR 型別では追跡できない菌株相同性を調査することが可能となった。結果として、M 株内の 3 系統のうち、2 系統 (I, III 群) が関東・関西・沖縄などで広範に検出される一方で、1 系統 (II 群) は関西で限局的に見いだされ、全国的拡散と地域的拡散を区別して調査で

きる可能性が示された。

低罹患率地域である山形県における結核菌サーベイランスをモデルとして検討を開始した。ゲノム情報によって伝播を確定してから疫学調査によってその要因を探ることが可能になり、これまでの結核公衆衛生を一新する研究展開が期待できる。

(7) 結核菌の病原性と形態学的特徴との関連

①Cryo-TEM観察では6 μ mを超える菌体長を持つ菌が観察されており、SUS観察では長い菌ほどSUSの作製、観察が難しく、今回観察した菌体より長い菌が存在していることが示唆された。単位体積あたりのリボソーム密度は菌体3を除いて約600/0.1flであった。菌体3は約1,000/0.1flであり、他の3つの菌とは代謝状態が異なる可能性もある。即ち、同一の遺伝的背景を持つ菌集団内にリボソーム数を含むパラメーターに多様性を持つ菌が存在することを示唆している。このことは、実際に宿主に感染した遺伝学的に同一な単一クローン由来の菌が、宿主細胞内外で分裂、増殖、生存する際、ゲノム情報の変異の有無に関わらず個々の菌における様々な菌体構成成分の発現に多様性を示すことを示唆している。

②超薄連続切片で計測された菌体直径の測定値は氷包埋サンプルのCryo-TEM観察での菌体直径の約60%であり、樹脂包埋、重合及びそれ以前の脱水で菌体が収縮している可能性が示唆された。

(8) 慢性排菌患者に対する治療の研究,

IGRAの予測価値の検討と偽陰性要因

の遺伝的解析

1) 慢性排菌患者に対する新薬

新薬の併用療法についての治験が必要であるが、患者数を検討すると、研究は困難であり、先進医療もしくはその他の方法を組み合わせる必要があると考えられた。

2) 保健所の接触者健診でQFT-3G対象者の経過観察

IGRA検査陽性者からの発病者が多かった。陰性者からの発病者も見られたが、検査対象となった接触による発病かどうかについてはよくわからない。潜在結核感染治療を完了した者からの発病者はなかったが、投与中、中断者などからの発病者が見られた

3) 休眠期の結核感染診断法

CFP-10に対するIL-2産生応答が、活動性結核患者群よりも高い傾向は、メモリーT細胞は主にIL-2を産生するという内容を考慮すると、治療終了結核患者群ではメモリーT細胞が多いことを示唆していると考えられる。

(9) 小児結核全般の実態調査

1) 平成24年度コッホ現象事例報告書を対象とした解析

BCG接種後早期の接種部位局所変化出現を契機に結核既感染と診断された児は計27例で、2005年～2009年の報告例の集計(年間22～28例で変動)とほぼ同様の例数であり、また出生人口10万対の例数も同様であった(2005～2009年 2.5/出生10万、2012年も2.6/出生10万)。東京5例、大阪3例、福岡3例、愛知2例など小児結核発病例と同様に大都市圏で多い傾向が確認された。

事例報告書の目的及び対象を明確にした

上で、疑い例における感染・発病診断検査データの集積、精査対象例のその後の発病の有無に関する前向き追跡、より鋭敏な感染診断法導入に向けた検討が必要と思われる。

2) 小児を対象とした結核感染診断における QFT-GIT 及び T-SPOT TB 反応性の比較

乳幼児を含む接触者健診例やコッホ現象事例を対象に積極的に IGRA を適用することは発病例の見逃しを減らすために有用な姿勢と考える。小児を対象とした感染診断の IGRA の適用に際しては、①接触者健診例、BCG 接種後の局所所見推移やツ反結果からコッホ現象と判断された例に対しては IGRA を積極的に適用し、陽性例においては発病の可能性を念頭においた慎重な画像的評価（胸部 CT を含む）を行うことが望まれる。②5 歳未満の小児では未発病感染例（≒LTBI 例）診断における IGRA の感度不良の可能性を考慮し、たとえ IGRA が陰性であっても安易に「未感染」とは判断せず、ツ反を併用し、さらに児の感染・発病リスク等も勘案した慎重な感染判断を行うことが必要である

3) 首都圏及び近畿小児結核症例検討会

小児結核患者数が減少する中で、小児結核に関する関心を喚起し、正確な知識を普及する機会を提供し、発病に至ってしまった小児結核症例が抱えている予防・診断・治療などの問題点・課題を明確にして、保健・臨床関係者の間で共有して今後の対策に活かすことは、重要な意義を有する。

今年度の呈示症例からは「コッホ現象」、「薬剤耐性小児結核症例の治療レジメ」、「脆弱な家庭機能の支援」、「外国籍症例」、

「診断の遅れ (Doctor' s delay)」、「小児結核診療体制の維持・整備」、「学校との連携（特に疫学調査の実施や教育機会の保障に関して）」などの課題が抽出可能であった。

(10) DOTS の強化・向上に関する研究

1) 治療継続、連携に関する分析

「結核に関する特定感染症予防指針」の目標の一つである「DOTS 実施率」の算定方法の際に、本研究の経験から、「治療期間中の月 1 回以上の服薬確認を『実施（完全実施）』、治療期間内の 2/3 を超える月数で、月 1 回実施ができていれば『実施（準完全実施）』とする。」を提案した。

2) 患者のリスク項目に関する調査

結核患者に対するリスク評価は、治療開始時に確認し、服薬支援 (DOTS) のタイプを決めるための指標として用いられており、患者指導にどのように活かしたのかを分析するまでには至っていない。リスクを軽減し治療完遂に導くための保健指導の指標とすることが重要と考える。

3) 自動アルゴリズムの検討

今回の分析で、現行アルゴリズムで判定保留となったケースについて長期の治療成績の結果は、WHO 方式のアルゴリズムによる判定とあまり大きく異ならないことが知られた。このことは、日本の結核治療が基本的に WHO 方式を前提とする規格的な治療方針で実践されていることを示唆しており、その点でも、この方式の妥当性・有用性が示されていると思われる。

4) 結核患者の喫煙習慣

結核患者のかなりの部分が発病後も禁煙をできないでおり、これに対する臨床・公衆衛生の指導や援助は日本版 DOTS の不可欠の要

素として今後ますます重要な課題になる。

5) DOTS ガイドラインの検討

外来での DOTS には多職種・多機関が関わっており、取り組み方法は医療機関や保健所毎にばらつきがあることから、関係機関の役割や具体的な連携のあり方を示す外来 DOTS ガイドライン（案）を作成した。

(11) 薬剤耐性の実態調査

患者の臨床情報は耐性結核を解析する上で疫学的に重要であるが、全てを医療施設から収集しようとするとその負担は膨大であり、調査が成立しない原因となりやすい。今回の調査では、耐性菌情報と患者情報を分けて収集することが可能となり、大規模な調査を実施する上で画期的と言える。

(12) 院内感染対策に関する研究

結核集団感染は結核に対する関心の低下が大幅な発見の遅れになって、発生する機会が多くなっている。本手引きの活用にあたって、周知の方法には工夫が必要である。

(13) 結核感染・罹患時の基礎疾患への影響に関する研究

免疫抑制を有する領域の医師は結核対策への関心を有しているが、具体的な運用について未だ定着していないことがうかがえた。

E. 結論

革新的な診断・治療法の開発に関する主な成果は次のようなことである。

新抗結核薬を用いた治療に関しては、新抗結核薬の情報が得られ、今後治療に用いるための医療体制が検討された。また、既

存薬で抗結核作用を有する薬剤の試用での経験が集積された。予後診断法開発のため、granulysin 及び ksp37 の新知見が得られた。

結核の病態に関するバイオマーカーとして期待されるマイクロ RNA については、潜在性結核感染症に特有な軽微な免疫炎症応答を制御している可能性が考えられた。

結核菌の感染性・病原性の評価に用いることが期待される PMA を用いた生菌と死菌の判定法開発では、従来からある Auramine -CTC 染色と一致した結果が得られ、改善が必要な点も明らかになった。

次世代シーケンサーを活用した結核菌ゲノム解析法については、接触者健診における分析の限界、多剤耐性菌における rpoC 遺伝子変異の出現状況とその意義に関する新知見、全国的に広範囲に検出される菌株（M 株）に関して SNP s に基づく新しい定義とその活用に関する新知見が得られた。

結核菌に関する超微形態に関して、超薄連続切片による再構築による観察法を確立し、菌体長・細胞質直径・リボソーム数の計測が可能であった。

以上のように革新的な診断・治療法の開発を目指した研究については、いずれも有望な成果が得られつつある。

現行の対策の強化に関する主な成果は以下のようなことである。

QFT-3G の判定結果とその予後（発病）に関する調査から IGRA は発病予測に有用と考えられた。

小児結核についてはコッホ現象の報告は 2005-09 年の調査時と大きく変わっていない

いことが明らかになった，一方で報告の意義や方法を明らかにする必要性が示された。IGRA については，QFT-3G と T-SPOT の比較等から，より積極的な適用の方向が示され，「接触者健康診断の手引き（改訂第 5 版）」に反映された。

DOTS の強化・向上に関しては，予防指針の目標の一つである DOTS 実施率算定方式に反映された。また DOTS における脱落・中断リスク評価の現状と課題，結核患者の喫煙習慣の調査に基づく患者指導の課題を明らかにした。DOTS ガイドライン(案)を策定した。

薬剤耐性実態調査については新しい方式による薬剤耐性全国調査のプロトコール(案)を作成した。

「院内（施設内）感染予防の手引き」を刊行した。

以上のように，本研究班の目的達成に向けて成果を上げることができた。

F. 健康危険情報

特記なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

3. その他

- 1) 院内（施設内）感染対策の手引き（平成 26 年版）. 結核予防会結核研究所ホームページ. <http://www.jata.or.jp/rit/rj/> 院内感染予防の手引き(平成 26 年版)1.pdf

- 2) 第 2 回 厚生科学審議会結核部会(平成 26 年 3 月 12 日) 【参考資料 2】DOTS 実施率算定方法について)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

II 研究分担報告書

薬剤耐性の実態調査

山岸文雄 独立行政法人国立病院機構千葉東病院院長

研究要旨

第15回となる結核菌の薬剤耐性全国調査を実施するため、予備的な調査を含めた準備を行った。今回、現在の結核の疫学的状況から、統計的に必要な患者数（薬剤感受性データ数）を未治療患者7,339例、既治療患者952例と設定した。試験数が膨大となることから、各施設から結核菌株を収集することは行わず、性別、年齢、登録保健所を含む薬剤感受性試験情報のみを収集するよう計画した。

未治療・既治療患者ともに検体数が多いため、実施可能性の評価のため、2013年7月に予備調査（回答数104：回答率73.8%）を行った。研究に参加可能と回答した67施設の予想患者数合計6,244例となり、この数字を以てしても1年では目的数に達しないため、研究は2年連続して行うものとし、1年ごとに情報を収集することとした。

上記の調査の結果を受け、結核患者登録者情報の利用に関して厚生労働省健康局結核感染症課と協議し、今回の調査について登録者情報からの患者情報のマッチングを行うことについて了承を得た。

1回目の予備調査を元に、参加可能と回答した施設に対して、薬剤感受性試験の精度保証の有無を含めた研究参加最終確認を行った。精度保証は過去三年以内に外部精度評価に合格していることを条件とした。1回目の調査で参加可能と回答し、2回目の回答がなかったが精度保証が実施されていることが判明している施設については、参加可能と判断した。1回目の調査で回答がなかったが、2回目の調査で参加可能と回答した施設も含めた。最終的に、62施設が参加予定となり、予定患者数は5,775例となっている。

上記62施設の内、精度保証が行われていない（あるいは外部精度評価に合格していない）施設が20施設あるため、2014年2月中に結核菌10株を用いたパネルテストを実施した。パネルテストに参加したのはこのうち19施設であり、2014年3月末までに10施設から回答を得ており、各薬剤に対する精度はそれぞれ100%（感度・特異度・一致率）であった。

今後、2013年中の検査結果について、データ収集フォーマットを示して各施設に問い合わせを行う予定である。

A. 研究目的

日本の結核罹患率は継続的に漸減傾向にあるものの、全世界では年間およそ880万人が新たに結核に罹患し、110万人が死亡している。また、日本においては第14回の療研調査で示さ

れたように、引き続き薬剤耐性は低下あるいは低値維持の状態であるが、特に西太平洋地域の国々で多剤耐性結核を含む急速な薬剤耐性結核の増加が報告されている。

日本では結核療法研究協議会が1957年から

2007年までに2～5年ごとに過去14回入院時薬剤耐性菌に関する研究を行い、50年にわたる日本での薬剤耐性の頻度の推移を報告している。これは、感受性試験の精度保証を前提とした日本の代表的な薬剤耐性調査として世界的に認識されている。

前回の2007年の調査から5年以上が経過し、同時に感染症法も施行後5年が経過した。前回の調査ではLVFXの未治療耐性率がINHに匹敵するほど既に高率であることが判明するなど、新たな発見があった一方で、研究参加施設の減少や疫学研究上の倫理指針の取扱など、研究実践上の問題点も数多く指摘されている。特に結核診療施設の集約化で一部の施設に調査上の大きな負担がかかっている。

今回、前回の調査での問題点（三種病原体の輸送、一部施設への過剰な負担、研究倫理、研究期間の長期化、等）を可能な限り回避し、さらに療研調査独自の優位性（感受性試験精度保証と疫学的地域バランス）を最大限に生かすよう研究デザインを変更し、第15回となる耐性結核菌全国調査の実施を企画する。

B. 研究方法

参加施設：全国の療研委員施設のうち研究参加の要請を諾とした施設を対象とする。なお、疫学調査としての代表性を確保するため可能な限り参加協力を得る必要がある。

I. 目的

1. 総合目標

日本における耐性結核菌の総合的な情報を全国レベルで収集・解析する

2. 個別目標

a. 研究期間内に分離された結核菌について Isoniazid (INH)、Rifampicin (RFP)、

Ethambutol (EB)、Streptomycin (SM)、Levofloxacin (LVFX)の薬剤耐性を調査する。

- b. 未治療、既治療患者における薬剤耐性菌の頻度を評価する。
- c. 疫学的情報（年齢、性別、地域、合併症）と薬剤耐性との関連を解析する。
- d. 多剤耐性菌について、二次抗結核薬 (ETH、KM、PAS、CS)、LVFX、Pyrazinamide (PZA)等の薬剤感受性試験を実施する。
- e. 多剤耐性結核菌について VNTR 等の遺伝子タイピングと系統解析を行う。

II. 方法：

1. 調査対象

研究期間内の全ての結核菌培養陽性症例

2. 調査対象期間

研究期間（情報収集対象期間）は2013年1月～2014年12月とする。

3. 調査対象数

2007～2008年に実施した第14回の療研調査からRFPの耐性率を未治療患者に於いて0.7%、既治療患者で6.7%とし、以下の式より必要数を算出する。

$$n = (N * z^2 * p * (1-p)) / (d^2 * (N-1) + z^2 * p * (1-p))$$

N: 全結核菌陽性患者数, z: z-value (信頼度95%として1.96), d: absolute precision (not more than 20% of p value), p: 期待されるRFP耐性率

(参照：Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis - 4th ed. WHO/HTM/TB/2009.422)

2011年の結核統計から結核菌陽性患者数（総数：14,425、新規罹患数：13,074、再治療者数：1,351）を各Nとして、新規患者におけるp=0.007、d=0.0014、既治療患者でのp=0.067、d=0.01(1%)と設定すると、未治療患者での必要数は

n=6,672 となる。同様に、既治療患者での必要数は n=865 となる。やはり 2011 年の罹患数から地域毎の予定必要数を表 1 (別紙) の様に設定する。

4. 調査方法

今回の耐性調査では、基本的に結核菌を分離株として収集しない。感受性試験に関する精度保証を行っていることを前提として、対象薬剤の感受性試験結果のみを収集し、解析する。

ただし、多剤耐性結核菌のみは二次抗結核薬感受性試験のため最終段階(2014年初頭を予定)で輸送・収集する。そのため、多剤耐性結核菌が分離された場合は、各施設にて収集まで保管する。

a) 結核菌の薬剤感受性試験結果

INH、RFP、SM、EB について、各施設(外注を含む)で実施している感受性試験方法とともに、試験結果を耐性(R)あるいは感受性(S)の二つのカテゴリーデータとして調査票(スプレッドシート)に記入する。LVFX については実施している場合のみ記入する。

データの精度保証上の要件として、3年以内に薬剤感受性試験に関する精度保証(外部精度評価)を実施し、これに合格していることとする。外注データを利用する場合は、外注先の施設(検査センター等)が同様の精度評価基準に達していることを前提とする。基本的に耐性既知の結核菌 10 株を使用したパネルテストを実施する。合格基準は、INH と RFP に対する感度・特異度が 95%以上であり、対象となる主要 4 薬剤(INH, RFP, SM, EB) 全てで一致率が 90%以上であることとする。

※パネルテスト実施方法

<目的>

パネルテスト(感受性結果既知の結核菌株による試験)により、結核菌の薬剤感受性試験精度を評価する。

<参加要件>

感染症法の要求する施設基準を満たして結核菌薬剤感受性試験を実施していること

<送付する検体(結核菌株)>

結核菌 10 株を 0.5ml の液体培地中に懸濁した状態で送付する。今回送付する菌株は Supra-national Reference Laboratory Network (SRLN) で実施された薬剤感受性検査外部精度評価プログラムにおいて、基本的に施設間で 80%以上の判定一致率を示した菌株であり、その一致した評価を感受性・耐性の基準とする。

感染症法の規定により多剤耐性結核菌の運搬が極めて困難であるため、被検菌に多剤耐性結核菌株を使用しない。しかしながら、他の耐性は存在するため、取り扱いには十分なる注意を要する。なお、被験菌は国連容器を用いて三重包装とし、ゆうパックの規定により四次容器に入れて送付する。四次容器は結核予防会結核研究所抗酸菌部細菌科へ返送とする(着払い返送用伝票を同梱予定)。

<試験薬剤>

検査薬剤は、結果の安定性を考慮して Isoniazid (INH)、Rifampicin (RFP)、Ethambutol (EB)および Streptomycin (SM)とする。

<感受性検査方法>

基本的に各施設で日常実施している方法で感受性検査を行う。調査用紙(エクセルファイル)に感受性検査に関するいくつかの事項を記入し、検査結果とともにコーディネーター(結核研究所・御手洗聡)宛電子メールにて報告する。

連絡先：

御手洗 聡 (みたらい さとし)

結核予防会結核研究所抗酸菌部

E-mail: mitarai@jata.or.jp

<結果の返送>

薬剤感受性試験結果のコーディネーターへの報告は被験菌受領から3ヶ月以内とする。やむを得ず3ヶ月を越える場合には前以てコーディネーターへ連絡する。

<結果の評価>

それぞれの菌株の薬剤感受性試験の結果は「耐性」あるいは「感受性」のいずれかとして判定する。尚、報告用紙に記入する際は、感受性にはS、耐性にはRを用いて表記する。

MIC を用いて検査を行っている施設について、Iと判定された場合はRかSかのどちらかを各施設にて判定する。さらに測定したMICの値を併記する。

複数の方法について評価を希望する場合は、それぞれの結果を別々の用紙に記載する。

<結果の解析>

データについては「感度」、「特異度」、「耐性的中率」、「感受性的中率」、「一致率」及び「 κ 指数」を計算し評価する。ここで感度とは、SRLNで耐性と判定した株を正しく耐性と判定する割合であり、特異度とは同様にSRLNで感受性とした株を正しく感受性と判定する割合である。耐性的中率とはある菌株を「耐性」と判定した時、その判定が正解である確率であり、同様に感受性的中率とはある菌株を「感受性」とした時の正解率である。一致率はSRLNとの判定の一致の割合を示す。

解析結果については個々の解析が終了した時点(結果報告直後)で各施設に個別に通知する。

<評価の基準>

INH及びRFPの両方の薬剤について感度及び

特異度が95%以上であること、また全ての薬剤について一致率が90%以上であることを到達基準とする。

<経費>

各施設での薬剤感受性検査と結果の送付に掛かる費用は各施設の負担とする。

<被検菌の処理>

被検菌については、各施設にて検査終了後滅菌廃棄すること。

<実施責任者>

検体の送付やデータの取りまとめ・解析は結核予防会結核研究所抗酸菌部細菌科・御手洗聡(療研細菌科会)が行う。

b) 患者情報

結核菌を分離した患者の臨床的情報は本調査の最も重要な因子の一つである。従来の療研調査では各参加施設に於いて全ての臨床情報を入力して頂いたが、この点が臨床現場において多大な負担となっていることから、今回の調査では結核登録者情報を利用することとする。

b-1. 参加施設からの患者情報

結核菌を分離した患者を保健所にて同定できるよう、また各施設にて個人情報保護に問題が発生しない範囲を想定し、各施設で感受性試験結果と併せて以下をスプレッドシートに記入する。

- ① 性別：男性あるいは女性
- ② 生年月日：M or T or S or H年/月/日
- ③ 登録保健所名

b-2. 結核登録者情報からの患者情報

b-1 の情報を元に、厚生労働省健康局結核感染症課の承認のもとに、患者が登録されている保健所に結核登録者情報システムからのデータの提供を依頼する。上記 b-1 の情報から登録保健所で患者を同定し、基本的に以下の情報を抽出する。なお、患者を特定し情報を抽出するコンピュータプログラムを作成して各保健所に配布する。

- ① 医療機関名称
- ② 診断名：肺結核及び肺外結核
- ③ 国籍
- ④ 国名
- ⑤ 職業区分
- ⑥ X線所見：学会分類部位・性状・拡がり
- ⑦ 治療区分：初回治療 or 再治療 or 治療歴不明
- ⑧ 合併症：糖尿病・HIV・塵肺・その他
- ⑨ 陽性菌検体の種類
- ⑩ 塗抹菌量

研究参加施設から登録された患者情報を収集し、結核研究所にて解析する。

c) 多剤耐性結核菌

多剤耐性結核菌と同定された菌株については、データ収集期間終了後にまとめて各施設に分与を依頼する。輸送手配は結核研究所抗酸菌部・御手洗聡が各施設の担当者と直接連絡し、基本的に専門輸送業者（日本通運航空部）を利用して感染症法に則って実施する。

なお、感染症法上、譲渡を前提とした一時的保管には三種病原体等取扱基準は適用されない。基本的に施設された管理区域内に於いて施設された保管庫において保存しておくことができる。

収集した多剤耐性結核菌については、標準比率法に従って Isoniazid (INH)、Rifampicin (RFP)、Rifabutin (RBT)、Ethambutol (EB)、Streptomycin (SM)、Ethionamide (TH)、Kanamycin (KM)、Para-aminosalicylate (PAS)、Cycloserine (CS)、Pyrazinamide (PZA)、Levofloxacin (LVFX)の薬剤耐性を調査する。また、Supply 24（領域追加の可能性あり）に基づく VNTR により分子疫学的解析を実施する。

5. 倫理上の配慮

疫学研究に関する倫理指針（文部科学省・厚生労働省：平成14年6月17日 平成20年12月1日一部改正）の基本的な考え方によれば、その適用範囲は「人の疾病の成因及び病態の解明並びに予防及び治療の方法の確立を目的とする疫学研究」である。しかし以下の研究はこの指針の対象とならないとしている。

- A) 法律の規定に基づき実施される調査
- B) 資料として既に連結不可能匿名化されている情報のみを用いる研究
- C) 手術、投薬等の医療行為を伴う介入研究

今回の研究手法は、結核研究所にデータを集積する時点で資料として連結不能・匿名化されている情報のみ（対応表を作成しない）となる。また、収集する情報も個人を特定できないため、個人情報にはあたらないと考えられる。しかしながら上記 A～C のいずれにも該当しないため、基本的には倫理審査と研究対象者の同意（インフォームド・コンセント）を必要とすると考えられるが、当該指針には同時にインフォームド・コンセント等の簡略化あるいは免除に関する以下の様な記載がある。

- ① 当該疫学研究が、研究対象者に対して最小限の危険を超える危険を含まないこと。
- ② 当該方法によることが、研究対象者の不

利益とならないこと。

- ③ 当該方法によらなければ、實際上、当該疫学研究を実施できず、又は当該疫学研究の価値を著しく損ねること。
- ④ 適切な場合には、常に、次のいずれかの措置が講じられること。
 - (ア) 研究対象者が含まれる集団に対し、資料の収集・利用の内容を、その方法も含めて広報すること。
 - (イ) できるだけ早い時期に、研究対象者に事後的説明（集団に対するものも可）を与えること。
 - (ウ) 長期間にわたって継続的に資料が収集又は利用される場合には、社会に、その実情を、資料の収集又は利用の方法も含めて広報し、社会へ周知される努力を払うこと。
- ⑤ 当該疫学研究が社会的に重要性が高いと認められるものであること。
 - (ア) 今回の研究は日常診療（診断）の一環として実施される薬剤感受性検査の結果を収集・解析するものであり、診療上の不利益を与える可能性はない。患者の多くは研究実施以前に退院していると考えられ、インフォームド・コンセントを得ることは実際上困難である。また研究の内容や収集の方法は施設に於いて広報可能であり、もとより結果は社会的に周知される。当該研究が社会的に重要な情報を提供することは過去の歴史からも明白である。
 - (イ) 従って、今回の研究方法に関する限り、研究対象者からインフォームド・コンセントを受ける手順は免除されうるものと考えられる。しかし

ながら、研究の目的を含む研究の実施についての情報を各施設で事前に公開する必要があり、また各研究参加施設に於いて倫理審査委員にインフォームド・コンセント免除の判断を諮問する必要がある。

情報のマッチングは厚生労働省の同意を得た上で、各保健所において行政調査の一環として実施する。

6. 予備調査の実施

上記のプロトコルを元に 2013 年中に結核感染症課と協議した結果、結核登録者情報を研究目的に二次使用する条件として、予定されているプロトコルの内容が実践可能であることを事前に担保することが求められた。具体的には、検体数を確保する目的で、①今回のサーベイに参加する施設数、②2013 年中に推定される培養陽性・薬剤感受性試験実施件数、および③薬剤感受性試験の外部精度評価（外注先を含む）の実施と合否、について各参加予定施設に確認する。

C. 結果

昨年を引き続いて結核菌薬剤耐性全国調査のための方法を検討した。

研究方法に関し、未治療・既治療患者ともに検体数が多いため、2013 年 7 月に予備調査（回答数 104：回答率 73.8%）を実施した。研究に参加可能と回答した 67 施設の予想患者数合計は 6,244 例となった。結果として、疫学的に十分な症例数ではあるものの、1 年の調査期間では目的数に達しないと判断された。

上記の予備調査の結果を受け、厚生労働省健康局結核感染症課と協議し、今回の調査について登録者情報からの患者情報のマッチングを

行うことについて了承を得た。

1 回目の予備調査を元に、参加可能と回答した施設に対して、薬剤感受性試験の精度保証の有無を含めた研究参加最終確認を行った。精度保証は過去三年以内に外部精度評価に合格していることを条件とした。1 回目の調査で参加可能と回答し、2 回目の回答がなかったが精度保証が実施されていることが判明している施設については、参加可能と判断した。1 回目の調査で回答がなかったが、2 回目の調査で参加可能と回答した施設も含めた。最終的に、62 施設が参加予定となり、予定患者数は 5,775 例となっている。

上記 62 施設の内、精度保証が行われていない（あるいは外部精度評価に合格していない）施設が 20 施設あるため、2014 年 2 月中に結核菌 10 株を用いたパネルテストを実施した。パネルテストに参加したのはこのうち 19 施設であり、2014 年 3 月末までに 10 施設から回答を得ており、各薬剤に対する精度はそれぞれ 100%（感度・特異度・一致率）であった。

D. 考察

結核療法研究協議会による第 15 回となる結核菌薬剤耐性全国調査の実施に向けた検討を行った。予備調査の結果、研究を 2 年間継続して実施し、データを集計すれば統計的に有意な情報が得られる可能性が示され、その予測を受けて厚生労働省健康局結核感染症課と協議し、結核登録者情報システムからの臨床情報の利用が可と判断された。患者の臨床情報は耐性結核を解析する上で疫学的に重要であるが、全てを医療施設から収集しようとする、その負担は膨大であり、調査が成立しない原因となりやすい。今回の調査では、耐性菌情報と患者情報を分けて収集することが可能となり、大規模な

調査を実施する上で画期的と言える。すでに患者情報と耐性菌情報をマッチングさせるプログラムについても検討しており、精度保証の結果を受けて、2014 年度中に 2013 年度分の情報収集を行う予定である。

E. 結論

結核菌薬剤耐性全国調査の実施に関連し、必要な検体（症例）数、予想される症例数、情報収集手順、薬剤感受性試験精度保証等について確定した。結果として、2013～2014 年のデータによる薬剤耐性調査が実施可能と考えられた。

F. 健康危惧情報

なし

G. 研究発表

学会発表

1. 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
2. 青野昭男, 近松絹代, 山田博之, 菅本鉄広, 加藤朋子, 御手洗聡. 結核菌に対する各種フルオロキノロン剤の MIC. 結核 2013; 88: 266. 第 88 回日本結核病学会総会 千葉 2013 年 3 月 28-29 日論文発表
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

特になし。

<研究協力者>

御手洗聡

結核予防会結核研究所抗酸菌部部长

吉山 崇

結核予防会複十字病院診療部付部長

表1 2011年の結核罹患数に基づく必要予測数

ブロック	罹患数	比率	必要検体数			
			未治療	未治療+10%	既治療	既治療+10%
北海道・東北	1,652	0.073	486	535	63	69
関東甲信越	8,269	0.365	2,432	2,676	315	347
中部・北陸	3,291	0.145	968	1,065	126	138
近畿	4,852	0.214	1,427	1,570	185	204
中国・四国	1,909	0.084	562	618	73	80
九州	2,708	0.119	797	876	103	114
計	22,681	1	6,672	7,339	865	952

- 1.新化学療法剤を含めた治療方法の開発と臨床応用
- 2.患者血清中の Granulysin や Ksp37 等による慢性排菌や再発の予後診断法開発

岡田全司 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター長

研究要旨

I. 新化学療法剤を含めた治療方法の開発と臨床応用

1. 「調査票(新しい結核治療剤使用)」を全国結核診療施設（259 施設）に送付し、調査。
 - ① リネゾリドは多剤耐性結核（MDR-TB）の 91.7%に有効。切れ味良い。
副作用：末梢神経障害、骨髄抑制。
 - ② モキシフロキサシンは MDR-TB の 50.0%に有効
 - ③ リファブチンは MDR-TB の 53.8%に有効
2. 開発中新薬
 - ① デラマニド：MDR-TB 治療効果。AIDS モデルマウスで結核治療効果
 - ② カプラザマイシン：XDR-TB（超薬剤耐性結核）治療効果（マウス）。INH + RFP 治療法と相乗効果

II. 患者血清中の Granulysin や KSP37 等による慢性排菌や再発の予後診断法開発

1. MDR-TB 患者や難治性（糖尿病合併等）結核患者では CD8 陽性 T 細胞からの結核菌殺傷タンパク granulysin 産生低下が著明。
血清中 granulysin も健常人に比較し、再発性結核患者で低下。
結核剤治療で血清 granulysin 正常化。
2. CD8 陽性キラーT 細胞から産生される KSP37 (Killer Specific secretory protein of 37kDa 蛋白)の血清中濃度は結核患者で健常人に比較し、低下。
3. granulysin と KSP37 はキラーT 細胞分化相乗効果。

研究協力者

豊田恵美子	NHO 東京病院 呼吸器科医長
阿部聖裕	NHO 愛媛病院 副院長
神徳 済	NHO 山口宇部医療センター 呼吸器内科 医師
田尾義昭	NHO 福岡東医療センター 呼吸器感染部長
松本智成	大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター 臨床研究部長
鈴木克洋	NHO 近畿中央胸部疾患センター 統括診療部長
露口一成	NHO 近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター 部長

A. 研究目的

1. 近年開発が進んでいる新抗結核薬による多剤耐性結核、難治性結核治療方法の開発を目的。
治癒の可能性と治癒期限の短縮をもたらす。
2. 近年、新抗結核薬の開発が進んでおり、これら新抗結核薬の承認と発売後の活用が待たれている。
3. このため、治療困難な慢性排菌患者の治癒を目指して、新薬のデータ収集、レジメンの開発を行う。
4. 全国的な研究体制の構築など周到な準備の下に慢性排菌患者への適用を検討する。
5. また、治療期間の短縮や治癒率の向上のために標準治療や結核エイズ合併例への適用の検討を行う。
6. 結核患者血清中の granulysin や、Ksp37 は結核の重症度につれ低下し、結核免疫に相関することから、慢性排菌や再発の予後診断の可能性を検討する。

B. 研究方法

[I] 「新化学療法を含めた治療方法の開発と臨床応用：調査票」を全国結核診療施設 (259 施設) に送付した。

①リファブチン ②リネゾリド ③メロペネムークラブラン酸 ④リファペンチン ⑤MFLX の臨床における実態調査 (使用調査) を行った。

[II] 新化学療法剤を含めた治療方法の開発と臨床応用

1. 多剤耐性結核患者及び慢性排菌結核患者のデラマニド (OPC67683) 治療。
2. 現在の結核標準治療の INH の代わりにデラマニドを用いて解析する。
3. デラマニドの臨床応用認可が下りるまで動物実験
デラマニドと他の新規抗結核剤や結核治療ワクチンとの 相乗的治療効果の解明
4. カプラザマイシン (CPZEN-45) +新規結核治療ワクチン

[III] 患者血清中の Granulysin や Ksp37 による慢性排菌や再発の予後診断法開発

1. 多剤耐性結核患者の血清中及び患者リンパ球を結核抗原で刺激した培養上清の Granulysin、Ksp37 を ELISA 法を用いて測定した。
2. 結核重症度、難治性の関連を解析した。

(倫理面での配慮)

国立病院機構近畿中央胸部疾患センターの IRB (臨床試験審査委員会) で「新化学療法剤を含めた治療方法の開発と臨床応用：調査票 (新しい結核治療剤使用)」調査票の倫理審査を行い、承認された後に全国結核診療施設に送付した。

C. 研究結果

[I]「新化学療法を含めた治療方法の開発と臨床応用：調査票」を全国結核診療施設（259施設）に送付し評価。（表1）

1. 調査票（新しい結核治療剤使用）を返答しやすいように1ページにまとめて作成した。新しい結核治療剤として、本邦で厚生省の認可が下りている①Rifabutin、②Linezolid及び③Meropenem hydrate＋クラブラン酸、④リファペンチン、⑤モキシフロキサシンを対象とした（表1）（表2）。

メロペネム（Meropenem）＋クラブラン酸はScience 2009年にクラブラン酸の存在下でメロペネムを用いるとXDR-TBに有効（in vitro及びマウス）の報告がなされたことよりヒトで臨床応用している施設がすでにあることが考えられたことより加えられた。

調査票は12項目よりなる。1. 性別、2. 年齢、3. 結核診断名、4. 薬剤耐性、5. 基礎疾患（合併症）、6. 治療内容、7. 投与量・投与期間、8. 効果、9. 副作用、10. 退院・転帰（入院の場合）、11. 転帰、12. 診療上の問題と対応。（表2）

この調査票を全国結核診療施設259施設の院長宛に、①リファブチン②リネゾリド③メロペネム－クラブラン酸④リファペンチン⑤モキシフロキサシンを対象とした理由、ならびに新しい結核治療剤使用の情報がいかに必要であるかを記載した文章を添付（表3）して依頼した。

その結果、259施設中129施設（49.8%）より回答が得られた（表4）。

新しい結核治療剤使用症例は、①リファブチン 39症例、②リネゾリド27症例、③メロペネム－クラブラン酸 2症例、④リファペンチン 0例、⑤モキシフロキサシン 16例、合計84症例であった。1年以上前から抗結核剤として認可されているリファブチンが多く認められた（表5）。リファブチン39症例のうち、有効例は33例（89.6%）で、無効例5例（12.7%）であった。

（表6）。

MDR-TB 13症例に対するリファブチンの効果は有効7例（53.8%）、無効5例（38.5%）であった（表6）。

一方、リネゾリド（27症例）の効果は有効（24例）と88.9%で効果が認められた（表7）。

リネゾリドは24例のMDR-TBに対し91.7%有効であった。

メロペネム-クラブラン酸では2例中2例（100%）に有効（表8）。モフロキサシンでは16例中11例（68.8%）に有効（表9）。

リファブチンの副作用として、白血球減少、血小板減少、肝機能異常が認められた（表10）。

一方、リネゾリドの副作用として骨髄抑制が報告された（表11）。

メロペネム-クラブラン酸やモキシフロキサシンの副作用は症例数が少ない影響かもしれないが、少数であった（表12、表13）。

調査票(新しい結核治療剤使用)
2012～2013年調査

1. 2009年度調査との比較。
2. それに基づく新規結核剤による対策構築。
3. 前回のリネゾリド、リファブチン、メロペネム
-クラブラン酸の調査にリファペンチン、
MFLXを追加して調査

表 2

調査票(新しい結核治療剤使用)

施設名: _____ 登録年月日 _____ 年 月 日

氏名: _____ (匿名化して下さい) 該当項目に○印をつける、又は記入。
その他の項目は記入して下さい。

1. 対象者の性別

① 男性	<input type="checkbox"/>
② 女性	<input type="checkbox"/>

2. 年齢(診断時) _____ 才

3. 結核診断名

1肺結核		
2肺外結核	① 胸膜炎	<input type="checkbox"/>
	② リンパ節	<input type="checkbox"/>
	③ 粟粒	<input type="checkbox"/>
	④ 骨関節	<input type="checkbox"/>
	⑤ 中枢神経	<input type="checkbox"/>
	⑥ その他	<input type="checkbox"/>

4. 薬剤耐性

① RFP耐性	<input type="checkbox"/>
② INH耐性	<input type="checkbox"/>
③ SM耐性	<input type="checkbox"/>
④ EB耐性	<input type="checkbox"/>
⑤ PZA耐性	<input type="checkbox"/>
⑥ その他薬剤	() <input type="checkbox"/>
⑦ なし	<input type="checkbox"/>
⑧ 不明	<input type="checkbox"/>

5. 基礎疾患(合併症)

① なし	<input type="checkbox"/>
② 糖尿病	<input type="checkbox"/>
③ 空洞の有無**	<input type="checkbox"/>
④ HIV	<input type="checkbox"/>
⑤ 胃切除後	<input type="checkbox"/>
⑥ 慢性肝疾患(肝炎・肝硬変)	<input type="checkbox"/>
⑦ C型肝炎ウイルス陽性	<input type="checkbox"/>
⑧ 膠原病	<input type="checkbox"/>
⑨ 塵肺、COPD、喘息など	<input type="checkbox"/>
⑩ その他	<input type="checkbox"/>

**保健所では、合併症は正確には把握できないのでここに入れた

6. 治療内容

① 治療(リファブチン)	<input type="checkbox"/>
② 治療(リネゾリド)	<input type="checkbox"/>
③ 治療(メロベネム-クラブラン酸)	<input type="checkbox"/>
④ 治療(リファペンチン)	<input type="checkbox"/>
⑤ 治療(モキシフロキサシン)	<input type="checkbox"/>
⑥ 標準1. HRE(S)Z	<input type="checkbox"/>
⑦ 標準2. HRE(S)	<input type="checkbox"/>
⑧ その他	<input type="checkbox"/>

7. 投与量・投与期間

	投与量	投与期間
① リファブチン	／日	週
② リネゾリド		
③ メロベネム-クラブラン酸		
④ リファペンチン		
⑤ モキシフロキサシン		

8. 効果

1 リファブチン	① 有効	<input type="checkbox"/>
	② 無効	<input type="checkbox"/>
2 リネゾリド	① 有効	<input type="checkbox"/>
	② 無効	<input type="checkbox"/>
3 メロベネム-クラブラン酸	① 有効	<input type="checkbox"/>
	② 無効	<input type="checkbox"/>
4 リファペンチン	① 有効	<input type="checkbox"/>
	② 無効	<input type="checkbox"/>
5 モキシフロキサシン	① 有効	<input type="checkbox"/>
	② 無効	<input type="checkbox"/>

9. 副作用

1 リファブチン	① 白血球減少症	<input type="checkbox"/>
	② 貧血	<input type="checkbox"/>
	③ 血小板・汎血球減少症	<input type="checkbox"/>
	④ 肝機能異常	<input type="checkbox"/>
	⑤ その他	<input type="checkbox"/>
2 リネゾリド	① 骨髄抑制	<input type="checkbox"/>
	② 視神経症	<input type="checkbox"/>
	③ ショック	<input type="checkbox"/>
	④ その他	<input type="checkbox"/>
3 メロベネム-クラブラン酸	① 急性腎不全	<input type="checkbox"/>
	② その他	<input type="checkbox"/>
4 リファペンチン	① 肝障害	<input type="checkbox"/>
	② その他	<input type="checkbox"/>
5 モキシフロキサシン	① 不整脈	<input type="checkbox"/>
	② アナフィラキシーショック	<input type="checkbox"/>
	③ その他	<input type="checkbox"/>

10. 退院・転帰(入院の場合)

退院時

① 塗抹陰性	<input type="checkbox"/>
② 培養陰性	<input type="checkbox"/>
③ 塗抹陽性	<input type="checkbox"/>
④ 培養陽性	<input type="checkbox"/>

11. 転帰

① 治療完了	<input type="checkbox"/>
② 継続中	<input type="checkbox"/>
③ 帰国	<input type="checkbox"/>
④ 治療中断・失敗	<input type="checkbox"/>

12. 診療上の問題点と対応(記載して下さい)
