

201420020A

厚生労働科学研究費補助金  
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業  
(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)

# 結核の革新的な診断・治療及び 対策の強化に関する研究

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 加藤 誠 也

平成 27(2015)年 3 月

## 目 次

### I. 総括研究報告

結核の革新的な診断・治療及び対策の強化に関する研究

加藤 誠也…… 1

### II. 研究分担報告

1. 薬剤耐性の実態調査……山岸 文雄…… 19
2. WHO-Group 5 drugs の抗結核菌作用……露口 一成…… 27
3. 結核の病態に関連する新規遺伝子／タンパク発現制御マーカーの探索  
慶長 直人…… 31
4. 小児結核全般の実態調査……徳永 修…… 36
5. 結核菌の感染性および病原性に関する細菌学的評価法の開発  
御手洗 聡…… 70
6. M 株の全ゲノム比較で同定された非同義置換 SNP を持つ結核菌タンパク質の  
過剰発現による抗酸菌機能変化  
前田 伸司…… 79
7. 結核菌株の遺伝背景と臨床・疫学・細菌学的特徴との関連性の解明  
岩本 朋忠…… 85
8. 多様な研究シーズを想定した結核菌臨床分離株のゲノム情報集積  
和田 崇之…… 91
9. 結核菌の病原性と微細形態学的特徴との関連に関する研究……山田 博之…… 97
10. 慢性非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……吉山 崇…… 120
11. 日本版 DOTS の強化・向上……小林 典子…… 123
12. インターフェロン $\gamma$ 遊離試験陽性率に関する研究……加藤 誠也…… 146
13. 低まん延化に向けての患者発見対策に関する研究……加藤 誠也…… 153

III.	研究成果の刊行に関する一覧表.....	179
IV.	研究成果の刊行物・別刷（一部） .....	185

# I 総括研究報告書

結核の革新的な診断・治療及び対策の強化に関する研究

(H24-新興-一般-011)

研究代表者 加藤誠也 公益財団法人結核予防会結核研究所 副所長

研究要旨

1. WHO Group 5 drugs の抗結核菌作用：WHO による抗結核薬のカテゴリーで、Group 5 に分類されている薬剤の有効性の評価のため、医療施設へのアンケート調査を行った。リネゾリドの有効性を裏付ける結果であったが、クラリスロマイシン、アモキシシリン/クラバン酸、高用量イソニアジド、メロペネムについては、十分な症例数が集まらなかったこともあり、その有効性を示すことはできなかった。
2. 結核の病態に関連する新規遺伝子/タンパク発現制御マーカーの探索：結核病態に関連する新規マーカーとなる miRNA を見出すことを目的に、mRNA 発現と miRNA を同時解析してその発現量の関連を分析した。治療前に miR-223 と IFNG mRNA の負の相関がみられ、治療経過に伴い、miR-223 は減少傾向、IFNG mRNA は増加傾向がみられ、3ヶ月では負の相関が弱まった。全血中 miR-223 発現量は、結核病態を反映するマーカーである可能性が示された。
3. 結核菌の感染性および病原性に関する細菌学的評価法の開発：入結核患者の入院期間、及び治療効果判定の短縮化のため、迅速な生死菌鑑別方法の開発を目的にした。PMA-qPCR 法を用いた薬剤感受性試験は結果が不安定であった。昨年試みたハロゲン照射による PMA-qPCR 法より、LED 照射、EMA-qPCR 法の方がより生菌率を正確に評価できる可能性が示された。
4. M 株の全ゲノム比較で同定された非同義置換 SNP を持つ結核菌蛋白質の過剰発現による抗酸菌の機能変化：M 株の特徴を明らかにすることを目的に、非同義置換を伴う SNP 変異を導入したプラスミドを人工的に作成し、これを *M. smegmatis* mc2 155 及び *M. bovis* BCG Tokyo を形質転換し、各遺伝子の過剰発現株を分離・培養しコロニーの大きさやコロニー数を比較した。実験した 6 種類の遺伝子の内、3 種類は形質転換効率や菌の増殖に影響があることが判明した。
5. 結核菌株の遺伝背景と臨床・疫学・細菌学的特徴との関連性の解明：クラスター形成した特定の遺伝子型の多剤耐性の感染拡大の実態の解明とそれを正確かつ効率的に検出できる遺伝子変異の特定を目的に、全ゲノム解析と近接ゲノムの比較を行った。大阪湾岸地域の多剤耐性結核菌クラスターは *rpoC* 変異によって L527V 型株と G332S 型株に分けられたが、各株の固有の変異 (L527V 型株:13 か所, G332S 型株:18 か所) は共通祖先からの分岐で、それぞれが独立して感染伝搬したことを示唆された。L527V 型 11 株の変異の出現様式から 3 つの感染拡大イベントがあったことが示唆された。比較ゲノム解析により、L527V 型株の遺伝的均質性は極めて高く、巨大クラスターの形成は、単クローンによる感染伝搬の結果であることが強く示唆された。

6. 多様な研究シーズを想定した結核菌臨床分離株のゲノム情報集積：結核菌サーベイランスにゲノム比較解析を導入することによって、どのように結核伝搬経路が見出されるのかについて検討を行った。低まん延地域における結核分子疫学サーベイランスでの17クラスター、49株について次世代シーケンサーを用いてゲノム解析を行ったところ、7クラスターの変異数は非常に小さく、直近の伝播例であることが強く示唆された。このうち6クラスターは疫学調査で集団感染の可能性が把握されており、ゲノム解析はその結果を補佐することでより正確な伝搬経路を推定できることを意味する。また、変異の蓄積機序から、クラスター内の詳細な伝搬経路が推定できた。
7. 結核菌の病原性と形態学的特徴との関連に関する研究：透過型電子顕微鏡による結核菌標準株の超薄連続切片観察からの三次元構築により、直径、菌体長、表面積、体積、リボソーム数を計測した。また、結核菌及び非結核性抗酸菌標準株の標本を作成し、急速凍結後氷包埋し、Cryo-TEMで観察した。平均菌体直径、細胞質直径は5菌体ごとの差はほとんど見られなかったが、その他の計測値は菌体ごとに差が見られた。菌体内リボソームに関しては1菌体ではわずか49と極端に少なく、全体的に電子密度が高く、急速凍結時に既に死菌であったことが示唆される。リボソーム密度は、薬剤に対する耐性獲得に関して、薬剤分子と標的分子の数的な割合の変化により生ずる可能性も考察される必要があると思われる。
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医療体制の提案を目的にデラマニド及びベダキリンの併用療法について、新たな学会情報をもとに検討した。慢性排菌患者の治療のためには、4系統の新薬のうち3剤以上の併用療法が必要と考えられる。ベダキリンとデラマニドの併用可否の検討結果が待たれる。2) 保健所にアンケート調査によって、接触者健診におけるクオンティフェロン第三世代の判定結果ごとの発病率を計算した。多変量解析の結果、①QFT-3G検査が陽性、②感染源の感染性(周囲のQFT-3G陽性者の数)が多い、③潜在結核感染治療を行わず、④接触者が医療従事者でない場合に発病の危険が高かった。3) 休眠期の結核感染診断法を開発するために、ESAT-6・CFP-10、休眠期抗原Rv2660cおよびMDP1を用いてELISPOT法、FluoroSpot法によって、サイトカイン産生パターンを解析した。治療終了結核患者群において、ESAT-6、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が見られ、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) 乳幼児結核感染例の診断の向上を目的に、感染診断を目的に受診しIGRAを実施した小児の54例で、QFT-3G上清中のIP-10をELISA法にて定量測定し、その反応態度を比較検討した。感染判断を行った10例のうち、接種局所の所見及び経過、ツ反結果より“結核感染例”と判断した5例でIGRA陰性であったが、IP-10TB-Ag-IP-10nil値は全例で設定したCut-off域を超える高い値を示した。IP-10をマーカーとした結核感染診断法は小児結核未発病感染例を鋭敏に検出できる可能性が期待された。2) 小児結核症例に関する予防・診断・治療などの問題点・課題を明確にし、今後の対策に活かすことを目的に、小児結核症例検討会を開催した。早期に診断の重要性、慎重な接触者健診と事後フォローの重要性などの問題点が抽出可能であった。3) 乳幼児集団を対象とした接触者健診の「てびき」作成を目的に、事例の収集を行った。2009～2013年に67例報告され、その中の22事例で乳幼児における感染の拡がり確認された。乳幼児年齢集団を対象とした接触者健診を企画、実施する機会は少なく、

依拠することが可能なレファレンスも乏しいために、健診対象、実施時期、適用する感染診断法の選定、さらに感染判断基準の設定などに苦慮している様子も確認された。

10. DOTS の強化・向上に関する研究：DOTS の質の向上に向けた地域の特性に併せた地域連携パスの導入と多職種による地域連携体制の推進を図ることを目的として、結核看護システムのデータを活用しながら、1) 評価指標を通じた服薬支援活動の分析、2) DOTS 実施率に関する補足資料の作成、3) 『地域 DOTS を円滑に進めるための指針』案の作成、4) 保健指導の指標の検討、5) 結核病棟の入院継続困難例における退院・転院の状況と看護支援に関する研究、を実施した。データを提供されている自治体等では丁寧な支援が行われているが、リスク軽減については、マニュアル作成等による「禁煙指導」の取り組みを強化する必要がある。結核病棟の入院継続困難例については、隔離という環境に馴染めない患者に対する入院早期の信頼関係構築、退院後の治療継続のためには入院中からの医療機関と保健所の連携が重要であることが示唆された。
11. 薬剤耐性の実態調査：前回調査の問題点（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、さらに本調査独自の優位性（感受性試験の精度保証）を最大限に生かすよう研究デザインにより調査が開始された。2015 年 3 月末時点で 47 施設（75.8%）からデータの送付を受けている。データ数は 8,262 で、MDR-TB は 11 施設で 52 株分与可能との回答を得ている（同時点で 2 施設から 23 株の MDR-TB を結核研究所に輸送済）。しかしながら、全国調査としての代表性の疑念は残っており、病原体サーベイランスシステムによる調査が望まれる。
12. 低まん延化に向けての患者発見対策に関する研究：低まん延化の推進のために重要な意味を持つ患者発見対策について文献的考察を行った。スクリーニングとして定期健診、外国出生者健診、接触者健診、治療終了後の経過観察を患者発見方法として整合性に配慮しながら、強化と効率化の観点から整理する必要がある。定期健診については対象者の絞り込みと必要な対象者についてはさらなる強化、外国出生者に対するスクリーニングの対象・実施時期及び方法の検討、接触者健診については実施状況の評価法の開発とそれに基づく技術支援、医療機関における患者発見は一般の医療機関や国民に対する情報伝達方法の検討、治療終了後の経過観察については再発・発病及び発見率の観点から対象の選定方法の検討が必要と考えられる。
13. インターフェロンγ遊離試験陽性率に関する研究：一般人口における高齢者層を含む年代別 IGRA 陽性率を推定することを目的に、全国の保健所の接触者健康診断（以下、接触者健診）の結果、感染リスクが低かったと思われる IGRA 検査結果のデータを収集し、分析した。一般人口の QFT-3G 陽性率は 40 歳代から 70 歳代では年齢と共に上昇し、推定既感染率と比較すると概ね 3-4 割程度であったが、80 歳以上では IGRA 陽性率は 70 歳代以上に上昇しなかった。本調査結果は高齢者が多く含まれる接触者健診において、集団感染の有無の判断に有用なデータとなることが期待される。

## 研究分担者

露口一成（独立行政法人国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 感染症研究部長）

慶長直人（公益財団法人結核予防会結核研究所生体防御部 部長）

御手洗聡（公益財団法人結核予防会結核研究所抗酸菌部 部長）

前田伸司（公益財団法人結核予防会結核研究所抗酸菌部細菌情報科 科長）

岩本朋忠（神戸市環境保健研究所微生物部 副部長）

和田崇之（長崎大学熱帯医学研究所国際保健学助教）

山田博之（公益財団法人結核予防会結核研究所抗酸菌部主任研究員）

吉山 崇（公益財団法人複十字病院呼吸器内科診療主幹）

徳永 修（国立病院機構南京都病院小児科医長）

小林典子（結核予防会結核研究所対策支援部部長）

山岸文雄（独立行政法人国立病院機構千葉東病院 院長）

## 研究協力者

末永麻由美（公益財団法人結核予防会結核研究所対策支援部医学・企画科）

平山隆則（公益財団法人結核予防会結核研究所対策支援部医学・企画科長）

吉山崇（公益財団法人結核予防会複十字病院診療主幹）

## A. 研究目的

本研究班は革新的な診断・治療法及び対策の開発に寄与することを目的として、新抗結核薬を用いた治療法の検討、結核菌の細菌学的手法・ゲノム情報・超微形態等の新技術を活用して、感染性・病原性の評価・解明、宿主の新規遺伝子・IGRA に関する発病に関する要因の評価・解明を行うとともに、現行の対策の強化を目的とする、小児医療・対策の課題・エビデンスの明確化、結核の地域連携の推進及び DOTS 評価指標の検討、全国薬剤耐性調査、患者発見対策に関する研究、IGRA 陽性率調査から構成されている。

分担研究者の個別の目的は以下のとおりである。

### (1) WHO Group 5 drugs の抗結核菌作用

世界保健機関（WHO）の定めた抗結核薬のカテゴリーで、Group 5 薬としていくつかの薬剤は効果が通常の抗結核薬としては推奨しないとされている。このカテゴリーのうちクラリスロマイシン（CAM）、アモキシシリン/クラ

ブラン酸（AMPC/CVA）、リネゾリド（LZD）、高用量イソニアジド（H-INH）、メロペネム（MEPM）の MDRTB に対する有効性を評価することを目的とした。

### (2) 結核の病態に関連する新規遺伝子／タンパク発現制御マーカーの探索

本研究では、ヒトの免疫、炎症反応に関わる mRNA 発現と miRNA を同時解析してその発現量の関連を分析することにより、結核病態に関連する新規マーカーとなる miRNA を見出すことを目的としている。昨年度までの検討により、潜在結核患者において hsa-miR-223 とインターフェロン $\gamma$  遺伝子(interferon, gamma: IFNG), hsa-miR-421 とインターロイキン 2 遺伝子(interleukin 2: IL2)がそれぞれ負の相関を示すことを明らかにしており、今年度はさらに活動性肺結核患者において、これらの miRNA と遺伝子の発現の関連を検討した。

### (3) 結核菌の感染性および病原性に関する細菌学的評価法の開発

入結核患者の入院期間、及び治療効果判定の



短縮化のため、生死菌鑑別を迅速に行う方法を開発することを目的とする。今年度は PMA-qPCR 系が薬剤感受性試験に応用可能であるかを検討した上で、生菌率の評価法を再検討し、より正確な生菌率を判定できるように実験系の見直しを行った。

(4) M 株の全ゲノム比較で同定された非同義置換 SNP を持つ結核菌蛋白質の過剰発現による抗酸菌の機能変化

感染性が高く、安定したゲノム構造を持つ株と推定されている M 株の特徴を明らかにすることを目的に、非同義置換を伴う SNP を持つ遺伝子に注目して、感染性上昇に関与すると推定される遺伝子の同定を目指した。

(5) 結核菌株の遺伝背景と臨床・疫学・細菌学的特徴との関連性の解明

特定の遺伝子型の多剤耐性結核菌(L527V 型株)について、全ゲノム解析を行い、その感染拡大の実態の解明、及び、L527V 型株を正確かつ効率的に検出できる遺伝子変異の特定を目的とした。

(6) 多様な研究シーズを想定した結核菌臨床分離株のゲノム情報集積

本研究は我が国における結核菌臨床分離株のゲノムデータを効率的に蓄積し、その遺伝的多様性を網羅することを目的としており、本年度は結核菌サーベイランスにゲノム比較解析を導入することによって、どのように結核伝搬経路が見出されるのかについて検討を行った。

(7) 結核菌の病原性と形態学的特徴との関連に関する研究

透過型電子顕微鏡による結核菌標準株の超薄連続切片観察からの三次元構築により、菌体の全体像を細胞壁外膜、菌体内部構造を含めて高分解能で可視化し、直径、菌体長、表面積、体積、リボソーム数の計測を行い、分子生物学的データとの連携により結核菌の病原性発現の解明を目指す。また、結核菌のコロニーの特

徴であるコード形成を走査型電子顕微鏡で観察し、非結核性抗酸菌と比較して、病原性との関連を検討する。

(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

本研究の目的は、1) 慢性排菌患者に対する医療体制を提案すること、2) 接触者健診におけるクオンティフェロン第三世代(QFT-3G)の判定結果ごとの発病率を計算すること、3) 休眠期の結核感染診断法を開発すること、である。

(9) 小児結核全般の実態調査：

1) コッホ現象診断における QFT-3G 上清中 IP-10 定量測定の有用性に関する検討：コッホ現象例を含む乳幼児結核感染例をより良好な感度で診断することを目的に、IP-10 を指標とした結核免疫感染診断法の有用性評価を試みた。

2) 大都市部における小児結核に対する関心喚起・知識普及を目的とした研究：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、さらに保健・臨床関係者の間で共有して今後の対策に活かすことを目的にした。

3) 乳幼児集団を対象とした接触者健診事例集積を目的とした調査研究：乳幼児集団を対象として実施された接触者健診事例の情報を収集し、健診の計画・実施に際して依拠することが可能な「てびき」作成に向けた基礎的資料とすることを目的にした。

(10) DOTS の強化・向上に関する研究

地域の状況や患者の生活に応じた DOTS を推進するために、各地で多様な機関・職種と連携した支援が行われている。さらに DOTS の質的向上を図るためには、外来 DOTS の実施、地域連携パスの推進、患者支援モデルの開発が必要である。全患者を対象に DOTS の質的向

上に向けた地域の特性に併せた地域連携パスの導入と多職種による地域連携体制の推進を図ることを目的としている。

#### (11) 薬剤耐性の実態調査

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、第15回調査が開始された。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(感受性試験の精度保証)を最大限に生かすよう研究デザインを変更したもので,進行状況をまとめる。

#### (12) 低まん延化に向けての患者発見対策に関する研究

今後,低まん延化の促進のために重要な患者発見対策は重要である。このため,定期健診,外国出生者健診,接触者健診,医療機関受診,及び患者管理について治療終了後の再発を患者の発見という観点から検討し,論点の整理を目的とした。

#### (13) インターフェロン $\gamma$ 遊離試験陽性率に関する研究

IGRAの一般人口における陽性率の検討は,クオンティフェロン $\text{®TB-2G(QFT-2G)}$ を用いた報告があるが既に10年経過しており,現在用いられているクオンティフェロン $\text{®TB}$ ゴールド(QFT-3G)及びTスポット $\text{®TB(T-SPOT)}$ に関するデータは明らかになっていない。本研究の目的は一般人口における高齢者層を含む年代別IGRA陽性率を推定することである。

### B. 研究方法

#### (1) WHO Group 5 drugsの抗結核菌作用

全国の結核診療施設にアンケートを送付して,2011年から2014年までの間に,当該薬剤のいずれかを使用した症例についての調査を行った。調査項目は,対象患者の性別,年齢,基礎疾患の有無,結核菌の薬剤感受性結果,治

療内容,外科的治療の有無,治療効果(培養が3回以上陰性となれば排菌陰性化とした),副作用の有無等であった。

#### (2) 結核の病態に関連する新規遺伝子/タンパク発現制御マーカーの探索

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における多剤耐性肺結核患者と非多剤耐性結核患者の中で,HIV陽性,悪性腫瘍,免疫抑制剤の使用者を除外し,各群約100名を対象とした。

治療開始前と開始後3か月に血液サンプルを収集し,全血にRNA安定化剤を付加して凍結し,結核研究所に転送して全RNAを抽出後,IFNG,IL2の発現量について,定量的RT-PCR解析を行なった。miR-223とmiR-421の定量的RT-PCR解析は,polyA付加反応と逆転写反応を同時に行なった上で,リアルタイムPCRを行った。各miRNA相対発現量とmRNA相対発現量を $\Delta\Delta\text{Ct}$ 法により求め,発現量についてSpearmanの順位相関係数を算出した。

#### (3) 結核菌の感染性および病原性に関する細菌学的評価法の開発

- 1) H37Rv及び多剤耐性臨床分離株をMiddlebrook 7H9培地で培養した。さらに,薬剤投与群にはINHまたはRFPを添加・培養し,培養開始0,2,4,7日目に培養液を採取し,PMAを用いたTaqMan MTBによる生菌数の定量を行った。
- 2) 分注した菌液にPMAを添加し,ハロゲンランプ照射後,DNA溶液を抽出。コバスTaqMan MTB (Roche/#490249)を用いて遺伝子量の定量を行った。
- 3) H37Rv及び*M.avium subsp. Avium*基準株を培養し対数増殖期の菌とした。
- 4) 菌液をAuramine O-CTC二重染色し,生菌率を算出した。
- 5) 段階希釈した菌液 $2\mu\text{L}$ をZiehl-Neelsen染色し,全菌数をカウントした。菌液100

- $\mu\text{L}$  を寒天培地に接種した。3週間後にコロニー数をカウントし生菌率を算出した。
- 6) 対数増殖期の菌液に PMA 処理を行い、DNA 抽出，菌の定量を行った。
  - 7) 対数増殖期の菌液に PMA 同様に EMA 処理をして DNA 抽出，菌の定量をした。
  - 8) 菌液を煮沸，過酸化水素処理，ホルマリン処理による殺菌方法の検討及び EMA-qPCR 系による死菌の生菌率を評価した。
- (4) M 株の全ゲノム比較で同定された非同義置換 SNP を持つ結核菌蛋白質の過剰発現による抗酸菌の機能変化
- 1) M 株 10 株を次世代シーケンサー (NGS) で全ゲノム解析を行い，H37Rv との塩基配列と異なる SNP 部位を抽出した。
  - 2) 絞り込んだ 6 遺伝子 (*fadD25*, *fadB3*, *fadE17*, *ftsQ*, *kdtB*, *hsaD*) を増幅して pVV16 プラスミドに導入した。遺伝子プラスミドは，サイトダイレクトミュータージェネシス法で M 株が持つ SNP 変異を導入したプラスミドを人工的に作成した
  - 3) 作製したプラスミドで *M. smegmatis* mc2155 及び *M. bovis* BCG Tokyo を形質転換し，各遺伝子の過剰発現株を分離した。
  - 4) これらを培養しコロニーの大きさやコロニー数を比較した。
- (5) 結核菌株の遺伝背景と臨床・疫学・細菌学的特徴との関連性の解明
- L527V 型株 11 株について全ゲノムマッピング解析を行い，得られた点置換変異情報の異同性を 1 塩基レベルの解像度で判定した。
- 直近の共通祖先から分岐したと考えられる株 (G332S と命名) の全ゲノム解析データと L527V 型株との超近接ゲノム比較を行い，各株固有の変異を特定した。
- (6) 多様な研究シーズを想定した結核菌臨床分離株のゲノム情報集積
- 山形県において実施された結核分子疫学サ

- ーベイランスにおいて，24 領域 VNTR のうち 23 領域が一致した菌株 (49 株，17 クラスター) をゲノム解析対象株とし，MiSeq (Illumina 社) を用いてゲノムデータを獲得した。リードデータは CLC genomics workbench によるマッピング解析，及び Median-Joining tree を用いて，各株間の微小進化における系統解析を行った。
- (7) 結核菌の病原性と形態学的特徴との関連に関する研究
- 1) 透過型電子顕微鏡を用いた結核菌の三次元構築：結核菌 H37Rv 株を約 2 週間培養後，急速凍結標本を作成し，JEOL JEM1230 透過電子顕微鏡で観察した。グリッド 12 枚，計 500 枚以上の超薄連続切片を作製し，観察に適した 5 菌体を選び，観察像を ImageJ ソフトウェアによって形態計測した。
  - 2) コード形成と病原性の検討：結核菌及び非結核性抗酸菌標準株の標本を作成し，自然科学研究機構生理学研究所 岡崎統合バイオサイエンスセンター内の FEI Vitrobot にて急速凍結，氷包埋し，Cryo-TEM (JEM-2200FS) で観察した。
- (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) デラマニド及びベダキリンの併用療法について，新たな学会情報をもとに検討した。
  - 2) 保健所にアンケート調査を行い，2010 年に各保健所で接触者健診時の QFT-3G の判定結果毎に，経過追跡結果を得て発病率を計算した。
  - 3) 新規結核患者，結核治療終了者，潜在性結核感染者，および健常者の 4 群，それぞれ 50 名の結核菌特異抗原，および休眠期特異的抗原を用いた ELISPOT 法，FluoroSpot 法によって，サイトカイン産生パターンを解

析した。結核菌抗原として ESAT-6・CFP-10、休眠期抗原 Rv2660c および MDP1 を用いた

(9) 小児結核全般の実態調査：

- 1) コッホ現象診断における QFT-3G 上清中 IP-10 定量測定の有用性に関する検討：結核感染診断を目的に受診し、2種の IGRA を実施した小児の一部（54例）で、QFT-3G 上清中の IP-10 を ELISA 法にて定量測定し、その反応態度を比較検討した。
- 2) 大都市部における小児結核に対する関心喚起・知識普及を目的とした研究：首都圏（第5回）及び近畿地区（第12回）での小児結核症例検討会を開催した。小児結核症例のうち、特にその診断や治療内容、治療支援、症例発見後の事後対応などに課題を有した症例を抽出し、診療に当たった臨床医及び健診・治療支援を担当した保健所担当者、それぞれの立場から症例の概要及び抱える問題点について呈示し、参加者と共に討議を行った。
- 3) 乳幼児集団を対象とした接触者健診事例集積を目的とした調査研究：全国の保健所を対象に一次調査として2009年1月～2013年12月の接触者健診症例の有無を調査した。「事例あり」との回答があった保健所あてに二次調査票を送付し、①初発患者に関する情報、②健診実施の時期と検査内容、③BCG未接種例に対する「無差別的」予防的治療適用の実際、④感染・発病例の有無、⑤他の年齢の接触者集団における感染・発病の拡がり、などの項目に関して調査を行った。

(10) DOTS の強化・向上に関する研究

- 1) 評価指標を通じた服薬支援活動の分析  
前研究班で作成した「結核看護システム」からのデータによって、DOTS 実施状況、看護の視点から治療不成功のリスク(以下単に「リスク」と

いう)評価、合併症、服薬支援計画、DOTS パートナーの項目について治療成績による評価を行った。

2) DOTS 実施率に関する補足資料の作成

『結核患者に対する DOTS（直接服薬確認療法）の推進について』の一部改正について（平成23年10月12日付健感発1012第5号厚生労働省健康局結核感染症課長通知）の「日本版21世紀型DOTS推進体系図」に基づいて、指針における目標である「全結核患者に対するDOTS実施率を九十五パーセント以上」の算定方法を検討した。

3) 『地域 DOTS を円滑に進めるための指針』案の作成

日本結核病学会エキスパート委員会による『地域 DOTS を円滑に進めるための指針』の案について、服薬支援看護ワークショップおよび外来・薬局 DOTS のあり方に関する検討会において本指針について検討した。

4) 保健指導の指標の検討

平成25年7月～9月に実施した「リスク評価の活用分析」の調査内容の一つである、自由記載の具体的な支援や介入の方法について分析した。

5) 結核病棟の入院継続困難例における退院・転院の状況と看護支援に関する研究

全国の結核病床12床以上を有する126医療機関の結核病棟看護管理者を対象に、平成25年4月1日～平成26年3月31日の入院患者に中で、自己退院・強制退院・精神科等への転院（通常の転院を除く）の有無とその理由、その後のフォローについて質問票調査を実施した。

6) ワークショップ等の開催

- i) 服薬支援看護ワークショップの開催：結核看護システムによるデータの提供を受けている保健所担当者に参加を求め、集計結果の報告、本システムの活用方法について意見交換をした。
- ii) 外来・薬局 DOTS のあり方に関する検討会：

結核専門医療機関である複十字病院の病棟・外来看護師および薬剤科薬剤師, 近隣薬局薬剤師, 清瀬市薬剤師会会長, 管轄保健所保健師による検討会を開催し, 外来・薬局 DOTS の現状と課題について協議した

#### (11) 薬剤耐性の実態調査

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 (2015 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。また, 患者情報は保健所の協力を得ながら, 結核登録者情報を利用する

#### (12) 低まん延化に向けての患者発見対策に関する研究

法令, 予防指針, 通知, ガイドラインを踏まえながら文献的考察を行った。また, 「低まん延化に向けて対策の強化と効率化に関する専門家会議」を開催し, 10 名の専門家の意見交換をした。

#### (13) インターフェロン $\gamma$ 遊離試験陽性率に関する研究

全国の保健所に対して質問票により, 過去に実施された接触者健診の中で, 結果として感染リスクが低かったと判定される集団における年代毎の IGRA 陽性者, 判定保留者, 陰性者, 判定不能者数及び関連するデータの提供を求めて, 集計・分析することによって, 一般人口及び医療従事者の IGRA 陽性率の近似値 (または参考値) を算出した。

### C. 研究結果

#### (1) WHO Group 5 drugs の抗結核菌作用

薬剤ごとの排菌陰性化率については, LZD は 74.2% (23/31), CAM は 77.8% (7/9),

AMPC/CVA は 44.4% (4/9), MEPM は 0% (0/5), H-INH は 75% (3/4) であった。CAM, H-INH による排菌陰性化例の多くは LZD 併用例であった。副作用については, LZD で骨髄抑制による中止例が 4 例みられた他, 肝障害, 皮疹などがみられた。

#### (2) 結核の病態に関連する新規遺伝子/タンパク発現制御マーカーの探索

治療前と治療開始 3 ヶ月後の全血液中のマイクロ RNA と免疫関連遺伝子発現の解析の結果, 治療前で miR-223 と IFN $\gamma$  の mRNA 発現が負の相関を示しており, miR-223 発現量は 3 ヶ月後には低下していた。

#### (3) 結核菌の感染性および病原性に関する細菌学的評価法の開発

PMA-qPCR 法を用いた薬剤感受性試験の検討の結果, 定量された生菌数の経時変化から感受性判定が可能であることが示唆されたが, 繰り返しの検討で結果が不安定であった。

Auramine O-CTC 染色法を用いた呼吸活性評価との比較による培養液中の生菌率の評価は対数増殖期の生菌でも生菌率が 10~50%と低く, チール・ネールゼン染色及び培養法からは 60~100%とより高い生菌率を得た。

光照射をハロゲンランプから LED 照明に変えた検討では, チール・ネールゼン染色と培養法による生菌の割合は 78.5%であり,

EMA-qPCR 法による生菌率と相関を示した。

#### (4) M 株の全ゲノム比較で同定された非同義置換 SNP を持つ結核菌蛋白質の過剰発現による抗酸菌の機能変化

次世代シーケンサーを用いた SNP 解析の結果, M 株が独自に持つ SNP が 100 箇所存在することが判明した。これらの内, 59 箇所がサイレントで, 残り 41 箇所がアミノ酸変異を伴う非同義置換 SNP だった。実験した 6 種類の遺伝子の内, 3 種類の遺伝子 (fadD25, fadB3, kdtB) は, SNP によりアミノ酸が変化した遺

伝子を過剰発現させると形質転換効率や菌の増殖に影響があることが判明した。

(5) 結核菌株の遺伝背景と臨床・疫学・細菌学的特徴との関連性の解明

大阪湾岸地域の多剤耐性結核菌クラスターは *rpoC* 変異によって L527V 型株と G332S 型株に分けられた。各株の固有の変異 (L527V 型株:13 か所, G332S 型株:18 か所) は共通祖先からの分岐で、それぞれが独立して感染伝搬したことを示唆した。L527V 型 11 株の変異の出現様式から、3 つの感染拡大イベントがあったことが示唆された。

(6) 多様な研究シーズを想定した結核菌臨床分離株のゲノム情報集積

分析した 17 クラスター中、7 クラスターの変異数は非常に小さいことが観測され、これらが同一菌株による直近の伝播例であることが強く示唆された。このうち 6 クラスターは疫学調査で集団感染の可能性が把握されていた。また、変異の蓄積機序から、クラスター内の詳細な伝搬経路が推定できた。

一方、それ以外の 10 クラスターでは各株間の変異数が大きく、直接的な関係は薄いことが示された。

(7) 結核菌の病原性と形態学的特徴との関連に関する研究

計測した 5 菌体の平均菌体直径、細胞質直径はそれぞれ  $0.345 \mu\text{m}$ 、 $0.297 \mu\text{m}$  で菌体ごとの差はほとんど見られなかったが、その他の計測値は菌体ごとに差が見られた。菌体長に関しては、菌体 1 と菌体 2 が  $2 \mu\text{m}$  以下であるのに対して、他の 3 菌体は  $3 \mu\text{m}$  を超えていた。

Cryo-透過電子顕微鏡観察では  $6 \mu\text{m}$  を超える菌体長を持つ菌が観察された。

菌体内リボソームに関しては、4 菌体では 850 から約 2,000 個計測されたが、1 菌体では全体的に電子密度が高くわずか 49 個で、急速凍結時に既に死菌であったことが示唆される。

(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) デラマニドは承認され、ベダキリンの日本における第三相試験として安全性を確認するための 5 例の検討が行われることとなった。ただし、デラマニドとベダキリンの併用の可否については、米国 NIH の治験の結果待ちである。
- 2) 多変量解析の結果、①QFT-3G 検査が陽性、②感染源の感染性(周囲の QFT-3G 陽性者の数)が多い、③潜在結核感染治療を行わず、④接触者が医療従事者でない場合に発病の危険が高い、という結果になった。
- 3) 結核菌抗原として ESAT-6, CFP-10, 休眠期抗原 Rv2660c, および MDP1 で PBMCs を刺激後、FluoroSpot 法を用いた IFN- $\gamma$  と IL-2 産生応答を解析した結果、治療終了結核患者群において、ESAT-6, 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が見られた。一方、Rv2660c, および MDP1 に対するサイトカイン産生応答、特に IFN- $\gamma$  応答は十分なシグナルが得られなかった。

(9) 小児結核全般の実態調査 :

- 1) コッホ現象診断における QFT-3G 上清中 IP-10 定量測定の有用性に関する検討: コッホ現象が疑われ、当院でその感染判断を行った 10 例のうち、ワクチン接種局所の所見及び経過、ツ反結果より“結核感染例”と判断した 5 例で IGRA 陽性を呈した例はなかったが、IP-10TB-Ag-IP-10nil 値は全例で設定した Cut-off 域を超える高い値を示した。
- 2) 大都市部における小児結核に対する関心喚起・知識普及を目的とした研究: それぞれの症例検討会には 120 名以上の小児科臨床及び保健関係者が参加した。今年度の呈示

症例（首都圏 2 症例，近畿 4 症例）からは①子どもたちの周囲で生活する成人に発症した結核発病例を早期に診断することの重要性，②感染リスクを理解した慎重な接触者健診と事後フォローの重要性，などの問題点が抽出可能であった。

3) 乳幼児集団を対象とした接触者健診事例集積を目的とした調査研究：2009～2013 年に 67 例報告され，その中の 22 事例で乳幼児における感染の拡がり確認された。乳幼児年齢集団を対象とした接触者健診を企画，実施する機会は少なく，また依拠することが可能なレファレンスも乏しいために，健診対象，実施時期，適用する感染診断法の選定，さらに感染判断基準の設定などに苦慮している様子も確認された。

(10) DOTS の強化・向上に関する研究

1) 評価指標を通じた服薬支援活動の分析：

平成 25 年 1 月～12 月末の新登録患者について，7 県 25 保健所における結核新登録者 775 人（潜在性結核感染症治療，含む）が登録された。肺結核総数 545 人の本システムによる結果判定は，「治療成功」74.0%（「治癒」41.5%，「治療完了」21.3%，「その他」11.2%），「死亡」19.5%（「結核死亡」6.8%，「結核外死亡」14.9%），「治療失敗」1.1%，「脱落中断」0.7%，「不明」2.6%であった。また，要因別の治療成功率は以下の表 1 のとおりであった。

表 1. 要因別の治療成功率

要因	割合/ 有・無	対象者中 の割合	治療 成功率
DOTS 実施期間	2/3 以上	62.7%	95.7%
	1/3～2/3	13.4%	44.3%
	1/3 以下	23.9%	
合併症	あり	50.2%	73.8%
	なし	49.8%	79.3%
支援計画	あり	67.2%	82.4%
	なし	32.8%	64.4%

DOTS パ ートナー	あり	84.3%	82.4%
	なし	15.7%	44.6%

2) DOTS 実施率に関する技術支援

前述の DOTS 実施期間が 2/3 以上であれば，治療成功率は 95.7%であったことを根拠に，

「準完全実施」を定義することを提案した。また，DOTS 実施率に関する補足資料を作成し，結核研究所の web site に掲載した。（分担研究者の報告書別紙 1 を参照）

3) 「地域 DOTS を円滑に進めるための指針」案の作成

服薬支援看護ワークショップおよび外来・薬局 DOTS のあり方に関する検討会における検討結果を踏まえて，最終案（研究分担者報告書別紙 2）を作成した。

4) 保健指導の指標の検討

平成 25 年に行ったリスク評価に基づく介入に関する調査の結果，「リスクの確認あり・支援方法検討なし」の割合が最も多かった項目は「その他の合併症」であった。「介入後リスクの軽減あり」は，「喫煙」が 21.4%で最も低く，禁煙教育に十分踏み込めていないことが明らかとなった。自由記載のまとめは，研究分担者報告書別紙 3 に示されている。

5) 結核病棟の入院継続困難例における退院・

転院の状況と看護支援に関する研究

全国 12 床以上の結核病床を持つ医療機関 126 カ所に依頼文を送付し，平成 26 年 10 月末までに 80 医療機関から回答を得た（回収率 63.5%）。

「自己退院・強制退院・精神科等への転院」該当ありが 26 医療機関（32.5%），該当患者は 38 名（全医療機関入院患者実人数の 0.5%）であった。該当患者 38 名の理由をみると，「自己退院」15 名では，入院のストレス・入院拒否が 39.9%，アルコールの問題 26.7%，他に外国人も含まれていた。「強制退院」8 名では，入院規則違反・無断離院・暴言暴力・窃盗が 87.5%，

「転院」15名では、認知症・精神疾患が66.6%であった。退院後の状況については、「保健所の介入による経過観察・他院での治療継続」が、自己退院の患者の60%、強制退院の患者では37.5%、転院では26.7%であった。転院では66.6%が精神科病院などで治療が継続されていた

#### (11) 薬剤耐性の実態調査

2014年8月に参加予定の各施設に資料（研究計画書、データ作成法指示書、多剤耐性結核菌分与依頼書、データテンプレート（CD-R）等）を配付し、データの収集を開始した。当初1年ごとのデータを収集する予定であったが、2012～2013年の2年分のデータをまとめて収集することとした。

2015年3月末時点で47施設（75.8%）からデータの送付を受けている。データ数は8,262で、MDR-TBは11施設で52株分与可能との回答を得ている（同時点で2施設から23株のMDR-TBを結核研究所に輸送済）。

#### (12) 低まん延化に向けての患者発見対策に関する研究

日本において戦後の高まん延期には患者発見の強化の必要性から健診対象が拡大された。しかし、罹患率の低下とともに発見率が低くなり、感染リスクに応じた効率的な健診を行う方向となり、感染症法による健診、事業所、学校の児童・生徒の健診とも対象は縮小となっている。

近年、結核患者中の外国出生者割合は増加の一途を辿っており、対策上重要な課題になりつつある。日本では外国出生者のみを対象とした健診は制度化されていないが、出生地を問わずに健診を受ける機会はある。欧米先進国では、実施時は入国前・入国時・入国後、検査法として胸部X線検査及びツベルクリン反応またはIGRA、対象の選定方法は出身国の罹患率あるいは長期滞在者のみなど、国・地域によって

様々な方法によるスクリーニングが実施されている。スクリーニングの発見率は国レベルの大規模なものでは0.05%から0.22%、systematic reviewの中央値で0.18%、メタアナリシスで0.27%等であった。入国前の長所は、①受入国の費用負担がないこと、②受診率が100%であること、③罹患率減少に直接的効果があることであるが、健診の精度管理が必要である。

接触者健診は患者発見方法として重要性が高いが、地域によって実施状況に差があると考えられており、改善を図る必要がある。

医療機関における患者発見は2013年の新登録患者の83%を占めており、早期発見のために最も重要である。2000年以降の発見の遅れの推移を見ると、全年齢での診断の遅れ、受診の遅れ、発病から診断までの発見の遅れも小さくなる傾向にあるが、集団感染事件が減少しないことから、結核に接する機会の少ない一般の医療機関等での診断の遅れは著しくなっている可能性がある。活動性結及びLTBI治療終了後の再発・発病は一定数発生することは避けられない。LTBI治療後の発病については発病リスクが低い者も治療対象になっているために全体として低くなるが、3%程度の発病リスクを持つ者が含まれている可能性がある。

#### (13) インターフェロングamma遊離試験陽性率に関する研究

依頼状を送付した490保健所中、回答があったのは236施設（48.2%）であった。該当事例なしが32施設（13.6%）あり、204保健所（86.4%）から735事例のデータを収集し、不適合と判断されたもの84例を除いた分析対象事例数は651例であった。

一般人口のQFT-3G陽性率は40歳代：4.6%、50歳代：6.1%、60歳代：9.4%、70歳代：15.7%と年齢と共に上昇し、推定既感染率と比較すると概ね3-4割程度であったが、80歳以上ではIGRA陽性率は70歳代以上に上昇しなかった。



T-SPOT は QFT-3G と大きな違いはないと思われるが、80 歳代で 26.3%と比較的高い陽性率を示した。

#### D. 考察

##### (1) WHO Group 5 drugs の抗結核菌作用

LZD, CAM, H-INH で比較的良好な排菌陰性化率が得られていた。ただし、CAM と H-INH 投与群で排菌陰性化した例の多くは LZD を併用していた。

Group 5 薬の中でも LZD の有効性については既に多数の報告があり、ほぼ確立しつつあると考えられるが、今回の検討でもそれを裏付ける結果となった。CAM, AMPC/CVA, MEPM, H-INH については、十分な症例数が集まらなかったこともあり、その有効性を示すことはできなかった。副作用については LZD で中止を要する骨髄抑制が多くみられ注意が必要であると思われた。

##### (2) 結核の病態に関連する新規遺伝子／タンパク発現制御マーカーの探索

MDR-TB および non-MDR-TB 患者の治療前全血中において miR-223 発現量が IFNG mRNA 発現と負の相関を示したことは、miRNA による抗結核免疫の制御が生体内で見られる可能性を示していると考えられる。

今回、我々の結核患者の全血を用いた検討では、MDR-TB でも non-MDR-TB でも、治療前に miR-223 と IFNG mRNA の負の相関がみられ、治療経過に伴い、miR-223 は減少傾向、IFNG mRNA は増加傾向がみられ、3ヶ月では負の相関が弱まった。全血中 miR-223 発現量は、結核病態を反映するマーカーである可能性が示された。

##### (3) 結核菌の感染性および病原性に関する細菌学的評価法の開発

昨年までの PMA-qPCR 法では対数増殖期の生菌でも生菌率は 50%前後であった為、実

際の生菌率よりも低い評価となっていた可能性が示唆された。光照射方法をハロゲンランプから LED 照射に変えて検討した結果、EMA-qPCR 法の方がより生菌率を正確に評価できる可能性が示された。

##### (4) M 株の全ゲノム比較で同定された非同義置換 SNP を持つ結核菌蛋白質の過剰発現による抗酸菌の機能変化

M 株が持つ非同義置換 SNP の存在する 41 種類遺伝子が、M 株の特徴的な表現型であるヒトからヒトへの感染性に関与している可能性があると考えられたが、菌の表現型の変化により、3つのグループに別けることができた；1)野生型プラスミド導入株に比べてM株の非同義置換 SNP を持つ遺伝子プラスミド導入株のコロニー数が多かった遺伝子：fadD25 と fadB3, 2) 変異型遺伝子導入株に比べて野生型遺伝子導入株の方が、コロニー数が多かった遺伝子：kdtB, 3) コロニー形成に SNP が関与しなかった遺伝子：fadE17, ftsQ, hsaD であった。今後、この再現性とメカニズムを解明する必要がある。

##### (5) 結核菌株の遺伝背景と臨床・疫学・細菌学的特徴との関連性の解明

比較ゲノム解析により、L527V 型株の遺伝的均質性は極めて高く、巨大クラスターの形成は、単クローンによる感染伝搬の結果であることが強く示唆された。また、過去において、少なくとも3回の感染拡大イベントが発生したものと推察された。L527V 型株に固有の変異13カ所は簡便かつ迅速にモニタリングできる遺伝子マーカーとなりうる。

##### (6) 多様な研究シーズを想定した結核菌臨床分離株のゲノム情報集積

ゲノム解析の結果から、直近の伝播は実地疫学情報によってある程度正確に絞り込めていることを示しており、遺伝子解析はその結果を補佐することでより正確な伝搬経路推定が導

けることを意味する。

ゲノム解析は専門性の高いプロセスが随所に含まれているため、自治体における展開は当面限局的になることが予想され、多剤耐性結核や外国人のリスク管理など緊急性が高い事例に集中的に実施していくべき課題なのかもしれない。

#### (7) 結核菌の病原性と形態学的特徴との関連に関する研究

急速凍結法で調製した結核菌超薄連続切片の観察による細菌を対象とした報告はこれまで例がない。実測値を計測し、結核菌の様々な研究領域に有用な基礎データを提供しようと考えられる。平均菌体直径、細胞質直径は菌体ごとの差はほとんど見られなかったが、その他の計測値は菌体ごとに差が見られた。リボソーム密度は、結核菌のリボソームを標的とする薬剤とその薬剤に対する耐性獲得に関して、薬剤分子と標的分子の数的な割合の変化により耐性が生じる可能性についても考察される必要があると思われる。Cryo-透過電子顕微鏡観察では菌体幅が超薄連続切片の透過電子顕微鏡観察で得られた計測値の1.6倍ほどあり、樹脂包埋標本で収縮が起こっ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の予測値の検討と偽陰性要因の遺伝的解析

- 1) 慢性排菌患者の治療のためには、オキザロリジノン(リネゾリド, ステゾリド, AZD5847 など), ベダキリン, デラマニドまたはプレトマニド, SQ109(まだ第二相治験)の4系統の新薬のうち3剤以上の併用療法が必要と考えられる。ベダキリンとデラマニドの併用可否の検討が米国NIHの検討で進行中でありその結果が待たれる。
- 2) 検討症例数は670例程度に終わっており、特に、陽性で潜在結核感染治療後の症例に

ついては100例に満たず詳細な検討ができなかった。

- 3) 治療終了結核患者群において、ESAT-6, 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、従来報告されているようにメモリー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) コッホ現象診断におけるQFT-3G上清中IP-10定量測定の有用性に関する検討:IP-10をマーカーとした結核感染診断法によりコッホ現象例を含め、小児結核未発病感染例を鋭敏に検出できる可能性が期待された。
- 2) 大都市部における小児結核に対する関心喚起・知識普及を目的とした研究:①子どもたちの周囲で生活する成人に発症した結核発病例を早期に診断することの重要性, ②感染リスクを理解した接触者健診と事後フォローの重要性, などの課題が抽出された。小児結核に対する関心を喚起し、診断や治療に関する正しい知識を啓蒙する機会とすると共に、発病に至った症例が抱えるさまざまな課題を小児医療、保健関係者で共有する機会とすることが必要である。
- 3) 乳幼児集団を対象とした接触者健診事例集積を目的とした調査研究:乳幼児集団を対象とした事例を集積することによって、健診の企画・実施に際して、特に注意すべき点をまとめることは経験することが少ない事例の共有に繋がり、非常に有益な資料になりうると考える。

#### (10) DOTSの強化・向上に関する研究

- 1) 評価指標を通じた服薬支援活動の分析  
試行している自治体では、丁寧な支援が行えており、脱落中断率は総数775人中1.2%(9人)は、LTBIが1/3を占め、その理由は副作用に

よる中断であった。

## 2) DOTS 実施率に関する補足資料の作成

本システムでは、月ごとの服薬情報を入力することにより、治療期間を通して実施した服薬支援の状況を評価している。

## 3) 『地域 DOTS を円滑に進めるための指針』案の作成

『地域 DOTS を円滑に進めるための指針案』は、保健所を軸とした地域連携ネットワークの推進の手引書として期待される。

## 4) 保健指導の指標の検討

「その他の合併症」はリスクが確認されても支援方法の検討なしとされることが最も多かった理由は、主治医の対応が必要であるためと推定される。喫煙のリスク軽減が 21.4%と取り組むが不十分であるが、禁煙指導は定期的な DOTS 支援の機会を活用することが有用であり、IUATLD による禁煙指導 ABC の考え方を導入した禁煙マニュアルを作成する必要がある。

## 5) 結核病棟の入院継続困難例における退

院・転院の状況と看護支援に関する研究

本研究で自己退院、強制退院、転院患者ありと回答した医療機関は 26 か所 32.5%であったが、退院患者 38 人のうち 36 人は、退院後の治療継続がされており、入院中からの医療機関と保健所の連携が重要であることが示唆された。

隔離という環境に馴染めない患者に対しては、できるだけ早期に信頼関係を築く必要があり、精神的な問題ともに基礎疾患や合併症の治療も含めた対応が必要とされる。患者の暴言・暴力、問題行動への回避策もしくは遭遇した際の対応マニュアル作成など、具体的に対策を進展させるための知見や根拠を蓄積していくことが今後の課題と考えられる。

## (11) 薬剤耐性の実態調査

2014 年度末の時点で予定データ数の 99.7%を収集しているが、マッチング行程でのデータロス等を考慮し、さらに検体（データ）数を確

保する必要があると考えられる。

2007 年度の耐性調査について論文化の査読過程でデータサンプリングの問題点について査読者から療研による検体収集はいわゆる

「Convenient sampling」であり、日本全体を代表しているかどうか不明確でない（あるいはサンプリングとして系統的でない）と厳しい指摘を受けている。査読者にも指摘されているが、日本は登録者情報システムを利用して、薬剤感受性試験と入力データの両方にきちんと精度保証を行ったデータによるサーベイランスシステムに早期に移行すべきである。

## (12) 低まん延化に向けての患者発見対策に関する研究

スクリーニングとして定期健診、外国出生者健診、接触者健診、治療終了後の経過観察を患者発見方法として整合性に配慮しながら、強化と効率化の観点から整理する必要がある。

定期健診については対象者の絞り込みと必要な対象者についてはさらなる強化が必要である。外国出生者に対するスクリーニングの対象・実施時期及び方法の検討の上、早期に実施の方向が望まれる。

接触者健診については実施状況の評価法の開発とそれに基づく技術支援が必要であり。

医療機関における患者発見のためには情報提供、特に一般の医療機関や国民の情報伝達方法の検討が必要と思われる。

治療終了後の経過観察については再発・発病及び発見率の観点から対象の選定方法の検討が必要と考えられる。

## (13) インターフェロニン遊離試験陽性率に関する研究

低まん延地域における接触者健康診断における全対象者の QFT-3G 陽性率を比較すると、今回の結果は 20 歳代、30 歳代で若干低い数値になっているがそれ以上では大きな違いはなかった。若年層については、接触者健診のデー

タが含まれていないため、40歳代以上では大きな違いがなかったのは、全国データでは、一般人口の既感染率が高いためと感染者が除外されたことが相殺されて、同様の数値になった可能性がある。ただし、本調査で感染リスクが低い対象のデータを収集してとはいえ、接触者健診のデータを使っていることから、感染を受けた者が混じっている可能性は否定しきれない。

2010年の推定既感染率との比較では、高齢層のIGRA陽性率は推定既感染率の概ね3-4割程度で年齢が高くなるほど減弱が著しくなる傾向が見られた。20歳代から40歳代では既感染率との差がない、あるいは陽性率が高くなっているが、この数値ではIGRAの特異度が違いの主要因になっている可能性がある。

本調査結果は高齢者が多く含まれる接触者健診において、集団感染の有無の判断に有用なデータとなることが期待される。

#### E. 結論

本研究班は革新的な診断・治療法及び対策の開発に寄与することを大きな目的としている。

多剤耐性結核・超多剤耐性結核の治癒率向上を目指した新抗結核薬を用いた画期的な治療法の開発については、Group5の効果検証と世界的なレジメン開発の情報を整理することによって、今後、日本発の新抗結核薬であるデラマニドを活用した治験の実施に結実させたいと考えている。

治療開始後の感染性の評価については、根幹となる技術開発を進めており、次期AMED研究で継続となる。

結核菌の感染性・病原性・特性の解明・評価については、ゲノム解析、形態的アプローチとも、論文発表の成果があった。

結核の発病要因・宿主要因の評価・解明についてはmiRNAの機能が解明されつつあり、次期AMED研究で継続となる。

小児結核医療については新しい感染診断法の可能性が明らかになり、接触者健診の手引きにつながる事例の集積が進められた。

地域連携の評価推進、DOTS評価指標の検討についてはDOTS実施率の設定とそのQ&Aの開発を通して国の対策に直接裨益した。

薬剤耐性調査については、新方式での実施が開始された。

スクリーニングに関するレビューは今後の対策の検討資料として活用されることを期待している。

以上のように、当初の本研究班の目標に対して各研究分担者は着実な成果を上げておりいくつかは成果として論文化されており、国対策に直接役立てられている。また一部は次期AMED研究で継続することによって、対策に活用される技術に結実することが期待される。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

分担研究者の報告を参照。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし