

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登録者情報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、結核登録者情報システムからのデータの提供(2011、2012、2013年度分)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、研究対象者に事後の説明（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・コンセントを受けの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会にインフォームド・コンセント免除の判断を諮問する必要がある。

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）の実施と可否、について各参加予定施設に確認する。

C. 結果

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%) と設定し、未治療患者での必要数は $n=6,672$ 、既治療患者での必要数は $n=865$ とした。データの可能性を考慮して 10%多く必要数を設定したため、最終的なデータ（検体）数は未治療患者 7,339 例、既治療患者 952 例となった。

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 施設あったため、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。最終的に 62 施設全てで参加可能と判断した。

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に変更した。

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）。

D. 考察

2012 年から第 15 回となる療研薬剤耐性結核全国調査を開始した。今回の調査は世界保健機関が発行している「Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis, Fourth Edition」に従って統計的に有意なデータ数を確保することを第一とした。日本の薬剤耐性は基本的に低頻度であり、2007 年に実施した療研調査では RFP の新規患者での耐性率がわずか 0.7%であったため、信頼性のあるデータを得るためには

8,000 株を超える結核菌の薬剤感受性情報が必要と判断された。これは一検査室の作業量としては膨大であり、感染症法や疫学倫理の基準に照らしても実施困難であることが予想されたため、精度保証されたデータのみを複数年分収集し、解析する方法が採用された。また、近年の臨床現場の多忙を考慮すると多くの臨床データを全て医療施設から入手することも極めて困難（第 14 回の調査では実際に多くのデータがこの過程で入手できなかった）と考えられたため、基本的に各医療施設から入手する情報を限定した。臨床情報は結核登録者情報システムから入手することとして、結核感染症課とも同意の上研究を開始した。

予備調査等を経て実際にデータ収集を開始したのは 2014 年であり、現在までに 8,262 株（症例）分のデータを入手している。マッチングプログラムも作成しており、さらに数百のデータを収集した後マッチングと解析を実施する予定である。

療研調査から得られた耐性結核菌情報は日本のナショナルデータと認識されている。しかしながら、系統的なサンプリング方法を採用していない（施設任意参加方式）ため、データとしての代表性が常に問題視されてきた。第 13 回あるいは第 14 回の調査では地域ごとの罹患率で補正した耐性頻度が補正前のデータとあまり変わらないことからほぼ代表的なデータとされたが、今後結核罹患率や耐性率が減少し続けると信頼性はますます低下する。本邦には精度の高い結核登録者情報システムが存在するのであるから、日本国内で実施される全ての薬剤感受性試験を適切に精度保証し、このシステム上でデータ入力（現在は任意）を確実化すれば適切な耐性サーベイランスシステムとなることは明白である。今後はそのようなサーベ

イランスシステムが確立されることが望ましいと考える。

E. 結論

第 15 回となる療研耐性結核全国調査を計画し、実施している。サンプリング方法が系統的でないため代表性に問題がある可能性があるものの、既にほぼ予定数のデータを収集した。今後、結核登録者情報システムからの臨床情報とのマッチングと解析が必要である。

F. 健康危惧情報

本研究においては、実験室内で結核菌の感染の危険があると考えられた。全ての結核菌（生菌）の取扱は感染症法及びバイオハザード指針に従って、BSL3 レベルの実験室内で安全キャビネットを使用して行った。

G. 研究発表

学会発表

1. 御手洗聡, 水野和重, 近松絹代, 青野昭男, 山田博之, 菅本鉄広, 山岸文雄. 第 14 回結核療法研究協議会調査による全国の結核菌薬剤耐性状況 (1) 結核 2012; 87: 270. 第 87 回日本結核病学会総会 広島 2012 年 5 月 10-11 日
2. 御手洗聡, 水野和重, 近松絹代, 青野昭男, 山田博之, 菅本鉄広, 山岸文雄. 第 14 回結核療法研究協議会調査による全国の結核菌薬剤耐性状況 (2) 結核 2012; 87: 271. 第 87 回日本結核病学会総会 広島 2012 年 5 月 10-11 日
3. 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

4. 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
5. 近松絹代, 青野昭男, 山田博之, 加藤朋子, 御手洗聡. Speed-oligo mycobacteria ver2. における *Mycobacterium* 属の同定の評価. 結核 2014; 89(3): 405. 第 89 回日本結核病学会総会. 岐阜 2014 年 5 月 9-10 日
6. 御手洗聡. 還元発色試薬による抗酸菌の MIC 測定. 日本化学療法学会雑誌 2014; 62 Suppl.A: 387. 第 62 回日本化学療法学会. 福岡 2014 年 6 月 18-20 日
7. 青野昭男, 近松絹代, 高木明子, 御手洗聡. Pyrazinamide 薬剤感受性試験法の評価. 日本臨床微生物学会雑誌 2015; 25(S1): 221. 第 26 回日本臨床微生物学会総会・学術集会 東京 2015 年 1 月 31 日-2 月 1 日.

論文発表

1. 森 亨, 御手洗聡, 吉山 崇. 近年の日本における多剤耐性結核患者の特性 結核 2012; 87: 565-575.
2. 近松絹代, 青野昭男, 山田博之, 御手洗聡. GenoType[®] MTBDRs/1 による結核菌の Fluoroquinolone, Aminoglycoside 及び Ethambutol 感受性検査に関する精度評価 結核 2012; 87: 641-647.
3. Nagai Y, Iwade Y, Hayakawa E, Nakano M, Sakai T, Mitarai S, Katayama M, Nosaka T, Yamaguchi T. High resolution melting curve assay for rapid detection of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. J Infect

- Chemother. 2013; 19(6): 1116-25.
4. Mitarai S. Current situation of tuberculosis in Japan and requirement for new vaccine. *Vaccine*. 2014 Jan; 32(2): 304-305.
 5. 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.
 6. Tuberculosis Research Committee (RYOKEN). Nationwide survey of anti-tuberculosis drug resistance in Japan. *Int J Tuber Lung Dis* 2015; 19(2): 157-162.

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

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

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)
(総合) 分担研究報告書

新化学療法剤を含めた治療方法の開発と臨床応用

研究分担者 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 感染症研究部長
研究協力者 岡田全司 NHO 近畿中央胸部疾患センター臨床研究センター

研究要旨

イソニアジド (INH) とリファンピシン (RFP) の両薬剤に耐性を示す多剤耐性結核 (MDRTB) は難治性であり、新たな治療薬の開発が望まれている。結核治療の基本は多剤併用化学療法であり 1 剤でも多くの薬剤が使用できることが望ましい。今回の検討では、結核に対して経験的に使用されるが有効性の定まっていない薬剤や新規に認可されわが国で十分な投与経験がない薬剤について評価する目的で平成 24 年度、平成 26 年度と 2 回にわたって全国の結核治療機関に対してアンケート調査を行った。平成 24 年度はリファブチン (RBT)、リネゾリド (LZD)、メロペネム (MEPM)、モキシフロキサシン (MFLX) を結核患者に対して投与を行った症例、平成 26 年度は世界保健機関 (WHO) により有効性のエビデンスがない Group 5 と挙げられている薬剤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)、LZD、高用量イソニアジド (H-INH)、MEPM を MDRTB 患者に対して投与を行った症例をそれぞれ対象とした。平成 24 年度は 84 例、平成 26 年度は 38 例について回答を得られた。LZD については、平成 24 年度では有効率は 96% (24/25)、平成 26 年度では 74.2% (23/31) であった。平成 24 年度で行った RBT の調査では RFP 感受性例では全例有効であったが MDRTB での有効率は 53.8% (7/13) であった。その他の薬剤については症例数が少なく有効性は明らかでなかった。また有効であると考えられた症例の多くで LZD が併用されていた。副作用については、RBT や LZD で骨髄抑制による中止例が多くみられた。今回の検討では、LZD の抗結核薬としての有効性が示唆されたが他の薬剤についてはさらに症例の蓄積が必要である。

A. 研究目的

イソニアジド (INH) とリファンピシン (RFP) の両薬剤に耐性を示す結核は多剤耐性結核 (MDRTB) と定義される。MDRTB の治療はきわめて困難であり新たな治療法の確立が望まれている。最近、デラマニドやベダキリンなど新規抗結核薬の開発が相次いでいるが、結核治療の原則は多剤併用

療法であり、新たな耐性誘導を防ぐためにも 1 剤でも多くの薬剤が使えることが望ましい。今回の研究では、従来結核に対して使用されることはあったがその有効性が明らかでない薬剤や、新規に認可されわが国では十分な投与経験がない薬剤等について、有効性や副作用を評価する目的で 2 回にわたって全国の結核治療機関へのアンケート

調査を行った。

B.研究方法

1) 平成 24 年度調査

全国の結核診療施設（259 施設）にアンケートを送付して、結核患者に対してリファブチン（RBT）、リネゾリド（LZD）、メロペネム（MEPM）、モキシフロキサシン（MFLX）、リファペンチンの投与を行った症例についての調査を行った。調査項目は、薬剤感受性、副作用、有効性、合併症、転帰等であった。

2) 平成 26 年度調査

2 回目の調査では、さらに詳細な検討を行うため、世界保健機関（WHO）の定める抗結核薬のカテゴリーのうち Group 5 薬の MDRTB 症例に対する効果を検討することを目的とした。Group 5 薬とは、その効果についてのエビデンスが乏しく、他薬剤が使用できないときに限って使用するとされている薬剤であり、今回は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）、LZD、高用量イソニアジド（H-INH）、MEPM についての調査を行った。同様にアンケートを送付し、2011 年から 2014 年までの間に、MDRTB に対して上記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、副作用の有無等である。

（倫理面への配慮）

本研究はアンケート調査による後ろ向き研究であり、平成 24 年度、平成 26 年度いずれの調査も NHO 近畿中央胸部疾患セン

ターの臨床試験審査委員会の承認を得て行った。

C.研究結果

1) 平成 24 年度調査

全国の結核診療病院 259 施設にアンケートを送付し、回答が得られたのは 129 施設であり、登録されたのは 84 症例であった。各々の薬剤ごとの結果を以下に示す。

a) RBT

RBT 使用例 39 症例中、MDRTB は 13 例、INH 単剤耐性が 1 例、INH・RFP 感受性が 21 例であった。有効率は 84.6% (33/39) で、MDRTB での有効率は 53.8% (7/13)、INH 単剤耐性例、INH・RFP 感受性例では全例有効であった。副作用としては白血球減少 4 例、血小板減少 1 例、貧血 3 例、肝障害 4 例等であった。

b) LZD

LZD 使用例 27 症例中、MDRTB は 24 例、INH・RFP 感受性が 1 例であった。MDRTB の 1 例を除いて全例有効で、有効率は 96% (24/25) であった。副作用としては骨髄抑制 2 例、神経障害 3 例などであった。

c) MEPM

MEPM は 2 例で使用されいずれも有効であった。

d) MFLX

MFLX 使用例 16 症例中、MDRTB は 6 例、INH 単剤耐性が 1 例、INH・RFP 感受性が 5 例であった。有効率は 68.8% (11/16) であった。

2) 平成 26 年度調査

同様に全国の結核診療病院 259 施設にア

ンケートを送付し、回答が得られたのは 85 施設であり、登録されたのは 38 症例であった。カナマイシン (KM) 耐性は 16 例 (42.1%)、レボフロキサシン (LVFX) 耐性は 28 例 (73.7%) であった。KM・LVFX にも耐性を示す、いわゆる超多剤耐性結核 (XDRTB) 症例は 16 例 (42.1%) であった。各々の薬剤ごとの結果を以下に示す。

a) LZD

LZD 投与例 31 例中排菌陰性化したのは 23 例 (74.2%) であった。XDRTB 例は 12 例、non XDRTB 例は 19 例あり、排菌陰性化したのはそれぞれ 10 例 (83.3%)、13 例 (68.4%) であった。また、手術例は 17 例、手術を行わなかった例は 14 例あり、排菌陰性化したのはそれぞれ 15 例 (88.2%)、6 例 (42.9%) であり、手術を行った例での排菌陰性化率が高かった。中止を要した副作用 5 例 (骨髄抑制 4 例、肝障害 1 例)、中止を要さなかった副作用 1 例 (不眠 1 例) であった。

b) CAM

CAM 投与例 9 例中排菌陰性化したのは 7 例 (77.8%) であった。LZD 併用した例が 5 例、しなかった例が 4 例あり、排菌陰性化したのはそれぞれ 5 例 (100%)、2 例 (50%) であり、LZD 併用例での排菌陰性化率が高かった。中止を要した副作用 2 例 (皮疹 1 例、関節痛 1 例)、中止を要さなかった副作用 1 例 (下痢 1 例) であった。

c) AMPC/CVA

AMPC/CVA 投与例 9 例中排菌陰性化したのは 4 例 (44.4%) であった。中止を要した副作用 3 例 (皮疹 1 例、嘔吐 1 例、肝障害 1 例) であった。

d) MEPM

MEPM 投与例 5 例中排菌陰性化したのは 0 であった。中止を要した副作用 1 例 (肝障害 1 例) であった。

e) H-INH

H-INH 投与例 4 例中排菌陰性化したのは 3 例 (75%) であった。4 例すべて LZD 併用例であった。中止を要した副作用 1 例 (肝障害 1 例) であった。

D. 考察

結核治療は、INH、RFP を基軸とする標準治療法が確立しており、それが行えればほとんどの症例を治癒に導くことができる。しかし、この 2 剤が使用できない MDRTB ではきわめて治療が困難となるため、1 剤でも多くの有効薬が望まれる。WHO は抗結核薬を 5 つにグループ分けしており、Group 1 が INH、RFP、エタンブトール (EB)、ピラジナミド (PZA) 等の標準抗結核薬、Group 2 がストレプトマイシンやカナマイシン等の注射薬、Group 3 がフルオロキノロン薬、Group 4 がエチオナミド、サイクロセリン等の二次抗結核薬となっており、今回検討した薬剤は Group 5 として分類されている。Group 5 薬は、その有効性については明確でないため通常は使用すべき

ではなく、Group 1 から Group 4 までの薬剤が使用できず薬剤数が不足する場合に限って使用するとしている。今回の検討では、この Group 5 薬の有効性、安全性を中心に評価する目的で全国の施設へのアンケート調査を行った。

今回の検討では、LZD は平成 24 年度調査、平成 26 年度調査ともに比較的多数の症例が集まったが、CAM、AMPC/CVA、MEPM、H-INH はいずれも 10 例以下であった。LZD では 2 回の調査ともに良好な排菌陰性化率が得られた。CAM、H-INH でも比較的良好な排菌陰性化率が得られたが、これらの症例で排菌陰性化した例の多くは LZD を併用していた。RBT については、MDRTB での有効性は不良であり、有効例では併用薬の影響が否定できないと思われた。

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。一方、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。抗結核化学療法は、耐性誘導を防ぐために必ず多剤併用を行わなければならないという原則があるため、単剤投与による抗菌力評価が困難である。有効性の評価にあたってはさらに多数例の集積による評価が必要である。

副作用については LZD、RBT 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。

E. 結論

WHO Group 5 薬のうち、LZD はその有効性が示唆される結果となったが、CAM、AMPC/CVA、MEPM、H-INH の有効性については不明であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Azuma J, Ohno M, Kubota R, Yokota S, Nagai T, Tsuyuguchi K, Okuda Y, Takashima T, Kamimura S, Fujio Y, Kawase I: NAT2 genotype guided regimen reduces isoniazid-induced liver injury and early treatment failure in the 6-month four-drug standard treatment or tuberculosis: A randomized controlled trial for pharmacogenetics-based therapy. *Eur J Clin Pharmacol* 2013; 69(5): 1091-1101
- 2) Yoshida S, Tsuyuguchi K, Suzuki K, Tomita M, Okada M, Hayashi S, Iwamoto T and Saito H: Further isolation of *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* and subsp. *bolletii* in different regions of Japan and susceptibility of these isolates to antimicrobial agents. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2013; 42: 226-231.
- 3) Yoshida S, Tsuyuguchi K, Suzuki K, Tomita M, Okada M, Shimada R and Hayashi S. Rapid identification of strains belonging to the *Mycobacterium abscessus* group through erm(41) gene pyrosequencing. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014 Jul; 79(3): 331-336.

- 4) Yoshida S, Arikawa K, Tsuyuguchi K, Kurashima A, Harada T, Nagai H, Suzuki K, Iwamoto T and Hayashi S.

Investigation of the population structure of *Mycobacterium abscessus* complex strains using 17-locus variable number tandem repeat typing and the further distinction of *Mycobacterium massiliense* hsp65 genotypes. J Med Microbiol 2015; 64(3): 254-261

2. 学会発表

- 1) 露口一成: 新規抗結核薬 第 88 回日本結核病学会総会 教育講演 2013 年 3 月 29 日、千葉市
- 2) 露口一成、吉田志緒美、富田元久、鈴木克洋、岡田全司、林清二: 当院における多剤耐性結核症例の検討. 第 89 回日本結核病学会総会 2014 年 5 月 9 日、岐阜
- 3) 露口一成: 結核専門病院の立場から 第 88 回日本感染症学会総会シンポジウム 3 忘れてはいけない感染症: 結核 2014 年 6 月 18 日、福岡

G. 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

3. その他

なし

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)
(総合) 分担研究報告書

- 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

研究分担者 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客員研究員

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。
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 濟	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
松村晃秀	NHO 近畿中央胸部疾患センター 副院長

NHO (国立病院機構) 呼吸器疾患研究ネットワークグループ (65 施設)

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知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。

[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

- [1] 「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）

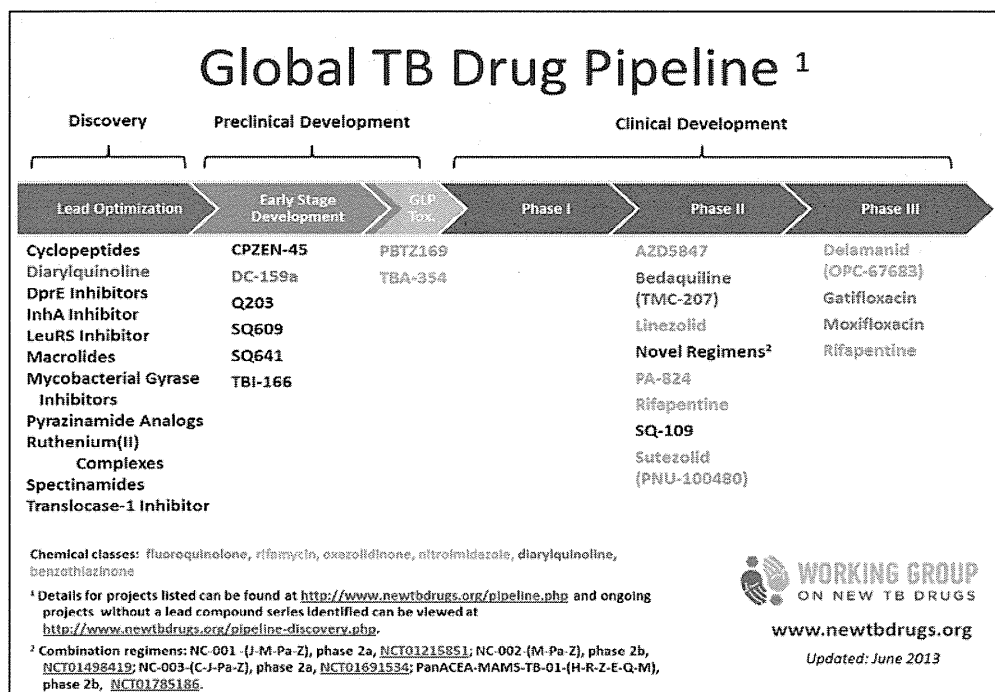
表1

**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

[II] 新化学療法剤を含めた治療方法の開発と臨床応用

図1



1. 新しく開発された抗結核剤として、図1に示したが如く、デラマニド(Delamanid:OPC67683)、ベダキリン、カプラザマイシン(CPZEN-45)等が有効であり、特にデラマニド(図2)に大きな期待が寄せられる。すでにデラマニドに関しては我々は表2の如く、多剤耐性結核や感染力の強いスーパー・スプレッダー(S・S)多剤耐性結核に対する治療効果(マウス)をICAACの学会等に発表してきた。

図2

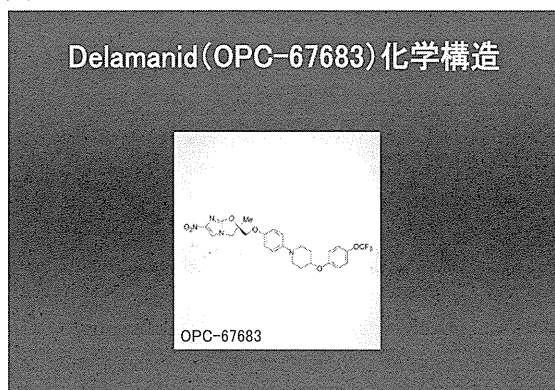


表2

[現在までの結果]

Delamanid (OPC67683) を用いた結核治療効果

①新規治療剤Delamanidの多剤耐性結核や感染力の強いスーパー・スプレッダー(S・S)多剤耐性結核に対する治療効果(マウス)。AIDSモデルマウスで結核治療効果。

②Delamanidのヒト多剤耐性結核患者第Ⅱb相臨床試験を終了。

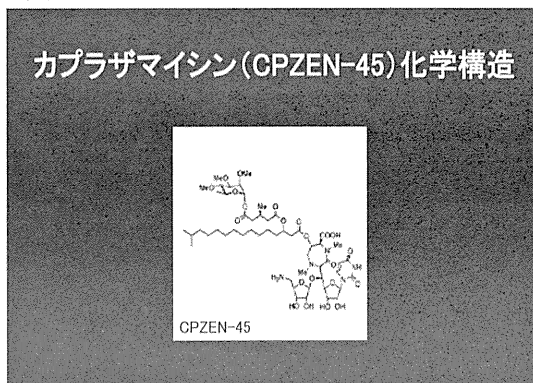
表3

Synergistic therapeutic effect of the combination of (HVJ-Envelope/HSP65 DNA+IL-12 DNA) vaccine and chemotherapy (Delamanid) on TB infection.

Group	N	H37Rv Intratracheal Inf. 1000CFU/mouse	Therapy
G1	6	+	(-)
G2	6	+	HSP65+IL-12DNA
G3	6	+	Delamanid 0.0078mg/mouse
G4	6	+	Delamanid 0.03125mg/mouse
G5	6	+	Delamanid 0.125mg/mouse
G6	6	+	HSP65+IL-12DNA + Delamanid 0.0078mg/mouse
G7	6	+	HSP65+IL-12DNA + Delamanid 0.03125mg/mouse
G8	6	+	HSP65+IL-12DNA + Delamanid 0.125mg/mouse
G9	6	+	(-)
G10	6	(-)	(-)

さらに、現在表3のように、デラマニド+HVJ-エンベロープ/HSP65 DNA+IL-12 DNAワクチンの相乗的抗結核治療効果を計画中である。

2. カプラザマイシンの抗結核効果
図3



カプラザマイシン(CPZEN-45)の化学構造は図3に示した如くであり、CPZEN-45がWHOのStop TBのCurrent Global TB Drugパイプラインにpreclinical drugとしてノミネートされた。現在までの結果を表4に示した。

表4

〔現在までの結果〕

カプラザマイシン(CPZEN-45)はpreclinical drug。

- ① XDR-TB(超薬剤耐性結核)に対し治療効果(マウス)。
- ② INH+RFP治療法とカプラザマイシンは相乗的結核治療効果。
- ③ CPZEN-45+新規結核治療ワクチン(HSP65+IL-12DNA)併用治療にて結核治療相乗効果。T細胞増殖の相乗効果。IL-6産生に対する相乗効果。
- ④ 我々が特許を取得中のCPZEN-45がWHO Stop TBのCurrent Global TB Drugパイプラインにpreclinical drugとしてノミネートされた。

すなわち①XDR-TB(超薬剤耐性結核)に対し治療効果(マウス)、②INH+RFP治療法とカプラザマイシンは相乗的結核治療効果、③CPZEN-45+新規結核治療ワクチン(HSP65+IL-12DNA)併用治療にて結核治療相乗効果。T細胞増殖の相乗効果。IL-6産生に対する相乗効果、を示唆する予備実験結果を得た。(表4) CPZEN-45はマウスの系でT細胞免疫を増強する結果を得たことより、正式に表5の実験を計画している。

表5

新規化学療法剤(カプラザマイシンCPZEN-45)とHVJ-エンベロープ/HSP65 + IL-12 DNAワクチンとの結核治療相乗効果

グループ	N	H87Rv感染	治療
G1	6	+	(-)
G2	6	+	CPZEN HSP65 + IL-12 DNA
G3	6	+	CPZEN
G4	6	+	HSP65 + IL-12 DNA
G5	6	+	(-)
G6	6	(-)	

〔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
研究協力者及び国立病院機構65施設の呼吸器ネットワーク共同研究グループを活用して研究を行った。(表6、表7)

表6

〔Ⅱ〕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法を用いて測定する。
2. 結核重症度、難治性の関連を解析する。
3. 研究協力者
 - ・NHO呼吸器疾患研究ネットワークグループ
 - ・複十字病院
 - 等との共同研究

表7

国立病院機構研究ネットワークグループ(呼吸器疾患)

呼吸器疾患(結核を含む)
グループリーダー施設 **近畿中央胸部疾患センター**

メンバー施設 **4施設**

茨城東 東京 相模原 福岡

研究協力施設 **60施設**

道北 札幌南 西新潟中央 千葉東 天竜 東名古屋 南京都 奈良
和歌山 刀根山 岡山 南岡山 広島 松江 山口宇部 愛媛
高知 福岡東 大牟田 西別府 熊本 南九州

他国立病院機構結核診療施設

合計 **65施設**

- 多剤耐性結核や難治性結核ではCD8⁺T細胞からのgranulysin低下。
MDR-TBではキラーTリンパ球中のgranulysinの有意な低下を（薬剤感受性結核患者に比較して）発見した（Human Vaccine 岡田、喜多 2010）。MDR-TB患者のT細胞からのgranulysin産生（in vitroでPPDや結核死菌抗原刺激で40時間培養上清中）低下が健常人に比較して認められた。（図4、5、6）

図4

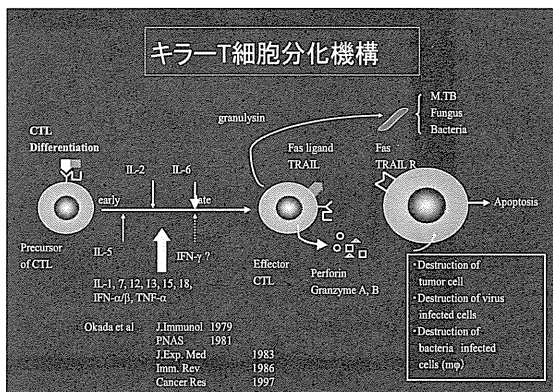


図5

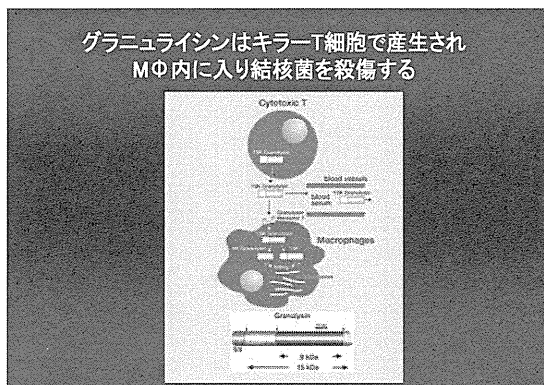
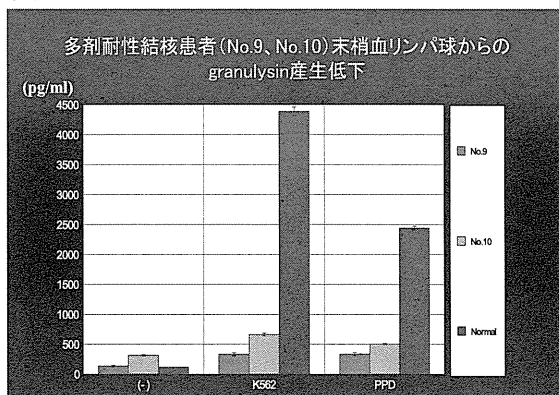
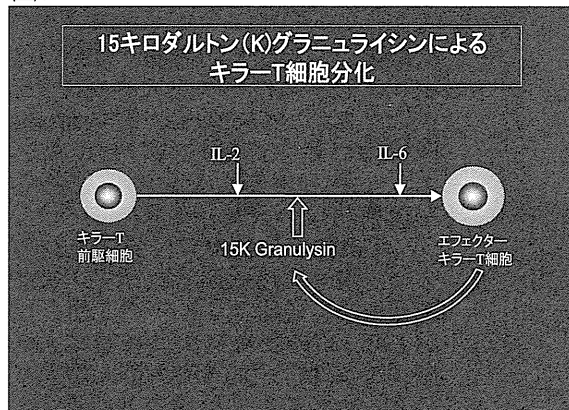


図6



内英樹、岡田)。さらに、結核剤治療で血清granulysin正常化を明らかにした。一方、granulysinは結核菌を直接殺傷する機能のみでなく、キラーT前駆細胞からエフェクターキラーT細胞へ分化させる強力なキラーT分化因子活性を有することを発見した（Human Vaccine 2010）（図7）。KSP37はキラーT細胞分化誘導作用、IL-2、IFN-γ、IL-6産生誘導。granulysinとKSP37はキラーT細胞分化相乗効果。

図7



- さらに、キラーT細胞から産生されるKsp37蛋白（killer-specific secretory protein 37kDa）が結核患者の血清中で有意に低下していることを発見した。これを用いた新しい細胞免疫診断法の確立を行っている。

図8

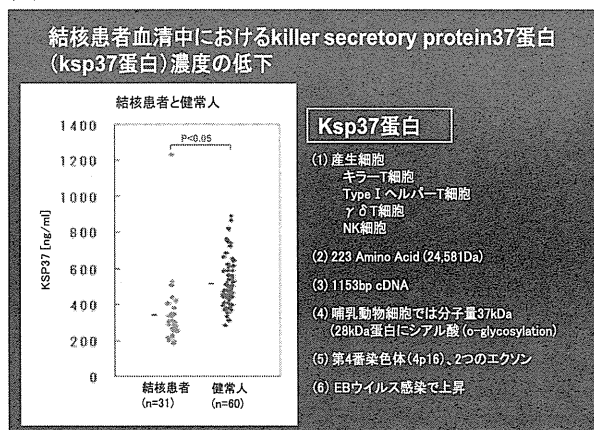


図8に示した如く、KSP37蛋白はキラーT細胞、Type I ヘルパーT細胞、γδ T細胞、NK細胞から産生される蛋白である。KSP37蛋白は223個のアミノ酸よりなる分子量24,581Daの分子である。KSP37遺伝

子は1153bp cDNAによりコードされる。哺乳動物細胞では分子量37kDaのKSP37蛋白となる。それは、28kDa蛋白にシアル酸 (o-glycosylation) が結合するからである。第4番染色体 (4p16) にKSP37遺伝子が存在し、2つのエクソンよりなる。KSP37蛋白の生理学的な活性は不明であり、EBウイルス感染でヒト血液中のKSP37蛋白が上昇することが言われている。しかしその機能は不明である。ある種のヒト卵巣癌やある種のヒト glioma でKSP37の発現が報告されており、発症している癌は予後が良いタイプが示唆されているか、不詳である。このようにKSP37の生理学的機能、免疫学的機能、結核に対する役割は全く不明である。

一方、キラーT細胞はヒトのchronicな結核感染に対する抵抗性の免疫担当細胞として最も重要なリンパ球であることが世界的なコンセンサスである。このキラーT細胞からKSP37が分泌されることより、我々は結核患者血清中のKSP37を測定して、健常人のKSP37の値と比較検討した。結核患者31例及び健常人60例の血清中におけるKSP37蛋白濃度を測定した。その結果結核患者の血清中のKSP37濃度は200ng/ml～500ng/mlであった。一方健常人の血清中のKSP37濃度は300ng/ml～900ng/mlであった。すなわち、結核患者では健常人に比較して血清中のKSP37濃度の低下が認められた。(p<0.05)。

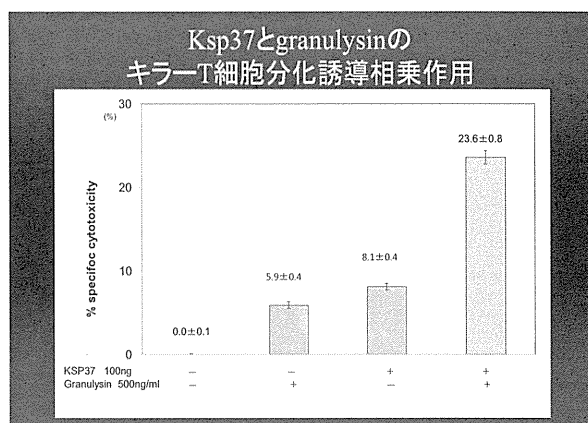
これらの結果よりKSP37蛋白は結核免疫(抵抗性)になんらかの関与をしていることが示唆された。

- したがって、次にリコンビナントKSP37蛋白の作製とこれを用いた、免疫応答調節機構を解析した。リコンビナントKSP37をin vitroの系に加えてキラーT分化誘導活性を測定し、キラーT細胞誘導活性を示した。さらに、このリコンビナントKSP37はIL-2の産生増強効果、IFN- γ の産生増強効果、ならびにIL-6の産生増強効果を発揮した。我々の一連の研究より、IL-6、IL-2及びIFN- γ はキラーT細胞分化因子として作用することを世界に先駆けて明らかにしたが、KSP37のキラーT細胞分化誘導活性とIL-6、IL-2及びIFN- γ 産生増強作用は、結核免疫(抵抗性)にとって重要な機能をKSP37が有することが示され、極めて興味深い結果を得た(図11)。

さらに、KSP37 transgenicマウスを作製

して抗結核効果を生体内で発揮するかどうかを解析した。その結果、KSP37 transgenicマウスにヒト結核菌H37Rvを静注した場合、正常マウスに比較して結核菌の増殖を抑制した。すなわちKSP37は生体内抗結核作用を有することが示唆された。

図11



D. 考察

1. 新薬（デラマニド等）が認可されれば、下記の方法と組み合わせて極めて強力な多剤耐性結核に対する新しい治療法が確立できる。マウスの系で強力な治療効果。現在、新規結核治療ワクチンと相乗的治療効果解析中。
2. カプラザマイシンはXDR-TBに治療効果（マウスの系）を示し、INH+RFP治療法と相乗的治療効果を示したことより、結核のみならず、MDR-TBやXDR-TBに対して治療期間短縮やファースト・ライン抗結核剤の投与量を減少させることが期待できる。
さらに、カプラザマイシンは新規結核治療ワクチンと相乗的治療効果を発揮したが、これはカプラザマイシン自身が単独でキラーT細胞活性やサイトカイン産生等、結核菌に対する細胞性免疫を増強する作用を示すことより、ワクチンと相乗的な治療効果が発揮されたことが示唆された。
3. 行政施策への貢献の可能性
 - (1) 結核の短期治療、MDR-TBの新しい治療法開発で医療費においても厚生行政に大きく寄与。
 - (2) 結核患者のQOL向上となる。
 - (3) 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となり、治療方針の決定に大きく貢献する。
4. 今後の課題
 - (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
 - ① 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
 - ② カプラザマイシン（CPZEN-45）
 - (4) 細胞性免疫予後診断法（granulysin、KSP37）の開発・臨床応用。

E. 結論

1. 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。
- (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
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
 - (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。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Okada M., Kita Y., Nakajima T., Hashimoto S., Nakatani H., Nishimatsu S., Nishida Y., Kanamaru N., Kaneda Y., Takamori Y., McMurray D., Tan EV., Cang ML., Saunderson P. and Cruz ECD., The study of novel DNA vaccines against tuberculosis: Induction of pathogen-specific CTL in the mouse and monkey models of tuberculosis., Hum Vaccines and Immunotherapeutics:9 (3)515-525.2013.
- (2) Kita Y., Hashimoto S., Nakajima T., Nakatani H., Nishimatsu S., Nishida