

201447002A

厚生労働科学研究委託費

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

多剤耐性結核の分子疫学的解析、診断・治療法の開発に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 服部 俊夫

平成27（2015）年 3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業（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）による委託業務として、東北大学災害科学国際研究所 所長 今村文彦 が実施した平成26年度「多剤耐性結核の分子疫学的解析、診断・治療法の開発に関する研究」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）		
多剤耐性結核の分子疫学的解析、診断・治療法の開発に関する研究	服部 俊夫	1
II. 委託業務成果報告（業務項目）		
1. 中国の黒龍江省における多剤耐性結核	服部 俊夫	15
2. インドネシアにおける活動性結核と潜在性結核感染の鑑別診断法の開発	服部 俊夫	18
3. 一塩基多型（SNP）法による結核菌のsublineage分析 — 日本、中国、韓国、台湾で分離された結核菌の比較 —	加藤 誠也	27
4. 東京における外国人結核・多剤耐性結核に関する研究	小林 信之	32
5. 結核菌の薬剤耐性・疫学検査の次世代シーケンサによる包括的解析法の開発と応用	切替 照雄	37
6. スリランカ、ネパール、バングラデシュ、ミャンマーおよびタイとの結核研究ネットワーク活用による多剤耐性結核の分子疫学解析	鈴木 定彦	44
7. 難治性結核の分子疫学解析 (Molecular epidemiology study on recurrence TB in Thailand and Japan)	野内 英樹	47
8. 大阪市における多剤耐性結核の分析：患者支援強化の効果および外国人結核患者の治療支援強化	下内 昭	54
9. 結核菌迅速薬剤感受性検査法の臨床応用に関する研究	露口 一成	79
10. ベトナムの多剤耐性結核患者の免疫状態の制御に関わる因子の研究	慶長 直人	82
11. NHO 病院における HIV 合併多剤耐性結核の実態調査に関する研究	永井 英明	89
12. 国内の腎不全合併結核研究	服部 俊夫	92
III. 学会等発表実績		97
IV. 研究成果の刊行物・別刷		108

多剤耐性結核の分子疫学的解析、診断・治療法の開発に関する研究

業務主任者 服部 俊夫 東北大学 災害科学国際研究所 災害感染症学分野教授

研究要旨

結核は世界の重要感染症であり、多剤耐性菌出現が問題となっている。特にアジア諸国では、さらに深刻な薬剤耐性結核が生じうる。ここではアジア諸国の多剤耐性結核の情報と基礎データを収集と結核菌の分子疫学的解析を行った。また免疫弱者であるHIV・腎不全患者の免疫状態を調べ、多剤耐性結核の合併の調査を実施した。さらに結核対策立案に反映するように試みた。国内外の多剤耐性結核の疫学情報解析と臨床データの蓄積によって本研究は多剤耐性結核発症・拡大の防止と、早期発見・治療につながる。多剤耐性結核を生じないシステムの構築による安全な社会の創出と国際貢献を目指した。

担当責任者：

加藤 誠也 結核予防会結核研究所結核病学・公衆衛生学 副所長
小林 信之 国立病院機構東京病院 呼吸器学 呼吸器内科 統括診療部長
切替 照雄 国立国際医療研究センター感染制御研究部 部長
鈴木 定彦 北海道大学人獣共通感染症センター 教授
野内 英樹 結核予防会 複十字病院 臨床検査部 臨床検査診断科長
下内 昭 結核予防会結核研究所 公衆衛生学(感染症)結核、AIDS、感染症対策 主幹
露口 一成 国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 呼吸器内科 感染症研究部長
慶長 直人 結核予防会結核研究所 呼吸器病学・分子遺伝子学 部長
永井 英明 国立病院機構東京病院 呼吸器内科 感染症内科 外来診療 部長

A. 研究の目的

- (1) 外国人・多剤耐性結核の実態の把握を行い、迅速診断、早期陰圧室治療を行い、発症・拡大を防止する。
- (2) アジア諸国の結核の多角的分子疫学的解析を行い、多剤耐性結核の情報を網羅的に収集し、発症率の高い国をいち早く同定し、蔓延の阻止に努める。
- (3) 結核菌の多角的分子疫学的解析を行い、予防・診断・治療に応用する。

- (4) 多剤耐性結核患者を解析し、また発症をしやすいHIVや腎不全との合併も検索する。

B. 研究方法

- (1) 国内での多剤耐性結核の実態とその遺伝子解析
 - a. 平成23年から25年までの厚生労働科研費で海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究を行い、外国人結核は多剤耐性率が高く、伝搬リスク評価を行った。保健行政において、多

剤耐性を作らない努力が必要。マニュアルの改訂（小林、下内）

b. 多剤耐性結核の遺伝子解析SNPsを用いた遺伝子型分類システム。（加藤）全ゲノムシーケンスによる分子疫学解析。（切替、小林）簡便・安価な結核菌遺伝子型別法（SpoligoArray法）。（鈴木、服部）

（2）アジア諸国での多剤耐性結核の実態とその遺伝子解析と宿主要因

a. タイ、スリランカ、ネパール、バングラデシュ、ミャンマーにおいて調査を行う。（鈴木、野内）。

b. 多剤耐性結核菌の多い北京型を同定する（服部）。

c. ベトナムの多剤耐性結核患者の治療反応性と関連する指標を探索し、治療管理の指標とする（慶長）。

（3）外国人検診にIGRAなどを行い、前研究班で作成した「外国人結核対策マニュアル」に新情報を追加記載

（4）HIVや腎不全などのリスクの高い群へのIGRA実施と発症予防対策（永井・服部）

（5）DOTSを中心とする患者治療支援の強化（下内）と多剤耐性結核の迅速診断法と陰圧室治療の早期開始（露口）

それぞれの研究分担者において倫理委員会の審査を経ている。

1. 多剤耐性結核の迅速診断による早期陰圧室治療により、多剤耐性結核の蔓延を防ぎ、治療成績の向上を図る。厳密な毎日DOTSが効果的であったこと、また、外国人の治療支援に関して、どのような対策が効果的であったかを明らかにし、成功事例として他の自治体に紹介する。
2. 東京都の外国人結核対策の実施状況と問題点を整理することにより、より効果的な対策（IGRA健診など）を提言する。
3. 本計画で、結核菌臨床分離株のゲノム解析

による薬剤耐性検出と疫学的情報の包括的取得を目的とした徹底的に最適化されたワークフローが提供される。本基盤はバイオインフォマティクスなどの高度な知識なしで利用可能であり、結核菌の臨床と研究の両面に大きく貢献する。

本分類システムが実用化されれば、特定の輸入菌株の同定が容易にできる。さらに菌株固有の特性の情報が加われば、接触者健診の革新、臨床情報として患者の治療に有効活用できる可能性がある。

4. 対象国のスリランカ、ネパール、バングラデシュ、ミャンマーおよびタイにおいて多剤および超多剤耐性結核の起因菌株を明らかにし、結核対策へ繋げることは当該国の公衆衛生のみならず、我が国の輸入結核の対策にも繋がる。
5. HIVや透析患者などでわが国に多剤耐性結核が蔓延することを防ぐために、北京型特異的あるいは治療応答性関連マーカーを見いだすことは重要。

国内での多剤耐性結核発症予防・治療及び結核菌分子疫学研究

1. 東京都の外国人及び日本人結核患者由来菌の分子疫学研究。

全ゲノムシーケンスによりスポリゴタイピング、VNTR、薬剤耐性解析。

特定の蔓延株の有無について広く検討

2. 外国人結核対策の現状と問題点。

東京都の保健所を対象に外国人結核対策に関するアンケート調査。

結核健診にIGRA検査の導入より効果的な対策の提言。

前研究班で作成した「外国人結核対策マニュアル」に新情報を追加記載

3. 次世代シーケンサから排出されるデータは大規模であるため、解析する枠組みの最適化が

必要である。1回の解析で複数菌株を解析する際、どの程度の菌株数を解析することが、データ品質と費用対効果の面から最適であるかについて、検討を行う。データのカバー率、配列の品質とSNP抽出効率の関係を評価し、最適なデータ取得条件を決定する。少なくとも200株を解析し、解析に投入するデータの産出を行う。

4. 新規入院結核患者の痰中のDNAをラインプローブアッセイを用いて *rpoB* 遺伝子の変異を検出しリファンピシン耐性の有無を調べ陽性と判定されれば多剤耐性結核の可能性が高いと考え直ちに陰圧個室へ隔離する。

5. 大阪市の結核サーベイランスシステムに保存されている資料に基づき、過去の新登録患者情報を耐性の有無により、性、年齢、治療状況（中断の有無、治療支援方法、DOTSの種類：毎日、毎週、毎月）を分析する。本年度登録、外国生まれ結核患者について、ことば、文化の相違を踏まえて健康教育を積極的に行い、中断、転出を予防する。

6. 国立病院機構を通じてHIV合併多剤耐性結核の調査を行う。

アジア諸国での結核菌の分子疫学研究。

1. 日中韓台分離結核菌のSNPs分析のために、リアルタイムPCRを利用した共通のシステムを用いて、特定の地域内で分離した200株程度を分析する。これら分析結果を、研究者を集めた会議を開催し、結果のまとめと論文化を行う。

2. 当該国間ないしは当該国と我が国の間の多剤および超多剤耐性結核の蔓延状況ならびに伝播状況に関するデータを以下の方法で得る。

1) 結核患者より分離した結核菌株100株以上を各対象国（スリランカ、ネパール、バングラデシュ、ミャンマーおよびタイ）にて収集している。国際標準法にのっとり培養法を用いた

薬剤感受性試験を実施し、これら菌株の結核標準化学療法に用いられている4剤ならびにカナマイシンおよびオフロキサシン感受性を判定する。

2) 分離した菌株より抽出したDNAの薬剤耐性に関与することが報告されている遺伝子の塩基配列を決定し、耐性に関与する塩基置換を特定する。更に、簡便・安価な結核菌遺伝子型別法(PCT/JP2012/066167)を活用して遺伝子型を決定する。現在頻用されているMLVA法と併用することにより詳細な遺伝子型別データを得る。

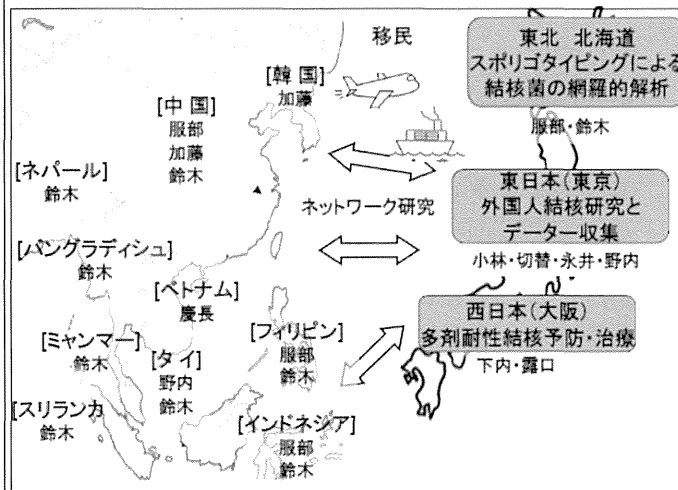
発症や治療応答に関連する宿主因子の研究

1. ベトナムの多剤耐性結核患者(N=58)の免疫状態を検討する研究が進行中である。その研究の同意の範囲内で、平成26年度、取得済みの血液試料を用いて、特に末梢血リンパ球の亜集団に特徴的な転写因子(FOXP3, TBX21, GATA3, RORC)などのmRNA発現量に注目して、臨床疫学情報(性別、年齢、喀痰菌検査結果)との対比を行い、治療による菌陰性化を指標にした、治療反応性と統計学的に関連する指標を探索する。本研究自体は探索的研究であり、候補となるマーカーが見いだされた場合、そのマーカーの有意性に関して、別のパネルを用いて、得られた結果を検証することを考慮する。

2. インドネシアの潜在性結核菌感染者・結核患者のリンパ球・血漿をESAT-6, CFP-10, HBHA, ACR, MDP-1, MDP-1 Rv, Ag85A, Ag85B, Rv0679c由来ペプチドで刺激し、さらにこれらのリコンビナントタンパクに対する抗体を測定する。血漿はさらにルミネックス解析を行う。これらの系を用いて、結核の発症にかかわる因子を研究する。これをHIV感染者、腎不全患者でも行い、発症因子を解析する。

多剤耐性結核の分子疫学的解析、診断・治療法の開発に関する研究

多剤耐性結核の分子疫学的解析や診断・治療法等に関する研究を行い、結核医療の基準の改正の検討を行うための基礎データを提供する。



目的

多剤耐性結核の発症・拡大阻止と早期発見、陰圧治療
 アジア諸国の多剤耐性結核の多角的解析
 結核菌の分子疫学解析
 宿主反応の解析 HIV 腎不全の合併調査

期待される成果

1. 多剤耐性結核を生じないシステムの構築による安全な社会の創出と
2. アジア諸国との多剤耐性結核研究強化国際貢献

薬剤耐性結核の現状

外国人('09-'11)	日本人('07)
多剤耐性 4.4%	0.7%

方法

結核医療の改善

患者治療支援による多剤耐性結核の発症・予防・迅速診断・早期陰圧治療。(下内・露口)
 外国人検診への IGRA 導入など「外国人結核マニュアル」新情報追加。(小林)

結核菌の分子疫学解析による感染経路、薬剤耐性検出の迅速化による予防・治療改善

国内外の多剤耐性結核の疫学情報の整理。東京病院、複十字病院、結核研究所、東北大学で保存されている多剤耐性結核菌の遺伝子解析。

SNPs を用いた遺伝子型分類システム。(加藤)

全ゲノムシーケンス。(切替、小林)

アジア諸国における多剤耐性結核に関する情報収集

アジア network を用いた結核菌分子疫学的解析による多剤耐性結核の同定。(加藤・鈴木・野内)

北京型特異的変異を用いた多剤耐性結核菌の多い北京型の同定。(服部・鈴木)

多剤耐性結核患者の治療反応性と関連する指標を探索し、治療管理の指標とする。(慶長)

HIV・腎不全などの合併結核の発症予防と調査

HIV 合併多剤耐性結核調査(国立病院機構)と HIV や腎不全などのリスクの高い群への IGRA 実施と発症予防対策。(永井・服部)

C. 研究結果

I. アジアの結核の特性

1. 黒竜江省のMDR（服部）

2007～2012年の間、中国、黒竜江省の入院結核患者の一次抗結核薬とフルオロキノロンの薬剤感受性検査を行った。1427の肺結核患者では64.3%の新規患者と35.7%の再治療患者であった。全体的に抗結核薬耐性は57%で、新規患者は48.7%と再治療患者は72.1%に昇った。MDR結核は2007～2012年の間に22.8%に検出され、再治療患者のMDR率は新規患者の3倍であった。単変量解析を用いてMDRのリスク因子が分析された結果、年齢（35-54歳）、再治療の繰り返し、空洞形成、短期入院と北京型結核菌感染がリスク因子であることを判明した。結核菌分離株の15.3%はクラスター化され、そして、クラスター化率は10.3%であった。薬剤耐性結核菌の9.3%とMDR結核菌分離株の6.5%はクラスター化され、それぞれのクラスターリング率は5.6%と5.2%であった。従って、薬剤耐性の結核菌の蔓延が黒竜江省で高く結核罹患率の理由である可能性は低いと思われる。

2. インドネシアの潜在性結核研究（服部）

A.

ほとんどの結核患者が男性であるが、健康者（HC）と潜在性結核感染症（LTBI）の大半が女性であった。LTBIの76%は医療従事者または活動性結核患者の家庭内接触者であった。TB患者はHCとLTBI群と比較して有意に高い血漿中の抗TBGL IgA、IgG、抗TDM-M、抗TDM-K及び抗LAM抗体タイターを示したがHCとLTBI群の間で有意差は観察されなかった。蛋白質抗原に対する抗体を調べた際には抗ACR抗体はグループの間に最高の識別性を示した。

B.

血漿中 osteopontin（OPN）濃度に関してはTB群がLTBIとHCに比較して、高値を示し、またLTBI群はHCに比べて有意に高い。Tenascin C（TN-C）はTB患者においてだけ高値であった。末梢血のGalectin-9（GAL-9）の濃度は各グループで異ならなかった。三つのMCPが結核患者において相関を示した。細胞内GAL-9とOPNの発現は結核・サルコイドーシス性肉芽腫に観察され、中央の乾酪壊死および線維輪には染色が見られなかった。また試験管内実験ではGAL-9およびOPNは濃度依存的にJurkat細胞死を示したが、THP-1細胞には影響を及ぼなかった。TN-Cは両細胞株での壊死作用を誘発しなかった。

3. 中国・韓国・日本の結核菌の比較（加藤）

東アジア地域（中国、韓国、台湾、日本）で、それぞれの地域で広まっている結核菌の特徴を明らかにし、比較するために、次世代シーケンサーを用いた解析から報告されている一塩基多型（SNP）分析法を利用した型別法で結核菌の解析を行った。

A. SNP変異検出用のプローブ

リアルタイムPCRでSNP分析する23箇所について、すべてのSNPサイトの変異を検出できる分析系（サイクリングプローブ：7箇所、TaqMan MBGプローブ：16箇所）を構築した（図1）。野生型塩基の検出コントロールとしてH37RvゲノムDNAが使用し、変異型塩基検出コントロールは臨床分離株の中から選択した。しかし、コントロール用の変異型DNAが得られなかった場合は、対応した変異を持ったDNAを化学合成しコントロールを準備した。

B. SNP法による分析と遺伝型

779615位の変異で北京型と非北京型、北京型はさらに1477596位の分析でancientとmodern型のへ型別を行い、結核菌を3グループ

ブに分けた。日本で分離された結核菌 219 株の場合、非北京型、北京型 ancient、北京型 modern は、それぞれ 62 (28.3%)、107 (48.9%)、50 (22.8%) だった。韓国からの 293 株では、49 (16.7%)、172 (58.7%)、72 (24.6%)、台湾からの 211 株では、123 (58.3%)、20 (9.5%)、68 (32.2%) だった。また中国四川省からの 130 株では、39 (30.0%)、32 (24.6%)、59 (45.4%) の割合だった。今までの型別法では NTF 領域への IS6110 の挿入の有無で、北京型結核菌は ancient 型と modern 型の 2 グループにしか分けることができなかった。しかし、本 SNP 分析システムで北京型結核菌を分析すると、少なくとも ancient 型は 4 グループ (BJ02.1-I、BJ03.1-I、BJ06-II 及び BJ07-III)、modern 型も 3 グループ (BJ09、BJ09.1 及び BJ11-III) に分けることができた。

C. 会議での合意事項

各地域で SNP 分析システム及び集団感染事例関連株を検出する目的で Supply (15) の VNTR 分析データを 2 月下旬までに集めることで合意が得られた。

4. 東京における結核 (小林)

A.

東京病院および国立国際医療研究センターにおいて最近 5 年間に経験した多剤耐性結核症例の診療情報について検討した。外国人結核と日本人結核の臨床像について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 2010 年以降の 4 年間で 116 名であり、とくに 2013 年には増加がみられ、国籍別ではベトナムおよびネパール出身者が増えた。入院患者のみの比較では、外国人結核では日本人結核に比べて年齢が低く、女性が多く、糖尿病が少なく、HIV 陽性が多かったが、胸部 X 線所見、空洞の率には差がみられなかった。薬剤耐性について

は、外国人結核では日本人結核と比較して、RFP 耐性率 ($p=0.027$) と多剤耐性率 ($p=0.012$) が有意に高値であった。

B. 新宿区における外国人結核

平成 25 年新宿区の年次別結核新登録状況では、一般 110 名、外国人 34 名、ホームレス 15 名で、外国人は増加傾向、ホームレスは減少傾向であった。外国人の国籍別では中国が最も多く、韓国、ベトナム、ミャンマーの順であった。外国人は 20 歳代の 31 例中 20 例、10 歳代の 6 例中 5 例を占めていた。多剤耐性は 3 年間で 8 例にみられたが、いずれも外国人であった (中国 4 名、韓国 1 名、フィリピン 1 名、ミャンマー 1 名、ベトナム 1 名)。

C. 多剤耐性結核症例

東京病院における多剤耐性結核症例は最近 5 年間で 12 例であり、うち初回治療が 4 例、再治

療が 8 例、塗抹陽性が 9 例、外国人が 4 例、HIV 陽性が 1 例であった。超多剤耐性はみられなかった。治療、予後については、治療完遂が 2 例、外来治療中が 2 例、他院で治療継続が 6 例、他疾患で死亡が 2 例であった。国立国際医療研究センターでは 5 年で 7 例の多剤耐性結核を診療しており、初回治療 3 例、再治療 4 例、外国人は 5 例、治療経過については化療中 3 例、転院 2 例、帰国 2 例であった。

D. 結核菌全ゲノム解読による分子疫学解析

結核菌の分子疫学解析に関しては、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 株の全配列を決定した。外国人由来株数は、中国が 22 株で最も多く、以下、韓国 18、フィリピン 10、ミャンマー 8、ネパール 7、ベトナム 4、インドネシア 3、インド 3、モンゴル 3、台湾 2、フランス 2、ペルー 2、その他イラン、

英国、ロシア、エチオピア、ソマリア、ナイジェリア、米国が各1株であった。とくに外国人由来株の大部分は lineage 2 (47.3%)、lineage 4 (25.3%) および lineage 1 (20.9%) であったが、日本人由来株は 82.7% が lineage 2 であった。薬剤感受性遺伝子の解析では、INH 耐性が 15 例、RFP 耐性が 1 例、LVFX 耐性が 2 例に検出されたが、MDR 株はみられなかった。また、Lineage 2 では non-Lineage 2 と比べて有意に耐性率が高いことが明らかとなった。

5. 結核菌の薬剤耐性・疫学検査の次世代シーケンサによる包括的解析法の開発と応用(切替)

2015 年 1 月、次世代シーケンサで取得した結核菌全ゲノム情報から、結核菌のタイピングと薬剤耐性の判定、そして菌株の間の関係を自動で解析するオンライン解析システム CASTB (Comprehensive analysis server of Mycobacterium tuberculosis complex、キャストビー) と命名し、<http://castb.ri.ncgm.go.jp/CASTB/> で公開した。栃木県で分離された 122 株のゲノム配列を次世代シーケンサで決定し、そのデータを CASTB で解析した。すべての株で CASTB の結果を得ることができた。CASTB 解析による薬剤耐性遺伝子変異の検出においては、多剤耐性結核菌株は 0 株であった。すべての株の LSP 解析が可能であった。系統 1 (インド・オセアニア系統) に属する株が 8 株 (9%)、系統 2 (東アジア系統、北京型) が 58 株 (67%)、系統 4 (ユーロ・アメリカ系統) 23 株 (27%) であり、系統 2 は、祖先型 (ancient 型) が 39 株 (全体の 45%) 及び新興型 (modern 型) 19 株 (全体の 22%) であった。調べたすべての分離株で、スポリゴタイピングが決定できた。スポリゴタイピングで北京型であった株はすべて LST でも系統 2 (北京型) であった。一方、VNTR はほとんどの株で

決定できなかった。

II. 薬剤耐性遺伝子の解析

1. スリランカ、ネパール、バングラデシュ、ミャンマーおよびタイとの結核研究ネットワーク活用による多剤耐性結核の分子疫学解析 (鈴木)

2010 年にミャンマー保健省医学研究局、並びにミャンマー国家結核プロジェクトにおいて分離された 178 株の多剤耐性結核菌株の katG 遺伝子、inhA 遺伝子並びに rpoB 遺伝子の塩基配列を分析し、INH 並びに RFP 耐性に係る遺伝子変異の存在様式と存在割合を明らかにした。その結果、約 60.5% の株において katG 遺伝子、inhA 遺伝子の何れかまたは両方に遺伝子変異が見出された。また、66.5% の株において rpoB 遺伝子上に変異が見出された。

2. 難治性結核の分子疫学解析 (野内)

タイ・チェンライ県において、難治性結核患者 (多剤耐性・再発・治療失敗例) の検体バンクとコホート研究を実施している。昨年、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 EAI 株と非 EAI 株 (主に北京株) を分類し、1 年間での死亡に関しての危険因子を見たところ、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 3.33 倍 1 年死亡の危険が高かった。北京株ではストレプトマイシン耐性の比率が 16.1% と非常に高く、EAI 株の 3.7% と比してオッズ比 = 4.98 (95% 信頼区間 2.95-8.37) 関連が強いので、最初の検討薬剤とした。ストレプトマイシン耐性は rrs、rpsL、gidB 遺伝子の突然変異に原則、関連しているが、これらの突然変異の

頻度は地域により大きく異なる。本年度は、ストレプトマイシン耐性株 112(北京株 83、EAI 株 16 含む) と薬剤感受性株 52(北京株 17、EAI 株 16 含む) に関して rpsL、rrs、gidB 遺伝子変異を同定した。rpsL 遺伝子変異 68 株中 65 株 (95.6%) が北京株で強い関連が認められた。gidB 遺伝子変異の場所は菌株により非常に異なり、北京株と EAI 株で特異的な変異と考えられる場所もあった。

III. 薬剤耐性結核患者の早期発見・治療

1. 大阪市における多剤耐性結核の分析：患者支援強化の効果および外国人結核患者の治療支援強化（下内）

A. 医療通訳派遣システムの構築

①外国人結核患者数と医療通訳利用割合 2012 年から 2014 年までの期間、医療通訳利用はそれぞれ 1 名 (2.8%)、2 名 (4.7%)、3 名 (9.7%) と年々増加していた。

②2014 年の外国人結核患者の状況と通訳利用状況 2014 年登録の 31 名 (2015 年 2 月現在) の出身国は、中国 45.2%、韓国 29.0%、ベトナム 9.7%と続き、フィリピン、インドネシア、タイ、ペルーがそれぞれ 1 名ずつ (3.2%) であった。日本語が全く理解できない者は 6 名おり、医療通訳の利用者はそのうち 2 名 (33.3%) であった。残る 4 名にはすべて、個別通訳 (家族や派遣元会社職員、日本語学校教師など) が同席していた。医療通訳を導入した 3 名ではすべて DOTS を導入することができた。

B. 大阪市における多剤耐性肺結核の状況

2009～13 年に登録された肺結核 (INH および RFP の感受性が判明しており総合患者分類が肺結核のもの) のうち、非 MDR は 3491 名、MDR は 43 名 (1.2%) であった。再治療の割合をみると、非 MDR 群では 326 名 (9.3%)、MDR 群では 18 名 (41.9%) であり、MDR 群で有意に高かった ($p < 0.001$)。外国人の割合をみると、初回

治療では非 MDR 群 70 名 (2.2%)、MDR 群 4 名 (16.0%)、再治療では非 MDR 群 5 名 (1.5%)、MDR 群 4 名 (22.2%) であり、初回治療・再治療ともに MDR 群で外国人の割合が有意に高かった (いずれも $p < 0.001$)。MDR のうち、XDR が 7 名 (21.9%) を占めていた。外国人はすべて非 XDR 群に属し、外国人の割合は初回治療・再治療でそれぞれ 26.7%、30.0%であった。XDR 群はすべて日本人であった。

2. 結核菌迅速薬剤感受性検査法の臨床応用に関する研究（露口）

2012-2013 年の臨床検体において、RFP 耐性検出検査としての LiPA の感度は 93.3%、特異度は 100%であった。LiPA で耐性と判定された検体のうち小川比率法で多剤耐性と判定されたのは 71.4%であった。LiPA で R2 パターンで RFP 耐性と判定された例で、RFP は無効であったが RBT が有効と考えられた例が存在した。

IV : 宿主要因解析

1. ベトナムの多剤耐性結核患者の免疫状態の制御に関わる因子の研究（慶長）

A. 多剤耐性結核における血漿中濃度、BMI との相関すでに一部報告しているように、多剤耐性結核患者 (N=58) は、男性 43 名、女性 15 名で、中央値 39.5 歳である。血漿中の各指標の平均値は CRP 11.00 ($\mu\text{g/ml}$)、adiponectin 12.06 ($\mu\text{g/ml}$) であり、CRP の明らかな高値、adiponectin の高値傾向を認めた。

B. 多剤耐性結核における血漿中脂質代謝マーカーと全血中の免疫関連マーカーとの相関 多剤耐性結核で、adiponectin は IL12 レセプター β 鎖 2、IL2 と有意な負の相関を示した ($\rho = -0.412$, $\rho = -0.399$)。

C. 多剤耐性結核における血漿中脂質代謝マーカーと全血中免疫系転写因子との相関

多剤耐性結核における血漿中脂質代謝マーカーと全血中免疫系転写因子との相関性で多重比較に関わらず有意差が見られた組み合わせは adiponectin と FOXP3 の逆相関($\rho = -0.553$)であった。

2. NHO 病院における HIV 合併多剤耐性結核の実態調査に関する研究 (永井)

2013 年は、143 施設中 69 施設 (48%) から回答があった。総結核患者数は 3145 例であり、そのうち HIV 合併者は 10 例 (0.32%) であった。全例男性であり、国籍は日本 8 例、中国 1 例、インドネシア 1 例であった。平均年齢は 43.9 歳 (27~76 歳) であった。肺結核 4 例、粟粒結核 2 例、リンパ節結核 1 例、結核性胸膜炎 1 例、脳結核 1 例、腸結核その他 1 例であった。結核菌の耐性なしは 8 例、INH・PZA・TH 耐性 1 例、MDR-TB 1 例であった。MDR-TB は 2007 年の調査以降、HIV/TB 106 例中 3 例となった。いずれも男性であり、国籍は日本 1 例、中国 2 例であった。CD4 数はいずれも $100/\mu\text{l}$ 以下であり、粟粒結核 2 例、肺結核 1 例であった。1 例が死亡したが、2 例は治癒した。

3. 国内の腎不全者の潜在性結核研究 (服部、芦野、宮崎、白鳥)

ESRDの臨床診断は糖尿病性腎症 (5人)、IgA腎症 (5人)、腎硬化症 (4人)、膜性腎炎 (3人)、顕微鏡的多発血管炎 (3人)、Henloch-Schonlein 紫斑病性腎炎 (2人)、ループス腎炎 (2人)、腎アミロイドーシス、多発性嚢胞腎、POEMS、慢性糸球体腎炎、メサングウム増殖性糸球体腎炎や急速進行性糸球体腎炎はそれぞれ一人であった。T-SPOT. TBの陽性者8人 (26.6%) で、一人の患者において結果は判定保留であった。陰性者に比べて陽性者はMDP-1H37Rv、Ag85A及びAg85Bに対するスポット数は多い傾向があった

がアッセイの感度性と特異性は低値を示した。またESRD患者は結核感染にかかわらず正常人に比べて血漿中osteopontinの高値を示した。T-SPOT. TB陽性者は糖尿病性腎症患者の5人中3人 (60%)、IgA腎症患者の5人中2人 (40%)、腎硬化症患者の4人中1人 (25%)、膜性腎炎の患者の3人中1人 (33%) とメサングウム増殖性糸球体腎炎の1人の患者 (100%) に認めた。

D. 考察

I. アジアの結核の特性

1. 黒竜江省の MDR (服部)

中国の結核治療の規制に基づいて、DST が利用できない場合、すべての新規肺結核症例に一次抗結核薬によって無料の治療が行われている。本研究の病院では、DSTの適用は2009年に20%未満であって、2010年から2012年に増加したが、培養陽性の結核患者の50%にしか施行できなかった。これが一次抗結核薬の耐性またはMDR結核の増加のひとつの重要な因子である。また多くの結核患者が抗結核治療の開始の直後に退院させられ、結核感染症の拡散を引き起こす。中国にはフルオロキノロンのDSTは普段から行われていないため、薬剤耐性菌の発生状況のデータが不十分である。

2. インドネシアの潜在性結核 (服部)

A.

活動性結核とLTBIでは病期に応じて抗原の発現が異なり、それによって体液性免疫応答が影響を受け、病期に依存した特異的な抗体の産生につながる。さらに特異的抗体の産生は、結核菌負担、抗原のアクセシビリティ、抗原の化学構造及び局在などのいくつかの要因に依存する。MTB蛋白質抗原がTBにおける強力な免疫応答を誘発し、様々な抗原の組合せによって血清診断の改善が期待される。

B.

疾患活動性に関連する OPN 上昇の概念は報告され、ここでは OPN 濃度と疾患の重症度との関連を明らかにした。血漿中の OPN 濃度の変動は TB の、再活動化のシグナルのひとつであると考えられる。TN-C の上昇は肉芽腫形成、特に線維化を反映すると考える。予想外に血漿中の GAL-9 は LTBI と活動性結核で高値ではなかった。GAL-9 が末梢血への産生より肉芽腫で局在し、感染部位での特異的な役割を果たしている可能性がある。

3. 中国・韓国・日本の結核菌の比較 (加藤)

今回用いた SNP 部位の分析では、国や地域が違っても北京型の ancient 型や modern 型における主要な遺伝型は変わらないことがわかった。しかし、マイナーなサブグループが存在し、特定の地域だけに存在するサブグループもあることから、適切に SNP 部位を選択すれば、より有用な型別ができると考えられる。各地域の結核菌は、日本と四川省の株は人口ベースで、韓国と台湾は全国レベルで集めた株から選択した株で収集方法が異なった。しかし、非北京型、北京型 ancient、北京型 modern 存在割合を調べると、台湾は非北京型結核菌が 6 割程度占めていること、日本、韓国は北京型 ancient が多いこと、また中国は modern 型が主要な遺伝型であること、など既に報告されている各地域の特徴を反映したものであった。共同研究により共通の手法を利用してこれらの株を解析することで、各国で広まっている結核菌を直接比較することができる。その結果、それぞれの地域での特徴を明らかにすることができる。今後、本システムの有用性が確認され、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、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。

4. 東京における結核 (小林)

A. 東京における外国人結核

現在、日本では入国時の胸部 X 線健診が行われておらず、各自治体を実施している学校健診が結核の発見に有効である。新宿区保健所で最近 3 年間で 8 例の多剤耐性結核の発症がみられ、しかも、いずれも結核蔓延国出身の外国人であった。とくに母国にて治療歴のある例では、日本に入国した後も再発に関して慎重に経過を追う必要があると思われる。

B. 東京における多剤耐性結核

東京都にある 2 つの病院における多剤耐性結核患者は 5 年間で 19 例で、そのうち外国人は 9 例 (47%) であり、日本全体の結核登録者数の中における外国人の占める割合 (約 5%) に比べて明らかに高率であった。しかし、新宿区の病院では 7 例中 5 例 (71%) が外国人であるのに対し、清瀬市の病院では 12 例中 4 例 (33%) が外国人であり、同じ東京でもその割合に違いがあることが窺われた。多剤耐性結核といっても地域による差があると考えられ、全国規模の疫学調査が必要であると思われる。

C. 結核菌全ゲノム解読による分子疫学解析

本研究では、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、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。薬剤耐性率については日本人由来株と外国人由来株では有意差はみられなかったが、更に株数を増やして検討する必要がある。

5. 結核菌の薬剤耐性・疫学検査の次世代シーケンサによる包括的解析法の開発と応用 (切替)

朽木県で過去2年間（2007-2008年）の臨床分離結核菌株を用いて、CASTBの有効性を検討した。その結果、地域の疫学情報として、きわめて精度の高い分子疫学情報を得ることができると実証した。特に薬剤耐性遺伝子変異情報、スポリゴタイピング、系統の同定、SNPSsコンカタネーションによる系統樹作成にはきわめてすぐれた排斥ソフトであることがわかった。CASTB解析の問題点もいくつか明らかとなってきた。一つは、VNTRがほとんどすべての菌株でできなかつた。これは、CASTB解析の問題ではなく、現行の次世代シーケンサ MySeq のデータのリード長が短いため、シーケンスのギャップが生じるためと考えられる。現場で使用できるリード長が比較的長いシーケンサの開発が必要であろう。CASTBでは、既知の薬剤耐性変異しか特定できない。臨床分離株における未知の薬剤耐性変異の監視も今後必要である。

II. 薬剤耐性遺伝子の解析

1. スリランカ、ネパール、バングラデシュ、ミャンマーおよびタイとの結核研究ネットワーク活用による多剤耐性結核の分子疫学解析(鈴木)

解析した178株の多剤耐性結核菌株のうち約29.5%においてkatG遺伝子、inhA遺伝子の両方に遺伝子変異が見出されず、33.1%の株においてrpoB遺伝子上に変異が見出されなかつた。バングラデシュにおいて分担研究者が実施した同様の研究においては、katG遺伝子またはinhA遺伝子の何れかまたは両方に遺伝子変異が見出された株は94%、rpoB遺伝子上に変異が見出された株は95%であった。また、ネパールにおいて実施した同様の実験においても、katG遺伝子またはinhA遺伝子の何れかまたは両方に遺伝子変異が見出された株は95%、rpo遺伝

子上に変異が見出された株は97%であった。周辺国（インド、タイ、その他）より報告されている同様な実験により得られたデータにおいてもバングラデシュ、ネパールと同様の高い割合で薬剤耐性関連遺伝子変異が検出されていた。以上の情報を総合して考えると、ミャンマーにおける結核菌の薬剤感受性試験法の精度が高くないものと推察された。

2. 難治性結核の分子疫学解析(野内)

タイで、今回の結核菌LSP/RD分析はSpoligotypingで確認するが、別プロジェクトであるSNP解析や次世代シーケンサー解析でも確認し比較する事が望まれる。臨床情報を活用し、北京Ancientと北京Modernも含む比較を非EAI株内部の違いを検討する必要がある。日本において、タイと同様に難治性結核の経時的な部分を含めた菌体の分子疫学解析が期待される。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。実際、服部班長との共同研究の参加者で、フィリピンで流行している菌株が日本人にも認められている。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。

III. 薬剤耐性結核患者の早期発見・治療

1. 大阪市における多剤耐性結核の分析：患者支援強化の効果および外国人結核患者の治療支援強化(下内)

A. 医療通訳派遣システムの構築

医療通訳利用の是非は、担当保健師が当該患者と面接した際の印象をもとに決定した。保健師が医療通訳不要と判断したケースでも、その後十分な治療支援ができなかつたケースがみら

れた。患者や個別通訳が医療用語、診断までの経過、治療の必要性、公費負担制度などを母国語と同等に理解することは困難と思われるため、保健師が医療通訳不要と判断しても医療通訳を利用するシステムへと変更していくことが重要である。

B. 患者と個別通訳との関係

たとえば疫学調査のため、勤務先の個別通訳が患者と保健師との面談に同席し、患者が接触者について話すことにより患者が解雇等不利益を被るのではないかと危惧し、その情報を保健師に伝えない可能性がある。そのため、たとえ個別通訳がいたとしても、場合によっては個別通訳に席をはずしてもらい、第三者である医療通訳が同席して面接することも必要である。医療通訳には結核に関する知識とともに、個人情報保護の責任があることを研修の中で伝えており、このような専門性の高い医療通訳を利用して患者面接を実施することは重要である。

C. 大阪市における多剤耐性肺結核の状況

2009～2013年の肺結核では、MDRは再治療、外国人で有意に高く、平均年齢をみると、初回治療、再治療ともに日本人では平均年齢60歳代に対し、外国人では30歳前後と若年者が多かった。XDRは日本人では3割近くを占めているのに対し、外国人では1例もみられなかった。これはKMやLVFXの日本での使用状況が影響していると考えられ、特にLVFXを適切に使用するよう医療機関に啓発していく必要があると考えられた。

2. 結核菌迅速薬剤感受性検査法の臨床応用に関する研究（露口）

LiPAは多剤耐性結核のスクリーニング法として有用であり、またRFP無効、RBT有効例の検出にも有用と考えられた。

I V：宿主要因解析

1. ベトナムの多剤耐性結核患者の免疫状態の制御に関わる因子の研究（慶長）

本研究では、宿主の免疫状態に関する情報を、免疫を制御する役割を果たす転写因子に注目して、宿主の栄養状態との関連性を検討した。宿主の栄養状態が宿主の感染防御免疫能に深く関連することは臨床疫学的によく知られており、動物モデルによる実験的根拠も多く提出されている。また栄養状態は介入し、改善可能な要因であることから、栄養と感染症の問題を適切なバイオマーカーを用いて検討することは重要と考えられる。このような脂質代謝マーカーの値の高低が、血液細胞中の免疫関連遺伝子発現と相関するのかどうか検討したところ、特にadiponectinとTh1系サイトカイン、レセプター群の発現との間で逆相関が認められたが、制御性T細胞の最も良いマーカーと言われるFOXP3遺伝子の発現がやはりadiponectinと逆相関していた。Adiponectinとリンパ球機能の逆相関については、低栄養による二次的なadiponectinの高値、リンパ球数の低下、mRNAの低下に基づく可能性が考えられるが、FOXP3遺伝子発現量が同時に減少していたことは、通常、活動性結核や慢性炎症状態では、FOXP3陽性CD4陽性細胞の比率が増加して、Th1系を制御することと一見乖離する結果であった。何らかのフィードバックメカニズムや、制御性T細胞以外の血液細胞における過剰発現などが疑われた。

2. NHO病院におけるHIV合併多剤耐性結核の実態調査に関する研究（永井）

今回の調査では、2013年の総結核患者数は3145例であり、そのうちHIV合併者は0.32%であり、この頻度は例年よりも低下している。HIV合併MDR-TBを1例認めたが、2007年からMDR-TB合併例は3例に過ぎず、増加傾向にはない

と考えられた。今後、症例の集積を続け、MDR-TB の増加が見られるのか注視する。

3. 国内の腎不全者の潜在性結核研究 (服部、芦野、宮崎、白鳥)

日本において ESRD 患者の結核感染症に関する情報は不十分であり、本研究の結果は感染率が高いことを示した。この結果は医療環境における患者の結核への曝露と ESRD 患者の結核に感受性の増加によると思われる。糖尿病 ESRD 患者が活動性結核を発症するダブルリスク抱えるので持続的に結核モニターを行うことは必要と考えられる。ESRD 患者の結核検査と潜在性結核感染症の治療は日本で有効であるかどうかは検討するべきである。

E. 結論

I. アジアの結核の特性

1. 黒竜江省の MDR (服部)

本研究では、MDR 結核菌分離株の約 21% がフルオロキノロン耐性を示した。さらに、フルオロキノロンは一般的な抗菌薬として広く使用され、抗菌薬乱用が見られる。フルオロキノロン耐性の制御には MDR-TB 症例の適切な管理と抗菌薬の正しい使用が不可欠である。

2. インドネシアの潜在性結核研究 (服部)

A. ACR と糖脂質抗原に対する抗体の測定は活動性結核の有望な血清学的診断の方法と期待され、そのタイトルの増加は潜在性結核感染の再活性化のシグナルであると考えられる。

B. 血漿中 OPN および TN-C レベルは結核の活動を反映し、血漿中の濃度の変動は病期を表すと考えられる。TB 肉芽腫での GAL-9 局在を示し、病理組織学的診断に有用なマーカーであり得ることを示唆した。In vitro で細胞死を調べた結果によって、GAL-9 は肉芽腫形成に関与す

る因子の一つであると考えられる。

3. 中国・韓国・日本の結核菌の比較 (加藤)

会議への参加国だけでなくアジアの国や地域で共通で利用できる型別法が開発され、それぞれの国で広まっている結核菌の特徴を明らかにすることができれば、感染場所 (国や地域) を推定することができると考えられる。多くの国や地域との共同研究を通して、コアとなる共通の分析法を樹立し、情報を共有できるシステムができれば、高病原性結核菌等の流入を早期に把握することも可能となる

4. 東京における結核 (小林)

東京都新宿区における最近の外国人結核の特徴としては、多剤耐性結核が増加しており、菌は母国からの流入によるものと考えられる。東京在住の外国人結核株は日本人株と比べて遺伝子的な多様性があり、世界的に多様な結核菌を国内に持ち込んでいる。日本人にとって、外国人からの結核感染のリスクのあることを示唆している。

5. 結核菌の薬剤耐性・疫学検査の次世代シーケンサによる包括的解析法の開発と応用 (切替)

2015 年に公開された、次世代シーケンサで取得した結核菌全ゲノム情報から、結核菌のタイピングと薬剤耐性の判定、そして菌株間の関係を自動で解析するオンライン解析システム CASTB を用いて、栃木県で分離された結核菌株を解析した。その結果、CASTB 解析が結核疫学にきわめて有効であることが実証された。

II. 薬剤耐性遺伝子の解析

1. スリランカ、ネパール、バングラデシュ、ミャンマーおよびタイとの結核研究ネットワーク活用による多剤耐性結核の分子疫学解

析（鈴木）

本研究で得られたデータは、ミャンマーにおいて実施されている薬剤感受性試験法の精度管理に問題がある可能性を示唆するものであった。当該情報は、ミャンマー保健省医学研究局、並びにミャンマー国家結核プロジェクトの関係者と共有し、原因の究明を通じて今後の精度管理の向上に役立てる事とする。

2. 難治性結核の分子疫学解析（野内）

北タイ・チェンライ県において、HIV 感染状況毎に難治性結核患者（多剤耐性・再発・治療失敗例）の検体バンク・コホート研究を実施し、類似した研究を複十字病院で進めた。

III. 薬剤耐性結核患者の早期発見・治療

1. 大阪市における多剤耐性結核の分析：患者支援強化の効果および外国人結核患者の治療支援強化（下内）

外国人結核では、治療中断および国外転出が多い。中断を防ぐために医療通訳をすべての外国人結核患者に導入し、結核に関する説明を入念に行い、DOTS の必要性を理解してもらうことが重要である。患者や個別通訳が医療用語、診断までの経過、治療の必要性、公費負担制度などを母国語と同等に理解することは困難と思われるため、保健師が医療通訳不要と判断しても医療通訳を利用することが重要である。また大阪市の肺結核では再治療、外国人に MDR が多く、外国人結核の早期発見・治療支援が MDR 対策にもつながると考えられた。日本人では XDR が約 3 割認められたのに対し、外国人では 1 例もみとめられなかったことより、KM や LVFX などの 2 次抗結核薬について適切に使用されるよう医療機関へ啓発する必要があると考えられた。

2. 結核菌迅速薬剤感受性検査法の臨床

応用に関する研究（露口）

LiPA は多剤耐性結核のスクリーニング法として有用であり、また RFP 無効、RBT 有効例の検出にも有用と考えられた。

IV：宿主要因解析

1. ベトナムの多剤耐性結核患者の免疫状態の制御に関わる因子の研究（慶長）

治療中のベトナム人多剤耐性結核患者 58 名について、血液細胞中の免疫関連転写因子の遺伝子発現量と脂質代謝マーカーの血中濃度との相関について検討した。その結果、adiponectin の高値は、Th1 系サイトカインとそのレセプターの発現減弱と関連するだけでなく、制御系 T 細胞のマーカーである FOXP3 の遺伝子発現量減弱とも関連していた。結核と栄養代謝免疫指標の密接な関連を示したものと解釈できる。予後との関連は、更なる研究により明らかにすることができると考えられる。途上国では、これらの栄養代謝免疫指標を用いたアプローチは有用と思われる。

2. NHO 病院における HIV 合併多剤耐性結核の実態調査に関する研究（永井）

HIV/TB の症例数はやや減少傾向にある。HIV 合併 MDR-TB の増加傾向を認めなかったが、今後とも注意を払っていく必要がある。

3. 国内の腎不全者の潜在性結核研究（服部、芦野、宮崎、白鳥）

今回の研究で ESKD 患者における潜在性結核感染症の判定に T-SPOT. TB は有用と考えられるが、陽性率 26.6%と高い値を示したことについては長期的に経過観察する必要がある。また、結核休眠期抗原の有益性は見いだせなかった。血清診断に用いた抗 TBGL 抗体の測定感度は低く（37.5%）潜在性結核感染症の診断方法として有用ではないと考えられる。

中国の黒龍江省における多剤耐性結核

業務主任者 服部 俊夫
研究協力者 Hong Ling

東北大学 災害科学国際研究所 災害感染症学分野教授
ハルビン医科大学、微生物学教室教授

研究要旨

2007～2012年の間、中国、黒龍江省の入院結核患者の一次抗結核薬とフルオロキノロンの薬剤感受性検査を行った。一次抗結核薬耐性と多剤耐性（MDR）の率はそれぞれ 57.0%と 22.8%であった。検出された多剤耐性率は他の中国の地域に比べて高いが、2010-2011年に比べ減少傾向があった。MDRが高い原因としては治療薬の不適切な乱用があると考えられる。MDR 結核菌分離株の約 21%は levofloxacin と moxifloxacin 耐性と約 13%は五つのフルオロキノロン耐性が観察され、結核治療に使用できるフルオロキノロン薬の選択肢が限られている。一次抗結核薬の耐性のコントロールは外に耐性出現予防的規制を強化することも重要であることを本件急が示唆している。特に標準的な入院、空洞を有する結核患者の管理、および薬剤感受性試験（DST）の実施は重要である。また、フルオロキノロン耐性結核の蔓延を制御するため、フルオロキノロンの使用ガイドラインを厳密にすることは不可欠である。

A. 研究目的

近年では、中国の結核感染症の罹患率と有病率は減少傾向を示すが、中国は世界第2位の結核高感染国である。中国の各地域の薬剤耐性結核の流行傾向は大きく異なり、そして最近では、中国において活発な国内の移動によって結核の蔓延が引き起こされ、その結果、重大な公衆衛生上の問題が生じた。黒龍江省は中国東北部に位置しており、結核と薬剤耐性結核の有病率は中国での平均よりも高い。本研究では 2007 から 2012 年の間に黒龍江省における一次抗結核薬とフルオロキノロン薬耐性のリスク因子と結核菌臨床分離株の耐性の傾向を分析した。全国と地域の結核リスク因子の分析によって結核の蔓延と薬剤耐性を制御することが可能となる。

B. 研究方法

Harbin Chest Hospital で 2007～2012 年の間に診断された黒龍江省の様々な地域の 1427 の

結核患者の臨床分離株が収集され、一次抗結核薬と 5 種類のフルオロキノロン系抗菌薬（levofloxacin, sparfloxacin, moxifloxacin, gemifloxacin, gatifloxacin）の DST と MIC が実施された。培養した結核菌の DNA を抽出し、16S rRNA, Rv0577, Rv2073c と Rv3120 の同定は PCR 法で検出された。北京型の結核菌は RD105 deletion PCR 法によって確認された。QUB11b, QUB26, MIRU31, MIRU4, MIRU26, Mtub4, MIRU40, Mtub21, Mtub39, MIRU10, Mtub30, MIRU39, ETR-A, MIRU16 と QUB4156 の loci が VNTR で検出された。

C. 研究結果

1427 の肺結核患者では 64.3%の新規患者と 35.7%の再治療患者であった。全体的に抗結核薬耐性は 57%で、新規患者は 48.7%と再治療患者は 72.1%に昇った。MDR 結核は 2007～2012 年の間に 22.8%のケースに検出され（図 1.）、再治療患者の MDR 率は新規患者の 3 倍であった。

MDR 結核の 38.5%は levofloxacin 耐性、levofloxacin と moxifloxacin 耐性は 21%、さらに 13.5%は五つのフルオロキノロン耐性を示した (表 1.)。単変量解析を用いて MDR のリスク因子が分析された結果、年齢 (35-54 歳)、再治療の繰り返し、空洞形成、短期入院と北京型結核菌感染がリスク因子であることを判明した。結核菌分離株の 15.3%はクラスター化され、そして、クラスター化率は 10.3%であった。薬剤耐性結核菌の 9.3%と MDR 結核菌分離株の 6.5%はクラスター化され、それぞれのクラスターリング率は 5.6%と 5.2%であった。従って、薬剤耐性の結核菌の蔓延が黒龍江省で高く結核罹患率の理由である可能性は低いと思われる。

D. 考察

中国の結核治療の規制に基づいて、DST が利用できない場合、すべての新規肺結核症例に一次抗結核薬によって無料の治療が行われている。本研究の病院では、DST の適用は 2009 年に 20%未満であって、2010 年から 2012 年に増加したが、培養陽性の結核患者の 50%にしか施行で

きなかった。この不適切な DST の適用は一次抗結核薬の耐性または MDR 結核の増加のひとつの重要な因子である。まだ感染性の可能性はあるにもかかわらず、多くの結核患者が抗結核治療の開始の直後に退院させられ、結核感染症及び MDR 結核の拡散を引き起こす。中国にはフルオロキノロンの DST は普段から行われていないため、薬剤耐性菌の発生状況のデータが不十分である。近年では、levofloxacin は最も頻繁に使用されるフルオロキノロンで、MDR 結核治療の第一選択のフルオロキノロンとなっている。Moxifloxacin は中国の結核診療ガイドラインに基づくフルオロキノロン系の代替薬として使用されている。

E. 結論

本研究では、MDR 結核菌分離株の約 21%が両フルオロキノロン耐性を示した。さらに、フルオロキノロンは一般的な抗菌薬として広く使用され、抗菌薬乱用が見られる。フルオロキノロン耐性の制御には MDR-TB 症例の適切な管理と抗菌薬の正しい使用が不可欠である。

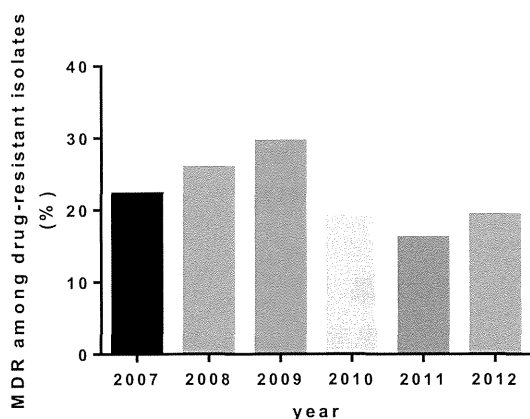


図 1. 薬剤耐性結核菌中の MDR の検出率。

Combination of fluoroquinolones	Resistance among MRD isolates (%)
Lfx + Mfx	21.2
Lfx + Mfx +Gfx	15.4
Lfx + Mfx +Gmx	17.3
Lfx + Mfx +Sfx	15.4
Lfx + Mfx +Sfx+ Gmx	15.4
Lfx + Mfx +Gfx+ Gmx	13.5
Lfx + Mfx+ Gfx +Sfx	13.5
Lfx + Mfx + Gfx +Sfx+ Gmx	13.5

表 1. MDR 結核菌分離株中のフルオロキノロン耐性結核菌の検出率