

5. 参考文献

- 1) 結核研究所疫学情報センター： 結核年報2012 (1) 結核発生動向速報・外国生まれ結核. 結核. 2014 ; 89 : 619-625.
- 2) 結核研究所疫学情報センター： 結核発生動向速報・外国生まれ結核.
<http://www.jata.or.jp/rit/ekigaku/info/kaisetu/> (2015年2月1日アクセス).
- 3) 結核研究所疫学情報センター： 結核対策活動評価図2012年.
<http://www.jata.or.jp/rit/ekigaku/info/hyouka/> (2015年2月1日アクセス).
- 4) 大森正子： 結核サーベイランス情報からみた薬剤耐性結核患者の背景. 結核. 2012 ; 87 : 357-365.
- 5) 津田侑子, 松本健二, 小向潤, 他： 外国人肺結核の治療成績と背景因子の検討. 結核. 2014 ; 90 : (印刷中).
- 6) 松本健二, 倉島篤行, 他： どうするの、結核は!! jmedmook. 2015; 36: .

結核菌迅速薬剤感受性検査法の臨床応用に関する研究

担当責任者 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

多剤耐性結核は難治性の結核であり、患者本人の治療が困難であるのみならず、他人へ感染させた場合の影響が甚大なものとなるため、迅速な診断が必要である。近年、結核菌のリファンピシン（RFP）耐性遺伝子変異をラインプローブアッセイ（LiPA）により検出する迅速薬剤感受性検査法が実用化されつつある。NHO 近畿中央胸部疾患センターではすべての新規入院結核患者の喀痰検体に対して LiPA を施行している。本研究では従来の薬剤感受性法との相関について評価を行い LiPA の臨床的有用性を評価することを目的とした。2012 年から 2013 年の間に LiPA を施行した検体は 425 検体であり、このうち培養で結核菌を検出し従来法が施行できたのは 403 検体であった。LiPA で RFP 感受性と判定された 384 検体中従来法で RFP 感受性であったのは 383 検体、LiPA で RFP 耐性と判定された 14 検体はすべて従来法でも RFP 耐性であった。LiPA の感度は 93.3%、特異度は 100%であった。また LiPA で RFP 耐性と判定された 14 検体のうち小川比率法でイソニアジド（INH）耐性と判定されたのは 10 検体（71.4%）であった。LiPA で R2 プローブに相当する *rpoB* コドン 516 変異では、RFP 耐性、リファブチン（RBT）感受性となりうる事が知られているが、当院で LiPA で R2 プローブと判定された多剤耐性結核症例で、RBT を含む化学療法を行い少なくとも短期的には改善を認めた症例を経験した。以上より、LiPA は多剤耐性結核の迅速なスクリーニング法として有用であり、多剤耐性結核患者の迅速な隔離および適切な治療開始にあたって重要な検査となりうる事が示され、さらに RBT の有効性を判定する上でも有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

多剤耐性結核は難治性の結核であり早急に診断して適切な治療を行うことが求められる。また他人へ感染させた場合の影響は甚大なものとなる。多剤耐性結核が感受性結核患者へ院内感染しうる事が報告されており、その意味でも迅速に診断して隔離し速やかに治療を行うことが必要である。近年、結核菌の薬剤耐性遺伝子変異を検出することによる迅速診断法が実用化されつつあり、実臨床現場においてこの方法の有用性を検討することを目的とする。

B. 研究方法

NHO 近畿中央胸部疾患センターでは、新規に入院した患者から分離された喀痰検体に対しては、PCR で結核と診断されればジェノスカラーキット®によるラインプローブアッセイ（LiPA）を行ってリファンピシン（RFP）耐性遺伝子である *rpoB* 変異を検出し RFP 耐性の有無を調べている。RFP 耐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。喀痰検体は同時に通常の抗酸菌塗抹・培養検査も行い、培養で結核菌が検出されれば MGIT®、小川比率法による従来の薬剤感受性検査を行っている。

今回の検討では、LiPA と従来法の相関、また LiPA での *rpoB* の変異パターンと従来法との相関等につき後ろ向きに検討し、臨床的有用性についての評価を行った。

C. 研究結果

1) LiPA と従来法の相関について

2012 年から 2013 年の間に NHO 近畿中央胸部疾患センターにおいて、PCR で結核と判定され LiPA を施行した検体は 425 検体であった。うち 22 検体は培養で菌が発育しなかったため従来法による感受性検査を行えたのは 403 検体であった。LiPA で RFP 感受性と判定されたのは 384 検体で、そのうち従来法で RFP 感受性と判定されたのは 383 検体であった。LiPA で RFP 耐性と判

定されたのは14検体で、すべて従来法でもRFP耐性であった。LiPAで判定不能であったのは5検体で、すべて従来法でRFP感受性であった。従って、RFP耐性を検出する検査としてのLiPAの感度は93.3%、特異度は100%となる。

2) 多剤耐性結核のスクリーニング法としてのLiPAの有用性

LiPAでRFP耐性と判定された14検体(すべて従来法でもRFP耐性)のうち、MGIT法でイソニアジド(INH)耐性と判定されたのは13検体であった。このうち3検体は、小川比率法ではINH感受性と判定された。すなわち、LiPAでRFP耐性と判定された検体のうち、MGIT法を基準とすれば92.9%が多剤耐性であり、小川比率法を基準とすれば71.4%が多剤耐性であった。

3) リファブチン(RBT)感受性検査法としてのLiPA

*rpoB*のコードン526、コードン531の変異ではすべてのリファマイシン系薬剤に耐性となるが、コードン516の変異ではRFPには耐性だがRBTには感受性と判定される例があることが知られている。この変異はLiPAではR2プローブに相当する。NHO近畿中央胸部疾患センターにおいて、LiPAでR2プローブ陽性と判定され、従来法ではサイクロセリン(CS)以外はINH、RFPを含め主要な抗結核薬すべてに耐性であった症例を経験した。この菌株に対しRBTのMICを測定したところ1 μ g/mlと比較的低値であったことより、RBTとCSとクラリスロマイシン、アモキシシリン/クラブラン酸の4剤による化学療法を行ったところ画像所見の改善、一時的な排菌陰性化を認めた。

D. 考察

LiPAによる迅速RFP感受性検査は従来の薬剤感受性検査を基準とすると感度93.3%、特異度100%と高い相関を示し有用な検査であると考えられた。また、LiPAでRFP耐性と判定された例の大部分はINHにも耐性を示す多剤耐性結核例であり、LiPAは多剤耐性結核のスクリーニング法として優れていた。従来の薬剤感受性検査法では喀痰検体採取から結果判明までに通常1ヶ月以上を要するのに比して、LiPAでは最短では即日結果が判明する。多剤耐性結核症例の

迅速な陰圧個室への隔離、適切な治療の早期開始という面でLiPAの臨床的有用性は大きなものと考えられた。

また、LiPAでは*rpoB*遺伝子の変異箇所も判定も行うことができ、このことからRFP耐性、RBT感受性例の早期診断もできる可能性がある。今回経験した症例では、LiPAで得られた変異パターンを元に、RBTを含めた治療を行ったところ少なくとも短期的には臨床的な改善を認めた。ただしこの症例では他薬剤との併用を行っておりRBTが本当に有効であったかどうかの判断は困難である。今後同様の症例の蓄積による検討が必要である。

E. 結論

LiPAによる迅速RFP薬剤感受性検査は、多剤耐性結核を迅速に診断して陰圧個室へ隔離し、速やかに有効な化学療法を開始するうえで臨床的に有用な検査である。また、多剤耐性結核におけるRBTの感受性検査法としても有用である可能性が示唆され、多剤耐性結核の治療戦略確立においても有用性が示唆された。

F. 健康危険情報

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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.
- 2) 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、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

- 2) 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）
分担研究報告書

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

担当責任者 慶長直人（公益財団法人結核予防会 結核研究所・部長）

研究協力者 松下育美（公益財団法人結核予防会 結核研究所・研究員）、土方美奈子（公益財団法人結核予防会 結核研究所・科長）

研究要旨

結核病態を反映するバイオマーカーの探索は感染、発病、治療、再発、耐性化のどの段階においても重要な課題である。本年度は、ベトナムの医療機関との国際共同研究の中で、特に治療中の多剤耐性結核患者 58 名について、代謝栄養に関連する adiponectin 血中濃度を測定するとともに、血液細胞中の免疫関連遺伝子、Th1 系、Th2 系、Treg 系の転写因子の発現量との相関について検討した。その結果、adiponectin 濃度と Treg 系細胞集団のマーカーとして知られる FOXP3 は Spearman の順位相関係数で、 -0.55 と、中等度の負の相関を示した（非補正 P 値 0.04）。これまでに、我々の先行研究で、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しており、結核における、免疫力の低下や重症化と関連する可能性が示されていたが、adiponectin と FOXP3 の遺伝子発現量の負の相関は、過去の文献に見られる、活動性結核の発病や慢性炎症状態に関連する制御性 T 細胞比率の増加と直接結びつかず、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。現在、多剤耐性結核に関しては、さらに詳細な臨床研究を実施しており、FOXP3 の病態における意義、予後との関連についてはさらに解明されるものと期待される。今後、結核発病リスクとしての低栄養ないし、体格指数の問題と、発病後の消耗性疾患としての二次的な低栄養の問題をどのように分けて解析できるかも重要な課題として残されている。

A. 研究目的

結核病態を反映するバイオマーカーの探索は感染、発病、治療、再発、耐性化のどの段階においても重要な課題である。結核発症とその病態の進展には、宿主免疫の質および量が深く関与している。これら宿主の免疫は、遺伝素因、基礎疾患、合併症、使用薬剤、代謝栄養状態などさまざまな要因の影響を受けている。とくに、開発途上国における、栄養指標、免疫、感染症の関係についての研究は、国内外に有益な情報をもたらすものと期待される。

我々は代謝・栄養に関連する adiponectin 血中濃度を測定するとともに、血液細胞中の免疫関連遺伝子、Th1 系、Th2 系、Treg 系の転写因子の発現量との相関について検討した。免疫、炎症との関連が示唆された。そこで今回ベトナムのホーチ

ミン市において治療中の多剤耐性結核患者 58 名について脂質代謝マーカーと末梢血細胞中の免疫関連遺伝子の発現量との相関について検討した。

B. 研究方法

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はベトナム南部最大の結核病院であり（図 1）、結核対策の要となる医療施設である。我々は以前より共同研究を実施しているが、日越倫理委員会の承認のもと、多剤耐性結核に関連する宿主要因の特徴を明らかにするための臨床研究を実施中である。

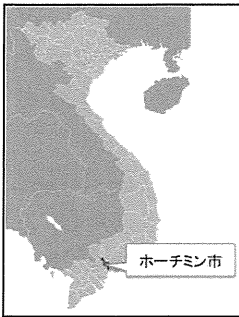


図1 ホーチミン市

臨床研究自体のエントリー基準は、薬剤感受性試験で多剤耐性結核 (INH, RFP 耐性) と診断された 16 歳以上 70 歳までの患者で、18 か月の治療、観察期間を完遂できる見通しがあり、書面同意を得たものとした。HIV 陽性、悪性腫瘍、免疫抑制剤の使用者を除外した。

実際には、外来通院中の多剤耐性結核患者 58 名から研究参加の同意を得て、治療開始後 3-6 か月後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、当施設に転送して RNA を抽出後、免疫関連分子と転写因子 (STAT1, STAT4, STAT6, FOXP2, TBX21, GATA3, HIF1A, RORC) の発現量について、定量的 RT-PCR 解析を行なった。同時に EDTA 添加血より血漿を回収し、各種指標、すなわち CRP、adiponectin、等については、それぞれ市販の ELISA 系を用いて測定した (Assaypro、R&D system、Takara ほか)。

それ以外に臨床疫学的データ (年齢、性別、body mass index [BMI]、末梢血リンパ球数など) を得た。

倫理面への配慮

研究計画はベトナム、ファムゴックタック病院、国立国際医療研究センター、および結核予防会結核研究所の倫理審査委員会にて承認されている。今回の報告は、血液中のタンパクおよび遺伝子発現解析研究であり、ヒトゲノムを扱う研究ではないが、本研究とは直接関連しない部分には、包括的に遺伝子多型解析を実施する可能性があったため、日本における「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(文部科学省、厚生労働省、経済産業省) と、ベトナムにおける「生物医学研究に関する倫理審

査委員会の組織と運営に関する規則」を遵守して、両国の倫理委員会の承認を得た上で実施している。

研究参加者については、現地の試料提供施設で説明文書を用い説明し、同意書に署名を求め、インフォームドコンセントを得た。試料提供者の個人情報に関しては、試料提供施設の特定の医師が把握して匿名化され、わが国には記号でのみ送られることとした。各血液試料に記号のついたラベルを貼付した。個人情報と記号を対応させたファイルはファムゴックタック病院の鍵のかかる部屋に保管され、同病院の企画部に所属する医師が個人情報管理者となっている。

統計解析は、JMP 9 (SAS institute JAPAN) パッケージにより、2 つの連続変数の相関については Spearman の相関係数 (rho 値) および P 値を求めて、解析を実施した。

C. 研究結果

1. 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。

adiponectin 値は BMI と明らかな負の相関 ($\text{rho} = -0.582$)、leptin 値は BMI と正の相関を示した ($\text{rho} = 0.619$)。

2. 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 ($\text{rho} = -0.412$, $\text{rho} = -0.399$)。

3. 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 (図 1)。

FOXP3 mRNA vs Adiponectin

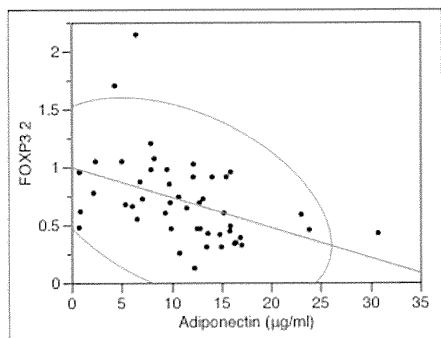


図 1 血中 FOXP3 遺伝子発現量と adiponectin 値の逆相関

D. 考察

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。

これまでに、leptin は、炎症により大きな変動を示さず、栄養状態、体脂肪の一貫とした指標としての役割を示しており、RBP4 も非炎症状態では、栄養状態、体脂肪の指標となるが、炎症状態では速やかに減少して、むしろ炎症指標（陰性の急性相反応物質）としての性格が優勢であった。一方、adiponectin を含むこれらの脂質関連マーカーは、肥満、インスリン抵抗性、糖尿病などとの関連が報告されており、従来、過栄養の指標（血中 adiponectin 値は肥満関連疾患と逆相関）として利用されてきた。

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 (図 2)。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。

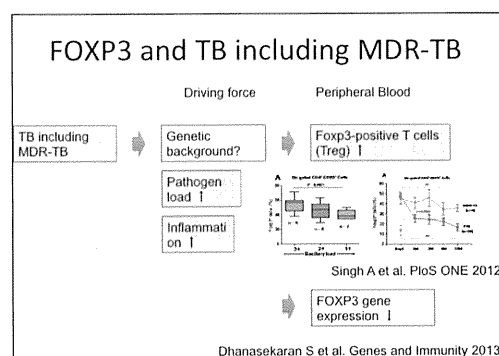


図 2 結核における FOXP3 陽性細胞比率の遺伝子発現量の乖離

今後、脂質代謝関連マーカーと結核免疫との間の、より直接的な関連について、検討する必要があるものと思われる。現在、多剤耐性結核に関しては、さらに詳細な臨床研究を実施しており、FOXP3 の病態における意義、予後とのについてはさらに解明されるものと期待される。

その際に、結核発病リスクとしての低栄養ないし、体格指数の問題と、発病後の消耗性疾患としての二次的な低栄養の問題をどのように分けて解析できるかも重要な課題である。

多剤耐性結核においては、免疫能を高めるなどの宿主側の感染防御能への介入が重要であり、将来的に本疾患の予防治療を考える上で重要な知見と思われた。

E. 結論

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ものと考えられる。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。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Maeda S, Hang NTL, Lien LT, Thuong PH, Hung NV, Hoang NP, Cuong VC, Hijikata M, Sakurada S, Keicho N. 2014. Mycobacterium tuberculosis strains spreading in Hanoi, Vietnam: Beijing sublineages, genotypes, drug susceptibility patterns, and host factors. *Tuberculosis* 94:649-656.

2. Hijikata M, Matsushita I, Hang NT, Maeda S, Thuong PH, Tam do B, Shimbo T, Sakurada S, Cuong VC, Lien LT, Keicho N. 2014. Age-dependent association of mannose-binding lectin polymorphisms with the development of pulmonary tuberculosis in Viet Nam. *Hum Immunol* 75:840-846.

3. Hang NT, Matsushita I, Shimbo T, Hong LT, Tam DB, Lien LT, Thuong PH, Cuong VC, Hijikata M, Kobayashi N, Sakurada S, Higuchi K, Harada N, Endo H, Keicho N. 2014. Association between tuberculosis recurrence and interferon-gamma response during treatment. *The Journal of infection* 69:616-626.

2. 学会発表

1. Yen NTB, Hijikata M, Matsushita k, Hang NTL, Hong NT, Lan NN, et al., editors. Circulating adipokines and immune-gene

expression levels in patients with multidrug-resistant tuberculosis. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2014; 2014 January 20-22; Sendai, Japan.

2. Tanaka G, Ngoc PTM, Hang NTL, Lien LT, Thuong PH, Cuong VC, et al., editors. A retrospective analysis of patient data for management of tuberculosis in Hanoi 19th Congress of Asian Pacific Society of Respirology; 2014 Nov 13-16; Bali, Indonesia.

3. Tam DB, Matsushita I, Hang NTL, Hong LT, Lien LT, Thuong PH, et al., editors. Negative interferon-gamma response with and without positive conversion during treatment in patients with active tuberculosis. 19th Congress of Asian Pacific Society of Respirology; 2014 Nov 13-16; Bali, Indonesia.

4. Matsushita I, Hijikata M, Ito H, Keicho N, editors. An in vitro model of sick building syndrome using human bronchial epithelial cells 19th Congress of Asian Pacific Society of Respirology; 2014 Nov 13-16; Bali, Indonesia.

5. Maeda S, Thuong PH, Hung NV, Hang NTL, Kobayashi N, Sakurada S, et al., editors. Epidemic genotypes of Mycobacterium tuberculosis isolated from Hanoi in Viet Nam. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2014; 2014 January 20-22; Sendai, Japan.

6. Hijikata M, Matsushita I, Hang NTL, Thuong PH, Sakurada S, Cuong VC, et al., editors. Dual-specificity phosphatase 14 gene polymorphism in Vietnamese patients with pulmonary tuberculosis. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2014; 2014 January 20-22; Sendai, Japan.

7. Hang NT, Maeda S, Thuong PH, Hoang NP, Hung NV, Cuong VC, et al., editors.

Sublineages of *Mycobacterium tuberculosis* and unfavorable outcomes of anti-tuberculosis treatment. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2014; 2014 January 20-22; Sendai, Japan.

8. Hang NT, Hijikata M, Sakurada S, Tam DB, Ngoc PTM, Thuong PH, et al., editors. Latent tuberculosis infection assessed by interferon-gamma release assay and mRNA expression levels of

immune-related genes. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2014; 2014 January 20-22; Sendai, Japan.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

別紙 5-1

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hijikata M, Shojima J, Matsushita I, Tokunaga K, Ohashi J, Hang NTL, Hori e T, Sakurada S, Hoang NP, Thuong PH, Lien LT, Keicho N.	Association of IFNGR2 gene polymorphisms with pulmonary tuberculosis among the Vietnamese.	Hum Genet	131(5)	675-682	2012
Keicho N, Matsushita I, Tanaka T, Shimbo T, Hang NT, Sakurada S, Kobayashi N, Hijikata M, Thuong PH, Lien LT.	Circulating levels of adiponectin, leptin, fetuin-A and retinol-binding protein in patients with tuberculosis: markers of metabolism and inflammation.	PLoS One	7 (6)	e38703	2012
Sakurada S, Hang NT, Ishizuka N, Toyota E, Hung LD, Chuc PT, Lien LT, Thuong PH, Bich PT, Keicho N, Kobayashi N.	Inter-rater agreement in the assessment of abnormal chest X-ray findings for tuberculosis between two Asian countries.	BMC Infect Dis	12 (1)	31	2012

平成26年度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(服部班)』（分担）研究報告書

「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」

担当責任者 永井英明 国立病院機構東京病院 外来診療部長

研究要旨

国立病院機構（NHO）病院 143 施設に対して調査票を送り、2013 年 1 月 1 日～12 月 31 日の間の HIV 感染症合併結核症例数の把握と臨床データの収集を行った。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。HIV/TB の症例数はやや減少傾向にあった。2013 年は多剤耐性結核合併例を 1 例認めたが、増加傾向にはない。今後も HIV 感染症合併多剤耐性結核に注意を払っていく必要がある。

A. 研究目的

細胞性免疫が著しく低下する AIDS 患者では結核の発病リスクは健常者の 170 倍といわれている。わが国の HIV 感染者数には減少傾向がみられていない。結核中まん延国であるわが国では HIV 感染者に結核を合併するリスクは欧米の国々に比べ非常に高いといえる。HIV 合併結核（HIV/TB）では多剤耐性結核（MDR-TB）を合併した場合、きわめて予後不良である。HIV 感染者における MDR-TB の実態調査を行い、現状を把握することは重要であり、今後の結核対策に有用なデータとなる。

平成 23-25 年度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(岡田班)〕『海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究』より HIV/TB の実態調査を継続的に行っている。

B. 研究方法

国立病院機構（NHO）病院は全国に 143 施設あり、わが国の結核病床の 40% 以上を抱えている。NHO 病院の中には HIV 拠点病院となっている病院も多い。したがって、NHO 病院を対象に HIV/TB の実態調査を行うことは、わが国における両者合併例の実情を把握する上できわめてふさわしいと考えられる。NHO 病

院に調査票を送り、2013 年 1 月 1 日～12 月 31 日の間の HIV/TB の発症頻度、臨床像（病型、CD4 数、結核治療・抗 HIV 療法の内容、転帰等）、結核菌薬剤感受性検査の結果等についてデータの収集を行った。倫理面への配慮：疫学調査であり、個人を特定できるデータは収集されないので特に問題無いと考える。

C. 研究結果

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（表 1）。

表 1. NHO 病院における HIV/TB 患者の推移

年	結核患者数	HIV/TB 数	HIV/MDR-TB 数
2007	4388	15 (0.34%)	1
2008	4165	19 (0.46%)	1
2009	4129	18 (0.44%)	0
2010	4122	16 (0.39%)	0
2011	4091	18 (0.44%)	0
2012	3502	10 (0.29%)	0
2013	3145	10 (0.32%)	1
合計	27542	106 (0.38%)	3

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。

結核発病を契機にHIV陽性と判明した症例は5例(50%)であった。CD4数の記載のあった9例の平均値は146(2-474)/ μ lであった。7例は200/ μ l未満であり、免疫機能低下例が多かった。

結核菌の耐性なしは8例、INH・PZA・TH耐性1例、MDR-TB1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(表2)。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/ μ 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。

結核治療開始後に開始された抗HIV療法の内容が分かっている4例では、いずれもtenofovir、emtricitabine、raltegravirの組み合わせであった。

表2. HIV/MDR-TB症例

年齢	性別	国籍	結核診断時のCD4数(μ l)	結核診断時のHIV量(copies/ml)	結核の病型	結核の転帰
40代	男	中国	95	6.4×10^4	肺結核	死亡
30代	男	日本	31	2.05×10^6	粟粒結核	治癒
30代	男	中国	51	5×10^4	粟粒結核	治癒

INH	RFP	RBT	EB	PZA	SM	KM	EVM	LVFX
R	R		R		R			
R	R		R			R	R	
R	R	R			R			

D. 考察

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。

E. 結論

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、今後も注意を払っていく必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 永井英明. 【呼吸器感染症2015】呼吸器感染症と病原体 8. 結核・非結核性抗酸菌症の現況. 日本胸部臨床 73巻増刊号 s55-s60, 2014
- 永井英明. BCG接種. ドクターサロン 58:721-724, 2014
- 永井英明. 【内科疾患 最新の治療 明日への指針】(第1章)呼吸器 肺結核. 内科 113:1003-1004, 2014
- 永井英明. 【医療機関における職業感染予防と曝露後の対処】結核の職業感染予防. 化学療法の領域 30:1396-1400, 2014
- 永井英明. 呼吸器治療薬の副作用とその対策 抗結核薬. 呼吸 33:672-676, 2014
- 永井英明. 疾患解説 感染症の基礎知識 肺結核. 感染症道場 3:4-8, 2014
- Ngai H. Study of tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. Kekkaku 90:1-5, 2015

2. 学会発表

- 第89回日本結核病学会総会. 今村賞受賞記念講演: HIV感染症合併結核についての研究 (2014/5/9)
- 第88回日本感染症学会学術講演会, 第62回日本化学療法学会総会合同学会. シンポジウム3. 忘れてはいけない感染症: 結核 (2014/6/17)
- 第63回日本感染症学会東日本地方会総会学術集会・第61回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会. シンポジウム8: 感染症診断のピットフォールー微生物検査に潜む問題点と対応ー IGRAの適応と結果の解釈 (2014/10/30)
- 第28回日本エイズ学会学術集会・総会. シンポジウム1: HIV感染者における抗酸菌感染の現状と課題. HIV感染症における結核の診断と

IGRA (2014/12/2)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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)
委託業務成果報告)

国内の腎不全合併結核研究

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
研究協力者 芦野 有悟 東北大学 医学系研究科 感染症態学分野准教授
宮崎 真理子 東北大学病院 腎・高血圧・内分泌科准教授
白鳥 ベアタ 東北大学 災害科学国際研究所 災害感染症学分野
リサーチレジデント

研究要旨

末期腎疾患 (ESRD) 患者は年々増加傾向を示し、免疫力低下等によってさまざまな感染症のリスクが上昇する。ESRD 患者の結核の感染率を把握するため調査を行った。T. SPOT 法を用いて潜在性結核感染者を同定し、陽性者は 26.6%であった。特に糖尿病性腎症患者は結核感染症の高リスクグループであることを明らかにした。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。

A. 研究目的

ESRD 患者は免疫力低下等によってさまざまな感染症のリスクが上昇する。特に ESRD 患者が潜在性結核感染症 (LTBI) を合併する場合、この再活性化により、結核発症が懸念される。このため、ESRD 患者において LTBI の同定は重要である。しかし、ESRD による免疫抑制は TST の偽陰性 (アネルギー) をもたらし、結果の信頼性は低いと考えられる。新たな結核診断法 QuantiFERON-TB Gold test と T-SPOT. TB は、結核感染に優れた感度、特異度を持つと評価されるが、ESRD の LTBI の検出感度については不明の点がある。

B. 研究方法

T-SPOT. TB による ESRD 患者 30 人の LTBI を評価した。さらに、ELISPOT 法を用いて結核休眠期抗原 (MDP-1、ACR、HBHA、Ag85A、B) に対する反応性を調べ、検出感度を上昇させ得るか否か検討した。また、患者の血漿に含まれる抗結

核菌抗体 anti-TBGL IgG と MCP である GAL-9 と OPN を測定し、潜在性結核感染症の診断に役立つか否かを調べた。

C. 研究結果

対象患者の平均年齢は58歳で、男性 (18人) は女性 (12人) であった。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、メサンギ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 (図1.)。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 (図2.)。マトリセル蛋白質GAL-9と糖脂質TBGL IgG抗体の

血漿濃度は結核感染群と非感染群との間に差がないと判明した (図3.)。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 (図3.)。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%) とメサンギウム増殖性糸球体腎炎の1人の患者 (100%) に認めた (図4.)。

D. 考察

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

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。

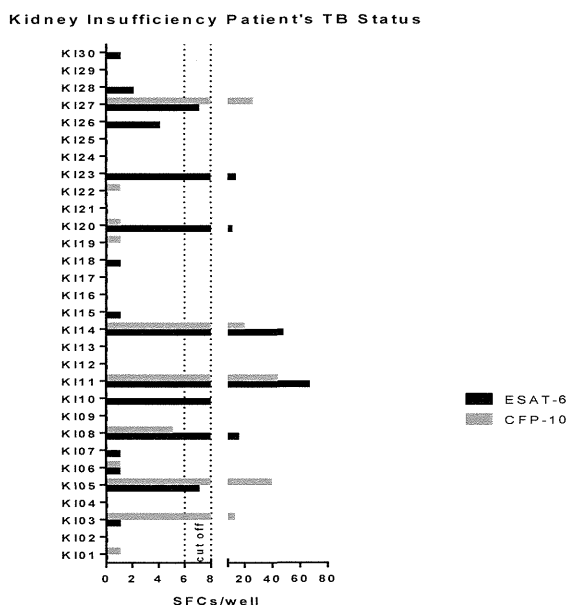


図1. 腎疾患患者の T-spot の結果。

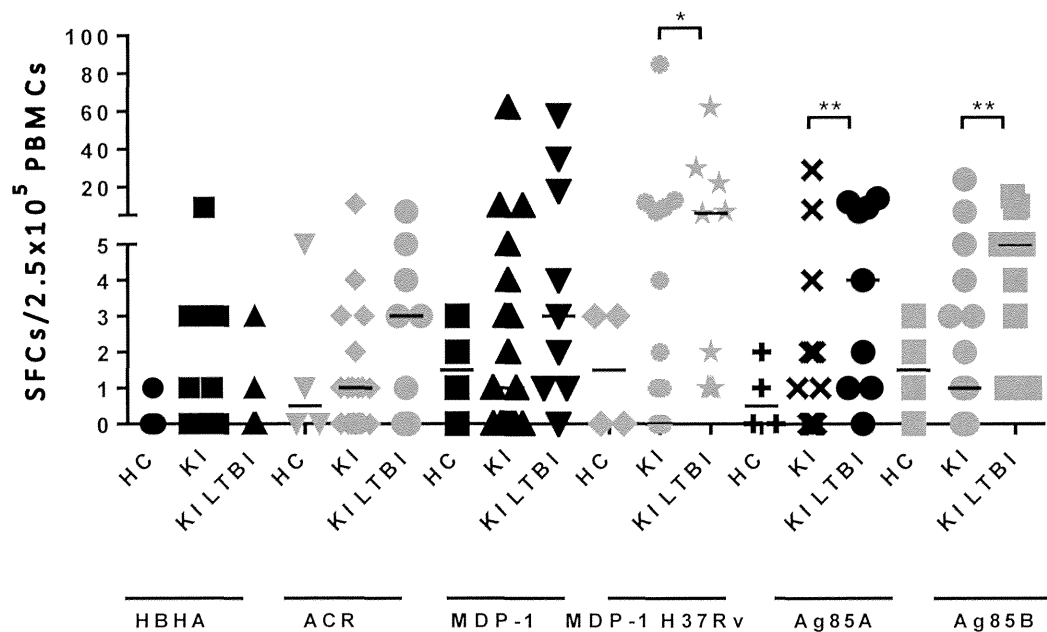


図2. 休眠期抗原のELISPOT結果。HC : 正常人、KI : T. spot陰性の腎疾患の患者、KI LTBI : T. spot陽性の腎疾患の患者。

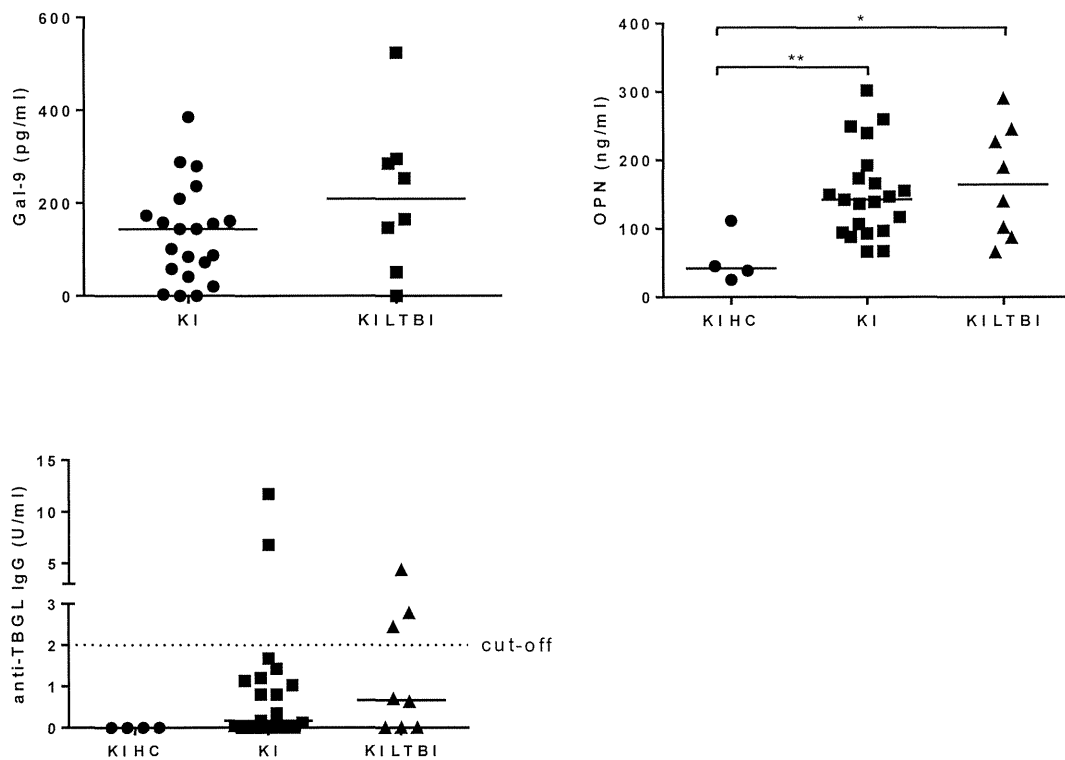


図3. 血漿中のGal-9, OPN と抗 TBGL IgG 抗体のレベル。

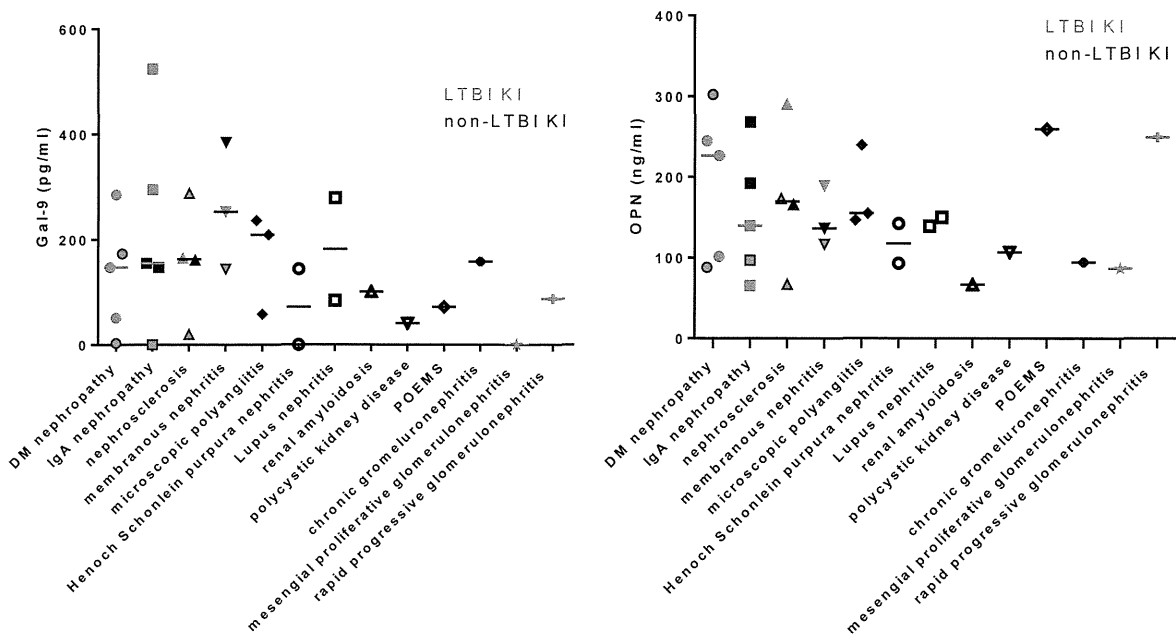


図 4. 各腎疾患における Gal-9 と OPN の血漿中濃度。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 急性腎障害を主徴としたレプトスピラ症の一例:青木 聡(東北大学病院), 中山 恵輔, 村田 弥栄子, 芦野 有悟, 宮崎 真理子, 清元 秀泰, 佐藤 博, 伊藤 貞嘉、日本透析医学会 雑誌 (1340-3451)47 巻 Suppl.1 Page1011(2014.05)。

2. Beata Shiratori, Emiko Miyazawa, Satoshi Aoki, Mariko Miyazaki, Yugo Ashino, Toshio Hattori. Latent tuberculosis infection in end-stage renal disease patients. The 90th Annual Meeting of the Japanese Society for Tuberculosis. Nagasaki, Japan. 27-28th March 2015.

2. 学会発表

1. Mariko Miyazaki: Disaster Response for Dialysis Facilities: Lessons from Mar. 11, 2011. 7th Congress of the International Society for Hemodialysis, April 25-27th, Okinawa, 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当するものなし
2. 実用新案登録
該当するものなし

3. その他

該当する者なし

学 会 等 発 表 実 績

委託業務題目「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」

機関名 東北大学災害科学国際研究所

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
Combination of Antibody And DNA Detection to Improve Diagnosis of Leptospirosis. 114th General Meeting ASM 2014 ポスター	Hattori T, Iwasaki H, Leano S, Telan B, Koizumi N, Nakajima C, Suzuki Y, Chagan-Yasutan H	American Society for Microbiology Boston, USA,	17-20th May 2014.	国外
急性発熱患者におけるサイトカインの検討。	芦野有悟, 齋藤弘樹、服部俊夫、賀来満夫	第88回日本感染症学会学術講演会・第62回日本化学療法学会総会合同学会。福岡市ヒルトン福岡シーホーク	2014年6月19日	国内
デングウイルス感染症における炎症及び凝固関連マーカー研究。 ポスター	Chagan-Yasutan H, Lacuesta TL, Ndhlovu LC, Leano PSA, Telan EFO, Dimaano EM, Hattori T	2014年度 海外学術調査フォーラム プログラム 東京	2014年6月28日	国内
「人間の安全保障」に基づく国際的災害医学教育研究連携体制構築 ポスター	服部俊夫	平成25年度 特定プロジェクト研究成果報告会 仙台	2014年7月13日	国内
潜在性結核患者と結核患者のGalectin-9 発現様式の相違の検討 ポスター	芦野有悟、服部俊夫	平成25 年度特定プロジェクト研究成果報告会 仙台	2014年7月13日 - 2014年7月13日	国内
災害関連発熱疾患の早期発見のためのバイオ・マーカー研究 ポスター	浩日勤、服部俊夫	平成25年度 特定プロジェクト研究成果報告会 仙台	2014年7月13日	国内
ハワイ大との学際的リスク研究推進のためのネットワーク構築 ポスター	浩日勤、服部俊夫	平成25年度 特定プロジェクト研究成果報告会 仙台	2014年7月13日	国内
Anti-retroviral therapy against HIV infected individuals after the great east Japan earthquake.	Hattori T	The 10th China-Japan international conference of VIROLOGY. 長春	25-28th August 2014	国外