

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

海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究

平成23年度～25年度 総合研究報告書

研究代表者 岡田 全司

平成26(2014)年5月

目 次

. 総合研究報告			
海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究	岡田全司 (鈴木克洋)	-----	1
外国人結核対策マニュアルの作成		-----	69
外国人結核対策マニュアル(保健所向け)	下内 昭	-----	70
外国人結核対策マニュアル(医療者向け) (全国、東京)	小林信之、岡田全司	-----	78
. 分担研究報告			
[] 多剤耐性結核とHIV合併の実態把握と対策	永井英明	-----	93
[] 日本、中国、韓国および台湾で分離される結核菌の型別解析	加藤誠也	-----	98
[] 東京における外国人結核 臨床像の推移と分子疫学解析	小林信之	-----	103
[] 全国病院施設・保健所との連携による多剤耐性結核とHIV合併の実態把握と対策	藤田 明	-----	107
[] 中国とフィリピンで収集した結核菌の遺伝子・免疫学的解析	服部俊夫	-----	113
[] 日本(大阪・神戸・西日本)における海外から輸入される結核の実態把握及び分子疫学的解析	下内 昭	-----	116
[] 難治性結核の分子疫学解析	野内英樹	-----	119
[] ベトナム多剤耐性結核の宿主要因に関する研究	慶長直人	-----	125
[] 海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究	櫻田紳策	-----	130
[X] アジア諸国・日本の外国人多剤耐性結核患者TLR・リポカリン2の反応性と治療ワクチン開発の研究	竹田 潔	-----	132
[X] HIV感染者での結核早期診断方法としてのクオンティフェロンTBゴールドとT-スポット TBの比較検討及び播種性MAC症の早期診断方法としてのキャピリアMAC抗体ELISAの有用性の検討に関する研究	青木孝弘	-----	135
. 研究協力者研究報告		-----	137
. 研究成果の刊行に関する一覧表		-----	139

平成23年度～25年度（3年間）

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）

総合研究報告書

海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究

研究代表者 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・臨床研究センター長
(研究分担者 鈴木克洋 統括診療部長)

研究要旨 (図1)

・日本の外国人結核

1. 外国人結核対策のガイドライン(国際的な協力も含め)を策定した。東京及び全国の外国人結核(2009年～2011年)の外国人結核診療マニュアル(第二版)を策定(小林、岡田等)。また大阪市における外国人結核対策マニュアルを策定(小向、下内、岡田等)。アジア諸国との結核対策共同ガイドライン(中国、Heping 博士等と)の作成が進展中。
2. 日本全国：2012年全国保健所528、結核病院262、合計790施設に2009～2011年の調査票(外国人結核)。90%の回答。2121例(重複なし)を解析(岡田)。外国人結核は年々増加。20代48%。国籍は中国、フィリピン、韓国の順。学生22.4%と著増。多剤耐性結核は4.4%で日本人結核0.7%に比べ6.4倍と高頻度。〔さらに(2006年～2008年)外国人結核調査票と比較解析：前回の調査結果の対策を厚生行政に反映、改善された結果〕：日本語学校健診4.2%と増加改善。学生が多いという前回調査結果より、保健所が日本語学校健診を増やす対応(大阪市等)。通訳を増加(行政サービス15%)。帰国者の減少。治療中断・脱落者減少。(結核2012,2013, UW Conf 2012)
(岡田)さらに強い感染力を持つスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌(S・S多剤耐性結核菌：我々が世界に先駆けて発見)が日本のみでなく、中国にも存在し、S・S多剤耐性結核の患者の中国と日本の移動が示唆された。
神戸市の外国人結核(藤山理世・岡田)51名/年。20代39%。学生36%。日本語学校健診必要。
3. 国立国際医療研究センターにおける外国人結核と分子疫学研究：国際医療研究センターの外国人結核、2007年以降の6年間を前後半に分けて検討。国籍別では中国が最多。韓国が減少しフィリピンが増加。脱落者は減少し治療成績は改善。外国人株でRFP耐性と多剤耐性率が高率。外国人結核患者由来結核菌株のRFLP解析から、86株のうち29%はクラスター(中国、韓国籍多)を、6%はクラスターを形成していた。外国人結核91株および日本人結核菌167株の全ゲノムを次世代シーケンサーで決定した。外国人由来分離株は日本人株と異なり、菌株特異的一塩基多型の数も多く、外国人由来分離株が海外から持ち込まれたことが示唆。東京都の外国人結核対策マニュアルを作成(2013)。(小林、切替)
4. 東京病院(豊田恵美子・岡田)では外国人結核患者50例解析。有空洞40%。HIV合併結核4%と高率。多剤耐性結核2%。
5. 大阪市における外国出生結核患者の発生動向
大阪市における外国出生結核患者の発生動向：2008～2012年に大阪市内で新規登録された外国人

(外国出生)結核患者を対象とした。外国人は、20代に限ると2008年13.6%から2012年29.3%へと年々増加していた。性別は、日本出生者で男性の割合が多いのとは対照的に外国人では女性が多く約半数を占めており、2012年15名(44.1%)であった。年齢の中央値は2012年27.5歳であり、ここ3年は大きな変化は見られなかった。出身国は、5年間の合計では中国・韓国・フィリピンの順に多かったが、特に近年韓国が減少し、中国の増加がみられた。また入国から5年未満で登録された者は約半数を占めていた。日本語学校生の割合は、2008年には12.1%であったが、2012年には23.5%を占めていた。これらの結果より外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。 大阪市の外国人結核対策マニュアル(2013)を作成。

・日本・中国・韓国・台湾の分子疫学研究

1. 東アジアに位置する日本、中国、韓国、台湾では近年、ビジネスや観光で多くの人々がそれぞれの国を訪れている。そのため、人の移動に伴い結核をはじめとした感染症も輸入・輸出されている可能性がある。これらの地域では、台湾を除き北京型結核菌の割合が高いという共通の特徴を持っている。また、結核罹患率は先進諸国に比べて高く、罹患率を低下させるためには今後も精力的な対策が必要である。このような対策のひとつとして、各国の分子疫学担当者と会議を持ち、型別データを共有できる10-locusの反復配列多型(VNTR)システムを構築した。また、次世代シーケンサー(NGS)を用いた結核菌の全ゲノム解析から報告されている一塩基多型(SNP)を利用して、結核菌を遺伝系統的にグループ分けできる新しいシステムの構築を行った。共通な型別システムを用いて各国で分離された結核菌を分析することでデータを直接比較することが可能となる。その結果、各地域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る。本研究で樹立したSNP分析システムは、リアルタイムPCRを利用して23箇所のSNPを検出するもので、分離された結核菌を網羅的に解析することができる。今までの型別法では、北京型結核菌はNTF領域へのIS6110の挿入の有無で、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分析システムで日本と台湾からの結核菌を分析すると、少なくともancient型は4グループ、modern型も5グループに分けることができた。このような解析により、各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るので、今後注目する結核菌の由来国等の推定も可能となると考えられる。
2. VNTRのMST解析で、日本、韓国の結核菌は北京型の“祖先型”、中国は北京型の“蔓延型”、韓国はRD181陽性、台湾は非北京型で、日、中、韓、台の結核菌は各々区分可能な発見。(加藤・前田)

・アジア諸国の多剤耐性結核

1. 中国・黒竜江省の結核菌の解析では44例中42例(95%)は北京型であり、その中2例は新たな北京型を同定。さらに1,230株黒竜江省の結核菌の解析を行い、通常の抗結核剤に対する薬剤耐性株は58.4%でMDRは23.3%。さらにRv0679c点突然変異検出multiplex PCR法を開発し、非北京型と北京型を100%鑑別。(J. Clin. Mic. 2013)(服部)
2. フィリピン・マニラのサンラザロ病院の抗酸菌染色陽性菌は100% MTB complex。Spoligotypingでマニラ型。(Clin. Dev. Imm. 2012)(服部)
3. タイでのHIV合併結核493名中活動性結核は15.6%。 初回MDR-TB 12.5%が、2回目22.5%と著増。これらの結核で北京型67%と高率(タイ平均21%)。 複十字病院の結核1958名中外国人結核5.7%で、そのうち多剤耐性結核患者26%と高率。(野内)
4. ベトナム・タイにおける再発結核患者では血清granulysin値低下を明らかにした(Micro.Imm.2011)。 HIV感染は、ビタミンDのMφ活性化を阻害し易結核感染(タイ)。 ハノイ市の潜在性結核感染者では健常者よりグラニューリシンの発現が低下。(Int. J. Med. 2013) 抗菌ペプチドcathelicidin遺伝子の発現への影響を検討した。結核菌(H37Rv)殺菌後の培養液上清中の殺菌活性に関与している可能性があるdermicidin遺伝子の発現への関与について検討を試みた。(タイ・ベトナム 櫻田)

5. ベトナム ホーチミン市で宿主側の要因を検討。 薬剤代謝：多剤耐性結核は、INH代謝関連遺伝子NAT2は代謝遅延型遺伝子が少ない。 免疫関連： 血漿マンノース結合レクチン（MBL）濃度は多剤耐性結核患者でも遺伝子型により規定され、IFN- γ の血中濃度と正の相関。DUSP14イントロン1に局在するC/T SNP (rs712039)のCアリルはDUSP14の遺伝子高発現型として知られているが、そのCアリル数に依存して多剤耐性結核の血液細胞由来のTNF α 遺伝子発現量が低くなる傾向がみられた。しかし、Cアリル数はDUSP14遺伝子発現量自体とは有意な関連を示さなかった。さらにDUSP14遺伝子高発現型と推定されるH2ハプロタイプ数に依存して、全血中のIL12レセプター α 1 mRNAなどTh1系免疫関連遺伝子の発現量が低くなる傾向が認められた。免疫炎症制御に関連して注目されるDUSP14の遺伝子多型が、トランス的作用を通じて結核免疫にも関連している可能性が示された。（慶長）

. HIV合併

1. 全国のNHO病院を対象にHIV合併結核および多剤耐性結核（MDR-TB）合併例についての実態調査を行った。結核患者におけるHIV陽性率は0.29-0.46%（平均0.39%）であった。HIV合併結核総数は96例であったが、そのうち82例（85.4%）は東京・大阪・愛知の大都市圏に集中しており、この地域だけのHIV陽性率は0.91%であった。大都市圏では結核患者にHIVスクリーニング検査を積極的に行うべきである。HIV合併結核患者の男女比は90：5、年齢の中央値は43歳であった。結核発病を契機にHIV陽性と判明した症例は56%に及んだ。CD4数の平均値は156/ μ lであり、免疫機能低下例が多かった。肺結核患者は48例、肺外結核患者は39例（このうち25例は粟粒結核）であった。結核薬による副作用は83例中53例（63.9%）と高頻度であった。結核の治療中にARTを開始した症例は42例あり、結核の治療開始後8週以内に始めた症例が最も多く、4週以内に開始した症例では全例が免疫再構築症候群を発症していた。MDR-TBを3例に認め、1例は外国人であった。しかし、2009年以降はMDR-TB合併例を認めておらず、幸い増加傾向になかった。（永井）
2. 全国のHIV（エイズ）診療拠点病院・結核診療病院（国立病院機構を除く）、保健所を対象に、HIV合併結核症例の有無に関する調査を実施した。 HIV合併結核症例の解析。2007～2011年の5年間で結核20,895例。HIV合併結核87例（0.42%）とほぼ一定。このうち多剤耐性結核3例。すべて男性、国籍は中国1例、日本2例で、CD4は100/ μ l以下と低値。肺結核2例、粟粒結核1例。HIV合併多剤耐性結核は治療に難渋。INHのみ耐性3例、SMのみ耐性3例。 結核発病を契機にHIV陽性と判明した症例は61%。（藤田）
3. 国際医療研究セのHIV合併結核患者129例。男性91%、24%は外国籍。12%抗結核剤耐性。多剤耐性2%。 HIV合併結核患者のQFT-3G診断法は有用(特異度高い)： HIV149例中QFT-3G陽性7例（4.7%）。陽性全例結核。 LTBI診断はQFT陽性。治療は全例INH。 HIV感染者における結核症の早期診断を目指し、2種類のインターフェロン 遊離試験の有用性を検討した。結核症とMAC症の鑑別を目的として、キャピリアMAC抗体ELISAをHIV合併播種性MAC症の患者で施行したが、陽性率は4.3%と極めて低かった。HIV合併播種性MAC症の補助診断としては有用ではなかった。（青木）

. 新しい迅速診断の開発・新治療剤（化学療法剤等）の開発

1. rpoBの変異を用いて、多剤耐性結核患者の迅速隔離方法を構築。6施設に普及。（鈴木、岡田、露口）多剤耐性結核は世界的に問題となっている。その診断の遅れは、治療失敗につながるのみならず、他者への感染リスクの増大をももたらすため、迅速な診断はきわめて重要である。我々は、多剤耐性結核のスクリーニング法としてのリファンピシン（RFP）耐性迅速診断法の有用性につき検討を行った。従来法の薬剤感受性検査をgood standardとした場合の感度は93.3%、特異度は99.7%と優れた成績が得られた。本法はRFP耐性迅速診断、ひいて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ると考えられた。
2. 結核菌の病原性因子ESAT-6がマクロファージ内で、貪食胞の機能に関わる分子LAMP-1と会合し、何ら

かの分子機構でLAMP-1を分解し、貪食胞の成熟をブロックしていることが示唆された。

自然免疫応答に関わるAbsent in Melanoma 2 (AIM2)の遺伝子欠損マウスは、結核菌に対する感受性が高くなった。その分子機構として、AIM2は、細胞質内に逃れた病原性結核菌のDNA認識し、インフラマゾームの活性化、そしてIL-1beta, IL-18の分泌を誘導することにより、結核菌感染防御を担っていることが明らかになった。

また、ヒアルロン酸合成酵素HAS1の欠損マウスが、結核菌感染に対する感受性が高いことが明らかになった。

・外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集を中国 Heping、韓国 Cho、タイ Srisin博士等と確立した結核ネットワークで開始。

・研究代表者(岡田全司)(表1、2、3、4)

- (1) 外国人結核対策のガイドライン(国際的な協力も含め)を策定した。東京及び全国の外国人結核(2009年~2011年)の外国人結核診療マニュアル(第二版)を策定(小林、岡田等)。また大阪市における外国人結核対策マニュアルを策定(小向、下内、岡田等)。アジア諸国との結核対策共同ガイドライン(中国、Heping博士等と)の作成が進展中。
- (2) 日本全国:2012年全国保健所528、結核病院262、合計790施設に2009~2011年の調査票(外国人結核)。90%の回答。2121例(重複なし)を解析(岡田)。外国人結核は年々増加。20代48%。国籍は中国、フィリピン、韓国の順。学生22.4%と著増。多剤耐性結核は4.4%で日本人結核0.7%に比べ6.4倍と高頻度。〔さらに(2006年~2008年)外国人結核調査票と比較解析:前回の調査結果の対策を厚生行政に反映、改善された結果〕:日本語学校健診4.2%と増加改善。学生が多いという前回調査結果より、保健所が日本語学校健診を増やす対応(大阪市等)。通訳を増加(行政サービス15%)。帰国者の減少。治療中断・脱落者減少。(結核2012,2013, U W Conf 2012)
- (3) 東京病院(豊田恵美子・岡田)では外国人結核50例解析。有空洞40%。多剤耐性結核2%。
- (4) 神戸市の外国人結核(藤山理世・岡田)51名/年。20代39%。学生36%。日本語学校健診必要。
- (5) 中国からの日本移民にスーパー・スプレッダー(S・S)多剤耐性結核(MDR-TB)発見。
- (6) 外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集を中国 Heping、韓国Cho、タイSrisin、フィリピンDayrit、ベトナムThuong博士等と確立した結核ネットワークで蓄積。

・研究分担者(小林信之) 研究協力者 切替照雄 国際医療研究セの外国人結核、2007年以降の6年間を前後半に分けて検討。国籍別では中国が最多。韓国が減少しフィリピンが増加。脱落者は減少し治療成績は改善。外国人株でRFP耐性と多剤耐性率が高率。外国人結核91株および日本人結核菌167株の全ゲノムを次世代シーケンサーで決定した。外国人由来分離株は日本人株と異なり、菌株特異的一塩基多型の数も多く、外国人由来分離株が海外から持ち込まれたことが示唆。外国人結核患者由来結核菌株のRFLP解析から、86株のうち29%はクラスター(中国、韓国籍多)を、6%はクラスターを形成していた。東京都の外国人結核対策マニュアルを作成(2013)。

・研究分担者(下内昭) 研究協力者 松本健二、小向潤、津田侑子 大阪市における外国出生結核患者の発生動向:2008~2012年に大阪市で新規登録された外国人(外国出生)結核患者を対象とした。外国人は、20代に限ると2008年13.6%から2012年29.3%へと年々増加していた。性別は、日本出生者で男性の割合が多いのとは対照的に外国人では女性が多く約半数を占めており、2012年15名(44.1%)であった。年齢の中央値は2012年27.5歳であり、ここ3年は大きな変化は見られなかった。出身国は、5年間の合計では中国・韓国・フィリピンの順に多かったが、特に近年韓国が減少し、中国の増加がみられた。また入国から5年未満で登録

された者は約半数を占めていた。日本語学校生の割合は、2008年には12.1%であったが、2012年には23.5%を占めていた。これらの結果より外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。 大阪市の外国人結核対策マニュアル(2013)を作成。

・**研究分担者(加藤誠也)** IS6110遺伝子とVNTRのMST解析で、日本、韓国の結核菌は“祖先型”。中国は“蔓延型”で、韓国はRD181陽性、台湾は非北京型で日、中、韓、台の結核菌は各々区分可能な発見。全23箇所のSNPを検出するためのリアルタイムPCR系を確立した。 今まで北京型結核菌は、modern型とancient型の2群にしか分けられなかったが、本SNPシステムで日本の株はmodern型が5グループ、ancient型は4グループに細かくグループ分けができた。

・**研究分担者(永井英明)** HIV合併結核症例の解析。2007~2011年の5年間で結核20,895例。HIV合併結核87例(0.42%)とほぼ一定。このうち多剤耐性結核3例。すべて男性、国籍は中国1例、日本2例で、CD4は100/μl以下と低値。肺結核2例、粟粒結核1例。HIV合併多剤耐性結核は治療に難渋。INHのみ耐性3例、SMのみ耐性3例。結核発病を契機にHIV陽性と判明した症例は61%。

・**研究分担者(藤田明)** HIV合併結核を調査。全国531保健所、248結核病院(国立病院機構を除く)、230 HIV診療拠点病院(国立病院機構を除く)を対象。 2007~2011年菌陽性121例(二次調査)中、多剤耐性結核1例(0.8%)、INH耐性8.3%、RFP耐性が1.7%(外国人)。 HIV抗体検査なしの結核医療機関6割。 結核病棟がないHIV拠点病院で排菌陽性疑い患者に個室や専用室を利用。

・**研究分担者(服部俊夫)** 中国・黒竜江省の結核菌の解析では44例中42例(95%)は北京型であり、その中2例は新たな北京型を同定。さらに1,230株黒竜江省の結核菌の解析を行い、通常の抗結核剤に対する薬剤耐性株は58.4%でMDRは23.3%。さらにRv0679c点突然変異検出 multiplex PCR法を開発し、非北京型と北京型を100%鑑別。(J. Clin. Mic. 2013) フィリピン・マニラのサンラザロ病院の抗酸菌染色陽性菌は100% MTB complex。 Spoligotypingでマニラ型。(Clin. Dev. Imm. 2012)

・**研究分担者(櫻田紳策)** ベトナム・タイにおける再発結核患者では血清granulysin値低下を明らかにした(Micro.Imm.2011)。 HIV感染は、ビタミンDのMφ活性化を阻害し易結核感染(タイ)。 ハノイ市の潜在性結核感染者では健常者よりグラニュリシンの発現が低下。(Int. J. Med. 2013)

・**研究分担者(廣長直人)** ベトナム ホーチミン市で宿主側の要因を検討。 薬剤代謝：多剤耐性結核は、INH代謝関連遺伝子NAT2は代謝遅延型遺伝子が少ない。 免疫関連：血漿マンノース結合レクチン(MBL)濃度は多剤耐性結核患者でも遺伝子型により規定され、IFN- γ の血中濃度と正の相関。DUSP14イントロン1に局在するC/T SNP(rs712039)のCアリルはDUSP14の遺伝子高発現型として知られているが、そのCアリル数に依存して多剤耐性結核の血液細胞由来のTNF遺伝子発現量が低くなる傾向がみられた。しかし、Cアリル数はDUSP14遺伝子発現量自体とは有意な関連を示さなかった。さらにDUSP14遺伝子高発現型と推定されるH2ハプロタイプ数に依存して、全血中のIL12レセプター 1 mRNAなどTh1系免疫関連遺伝子の発現量が低くなる傾向が認められた。免疫炎症制御に関連して注目されるDUSP14の遺伝子多型が、トランスの作用を通じて結核免疫にも関連している可能性が示された。

・**研究分担者(野内英樹)** タイでのHIV合併結核493名中活動性結核は15.6%。 初回MDR-TB 12.5%が、2回目22.5%と著増。これらの結核で北京型67%と高率(タイ平均21%)。 複十字病院の結核1958名中外国人結核5.7%で、そのうち多剤耐性結核患者26%と高率。

・**研究分担者 (青木孝弘)** 国際医療研究セのHIV合併結核患者129例。男性91%、24%は外国籍。12%抗結核剤耐性。多剤耐性2%。 HIV合併結核患者のQFT-3G診断法は有用(特異度高い)： HIV149例中QFT-3G陽性7例(4.7%)。陽性全例結核。 LTBI診断はQFT陽性。治療は全例INH。 HIV感染者における結核症の早期診断を目指し、2種類のインターフェロン 遊離試験の有用性を検討した。結核症とMAC症の鑑別を目的として、キャピリアMAC抗体ELISAをHIV合併播種性MAC症の患者で施行したが、陽性率は4.3%と極めて低かった。HIV合併播種性MAC症の補助診断としては有用ではなかった。

・**研究分担者 (竹田潔)** 結核菌の病原性因子ESAT-6がマクロファージ内で、貪食胞の機能に関わる分子LAMP-1と会合し、何らかの分子機構でLAMP-1を分解し、貪食胞の成熟をブロックしていることが示唆された。自然免疫応答に関わるAbsent in Melanoma 2 (AIM2)の遺伝子欠損マウスは、結核菌に対する感受性が高くなった。その分子機構として、AIM2は、細胞質内に逃れた病原性結核菌のDNA認識し、インフラマゾームの活性化、そしてIL-1beta, IL-18の分泌を誘導することにより、結核菌感染防御を担っていることが明らかになった。また、ヒアルロン酸合成酵素HAS1の欠損マウスが、結核菌感染に対する感受性が高いことが明らかになった。

・**研究分担者 (鈴木克洋)** 多剤耐性結核迅速発見法(rpo B変異)を用い、迅速入院法及び病院内で多剤耐性結核が感染しない体制構築(鈴木、露口、岡田)。この方法を6施設に普及。(結核2012)

研究分担者

永井英明
国立病院機構東京病院
呼吸器内科
外来診療部長

加藤誠也
公益財団法人結核予防会結核研究所
副所長

小林信之
国立病院機構東京病院
統括診療部長

藤田 明
東京都保健医療公社 多摩北部医療センター
副院長

服部俊夫
東北大学災害科学国際研究所
災害医学研究部門 災害感染症学分野
感染病態学
教授

下内 昭
公益財団法人結核予防会結核研究所
主幹

野内英樹
公益財団法人結核予防会複十字病院
臨床検査診断科
科長

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

櫻田紳策
国際医療研究センター研究所
国際医療協力局派遣協力課
派遣協力専門職

竹田 潔
大阪大学大学院医学系研究科
感染免疫医学講座免疫制御学
教授

青木孝弘
国立国際医療研究センター病院
エイズ治療・研究開発センター
医師

鈴木克洋
国立病院機構近畿中央胸部疾患センター
統括診療部長

表1

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)
岡田全司班
「海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究」

研究代表者	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 センター長
研究分担者	永井 英明	国立病院機構東京病院 外来診療部長
	加藤 誠也	公益財団法人結核予防会結核研究所 副所長
	小林 信之	国立病院機構東京病院 統括診療部長
	藤田 明	東京都立保健医療公社 多摩北部医療センター 呼吸器科 副院長
	服部 俊夫	東北大学 災害科学国際研究所 教授
	下内 昭	公益財団法人結核予防会結核研究所 主幹
	野内 英樹	公益財団法人結核予防会複十字病院 臨床検査診断科長
	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
	櫻田 紳策	国際医療研究センター研究所国際医療協力局派遣協力課
	竹田 潔	大阪大学大学院 医学系研究科感染免疫医学講座 免疫制御学 教授
	青木孝弘	国際医療研究センター病院エイズ治療・研究開発センター医師
	鈴木 克洋	国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 統括診断部長

表2

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)
岡田全司班
「海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究」

研究協力者	切替照雄	国立国際医療センター感染症制御研究部 部長
	前田伸司	結核予防会結核研究所抗酸菌レファレンス部結核菌情報科長
	豊田恵美子	国立病院機構東京病院 呼吸器科 医長
	高島毛敏雄	関西大学 社会安全学部 教授
	松本 健二	大阪市保健所 感染症対策監
	小向 潤	大阪市保健所 感染症対策課医長
	藤山理世	神戸市中央区保健福祉部 医務担当部長
	中島 俊洋	ジェノメディア株式会社 取締役・CEO
	赤川 清子	北里大学生命科学研究所 客員教授
	堀良 英郎	(財)大阪結核研究会 理事長
	露口 一成	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 部長

表3

5. 研究組織情報

研究者名	分担する研究項目
岡田全司	研究の統括。 多剤耐性結核の診断・治療の確立、海外から輸入される多剤耐性結核の分子疫学と対策研究。 多剤耐性結核とHIV合併の実態把握と対策。(国立病院機構ネットワークを活用した)
永井英明	多剤耐性結核とHIV合併の実態把握と対策。(国立病院機構ネットワークを活用した)
加藤誠也	韓国と中国及び台湾と日本とのネットワークによる結核・多剤耐性結核分子疫学共同研究
小林信之	日本(東京・東日本)における海外から輸入される結核の実態把握および分子疫学的解析。
藤田 明	全国病院施設・保健所との連携による多剤耐性結核とHIV合併の実態把握と対策。
服部俊夫	中国及びフィリピンとの研究ネットワーク活用による多剤耐性結核の分子疫学的解析及びHIV合併結核研究。

表4

5. 研究組織情報

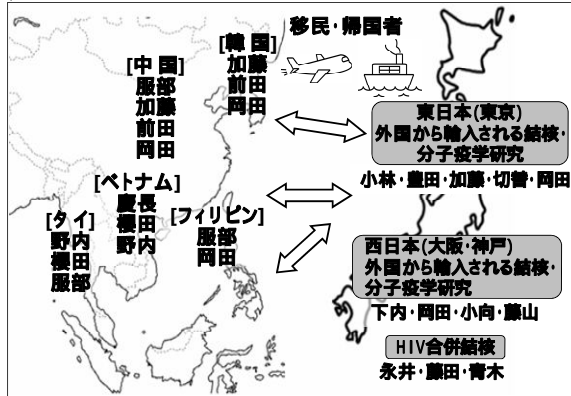
研究者名	分担する研究項目
下内 昭	日本(大阪・神戸・西日本)における海外から輸入される結核の実態把握及び分子疫学的解析。
野内英樹	タイ及びベトナムとの結核研究ネットワーク活用による多剤耐性結核の分子疫学解析とHIV合併結核研究。
慶長直人	ベトナムとの結核研究ネットワーク活用による多剤耐性結核の分子疫学・宿主要因解析。
櫻田紳策	タイ及びベトナムとのネットワーク活用による多剤耐性結核とHIV合併結核の宿主要因・分子疫学的解析。
竹田 潔	外国から輸入される多剤耐性結核治療の確立。
青木孝弘	HIVによるT細胞免疫不全解析及びHIVに合併する結核研究と対策。
鈴木克洋	国立病院機構呼吸器ネットワークを活用した多剤耐性結核の迅速診断・隔離法開発。

図1

海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究

目的

日本の外国人結核等の実態把握と分子疫学、HIV合併結核研究とアジア諸国のネットワーク活用による多剤耐性結核制御



期待される効果

1. 結核・多剤耐性結核の日本への流入・蔓延防止
2. 外国人結核・多剤耐性結核の減少・早期発見
3. HIV合併結核の減少
4. 多剤耐性結核 新しい迅速診断・入院法
5. アジア諸国の結核減少
6. 医療費節減
7. 国際貢献

研究方法・日本

1. 海外から輸入される多剤耐性結核(日本の外国人結核)実態調査と分子疫学解析 岡田, 小林, 下内, 豊田, 加藤, 切替, 前田, 小向, 松本
2. 日本・中国・韓国・台湾結核菌分子疫学解析 加藤, 前田
3. アジア諸国の多剤耐性結核・分子疫学研究, HIV合併結核 岡田, 加藤, 服部, 野内, 慶長, 櫻田
4. HIV合併結核の把握 永井, 藤田, 青木
5. 新しい多剤耐性結核迅速診断入院法 鈴木, 露口, 竹田, 岡田
6. 外国人結核の多いアジア諸国の結核対策情報収集(岡田, 服部, 加藤, 野内, 慶長, 櫻田)

研究成果

日本の外国人結核

1. 本邦の外国人結核の実態把握と対策, (1)全国の外国人結核調査票(2012年)にて2121例解析(岡田), (2009~2011年全国保健所・病院 790施設) 年々増加, 中国国籍, フィリピン, 韓国の順, 学生22%と著増, 多剤耐性結核は4.4%と高頻度, 日本人の6.4倍, (2)東京(小林, 豊田):MDR-TB多し, 東京都外国人結核マニュアル作成 (3)大阪(下内):学生が多く35% (50%以上日本語学校生), 学生健診強化の必要, 大阪市外国人結核マニュアル作成 (4)中国から日本移民にS・S MDR-TB,
2. 分子疫学研究(小林, 切替, 岡田) 外国人結核菌株のRFLP解析:クラスターI(中国, 韓国 多)と, IIを形成, 外国人結核菌91株と日本人結核167株の全DNA解読:外国人株は日本人株と異なり, 菌株特異的一塩基多型の数も多く, 外国人株は海外から持ち込まれたことが示された,

アジア諸国の多剤耐性結核

1. タイ:MDR-TB再発例で23%と著増, HIV合併結核493名中活動性結核16%(野内), 再発結核患者では血清granulysin (Gra)低下(櫻田), TBGL診断有用(服部)
2. 中国東北部:治療歴なしで薬剤耐性結核58%と高率, 多剤耐性結核で治療歴あり60%と高率, (服部)
3. ベトナム:INH代謝NAT2遅延型は多剤耐性結核で多い(慶長), 潜在性結核はGra値低下発見(櫻田),
4. フィリピン:結核の疫学, 診断(服部)

日本・中国・韓国・台湾分子疫学研究

1. VNTR解析で, 日本, 韓国の結核菌は“祖先型”, 中国は“蔓延型”, 韓国はRD181陽性で日, 中, 韓, 台の結核菌は各々区分可能な発見, (加藤・前田)
2. さらに全23箇所のSNP検出リアルタイムPCR系を確立,
3. 今まで北京型結核菌は, modern型とancient型の2群にしかなかったが, 本SNPシステムで日本株はmodern型は5群, ancient型は4群に細かくグループ分けができた,

HIV合併結核

1. HIV合併結核症例の解析, 国立病院機構:結核20,845例中HIV合併結核0.4%, このうちHIV合併多剤耐性結核3.4%, 粟粒結核や死亡例, HIV合併多剤耐性結核は治療に難渋(永井) 国立病院機構以外:HIV合併結核121例中多剤耐性0.8%, HIV抗体検査なしの結核医療機関6割(藤田)
2. HIV合併結核129例(国際医療セ)外国人籍24%, 多剤耐性結核2%, HIV合併結核患者におけるQFT-3G診断法は有用(特異度は高い), (青木)

多剤耐性結核に対する迅速診断の開発

rpoB変異を用いて多剤耐性結核患者の迅速隔離方法を構築, 6施設に普及, (鈴木・露口)

アジア諸国の結核対策・治療システム

外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集(岡田・加藤・服部・野内・慶長)を中国 Heping, 韓国 Cho, タイ Srisin, フィリピン Dayrit博士等と, すでに確立した結核ネットワークで行った, アジア諸国との結核対策共同ガイドライン作成中,

A. 研究目的 (図1) (表5)

1. 近年、海外から輸入される多剤耐性結核が問題。
2. したがって
 - (1) 海外から輸入される多剤耐性結核 (日本の外国人結核・帰国者の結核) の分子疫学的解析 (表5、図1)
 - (2) 日本・中国・韓国・台湾の結核菌分子疫学研究
 - (3) アジア諸国の多剤耐性結核
 - (4) 多剤耐性結核とHIV合併の把握 (図1)
 - (5) 多剤耐性結核の迅速診断法・迅速治療法の確立 (図1) と多剤耐性結核の治療法 (化学療法等) の確立 (図1)
 - (6) アジア諸国の結核対策研究ネットワークを活用したアジア諸国の結核対策治療システム (図1、図2)

具体的には (図3、4、5、6、7)

- (1) 近年、日本から中国、韓国、台湾への渡航及びそれらの国からの来日者が増加している。これら人の移動に伴い結核を含めた感染症がアジア地域内の国々に広まる可能性も考えられる。また、台湾を除きこれらの国々では、北京型結核菌がそれぞれの国内で広まっているという共通の地域性があり、他の地域とは異なる特徴を持っている。そこで、東アジア諸国内で共通で利用できる結核菌型別システムの構築を目的として共同研究を開始した。結核菌の型別法として、比較が難しいIS6110制限酵素断片長多型 (RFLP) 分析ではなく、迅速で容易に型別結果を比較できる反復配列多型 (VNTR) 分析法を採用した。VNTR分析では、分析ローカスの選択が分解能を決定する上で最も重要である。将来のデータベース化および型別データの比較には共通のローカスで結核菌の型別を行う必要がある。また、それぞれの研究者間でコンセンサスを得る必要がある。また、次世代シーケンサーによる結核菌の全ゲノム解析から得られた一塩基多型 (SNP) を用いた型別法を利用した分析システムの構築を進めた。SNPは結核菌の遺伝システムに応じて発生し、蓄積されていくことから

VNTRのような亜種型別ではなく、もっと安定した遺伝系統 (型別情報) を提供するものと期待される。各国で既に広まっている結核菌の系統情報を調べることで、それぞれの地域の結核菌の特徴が判明すると期待される。

東アジア諸国で共通のSNP解析やVNTR分析システムを構築し、型別情報の蓄積と情報交換ができれば、例えば、各国で広がっている多剤耐性菌や病原性の高い株の型別情報を共有することができる。

- (2) わが国における外国人結核の割合は日本人結核とは逆に増加傾向にある。2012年の外国人患者の新登録結核患者数に占める割合は5.2%であり、若年層、とくに20歳代では37.0%にまで増加した。新規の外国人結核患者は結核蔓延国を母国とすることが多いため、とくに多剤耐性結核のわが国への持ち込みは新たな脅威として懸念されている。実際、岡田班の第2次調査では外国人結核の4.4%が多剤耐性であり、日本人結核に比べて高率であることが明らかとなった。また、同調査では都道府県別にみて、最も多くの外国人結核が発症しているのは東京都であった。国立国際医療研究センターは東京都新宿区に位置し、東京都各地域の外国人結核患者を扱っている。分担研究 (小林) では、東京における最近の外国人結核の発病と治療の現状、および臨床像の経年的推移を把握することを目的に、国立国際医療研究センターにおいて過去6年間に診療した外国人結核の臨床像について、さらに、新宿区保健所のデータをもとに新宿区における外国人結核患者の経時的推移を含めて検討する。さらに同期間における外国人由来結核菌の薬剤耐性について日本人結核患者と比較検討する。また、東京における外国人結核の感染状況を把握し、外国人結核患者が母国で感染してわが国に入国したのか、わが国で結核を感染したのかを推定することを目的に、東京に在住している外国人結核患者から分離された結核菌の分子疫学調査を実施する。
- (3) 中国東北部 (ハルビン医科大学)、南部 (上海・復旦大学)、フィリピン (マニラ・サンラザロ病院) との共同研究を通して同地の結核菌の分子遺伝学的に特性、薬剤耐性、免疫応答性の

表5

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(平成23年度・24年度・25年度)

海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究

研究代表者
岡田全司 (独)国立病院機構近畿中央胸部疾患センター 臨床研究センター長 研究の統括

研究分担者・研究目的

I	日本における外国人結核の実態把握と分子疫学解析 小林信之 (国立病院機構東京病院) 東日本(東京) 岡田全司 下内 昭 (結核研究所, 大阪市保健所) 西日本(大阪・神戸)
II	日本・中国・韓国・台湾との結核分子疫学研究(研究ネットワークを活用した) 加藤誠也 (結核研究所) 中国、韓国、台湾の結核菌分子疫学・日本の結核菌と比較
III	アジア諸国の多剤耐性結核 分子疫学研究と宿主要因解析(研究ネットワークを活用した) 服部俊夫 (東北大学) 中国、フィリピンの実態調査と分子疫学 野内秀樹 (結核予防会複十字病院) タイの結核菌分子疫学 慶長直人 (結核研究所) ベトナム宿主要因 横田紳策 (国際医療研究セ) タイ・ベトナム
IV	HIV合併結核 永井英明 (国立病院機構東京病院) 国立病院機構ネットワーク活用のHIV合併結核 藤田 明 (東京都多摩北部医療セ) 全国病院施設・保健所 青木孝弘 (国際医療研究セ) HIVによる免疫不全と結核
V	多剤耐性結核に対する迅速診断 鈴木克洋 (近畿中央胸部疾患セ) 多剤耐性結核迅速入院法 竹田 潔 (大阪大学) 新しい結核治療剤開発
VI	アジア諸国の結核対策・治療システム 岡田、加藤、服部、野内、慶長

表6

研究方法

アジア諸国のネットワークの活用による
多剤耐性結核・HIV合併結核制御

必要性

1. 日本国内への結核流入・蔓延防止。
2. 日本の外国人結核は年々増加。集団感染。
3. 日本のHIV増加、HIV合併多剤耐性結核は難治性。
4. 多剤耐性結核の迅速診断・迅速隔離重要。
世界で50万人。莫大な費用。新治療剤必要。

解析によって日本に輸入感染症としての危険性を把握し対策を立案する。
 北京/非北京型の結核菌を新たなRv0679c multiplex PCR法を用いて平易で、さらに低価格でモニターできる方法の開発を目指した。さらに

Rv0679c抗体を測定することによって血清学的に活動性結核患者と潜在性結核感染者の結核菌の遺伝子型を同定する。
 フィリピンにloop isothermal amplification assay (LAMP)を導入し、その有効性を実証する。

Spoligotyping法を用いてアジアに多く流布する北京型結核菌感染をマニラにおいて確認する。各遺伝子型の特徴な免疫反応を40種以上のバイオマーカーを用いて明らかにする。さらに適切なカットオフを同定し、将来の診断方法に用いられるマーカーとマーカーの組み合わせを明示する。

- (4) 外国人結核の特定の結核菌株蔓延示唆。患者が多い新宿区の分子疫学調査が重要。

低蔓延の欧米先進諸国では結核患者の半数以上を外国出身者が占めている。これは国際交流がすすみ、人の行き来や交流のなかで起こってくる事態である。自国の高齢者が結核の半数以上を占めている日本でも、20代の結核患者では外国籍の患者が28.2%を占めており、83.4%が5年以内の発病であるという。高蔓延の母国で感染し、他国でのストレス等の要因で発病という一連の病態は納得しやすい説明である。実際には結核で入院治療する外国人患者は種々の状況で発病、診断され、治療されることは日本人の場合と変わらないが、言葉の問題や服薬支援ではより力を注ぐ必要がある。また結核の2大問題であるHIVと多剤耐性に注目し実態に迫りたい。

- (5) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向
2008年以降に大阪市において登録された全結核患者に占める外国人（外国出生）の割合は、全年齢で見ると3%前後で大きな変化はみられなかったが、20代に限ると2008年13.6%から2012年29.3%へと年々増加していた。外国人結核対策に資するため、大阪市において外国出生結核患者の発生動向を調査した。

日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

2013年現在大阪市には34校の日本語学校があり、うち専修学校（健診義務あり）は13校、その他（健診義務なし）は21校であった。2011年4月より、健診義務の対象となっていない者（専修学校以外の学校および専修学校のうち短期コースの者）に対する健診を実施している。

外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析
外国出生患者由来結核菌株のVNTR解析をすることにより、国内での伝播状況を考察した。

- (6) 生体内における結核感染の防御は細胞性免疫が担っている。したがって、細胞性免疫が低下す

るすべての疾患で結核発病のリスクは高まる。中でもCD4陽性Tリンパ球（CD4）が減少し重篤な細胞性免疫障害が生じるHIV感染症は、他の疾患に比較し桁違いに結核発病のリスクが高い。多剤耐性結核（MDR-TB）がHIV感染者に合併した場合、極めて予後不良である。

日本の結核の罹患率は人口10万対16.7（2012年）まで低下したが、欧米先進国の中には10万対4前後の国もあり、日本は結核については中蔓延国である。また、HIV感染者数は減少傾向になく、2012年の報告例は1400名を越えている。

このような状況下では、HIV感染症合併結核の症例は減る傾向にないであろう。しかしながら、わが国におけるHIV感染症合併結核例の正確な継続的な統計はなかった。「結核の統計」では2007年のデータからHIV陽性者数を掲載するようになり、それによると毎年52-75人のHIV陽性者がおり、結核患者の中での陽性率は0.22 - 0.33%であり、大きな変動はない。しかし、HIV陽性者の詳しい臨床的データは記載されていない。

HIV感染者に合併したMDR-TBについても正確な疫学的データはない。

国立病院機構（national hospital organization: NHO）病院は全国に143施設あり、全国の結核病床の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感染症合併結核の実態調査を行うことは、わが国における両者合併例およびMDR-TB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。そこで、この研究班ではNHO病院を対象に両者合併例およびMDR-TB合併例の症例調査を継続的に行った。

- (7) 多剤耐性結核は治療の難しい結核であるが、HIV感染を合併していると予後が悪いことが海外から報告され、院内集団感染事例では死亡率がきわめて高い（死亡率72～98%）。国内では近年、村上・加藤ら、村松ら、千葉らによって3本のHIV合併結核に関する臨床検討が報告されている。それによると、外国人の割合は17～29%であり、結核全体の外国人比率よりも多い。多剤耐性結核菌については、千葉らの報告では、2/129例1.6%（1996～2010年のエイズ治

療・研究開発センターにおける症例)また、全国HIV感染合併結核症アンケート調査報告(2003~2006年に診療)は3/105例2.9%で認められた。そこで日本における多剤耐性結核とHIV合併についてその実態を詳細に把握することを本研究の目的とした。

- (8) 結核の診断では、近年、BCGの影響を受けず、客観性のある検査であるInterferon Releasing Assay(以下IGRA)がツベルクリン反応に代わり行なわれるようになりつつある。

本邦では、平成22年4月1日よりIGRAの1つである第3世代クオンティフェロンTBゴールド(以下QFT-3G)が保険診療で行なえるようになった。本研究では、平成24年度にHIV感染者におけるQFT-3Gの有用性について、当院の新規HIV感染者を対象にQFT-3Gを施行し、同群における陽性率などを明らかにした。

更に、平成24年11月より同じIGRAの1つであるT-スポット TBが本邦でも保険収載され利用可能となった。QFT-3Gと比較しT-スポット Tbは感度・特異度ともに高いとされているが、本邦でHIV感染者における両検査の比較検討は施行されていない。

そこで、平成25年度は、当センターの初診HIV感染者及び抗酸菌症と確定した当センターの通院中のHIV感染者を対象とし、QFT-3GとT-スポット TBを施行することで、両検査の感度・特異度などの比較検討を行う。

以上の研究を行うことで、HIV感染者における2種類のIGRAの診断法としての有用性を明らかとすることを目標とする。HIV合併結核に関する診療ガイドライン策定の際の基礎データとなると考える。

- (9) 多剤耐性結核の多数発症が日本・世界(特にアジア地域)で大問題。有効な治療法なし。
- (10) 多剤耐性結核菌に対する宿主側の防御機構と菌側の要因との両面からの解明が切望。
- (11) 海外から輸入される多剤耐性結核・HIV合併結核の実態把握と分子疫学的解析で対策・成果。
- (12) アジア諸国(特に韓国、中国、台湾)との研究ネットワークを活用し、海外から流入する結核菌株を迅速に把握するシステム(分子疫学解析)構築。結核菌型別データベース構築。
- (13) 日本における外国人結核の分子疫学解析によ

る特定菌株蔓延の解析と治療実態把握。国際医療研・国立病院機構・保健所・結研の全国研究。外国人同士や日本人への感染伝播分析。

- (14) 多剤耐性結核の診断の遅れは、患者本人の治療失敗に加えて周囲への感染拡大につながるため、迅速な感受性検査はきわめて重要である。ジェノスカラーRif-TB は、喀痰中の結核菌に存在する RFP 耐性遺伝子である rpoB 遺伝子領域の変異をラインプロブアッセイで検出することによる RFP 耐性迅速診断法であり、24 時間以内に結果を得ることができる。RFP 耐性結核の大部分は多剤耐性結核であるため、本法は多剤耐性結核のスクリーニング法としても期待できる。我々は本法の従来法との相関、有用性につき検討した。

- (15) アジアとの多剤耐性結核・HIV 合併結核の分子疫学・宿主要因研究と対策・制御。

多剤耐性結核、難治性結核患者の前向きコホートを含めた人と菌の検体バンクを活用し、日本への伝播も検討した疫学研究を目的とした。岡田班本体「海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究(H23-新興一般-002)」が掲げる海外から輸入される多剤耐性結核の分子疫学的解析、HIV 合併の把握、多剤耐性結核の診断・治療の対応し、タイ NIH という日本が建設してアジアの中心研究機関に育てているネットワークを活用した。前岡田班時代より進めている多剤耐性結核を含む難治性結核(再発、治療失敗、慢性排菌例)患者の正常治癒例と比較した検体バンクとコホートを、日本には少ない HIV 感染毎の情報も持ちながら補強し、前記の研究目的の為の疫学研究を遂行した。

- (16) 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、ベトナム国内南北2カ所の薬剤感受性検査を実施する結核レファランスセンターのうちベトナム南部の結核対策の責任病院である。耐性結核の宿主要因の候補遺伝子の特徴的な遺伝子変異、アジア人の遺伝子分布の特徴を明らかにすることを目的として研究を実施している。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18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、HIV 陽性、悪性

腫瘍、免疫抑制剤の使用者を除外した。外来通院中の多剤耐性結核患者 58 名から血液サンプルを収集し、EDTA 添加血より血漿（血中タンパク濃度測定用）および血球（ゲノム DNA 抽出用）を得た。また RNA 安定化剤を付加して凍結した全血より total RNA を抽出した。また多剤耐性結核患者ゲノム DNA から PCR にて各種遺伝子多型を同定した。

NAT2 遺伝子タイピングは、主に 3 つの非同義置換 341T>C (rs1801280)、590G>A (rs1799930)、857G>A (rs1799931) を同定することにより、実施した。

MBL 遺伝子タイピングは、H/L, X/Y, P/Q, A/B 多型のハプロタイプ構造を確認した後、MBL の発現に関連する X/Y と A/B の 2 カ所の多型については、約 600 bp の領域を PCR 増幅して、X/Y は Btg I による消化、A/B は Ban I による消化による PCR-RFLP 法によって判定した。

MBL の血中濃度は、EDTA 採血検体も正確に測定できる市販の ELISA キット (Quantikine ELISA Human MBL R&D) によった。

血漿中のサイトカイン等、27 種類のサイトカイン等の生理活性物質 (IL-1b, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12(p70), IL-13, IL-15, IL-17, Eotaxin, FGF-2, G-CSF, GM-CSF, IFN-g, IP-10, MCP-1, MIP-1a, MIP-1b, PDGF-BB, RANTES, TNF-a, VEGF) の濃度は蛍光ビーズアレイ (Bio-Plex サスペンションアレイシステム) を用いて同時スクリーニングを行った。

DUSP14 遺伝子タイピングは、プロモーター領域、エクソン領域を増幅し、ダイレクトシー

ケンスにより遺伝子配列を決定した。見いだされた遺伝的多型間の連鎖不平衡構造解析を行った。

- (17) 潜在性結核感染における末梢血グラニューリン発現レベルを検討し、質問紙にて調査した臨床疫学的要因と併せて解析を実施して、活動性結核の発症や再活性化におけるグラニューリンの役割について、将来のより大規模な臨床研究の足がかりとする。

活性型マクロファージ M-M における活性型ビタミン D₃ によるヒト型結核菌及び BCG に対する抗菌メカニズムを明らかにする。結核菌に感染した M-M が結核菌殺菌時に産生する抗菌活性因子の候補分子 dermicidin 遺伝子の発現について検討を行う。

- (18) 自然免疫系は、病原体の宿主内への侵入を最初に察知し、種々の炎症・免疫応答を誘導する重要な免疫系である。最近、Toll-like receptor (TLR) ファミリーの機能解析により、自然免疫系の活性化機構が明らかになり、TLR を介した自然免疫系の活性化の生体防御における重要性が明らかになった。結核菌に対する生体防御においても、自然免疫系が結核菌の認識が重要な役割を果たす可能性が考えられる。これまでに、マウスを用いた我々の解析から、リポカリン 2 や SLPI などの分子群が、結核感染における自然免疫応答で重要な役割を担っていることが明らかになっている。本研究では、自然免疫系による結核感染防御機構を明らかにし、多剤耐性結核菌に対する、自然免疫系の活性化を利用した新規治療ワクチンの開発への基盤を提供することを目的とする。

■ FIGURE 1.1
Estimated number of new TB cases, by country, 2007

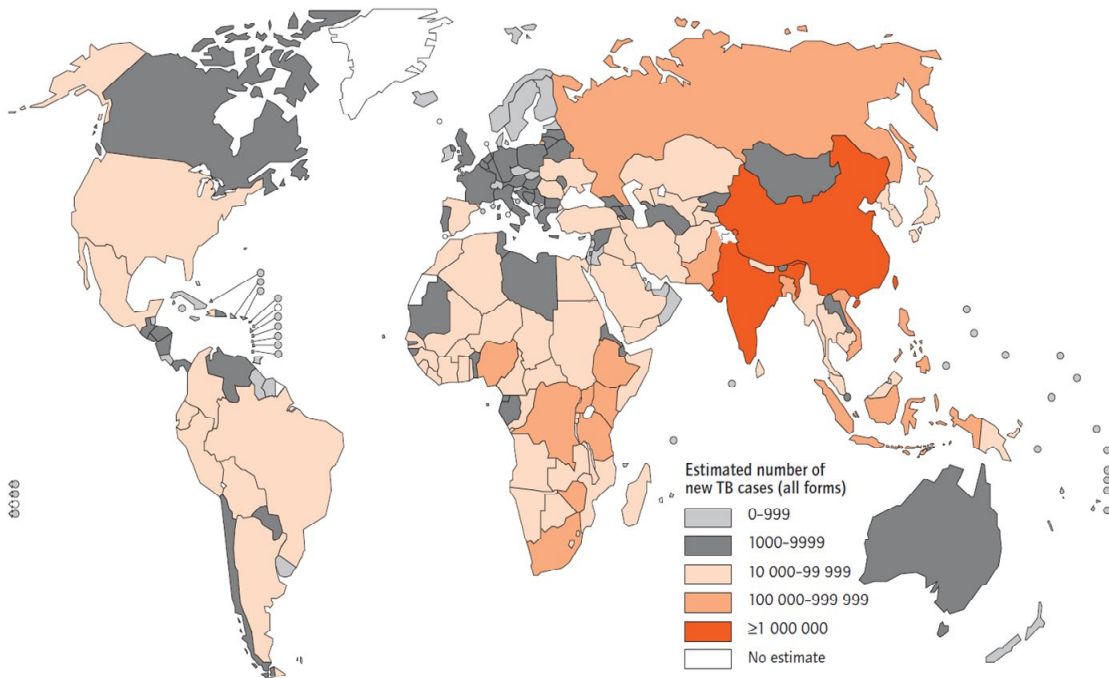


図2

[] 海外から輸入される多剤耐性結核の分子疫学的解析

アジア諸国の結核菌遺伝子解析による感染伝播菌解明

【平成23～25年度計画】

中国株、韓国株、日本株、台湾株
分離可能な発見

結核菌	中国	韓国	日本	台湾
北京型				
蔓延型				
祖先型				
RD181(+)				
RD181(-)				
非北京型				

(Kato, J. Med Micro. 2010)

1. 左表の如く日本・中国・韓国・台湾の結核菌感染では、**出身国(母国)**を遺伝子解析同定しうる発見をした。
2. **アジア諸国20カ国**(ベトナム、フィリピン、タイ、インド等)にこの遺伝子解析を応用する。
3. 多くのアジア諸国の結核菌を区分する方法を開発する。
感染伝播結核菌の母国からの入国等重点対策がたてられる。

図3

アジア各国で使えるSNPs分析法とVNTRを 組み合わせた感染菌型の解明

Line Probeアッセイの簡便鑑別キットを作製

日本への結核菌輸入・蔓延防止に重要

感染伝播国での結核対策
 入国時チェック
 入国後フォロー

4. 極めて識別能が高い20個のSNPs+VNTR(10ローカス)

合計20 SNPs	7-SNPs	台湾が提案の非北京型結核菌の分類
	3-SNPs	上海が提案の蔓延型北京型
	10-SNPs	日本が提案の祖先型北京型
結核菌の系統分類		
VNTR(10ローカス)		亜分類

5. アジア各国で使えるSNPs+VNTRのLine Probeアッセイの簡便鑑別キットを作製

図4

[] 結核・多剤耐性結核とHIV合併の把握と対策

本邦で最もHIV合併結核の診療・研究を行っている

永井 Kekkaku 2009
 藤田 Clin Dev Immunol 2011

- | | |
|--------------|------------------|
| 1. 永井英明 | 国立病院機構144施設 |
| 2. 藤田 明 | エイズ拠点病院・保健所との連携 |
| 3. 青木孝弘(岡慎一) | HIVによるT細胞免疫不全と結核 |

AIDS患者は健常人の170倍のリスク。本邦のHIV増加。

1. 本邦でのHIV合併結核の実態把握(全国に調査票等)。
2. HIV陽性者のQFT早期診断の確立と潜在性結核患者の早期発見。
3. 結核患者のHIVスクリーニング。
4. HIV合併結核マニュアル作成。

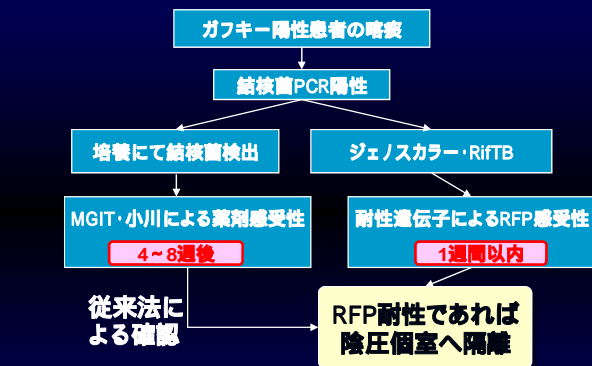
[] アジアの多剤耐性結核とHIV合併結核の把握と分子疫学解析

1. 中国・フィリピンにおける多剤耐性結核とHIV合併結核。SNPsとVNTR法(加藤)でも解析。中国ハルビンでスーパースプレッダー多剤耐性結核菌発見したことより中国の広い地域で解析(服部)。
2. タイでのHIV合併結核の実態把握と分子疫学解析(野内)。
3. ベトナムでのHIV合併結核の分子疫学と宿主要因解析(慶長)。
4. タイ及びベトナムのHIV合併結核のバイオマーカーの開発(櫻田)。

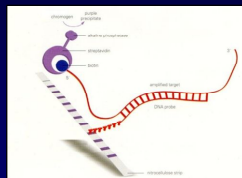
図5

[] 多剤耐性結核迅速診断・迅速入院(隔離)法

迅速入院法確立



- 1.初めての発見。現在6病院。
- 2.通常の方法では診断に30日以上。本法では5日以内。多剤耐性結核の蔓延・感染をブロックできる。
- 3.これを本邦270の結核診療施設に普及。
- 4.この診断法の簡易化、自動化。



診断法の簡易化・自動化

Line Probe assay

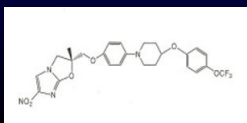
(鈴木、露口、岡田 Kekkaku 2008, 2009)

図6

[] 多剤耐性結核の治療(新しい化学療法剤)

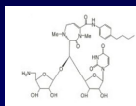
新しい化学療法剤

- (A) **OPC-67683**
(1-4. Nitroimidazo-oxazole)



1. 臨床応用
2. ICAAC(2005岡田)
3. 現在Phase b臨床試験

- (B) **CPZEN-45**
(カブラザマイシン-B)



1. 前臨床試験
2. WHO にノミネート
3. 岡田特許

- (C) リファブチン、リネゾリド

図7

B. 研究方法 (図1) (表6)

1. 海外から輸入される結核菌・多剤耐性結核菌の分子疫学研究。

- (1) アジア地域(日・韓・中・台)において広まっている結核菌の分子疫学研究。(加藤、前田)：

日中韓台分子疫学研究会議

平成23年9月1日、平成24年12月10-11日、平成26年1月14-15日と全体で3回、結核菌の分子疫学担当者会議を開催した。VNTR分析は株ごとに複数ローサイをPCRにかけ、得られたPCR産物の分子量を測定し、コピー数に換算する必要がある。しかし、SNP解析なら最初にプローブとプライマーの設計さえ行えば、リアルタイムPCRの系で簡単に分析・型別することができる。本研究所でまとめた北京型と非北京型結核菌の双方を網羅的に型別できるSNP型別システムを各国参加者に提案した(図1)。このシステムで各国の結核菌を分析して広まっている結核菌の遺伝型を比較することにした。

リアルタイムPCRを利用したSNP分析システムの構築

次世代シーケンサーを使った結核菌株の分析から明らかになったSNP部位を遺伝系統毎に選択して、結核菌を遺伝系統的に型別するSNP分析システムを作成した。SNP部位の塩基は、リアルタイムPCRを利用した分析系で検出した。本システムを使って各国で分離された結核菌(200株以上)の解析を行った。

- (2) 日本の外国人結核・帰国者結核の分子疫学解析と対策。

(a) 日本の外国人結核患者を最もよく診療・分子疫学解析研究する小林・切替・豊田(東京・東日本)、下内・和田(大阪・西日本)等により分子疫学(VNTR等)・対策構築。

(b) 国立病院機構(岡田)、国際医療研セ、保健所、結研で全国レベルで行う。全国の外国人結核の菌株をVNTRで解析し、特定の菌株蔓延があるか解明する。

当班で新たに外国人結核調査票を作成した。日本全国：2012年全国保健所528、結核病床を有する病院262、合計790施設に2009年～2011年の調査票(外国人結核)を送り、90%の回答。2121例(重複なし)を解析した(岡田)。

国立国際医療研究センターにおいて2007年1月から2012年12月の間に診療した外国人結核患者を対象として、性別、年齢、国籍、社会背景、基礎疾患、合併症、塗抹、培養、薬剤耐性、転帰などの臨床的特徴について調査した。そして、6年間を前半(2007-2009年)と後半(2010-2012年)に分けて、それぞれの項目を比較検討した。結核菌の薬剤感受性に関しては、同期間における日本人結核菌株の感受性結果と比較した。

前研究班では、国立国際医療研究センターで診療した外国人結核患者由来株を用いたIS6110-probed RFLP分析(解析ソフトFingerPrinting (Bio-Rad))を使用して解析により、70%以上の相同性を認める2つの「グループ」が検出されたことを報告した。今回の研究班では、それぞれのグループに属する外国人結核患者の臨床情報を収集し、その特徴や遺伝子型について検討した。その中で、新宿区在住の外国人結核患者20名については、新宿区の結核患者の分子疫学データをもとにクラスター形成率を求めた。なお、新宿区における結核患者の分子疫学解析については、新宿区保健所(島 史子先生)と結核研究所(石川信克先生、大角晃弘先生、村瀬良朗先生)にご協力をいただいた。

東京に在住している日本人および外国人由来結核菌の網羅的分子疫学解析を目的に、外国人結核患者由来91株、および性別、年齢をマッチさせた日本人結核患者168名から分離された結核菌のゲノムDNAを抽出し、MiSeq (Illumina Inc.) を用いて全ゲノム配列を決定した。Illuminaの配列の解析にはCLC genomics workbench ver.6.5 (CLC bio)を用いた。*in silico* genotypingは、

Gagneux S.らの定義を用いて、Indo-Oceanic (Lineage 1)、East Asian (Lineage 2 or Beijing)、East African-Indian (Lineage 3)、Euro-American (Lineage 4)、West African I (Lineage 5)およびWest African II (Lineage 6)の系統分類を行った(Gagneux S. et al., 2006)。北京型結核菌は、NTF領域へのIS6110の挿入およびmutT2遺伝子のGly58Argの変異の有無によってmodern型とancestral型に分類した。系統樹は、PhyML3.0を用いて最尤法で作製した。

(c)国立病院機構東京病院結核病棟で2010年～2012年8月に入院治療した外国籍の活動性結核患者50例についてカルテ記載に基づいてレトロスペクティブに検討した。検討項目は年齢、性別、国籍、入国から発病までの期間、病型、排菌状況、薬剤耐性、合併症、言葉の問題の有無、結核治療成績である。(豊田)

(3) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向

2008年～2012年に大阪府で新規登録された外国人(外国出生)結核患者の発生動向を調査した。性別・年齢・出身国・入国から結核登録までの期間・職業について分析した。

日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

2011～13年に日本語学校19校に所属する外国出生者に対し結核健診を実施した。日本出生者、国籍不明、再受診者を除いて分析を行った。受診者の年齢・性別・出身国・健診結果・精密検査結果を分析した。最終的に活動性結核と診断された者については、来日から健診受診までの期間・症状・結核既往・病型・菌情報などについて分析した。

外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析
2010年～2013年に登録された外国出生結核患者は141名であり、うち培養陽性は74名(52.5%)であった。そのうちVNTR解析を実施した者は54名(73.0%)であった。対照として、2010年～2013年に登録された40歳未満の日本出生培養陽性結核患者338名

の中でJATA12-VNTRを実施した216名(63.9%)と比較した。VNTR解析は、JATA12-VNTRを行い、完全一致した場合にはHV4領域を含む12追加領域を解析した。

2. 結核・多剤耐性結核とHIV合併の把握：

(1) 永井、藤田、青木により実態把握。臨床的特徴・T細胞数や活性・治療・結核症状・HIV進行度等について調査・解析。

(a)NHO病院143施設に対して調査票を送り、2007年～2012年の間に入院したHIV感染症合併結核症例数の把握と臨床データの集積を行った。調査項目は、結核患者数、HIV陽性者数、HIV陽性者については年齢、性別、国籍、結核の病態、結核の治療、HIV感染症の治療、免疫再構築症候群の合併、転帰等である。

(b)平成23～25年度に、全国531の保健所、全国248の結核診療医療機関(国立病院機構を除く)、全国231のHIV診療拠点病院(国立病院機構を除く、国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センターを含む)を対象に、HIV合併結核の症例の有無を尋ねる一次調査を実施した。ただし、調査機関数は統廃合・追加等のため調査年度間で必ずしも一致しない。その結果をもとに、症例を有した医療機関に対して匿名化症例調査票による二次調査を実施した(保健所に対しては二次調査を行わなかった)。過去に村上、加藤らによる全国HIV感染症合併結核症アンケート調査報告(2003～2006年)が行われているので、今回は2007年以降2012年まで診療した症例について収集した。一次調査、二次調査ともに各施設の担当者に記入を依頼し、郵送法により実施した。

一次調査の内容は以下である。

結核病床を有する(有した)医療機関には、年次ごとの結核入院患者のうちHIV感染症合併例数・HIV感染症合併例のうちの多剤耐性結核例数、HIV拠点病院(結核病床を有さない)には、HIV感染症合併の結核例数・HIV感染症合併結核例のうちの多剤耐性結核例数、保健所には、結核新登録患者数(確定例)・結核患者のうちHIV感染症

合併例数・HIV感染症合併例のうちの多剤耐性結核例数である。

関連調査としては、24年度の単年度調査では、HIV合併結核の患者を受け入れた経験がある施設に対して、病棟内でどの病室（陰圧室）を使用するか、前室の有無、などについてもアンケート調査を行った。また、25年度の単年度調査では、結核医療機関を対象に「結核入院患者に対するHIVスクリーニング検査の実施率（概数）を教えてください。」と質問し、20%区切りの概数選択方式による回答を求めた。

HIV感染合併結核症例を有すると返答があった医療機関に対して、症例に関する匿名化二次調査を行った。二次調査に使用した症例調査票は国立病院機構病院の症例調査票と共通のフォーマットとし、主として結核およびHIVに関する臨床的データに関して記載を依頼した。返送された調査票に基づき、HIV耐性結核の臨床像および抗結核薬に対する耐性状況について検討した。

(c) 国立国際医療研究センター：(1)平成25年10月から平成26年2月までに当センターを受診した新規HIV患者のうち抗HIV療法を導入前で、書面による研究参加の同意が得られた患者について、QFT-3G、T-スポットTBを施行した。いずれかのIGRAが陽性の被験者では、結核症の有無について精査を施行する。抗酸菌が確認された場合は、菌種の同定と耐性検査を施行する。IGRAが判定保留または判定不可となった患者では、受診毎にIGRAを施行し経過観察を行う。IGRAが陰性であった患者では、初回検査時より1年間結核発症の有無について経過観察を施行し、結核発症が疑われた場合は、両IGRAを施行し、結核症の精査を施行する。

- (2) 中国・フィリピンは服部、タイは野内、ベトナムは櫻田、慶長。HIV合併結核のバイオマーカー（Gra等）解析。

- (3) 永井は国立病院機構144病院にHIV合併結核の調査アンケート。
(4) 藤田は全国エイズ拠点病院、結核診療病院（国立病院機構を除く）、保健所に調査。
(5) 症例の有無を尋ねる1次調査と症例調査票による2次調査。

3. 多剤耐性結核の迅速診断・迅速隔離法の確立。
(1) 全国国立病院機構及び全国結核診療施設に普及。
(2) 外国人結核QFT診断。
日本語学校・外国人雇用事業所で。
(3) 結核を疑われて当院を受診した患者で、喀痰検査でアンプリコアマイコバクテリウムによるPCR検査を行って結核菌群陽性と判定された331例を対象とした。対象患者の喀痰を用いてジェノスカラーRif-TBを行いRFP感受性の有無を判定した。同時に、喀痰検体から培養された結核菌に対して通常のMGIT及びウェルパックによる小川比率法を用いた薬剤感受性検査を行って、結果を比較検討した。
4. 多剤耐性結核の新治療法の確立。（鈴木・岡田）
(1) リファブチン等による治療。
(2) (a)新化学療法剤(デラマニド(OPC-67683))。認可が降り次第臨床応用。[岡田、松本(大塚研)]
(b)カプラザマイシン(CPZEN-45)。すでにXDR-TB治療効果。WHOのpreclinical治療に指名された。INH、RFPとの治療期間短縮(マウス)(微化研野本博士らと)。
(3) 結核菌がマクロファージに侵入後、貪食胞の成熟を抑制し、増殖をするが、貪食胞の成熟を抑制するメカニズムには不明な点が多い。結核菌の病原性因子として分泌たんぱく質であるESAT-6が知られていて、これらの遺伝子はワクチン株としてももちいられるM. bovis BCG株で欠損していることが知られている。ESAT-6は、T細胞に対する強い抗原性を有していることが知られているが、マクロファージの機能に及ぼす影響は明らかになっていない。そこで、マクロファージ内の貪食胞で分泌されるESAT-6が宿主細胞とどのように相互作用するかを解析した。GST融合ESAT-6タンパク質を作製し、これをマクロ

ファージ細胞株RAW264.7細胞の溶解液と混合し、その後GST pull downを行うことにより、ESAT-6に会合する宿主分子の同定を試みた。

細胞内DNAセンサーとして同定された Absent in Melanoma 2(AIM2)の結核感染における役割を、遺伝子欠損マウスを定法により作製し、このマウスに結核菌を経気道的に感染させ、野生型マウスと感受性を比較した。

ヒアルロン酸合成酵素HAS1, HAS3の遺伝子欠損マウスを作製し、結核菌を経気道的に感染させ、感受性を解析した。

5. アジアの結核研究ネットワークを活用した、多剤耐性結核の分子疫学。中国（服部・岡田）、フィリピン（服部・岡田）、タイ（野内・櫻田）、ベトナム（慶長・櫻田）で分子疫学研究、S・S多剤耐性結核菌・XDR-TB解析。宿主要因（結核免疫・薬剤代謝）解析。

- (1) 中国・フィリピンでの多剤耐性結核菌の解析：

1. ハルビン医科大学で収集した44例の喀痰からの結核菌を培養し、抽出したDNAの分析を日本で行った。PCRを用いて

Rv0679c, RD105, RD207, TbD1の領域を調べた。複旦大学で肺結核45人、肺外結核26人、AIDS 結核16人を含め、87例の結核患者39例健康者ともに血漿中のRv0679c IgGとIgA抗体をELISA法で測定した。

2. サンラザロ病院の未治療結核患者（37例）の喀痰と血漿を集めた。喀痰からDNAを抽出し、現場でLAMP法を用いてMTB complexを確認した。また日本において spoligotyping法で結核菌遺伝子型を同定した。血漿中の38種のサイトカインとケモカインをLuminex法で、osteopontin (OPN), galectin-9 (gal-9) とTBGLIgG・IgAをELISA法で測定した。

- (2) 結核の感染・発病と治療転帰のモデルに基づき、難治性の結核患者(再発例、治療失敗例、慢性排菌例等)の要因に関して研究をしている。

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前

回の岡田班より継続している。の群に関しては、菌側のタイピングを活用して、厳格に内因性の再燃と外来性再感染を区別している。結核治療に反応が良く再発をしなかった群、結核に罹患していない正常人のコントロール群を設定し、比較の対象としている。ケース・コントロール研究の形態にて、との比較により結核症の難治に関する種々の要因検討、と結核症群(1-2)の比較により結核自体の発症に関連する様々な疫学的因子の検討を進めている。

日本においては、公益財団法人(公財)結核予防会・複十字病院臨床検査部にて、タイ国においては、結核予防会・結核研究所とタイ保健省の共同プロジェクトが設立母体となり、現在はタイNIH等とコンソーシアムを組んで運営しているタイ国チェンライ県の結核研究フィールドに参画して、検体バンクと臨床データ管理を実施している。

複十字病院は厚生労働省より2011年5月に独立行政法人(独)国立病院機構・近畿中央胸部疾患センターと共に日本で2カ所の結核医療の「高度専門施設」に指定されて先駆的役割を期待されている。抗結核薬開発と共に抗酸菌診断法の研究開発の参加依頼が来る。複十字病院は数多く多剤耐性結核症例が紹介されるので、タイでは多剤耐性結核を単独で検討できる。

- (3) 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、ベトナム国内南北2カ所の薬剤感受性検査を実施する結核レファランスセンターのうちベトナム南部の結核対策の責任病院である。耐性結核の宿主要因の候補遺伝子の特徴的な遺伝子変異、アジア人の遺伝子分布の特徴を明らかにすることを目的として研究を実施している。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、HIV陽性、悪性腫瘍、免疫抑制剤の使用者を除外した。外来通院中の多剤耐性結核患者58名から血液サンプルを収集し、EDTA添加血より血漿(血中

タンパク濃度測定用)および血球(ゲノムDNA抽出用)を得た。またRNA安定化剤を付加して凍結した全血よりtotal RNAを抽出した。

- (4) 1. ベトナム・ハノイ市の肺病院及び地区の結核センターの医療従事者109名を対象に、インタビューと採血を実施した。IFN- γ 遊離テスト(QuantiferonTM-Gold in tube)にて診断された潜在性結核感染における末梢血グラニュリシン発現レベルをELISAにて検討し、質問紙から得られた臨床疫学的情報と併せて統計解析を行った。(倫理面への配慮)

国立国際医療研究センターの倫理委員会とベトナム保健省の倫理委員会の審査を受け、研究の承認を得た。

2. M-CSF存在下にヒト末梢血単球より活性型マクロファージ(M-M ϕ)を得た。培養液中の十分な濃度の25(OH)D $_3$ 或いは25(OH)D $_3$ とIFN- γ の存在下においてBCGを感染させ、CYP27B1、VDR、cathelicidin、IL-15遺伝子の発現を定量的RT-PCRにて検討した。さらに、別研究でM-M ϕ に結核菌(H37Rv)を感染させた3日後の培養上清中に同定された抗菌ペプチドdermicidinの遺伝子の発現検討を試みた。

C. 研究結果

日本の外国人結核（岡田）

日本における外国人結核

当班であらたに外国人結核調査票(2012)を作成し、日本全国保健所と結核診療施設の合計790施設に送付し、多数の714施設(90%)より回答を得た(表7)。この2121症例を解析した。20歳台(48%)が最も多く、次いで30歳台であった(表8)。男性も女性も同じ傾向であった。女性の方がやや多くを占めた(55%)。

国籍では、中国が最も多く、次いでフィリピン、韓国・北朝鮮、インドネシア、ネパールの順であった(図8)。インドネシア、ネパールが増加した。入国1～3年の発症が多く(表9)、外国(母国)での結核感染が示唆された。

東京都の外国人結核が最も多く、次いで愛知県、神奈川県であった(表10)。大阪府4位、千葉県5位と千葉県が増加した。愛知県ではブラジル国籍の外国人が多い傾向を示した。

学生(22.4%)が著増したのが特徴であった(表11)。高校生0.8%、大学生9.4%、専門学校生2.4%と日本語学校生9.8%と外国人結核の学生の合計22.4%であった。2006年～2008年外国人結核調査では外国人結核の学生の合計14.5%であり、これに比較して1.5倍以上増加した。

3年前の調査では、定期健診や学校健診による発見は少なかったが、大阪市保健所等の積極的な健診で日本語学校健診が増加した(表12)。

細菌塗沫陽性が35.0%であり、培養陽性が42.4%であった(表13)。

肺結核が77.7%であり、肺外結核として胸膜

炎、リンパ節結核が報告された(表14)。合併症としては糖尿病合併結核が2.9%、HIV合併結核が1.4%であった(表15)。

日本における外国人結核の結核菌の薬剤耐性について解析した(表16)。多剤耐性結核(MDR-TB)は4.4%と、明らかに日本人結核(0.7%)より高い頻度を示した(6.4倍)(表16)。また、外国人結核のINH単独耐性(12.0%)は日本人結核のINH単独耐性(3.8%)より高く、RFP単独耐性(5.4%)は日本人結核のRFP単独耐性結核(1.2%)より高い頻度を示した(表16)。

転帰としては治療途中の帰国が12.3%も存在し、大きな問題点であった(表17)。具体的な問題点として、

言語の問題が大きく、通訳対策の重要性が示された(表18)。

翻訳パンフレットは外国人結核の多い韓国語、ブラジル人のポルトガル語、フィリピン人のタガログ語は少なく問題点であった(表19)。

治療上困難であった問題点を表20に示した。言葉の問題のみでなく、生活習慣の違いや宗教上の食事の問題が指摘された。

2009年、2010年、2011年の日本における外国人結核の推移と傾向

外国人結核患者数は年々増加。中国、フィリピン出身者が年々増加傾向。東京都、愛知県で増加。愛知県企業への移民増加示唆。2009年～2011年の日本における外国人結核調査票集計結果と、2006年～2008年の日本における外国人結核調査票集計結果を比較解析した。(表21、22、23、24、25、26、27)(岡田)

表7 対象者 : 外国人結核(外国生まれ・外国国籍)
調査施設

	送付	回答
保健所	528施設	503施設
国立病院機構	52	46
結核病床を有する病院	210	165
計	790	714 (90%)

2121例

表8 性別・年齢

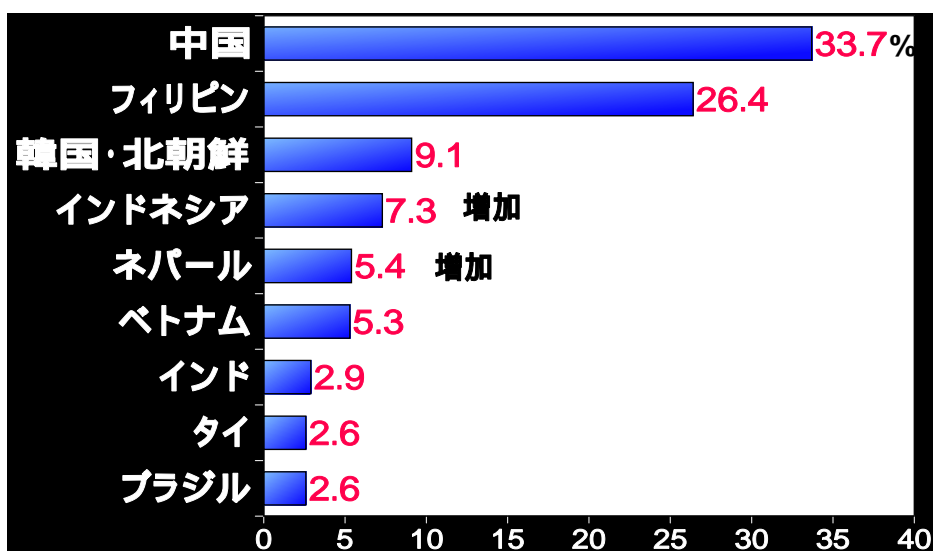
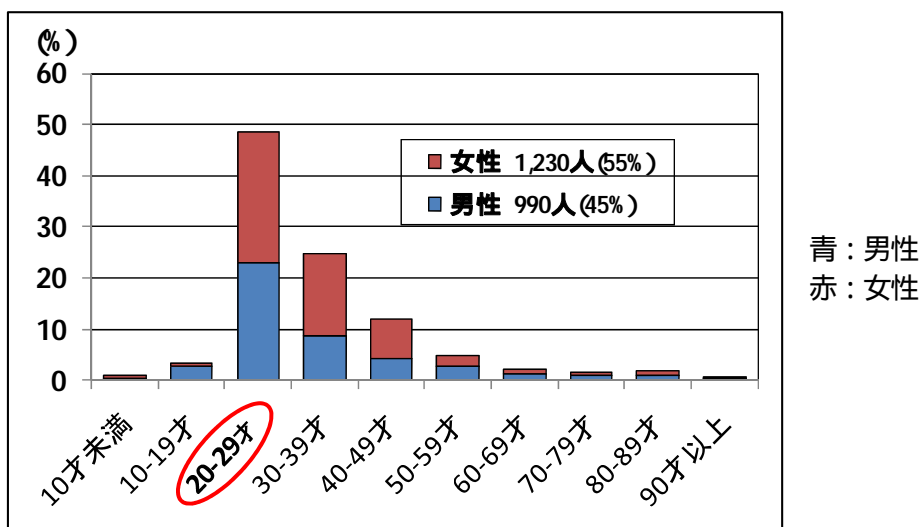


図8 国籍

表9 来日年数

月・年数	人数	累計
~6ヶ月	264	12.4%
6ヶ月~12ヶ月	232	10.9
1年~3年	524	24.7
3年~5年	216	10.2
6年~9年	289	13.6
10年~	346	16.3
不明	201	9.5
無回答	49	2.3

表12 発見方法

医療機関受診	61.8 %
定期健診(学生)	9.2
定期健診(学生)を受けたことがある	0.0
定期健診(労働者)	12.7
定期健診(労働者)を受けたことがある	0.4
個別健康診断	2.6
接触者検診(家族)	2.9
接触者検診(集団)	5.7
日本語学校健診	4.2
外国人を対象とした健診	0.4

表10 都道府県

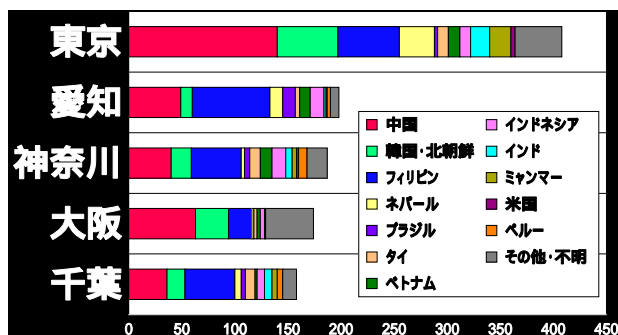


表13 菌情報

塗抹陽性	35.0%
塗抹陰性	50.3
培養陽性	42.4
培養陰性	28.2
PCR陽性	37.2
未実施	6.7

表14 結核診断名

肺結核	塗抹陽性	77.7%
肺外結核	胸膜炎	8.5
	リンパ節	11.5
	粟粒	1.5
	骨関節	1.0
	中枢神経	0.3
	その他	6.3

表11 職業

接客業	9.5 %	22.4%
学生(高校)	0.8	
学生(大学)	9.4	
学生(専門学校)	2.4	
学生(日本語学校)	9.8	
その他常勤者	25.9	
その他臨時雇・日雇	14.4	
主婦	11.2	
無職	14.7	
不明	1.9	

表15 基礎疾患(合併症)

なし	77.3%
糖尿病	2.9
空洞の有無**	10.0
HIV	1.4
胃切除後	0.2
慢性肝疾患(肝炎・肝硬変)	0.5
C型肝炎ウイルス陽性	0.3
HBSキャリアー	0.4
膠原病	0.6
慢性呼吸器疾患(塵肺、COPD、喘息など)	0.7
その他	4.5

表16 薬剤耐性

日本人多剤耐性結核 0.7%
 外国人結核の多剤耐性結核は
 日本人多剤耐性結核の **6.4倍**

	外国人結核 (2009~2011)	日本人結核 (療研2007)	外国人結核 (2006~2008)
多剤耐性	4.4 %	0.7 %	3.8 %
INH耐性	12.0	3.8	
RFP耐性	5.4	1.2	
EB耐性	3.9	1.4	

表17 転帰

治療完了	73.8 %
継続中	5.1
帰国	12.3
治療中断・失敗	2.1
死亡	1.0

表18 言語障壁への対応
 通訳の有無
 有835 (41.6%)
 無1,170 (58.3%)

行政サービス	14.5 %
ボランティア	4.4
友人・知人	19.2
職場・学校など	45.7
その他	20.2

表19 翻訳パンフレット等の有無
 翻訳パンフレット等の利用の有無
 有 701 (41.1%) 無 1004 (58.9%)

英語	25.5 %
中国語	35.7 %
タガログ語(フィリピン)	7.1 %
韓国語	4.1 %
ポルトガル語(ブラジル)	0.4 %
インドネシア語	0.9 %
ネパール語	1.3 %
ベトナム語	1.3 %
ヒンズー語	0.7 %
その他	19.5 %

表20

- 医療上困難であった問題点と対応
1. 言葉の問題
 2. 生活習慣のちがい
 3. 食事の問題(宗教上)
 4. 不法滞在
 5. 経済的な問題

表 2 1

年度別登録患者数

2009年	528 人
2010年	697 人
2011年	725 人

表 2 2

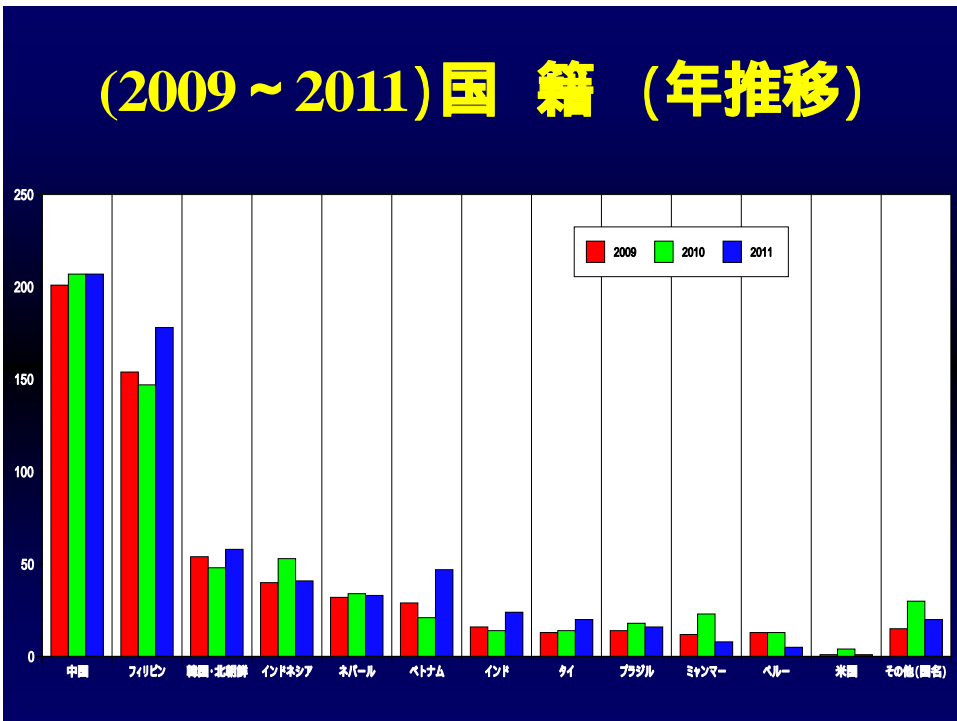


表 2 3

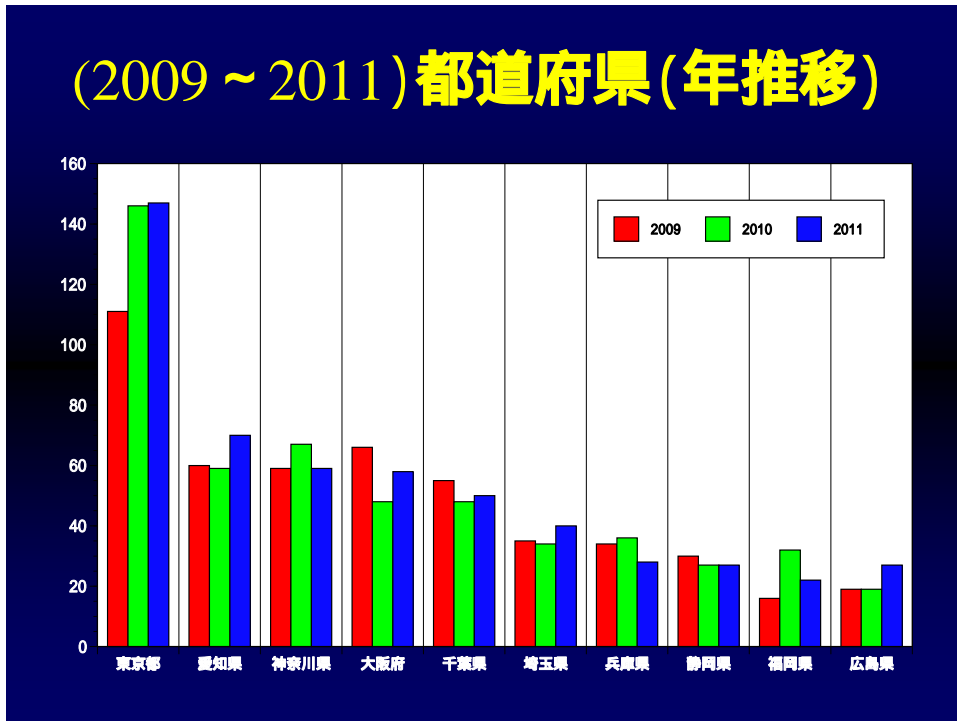


表 2 4

**2012年の(2009年～2011年)外国人結核調査票と
2009年(2006年～2008年)外国人結核調査票の比較**

(1) 国籍

- (a) 1位 中国、2位 フィリピン、3位 韓国・北朝鮮は同じ。
- (b) インドネシア(5.4% → 7.3%と増加)4位に(5位から)。
- (c) ネパール5.4%に増加。5位に(9位から)。
- (d) ブラジル(5.6% → 2.6%に減少)。
- (e) 中国、フィリピンの比率各々増加。

表 2 5

**2012年の(2009年～2011年)外国人結核調査票と
2009年(2006年～2008年)外国人結核調査票の比較**

- (2) 性別
 - (a) 今回(2009～2011年)20才台48%、30才台25%、40才台12%、
今回と前回はほぼ同じ。
 - (b) 今回(2009～2011年)女性55%、男性45%と前回とほぼ同じ。
- (3) 都道府県
 - (a) 今回(2009～2011年)
1位東京、2位愛知、3位神奈川、4位大阪、5位千葉
前回(2006～2008年)
1位東京、2位神奈川、3位愛知、4位大阪、5位埼玉
 - (b) 愛知県、千葉県、上位に。
 - (c) 東京(中国国籍↑)(ネパール国籍↑)
 - (d) 愛知(フィリピン国籍↑、ネパール国籍↑)

表 2 6

**2012年の(2009年～2011年)外国人結核調査票と
2009年(2006年～2008年)外国人結核調査票の比較**

- (4) 来日年数
来日 1～3年以内 25.3% (2009～2011年)で
(2006～2008年)とほぼ同じ
- (5) 職業
 - (a) 学生 22.4% (2009～2011年)と増加。
(2006～2008年)は学生 14.5%
 - (b) 常勤者 (前回29.1%から25.9%に)
- (6) 多剤耐性結核
 - (a) MDR-TB 4.4% (前回 3.8%)
 - (b) INH耐性 12.0% (前回10.0%)、RFP耐性5.4%(前回3.7%)

表 2 7

**2012年の(2009年～2011年)外国人結核調査票と
2009年(2006年～2008年)外国人結核調査票の比較**

(7) 基礎疾患

	2009～2011年	2006～2008年
糖尿病	2.9%	3.5%
HIV	1.4%	1.3%

(8) 通訳の有無

	2009～2011年	2006～2008年
行政サービス	14.5%	8.2%

(9) 翻訳パンフレット等の有無

(a)パンフレット有が少し増加

2009～2011年 41.1%

2006～2008年 38.7%

(b)タガログ語(フィリピン)

韓国語

ポルトガル語(ブラジル)

2009～2011年は2006～2008年と同じく少ない

2. 東京における外国人結核の臨床像：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2007年以降の6年間で178名であり、3年ずつの前後半に分けてその臨床像について検討した。前半は2007-2009年で95例(31.7人/年)、後半は2010-2012年で83例(27.6人/年)であった。年齢・性別では、前半、後半ともに20歳代が最も多く、次に30歳代であり、男性が女性よりも多かった。国籍別では中国が最多で変わりなかったが、韓国が減少したのに対し、フィリピンの増加がみられた。性別ではフィリピンの女性の増加が目立っていた。なお、新宿区の外国人居住者数については、国籍別にみると、最近3年間で韓国または北朝鮮の減少、中国の増加がみられ、韓国または北朝鮮と中国がほぼ同数となり、他国と比べて圧倒的に多数であった。職業では学生と主婦が減少し就労者が増加した。入国時期は結核診断の1年以内が24%から30%へと増加傾向であり、また、治療成績は改善し、脱落者は5名(5.3%)から3名

(3.6%)に減少した。薬剤感受性については、外国人133名と日本人1300人の結核患者の検査結果を比較した。2007-2009年では外国人結核でRFP耐性率が有意に高く($p=0.003$)、2010-2012年では外国人結核で多剤耐性率が高い傾向がみられ、全体の2007-2012年を総合すると外国人結核では日本人結核と比較して、RFP耐性率($p=0.002$)と多剤耐性率(0.018)が有意に高値であった。

3. 東京病院において、対象は50例(男性15・女性35)で、41例(82%)が50才未満であった。(豊田)出身国はフィリピン13、中国12、韓国8、ネパール4、タイ4、ベトナム2、ミャンマ3、パキスタン1でアジア地域が47例、アフリカ2例、東欧1例であった。発病の時期は入国前8例、5年以内23例、5～10年未満8例、10年以上9例であったが、20才代では入国前3例、5年以内10例で、5年以内の発症は93%であった。20才代14例に限ると、すでに入国前に発症し、入国後間もなく診断・入院となったもの3例、1年以内

5例で半数以上は1年以内に発見されていた。日本滞在の事由は1) 留学、就学、職業研修 10例、2) 仕事 6例、3) 日本人と結婚 17例、4) 中国残留孤児として帰国 2例、5) 家族を訪問中 3例、6) その他 1例であった。日本人と結婚している女性が最も多かった。

病型は肺結核 44例(有空洞 20例、気管支結核合併 2例)、粟粒結核 2例、胸膜炎 1例、頸部リンパ節炎 3例で、喀痰塗抹陽性 41例、何らかの検体から培養陽性 47例中主要薬剤耐性 8例(INH 4例、SM 3例、INH・RFP・SM・EB耐性 1例)及び多剤耐性 1例(および前医の結果のみ 1例)を認めた。合併症は、15例(HIV 2例、DM 5例、肝障害 3例、SLE 1例、腎障害 1例、気管支喘息 2例、大動脈炎症候群 1例)に認めた。初回治療 46例、治療歴のあるもの 5例であった。

レジメンは、HREZ(L) 37例、HRE 9例、REZL 1例、HRLZ 1例で、肝障害、皮疹、発熱、血球減少等の副作用は 9例に認め一時中断、一部薬剤変更された。治療歴のある 60才代症例では、HRES耐性が判明 KMT,CS,PAS,MFLX に変更治療した。治療成績は、2012年開始を除く 39例中完了 16例、退院後帰国 2例、転出 15例、中断・脱落 1例、治療中 5例である。(前回保留)言葉の問題が指摘されているのは 20才代 4人、30才代 1人、50才代 2人、60才代 1人、70才代 3人で、計 11人であった。

4. 分子疫学研究(小林、下内、切替、石川、大角、村瀬、島)(表 2 8、表 2 9、図 9)
- RFLP 法による分子疫学解析：国立国際医療研究センターで経験した外国人結核患者由来株の RFLP 解析から、86株のうち 26株(30%)は相同性 70%以上の「グループ」を、5株(6%)は「グループ」を形成していた(表 2 8)。グループではそれ以外と比べて、中国、韓国など東アジア出身者が 61.5%と多く、薬剤耐性率は 7.6%に認め、HIV 陽性率は 11.5%と高い傾向がみられた。入国 1 年未満の患者はグループで 38.4%、グループで 0%、その他で 37.5%であった。遺伝子型に関しては、グループでは北京型(Modern) 67%、

北京型(Ancient) 33%、非北京型 0%に対して、グループでは非北京型が 100%であった。グループ、以外では北京型(Modern) 8%、北京型(Ancient) 23%、非北京型 70%であった。新宿区に居住している外国人結核患者は 20 名で、そのうち 8 名はグループに属し、日本人とクラスターを形成しているのは 5例(62.5%)であった。グループに属している者はいなかった。グループ、以外の 12 例については、日本人とのクラスター形成者は 4例(33%)であった。

全ゲノムシーケンス法による解析：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(外国人由来 91 株、日本人由来 168 株)の全配列を決定し、得られた Illumina の配列は DDBJ に登録した(accession No. DRA001219)。本研究で解析した全臨床分離結核菌 259 株は、Beijing lineage (70.3%)、Euro-American lineage (17.8%)、Indo-Oceanic lineage (8.9%)および East African-Indian lineage (3.1%)に分類された。しかし、その遺伝系統における外国人由来株と日本人由来株の比率は全ての系統で有意に異なった(表 2 9)。特に、外国人由来株の大部分は Beijing lineage (47.3%)、Euro-American (25.3%)および Indo-Oceanic (20.9%)だったが、日本人由来株は 82.7%が Beijing lineage だった。また、Beijing lineage の中で、外国人由来株では 67%が modern 型であるのに対し、日本人由来株では 63%が ancient 型だった。図 9 は、臨床分離 259 株およびゲノム公開されている 18 株を用いた全ゲノム配列による系統樹を示す。各灰色の楕円内の臨床株は記載されている各系統(lineage)に属した。

5. 大阪市における外国出生結核患者の発生動向

外国人患者は、2008 年の 33 名以降毎年 30 名余りで推移しており、2012 年は 34 名であった。性別は、日本出生者で男性の割合が多いのとは対照的に外国人では女性が多く約半

数を占めており、2012年15名(44.1%)であった。年齢の中央値は、2008年33.0歳から2012年27.5歳へと推移していた。出身国を見ると、2008年は中国10名(30.3%)、韓国9名(21.2%)、次いでフィリピン、タイがともに3名(9.1%)であった。その後中国の割合が増え、韓国の割合が減少し、2012年には中国が19名(56.3%)を占め、韓国は2名(6.3%)まで減少した。また入国から登録までの期間は、1年未満が43名(25.1%)、1~4年が48名(28.1%)であった。日本語学校に所属していた者の割合は、2008年4名(12.1%)から2012年8名(23.5%)へと増加傾向にあった。

日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

日本語学校において3年間で5091名に健診を実施した。日本出生および出身国不明であった16名、および外国出生者で再受診者546名を除く4529名を対象として分析を行った。平均年齢は23.3±4.4歳、14~70歳であった。男性は2394名(52.9%)であり、20代が全体の73.9%を占めていた。出身国は、中国2378名(52.5%)、韓国920名(20.3%)、ベトナム739名(16.3%)、インドネシア101名(2.2%)、タイ68名(1.5%)、モンゴル44名(1.0%)、その他279名(6.2%)であった。入国時期不明1384名を除く3145名の入国から健診受診日までの平均日数は145.9±167.9日、中央値63(3-3877)日であった。健診の結果、結核が疑われた者は71名(1.6%)であった。精密検査の結果、最終的に活動性結核と診断された者は19名(0.4%)であった。19名の性別は、男性14名(73.7%)、女性5名(26.3%)であり、年齢は中央値23

歳、18~29歳であった。出身国は中国12名(63.2%)、韓国2名(10.5%)、ネパール3名(15.8%)、ベトナム1名(5.3%)、フィリピン1名(5.3%)であり、入国から健診受診までの期間は中央値137日(17~401日)であった。健診時の胸部X線で空洞を認められた者は2名(10.5%)であり、2名とも塗抹陽性であった。他は塗抹陰性培養陽性が2名(10.5%)、塗抹陰性培養陰性は9名(47.4%)、塗抹陰性培養不明、菌情報不明ともに3名(15.8%)であった。

外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析平均年齢は、外国出生群37.1±18.7歳、日本出生群29.8±6.8歳、男女比はどちらも1.8であった。外国出生群内で、追加領域を含む24領域すべて一致したものはなく、JATA12一致かつ追加領域不一致は15例(27.8%)、JATA12一致かつ追加領域不明は1例(1.9%)、JATA12不一致は38例(70.4%)であった。一方、日本出生群内で追加領域を含む24領域すべて一致したのは44例(20.4%)、JATA12一致かつ追加領域不一致は43例(19.9%)、JATA12一致かつ追加領域不明は37例(17.1%)、JATA12不一致は92例(42.6%)であった。

外国出生者と日本出生者との型別を比較したところ、追加領域を含む24領域すべて一致したのは2例(3.7%)、JATA12一致かつ追加領域不一致は12例(22.2%)、JATA12一致かつ追加領域不明は2例(3.7%)、JATA12不一致は38例(70.4%)であった。24領域が一致した2組は、49歳ブラジル出生者1名(入国8年)と29歳日本出生者1名、64歳ペルー出生者1名(入国3年)と24歳日本出生者1名であった。

表 28

RFLP 解析	グループ (26)	グループ (5)	その他(56)
年齢 (歳)	33	35.2	30.8
性別 男性 (%)	20 (76.9%)	4 (80%)	33 (58.9%)
国籍 東アジア (%)	16 (61.5%)	1 (20%)	27 (48.2%)
居住地 新宿区 (%)	8 (30.7%)	0%	12 (21.4%)
クラスター形成率	5/8 (62.5%)	-	4/12 (33%)
入国1年未満 (%)	10 (38.4%)	0%	21 (37.5%)
HIV陽性 (%)	3 (11.5%)	0%	2 (3.5%)
薬剤(H,R)耐性あり (%)	2 (7.6%)	0%	2 (3.5%)
肺結核 (%)	22 (84.6%)	4 (80%)	52 (92.8%)
塗抹陽性率 (%)	14 (53.8%)	5 (100%)	40 (71.4%)
遺伝子型	北京型 Modern	0 (0%)	3 (8%)
	北京型 Ancient	6 (33%)	9 (23%)
	非北京型	0 (0%)	28 (70%)

表 2 9

Lineage	Isolates from patients				p-value*
	Foreign-born		Japan-born		
	n	%	n	%	
East-Asian (Beijing)	43	47.3	139	82.7	5.80E-09
[typical Beijing	29	67.4	52	37.2	1.01E-03
[atypical Beijing	14	32.6	87	62.8	1.01E-03
Euro-American	23	25.3	23	13.7	0.03089
Indo-Oceanic	19	20.9	4	2.4	1.87E-06
East African-Indian	6	6.6	2	1.2	0.04306

* Statistical analysis done using Fisher's exact test.

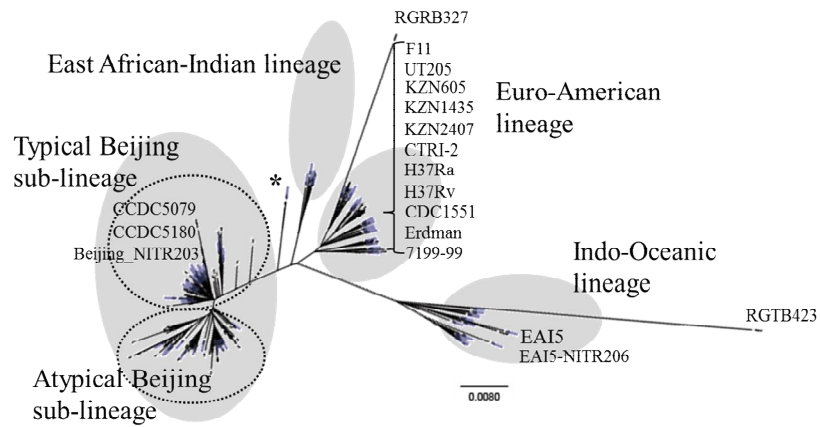


图 9

日本・中国・韓国・台湾の分子疫学研究

1. SNP 解析のローサイと分析法(図10、11-a、11-b、12、13)

1. SNP タイピング用のプローブのデザイン

タカラバイオ(株)のサイクリングプローブあるいはライフテクノロジーズ(株)のTaqMan MGB プローブを利用したリアルタイムPCRでSNP分析する系を23箇所のローカスについて検討した。サイクリングプローブの委託合成料金は、TaqMan MGB プローブの半分程度なので、サイクリングプローブを最初に選択し、プローブがデザインできない場合や確認実験でうまく検出できないローカスは、MGB プローブに変更するなど再合成を行った。そして最終的に23箇所すべてのSNPサイトの変異を検出できるSNP分析系を構築した。

2. SNP 解析のローサイ

北京型結核菌と非北京型結核菌を区別するSNPとして今まで3284855を使用していた。最近、中島らによって新しい779615部位のSNPが報告された。どちらのSNP部位が型別に適切か検討を行った。スポリゴタイピングで北京型と判定された318株と非北京型と判定された318株について、3284855と779615のSNP分析を行い型別しスポリゴタイピングの型別結果と比較した。779615位を使った型別では、北京型と非北京型ともすべての例でスポリゴタイピング結果と一致した。一方、3284855部位のSNP型別では、318株の非北京型結核菌株の内、313株はスポリゴタイピング結果と一致したが、5株は本部位のSNP分析で北京型と判定され、1.6%が不一致となった。

3. SNP ローサイと解析法

共通な10-locus VNTRについては、それぞれの国で実際に分析に使っている共通のローカスを集めたものなので、参加者の同意が得られた。しかし、それらのVNTRとしての識別能は低いと考えられた。そこで、VNTR分析だけでなくSNP解析も行い、各国で広まっている結核菌の遺伝子的背景等の比較を進めた。既出の報告を検索し、適切に分類できると考えられるSNPローカスを抽出し、組み合わせて構成したSNP解析システムを原案として日本

から提案し、これを元に議論を進めた。結核菌を各グループに分けるにあたり、複数のSNPサイトが報告されている場合は、どちらかひとつに絞り分析ローカスを減らした。

結果とし、示すようなSNP解析システムで解析を進めることになった。本システムでは、まず2箇所のSNP分析、すなわち779615位で北京型(C)と非北京型(G)を区別、1477596位で北京型結核菌は、ancient(C)とmodern(T)に分けた。これら2箇所の分析で結核菌は、非北京型、北京型(ancient)、北京型(modern)の3つのグループに区別することができた。3つのグループは、非北京型結核菌はさらに7箇所のSNP分析、北京型(ancient)はさらに10箇所、北京型(modern)はさらに4箇所のSNP分析を行うことで遺伝的背景に基づき、全体を21のサブグループに分類することができた。

4. 各国で分析する株について

各国で200株程度の結核菌を分析することとした。各国結核菌のサブグループの存在比等の比較を行うためには、一定期間内に分離されたpopulation-baseの株を用いる必要があるが、本システムが国際比較に活用可能であるか等、有用性を早く検証することを優先して各国の事情に応じて出来るだけバイアスがかからないように株を選択することとした。

5. SNP 法による分析

日本(東京都内:191株)と台湾(210株)で分離された結核菌について本SNPシステムで分析した。779615位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グループに分けた。各グループはさらに別のSNP部位の分析を行った。北京型ancientと北京型modernについてサブタイプの存在比を比較した。

東京で分離された北京型ancient株は、大きく4グループに分けることが可能で最大グループはBJ06-IIサブグループで36.4%であった。一方、台湾で分離されたancient株も4グループに分けることが可能で最大グループは東京と同じくBJ06-IIで30%であった。台湾で20%

を占めている BJ06-I と BJ07-III は日本では 2%しか存在していなかった。また、BJ04-I グループは台湾では存在せず、日本だけで存在（全体の 19.2%）する型の結核菌であることがわかった（図 1 2 -a）。

日本の Modern 株の分析では、BJ09 (72.1%) と BJ11-III (23.3%) の 2 グループで大部分を占めていた。台湾の modern は BJ09 型が 45.6%で最も多く、他に 4 つのサブタイプが存在した。また、BJ11-IV 型は、台湾で 11.8%占める型であるが、日本では検出されなかった

（図 1 2 -b）。同じ北京型 ancient あるいは北京型 modern のグループの結核菌でも、分離された地域によってサブタイプの種類やその割合が異なることが明らかになった。

今までの型別法では、北京型結核菌は NTF 領域への IS6110 の挿入の有無で、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 分析システムで日本と台湾からの結核菌を分析すると少なくとも ancient 型は 4 グループ、modern 型も 5 グループに分けることができた。

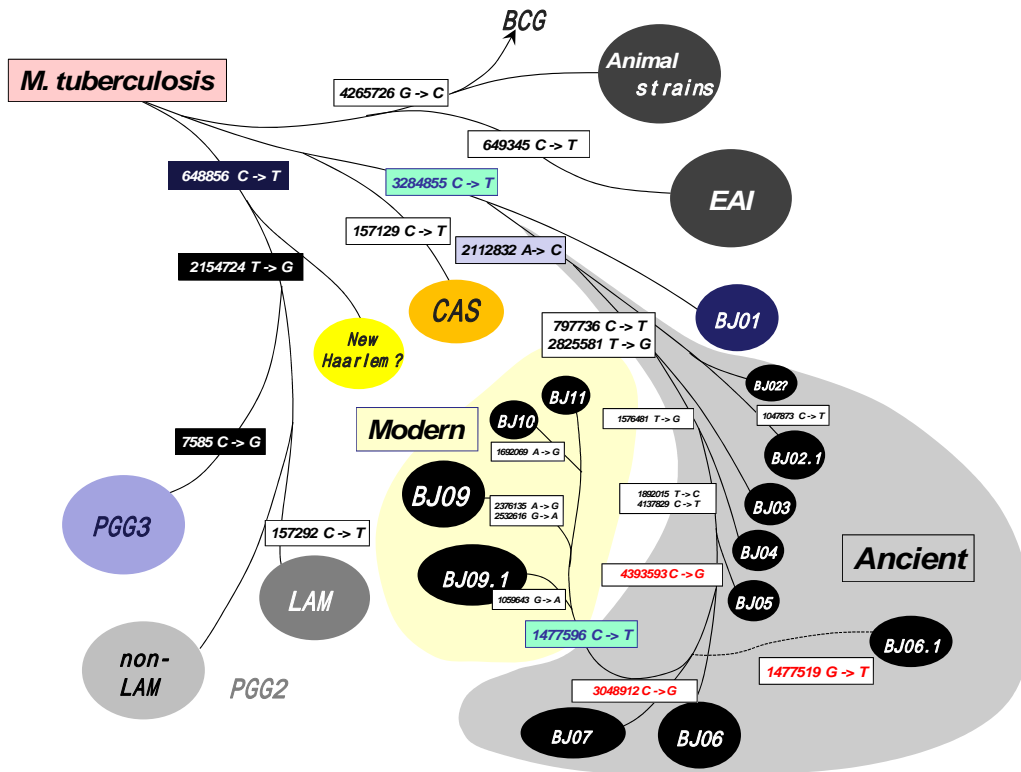


図 10. 臨床分離結核菌のSNPs解析
 本SNP遺伝系統解析により結核菌は23系統に区分できる

東アジアで分離される結核菌のSNP分析による系統解析

リアルタイムPCRによるSNP検出系の確立

リアルタイムPCRはシーケンスより迅速 簡便

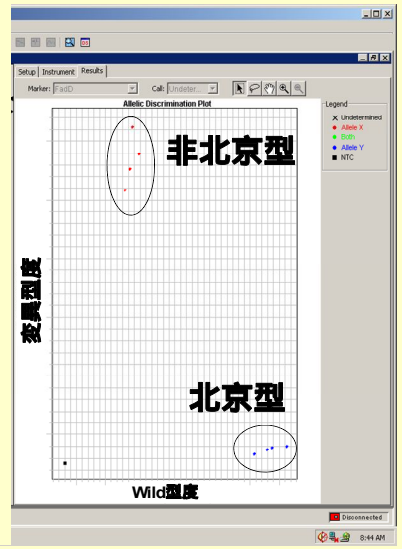
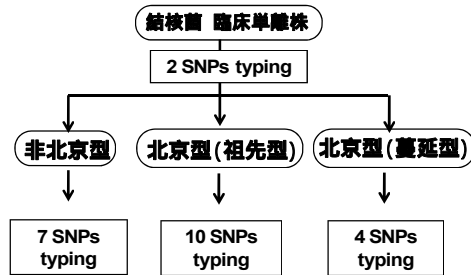


図 1 1 - a

東アジアで分離される結核菌のSNP分析による系統解析

SNP解析 パイプライン



共通に利用する結核菌SNP部位23箇所を設定した

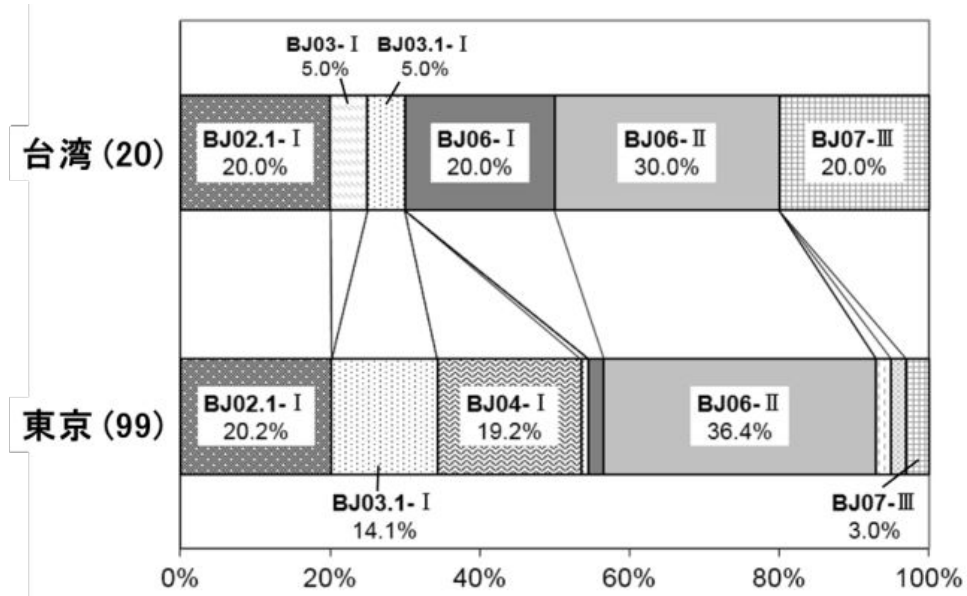
(1) 非北京型、北京型祖先型と北京型蔓延型の三つのグループに分離成功。

3284855: 北京型と非北京型を区分
1477596: 北京型蔓延型と祖先型を区分

(2) 次にグループ毎に分析。
非北京型は7箇所のSNP部位、北京型祖先型は10箇所
北京型蔓延型は4箇所
合計17箇所SNPプローブ設計成功

図 1 1 - b

(a)



(b)

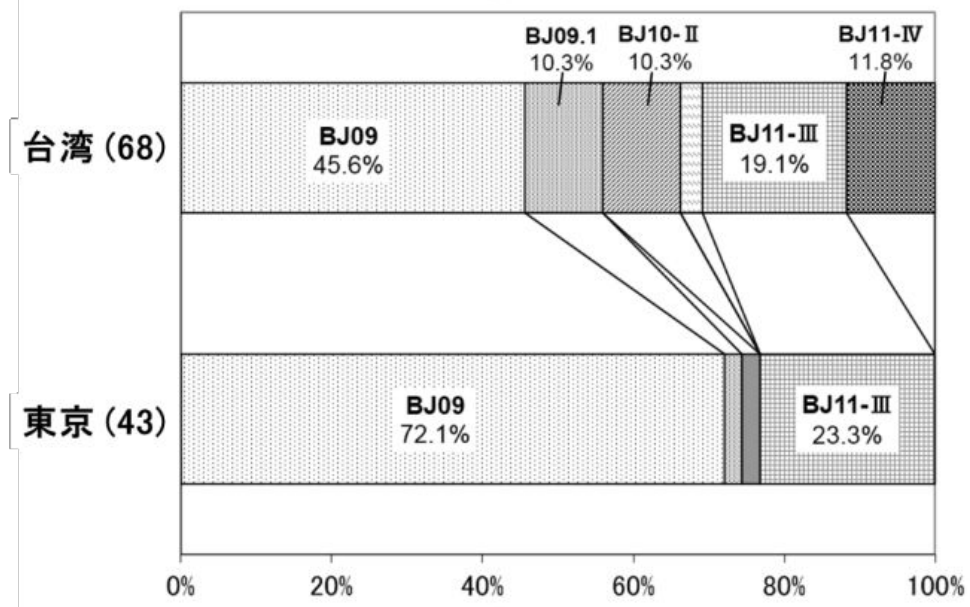


図12. 樹立したSNP分析システムを用いた結核菌の分析

779615部位と1477596部位のSNPを調べることで結核菌を非北京型、北京型ancient (a)、北京型modern (b)に分けて、それぞれのグループ毎にSNP解析を行った。各グループ内でSNP分析により型別できたサブグループの割合を示した。

アジア諸国の多剤耐性結核 (表30、31)

1. A:中国・黒竜江省の結核菌の解析では44例中42例(95%)は北京型であり、その中2例は新たな北京型を同定した。他の2例(5%)はまだ分類されていない新たな非北京型のサブタイプであった。さらに薬剤耐性結核の解析を行い黒竜江省の結核菌の解析では1,230株の解析を行い、通常の抗結核剤あるいはフルオロキノロンに対する抵抗性を検討した。その結果、通常の抗結核剤に対する抵抗性は2007年から2011年までの薬剤耐性株は58.4%でMDRは23.3%であった。耐性株の比率は2009年が最も高く、2011年が最も低かった。2011年では新規患者の8.1%が、治療歴のある患者の31.9%がMDR-TBであった。期間全体では、何らかの薬剤耐性を示したものが35%、MDRが23%であった。

さらにRv0679c点突然変異を検出するため単純なmultiplex PCR法を開発し、619臨床分離株に適用した。この法によって非北京型と北京型の株を100%の正確さで鑑別できる。この迅速なかつ費用対効果の高いmultiplex PCR法を北京型結核菌感染の有病率を監視するために使用することができた。

復旦大学に所属する上海公衆衛生臨床センターで200検体の結核患者及び正常人のサンプルを検索した。肺結核中TBGL-IgG抗体の検出感度及び特異度はそれぞれ67.4%と81.0%であった。またTBGL IgA抗体の検出感度及び特異度はそれぞれ45.7%と89.7%である。Rv0679c蛋白のBCG型(Asn)と北京型(Lys)とのIgG・IgA抗体を検索した。肺結核患者中にRv0679c-Asn IgA及びRv0679c Lys IgAの高値を検出した。空洞と胸水のある症例ではRv0679c-Asn IgA及びRv0679c Lys IgAが低い傾向があった。上海での45例の肺結核中の24例(53.3%)はRv0679c Lys142に対するIgG抗体を検出した一方、4例(8.9%)はRv0679c Asn142 IgGを検出しなかった。Lys142 IgGとC-Reactive Protein (CRP)の相関を初めて発見した。

B:フィリピン・マニラのサンラザロ病院の抗酸菌染色陽性菌は100% MTB complexであることをLAMP法で確認した。Spoligotypingによって結核菌の遺伝子型は全てマニラ型であること

を明らかにした。判別関数解析およびレシーバオペレータ特性曲線分析によってバイオマーカーの予測能力を評価し、最大限に検討グループ間を区別検体のセットを選択するカットオフ値を同定した。OPN, IP-10と好中球は結核発症のマーカーとして使用できた。またOPN, IP-10, 好中球, IL-6, IL-8, TNF- α , MCP-1, 血小板, gal-9, 及び白血球数との組み合わせで結核を96.3%正確に予測できた。フィリピンにおいてはTBGL IgGの適切なカットオフは4 U/mlが妥当と思われた。

2. タイ(野内)

日本では、複十字病院の結核登録を活用した検討をした。2007年1月1日より2013年12月末までに登録された結核患者2,748名において、外国と関連がある結核患者は5.9%の162名で、そのうち多剤耐性結核患者は49名(30.2%)であった。これは、外国と関連のない結核患者2,586名での多剤耐性結核患者91名(3.5%)と比べて、オッズ比11.89(95%信頼区間8.01-17.65)と有意に高かった。

HIV合併結核研究としては、タイにおけるHIV感染者コホートの研究での保存血清を活用した潜在性結核感染診断法の検討を目指し、臨床情報を整理した。

難治性結核の分子疫学解析をタイで進めて来た成果論文(Sukkasem S, et al. Microbiology and Immunology 2013 Jan;57(1):21-9)で、その主な内容は、再治療の為に結核菌培養が得られた42人について検討したところ、40人は同一のRFLPパターンであったが、2人は異なるRFLPパターンがあり外因性再感染が疑われた。初回では多剤耐性が12.5%であったのが、2回目では22.5%と有意に高かった。これらの難治性結核で北京株は66.7%と全国平均の20.8%に比して高かった。

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解析法では、EAI株が524人から531株(39.8%)、非EAI株として、北京株が591人より595例(44.6%)、Euro-American株が184人より187株(14.0%)、CAS株が11人より11株(0.83%)、

その他9人より9株(0.68%)であった。

Spoligotyping (polymorphisms of the direct repeat (DR) region) による1,123株の菌体分類では、北京株が548例 (48.8%)、 EAI株が406例(36.2%)、Euro-American株が157例(14.0%)、CAS株が11例 (0.98%)、その他1株(0.09%)で、LSP/RD法と相関していた。

菌の分類と臨床情報との相関の検討では、前述のRFLPでの研究と同様に、年齢共に薬剤耐性が相関を示した。45歳で区別した場合、若年者での北京株は51.0%(353/692)と年配者での37.8%(242/641)とくらべオッズ比1.72(95%信頼区間 1.38-2.14, $p < 0.0001$)と有意に高かった。また、多剤耐性菌の主であるRFP耐性菌での北京株の割合は56.5%(35/62)とRFP感受性菌での割合の44.0%(519/1180)とくらべオッズ比1.65(95%信頼区間 0.99-2.76)と高かった。体重、結核病変の部位 (肺外病変の有無等)、胸部レントゲン所見 (空洞の有無、広がり)、喀痰塗抹検査での菌量は、菌の分類と相関はなかった。

この結核患者1319人での1年間での死亡に関しての危険因子を示す。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2.7倍1年死亡の危険が高かった。EAI株は死亡率が高い事が多い年齢が高い群で比率が大きいため、年齢やHIV感染状況、体重など死亡に影響する因子による交絡を多変量回帰で調整しても、調整ハザード比は1.75で菌株の種類の影響が独立して存在する事が示された。

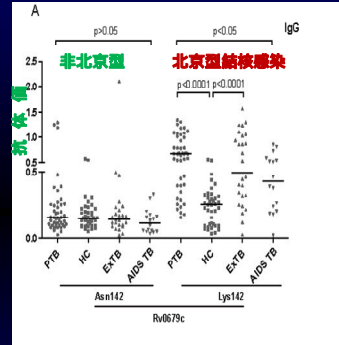
EAI株の比率が高い55歳以上のHIV陰性(希に不明)の結核患者での1年生存のカプラン・マイヤー法生存曲線を示す。この群でもEAI株の比率が低い55未満の群でも有意の差で死亡率の差が認められている。

表30

〔 〕 アジア諸国の多剤耐性結核 分子疫学研究
と宿主要因解析 (結核研究ネットワークを活用した)

中国 (服部)

肺結核の患者においてはRv0679c-Lys (結核菌北京遺伝子型に存在する点突然変異) IgGの高値を明らかにした。(J.Clin Micro.2011)
Rv0679c multiplex PCR法を北京型結核菌感染の新しい診断法として開発に成功。
薬剤耐性は35%で、MDRが23%。



フィリピン (服部)

潜在性結核のTBGL診断はQFTと相関し有用。(服部 Int.J.TLD.2012 Clin Dev Imm.2012)
流行型結核菌がマニラ型。

タイ (野内、櫻田)

難治性結核の分子疫学解析(野内)
(Microbio.Imm.2012)
(1) 再治療結核はRFLPパターンより外因性再感染。
(2) 初回多剤耐性12.5%が、再発で22.5%と高。
HIV合併結核493名中活動性結核は15.6%。

表31

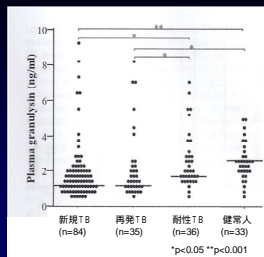
アジア諸国の多剤耐性結核 分子疫学研究と宿主要因解析

タイ (野内、櫻田)

難治性結核250例を含む655例(マヒドン大)。
北京株44%、EAI株40%、非北京・非EAI株16%。

タイNIHとの共同研究(櫻田)
活性化ビタミンDより活性化されるヒトM型マクロファージはHIV感染により、結核菌殺菌能低下。
再発結核患者では血清granulysin値低下。

(櫻田、野内、岡田、Surisin, Micro.Imm.2011)



タイでの結核患者の血清中granulysin

ベトナム (慶長)

フアムゴックタック病院(ホーチミン市)における
多剤耐性結核の宿主要因の検討



ホーチミン市58名の多剤耐性結核患者解析で、INH代謝関連遺伝子NAT2は代謝遅延型が低い。

自然免疫関連遺伝子MBL2(マンノース結合レクチン)は変異型(欠損型)が、ベトナムの多剤耐性結核では高い。

3. HIV合併結核バイオマーカーとしてgranulysin 有望 (タイ 櫻田)

1. ベトナム・ハノイ市の肺病院及び地区の結核センターの医療従事者109名において、血漿グラニュリシン値と潜在性結核との関連性が示唆された。IFN- γ 遊離テスト陽性者では健常者と比較して有意にグラニュリシンの発現が低下していた。年齢や性別により補正しても結果は変わらなかった。また、他の臨床疫学的要因ではBMI以外では潜在性結核感染と関連する要因はなかった。

2. 活性型マクロファージの一種と考えられるM-M₁においては活性型ビタミンD₃による活性化メカニズムが働いていることが明らかとなった。すなわち、培養液中の十分な濃度の25(OH)D₃の存在下においてCYP27B1、VDR、cathelicidin遺伝子の発現が増幅されることが示された。また、IFN- γ はCYP27B1の発現のみを増幅した。BCG感染後一方、GM-CSF存在下に分化したGM-Mfは抗原呈示細胞としての性格を示し、抗結核菌活性を示さないが、活性型ビタミンD₃による活性化メカニズムは働いていないと考えられた。ただし、IFN- γ によるIL-15の誘導は双方のマクロファージにおいて認められた。

dermnicidin遺伝子の発現検討は現在行っているところである。

4. ベトナム INH代謝NAT2遅延型は多剤耐性結核で少ない(慶長)(表3 1)

1) NAT2遺伝子型

ベトナム人のNAT2遺伝子型は、他の東南アジア集団における報告と同様、イソニアジド迅速代謝型(F)と代謝遅延型(S)の割合は、ほぼ1:1であり、日本、韓国など東アジア集団より遅延型(S)が多く、ヨーロッパ集団よりは遅延型(S)が少なかった。

多剤耐性結核では、表に示すように、対照集団より、遅延型(S)がより少ない傾向を示す結果が得られたが、対照集団の遺伝子型分布の偏位、検出力の問題が未解決で残っており、今後、より大規模な研究で、この結果を確認する必要がある。

2) MBL2遺伝子型

MBL2遺伝子は高発現型(YA/YA)、中発現型(YA/XA)、低発現型(それ以外)に分けられた。MBLの高発現型と低発現型遺伝子型の比率をみると、MDRの例数が少ないので有意差は出ないが、高発現型(YA/YA)の遺伝子型頻度は、多剤耐性結核群では健常対照群に比べてやや低値を示した(データ省略)。

MBLは急性期蛋白質であり、結核患者では健常者より血中MBL濃度が高いことが報告されている。今回の検討で治療中(治療開始3~6か月後)の患者群でも、MDR-TBの血漿中のMBL濃度はYA/YAで高値、YA/XAでは中程度、それ以外は低値を示すことが明らかになった

次にMBLの濃度が血中サイトカイン量と関連するかどうか蛍光ビーズアレイを用いてスクリーニングしたところ、インターフェロン(IFNG)濃度が最も確かな正の相関を示した(Spearmanの相関係数=0.34, P=0.0099)。

MBL血中濃度とIFNG濃度の相関がみられたので、さらにMBLのYAアレル(野生型)の保有数との関係を調べたところ、YAの本数はIFNG濃度と有意に相関していた(P=0.006)。

一方、全血中の免疫関連分子の遺伝子発現量とMBL血中濃度の関連を検討したところ、インターロイキン12(IL12)の鎖(p35)の遺伝子発現は血中MBL値と逆相関を示した(Spearmanの相関係数=-0.43, P=0.003)。

3) DUSP14遺伝子型

ベトナム人58名のプロモーターおよびエクソン領域のシーケンス解析で、15カ所の部位で塩基の違いが認められ、Barreiroらの報告したDUSP14のイントロン1内に存在するrs712039 SNPは、プロモーター領域にあるrs853196およびrs853197、エクソン2の5'UTR内rs1051838と完全な連鎖不平衡状態にあることが明らかになった。

全血より抽出したtotal RNAから定量的RT/PCRにより、DUSP14のmRNA発現量と上記遺伝子配列解析で得られた各遺伝的多型との関連を検討したが、有意差はみられなかった(P=0.57)。一方、全血球細胞のTNF遺伝子発現量は、Barreiroらによるrs712039のDUSP14高発

現アリルとして知られるCの数に依存して低くなる傾向がみられた ($P=0.0121$)。

*DUSP14*遺伝子プロモーター領域にあるC/G SNP rs62076700とrs712039によって3ハプロタイプH1, H2, H3の存在が推定され、このうち高発現型と予想されるH2のハプロタイプ数に依存して、全血中の*IL12RB1* mRNA発現が有意に低値を示した ($FDR<0.05$)。他のいくつかのTh1系免疫関連遺伝子のmRNA発現量でも同様の傾向がみられたが、多重比較を考慮すると有意差には至らなかった。既報と同様にベトナムにおいても、*DUSP14*遺伝子多型頻度が結核症と関連(疾患感受性)を示すか否かについて現在も検討中である。

・ HIV合併

1. (永井)(調査票の項目のすべてに回答が得られているわけではないので、回答数の少ない項目は除いた)

表3 2に年別症例数を示した。毎年、3,502 - 4,388人の結核患者が入院し、そのうちHIV陽性者は0.29-0.46% (平均0.39%)であった。ほぼ毎年、同程度の率でHIV陽性者が入院していたが、2012年はやや減少していた。HIV合併結核総数は96例であったが、そのうち82例(85.4%)は東京・大阪・愛知の大都市圏に集中していた。この地域だけで見ると、結核患者8,990例中82例となり、HIV陽性率は0.91%となる。

HIV合併結核患者96例(1例は症例の詳細が不明のため以下は95例のデータ)の男女比は90:5、年齢の中央値は43歳であった。年齢分布を見ると、外国人も日本人も30歳代、40歳代が多かった。

結核発病を契機にHIV陽性と判明した症例は56%に及んだ。

CD4数の平均値は156 (2 - 765) / μ lであり、CD4数別の患者数の分布を見ると、CD4数200/ μ l以下の症例が67.0%、100/ μ l以下の症例が48.3%と免疫機能低下例が多かった。肺結核患者は48例、肺外結核患者は39例(このうち25例は粟粒結核)であった。

結核菌の耐性なしは60例、何らかの耐性がある症例は9例(MDR-TB 3例、INHのみ耐性3

例、SMのみ耐性3例)であった。

結核の治療は、HREZ 56例、HEZ-RBT 12例、HRE 6例、HE-RBT 6例、HRS-FQ 2例、RZSL 1例であった(H:isoniazid, R:rifampicin, E:ethambutol, Z:pyrazinamide, RBT:rifabutin, S:streptomycin, FQ:fluoroquinolone, L:levofloxacin)。

結核薬による副作用について、回答のあった83例中、副作用ありは53例(63.9%)と高頻度であった。主な副作用は肝機能障害(20例)、発熱(12例)、薬疹(11例)、白血球減少(9例)、血小板減少(3例)、聴力障害(4例)であった。原因薬剤としては、RFP(9例)、PZA(9例)、INH(4例)、RBT(2例)があげられていた。対処法の記載があった症例は、減感作療法例9例、薬剤の変更例12例であった。抗HIV薬による副反応について回答があった64例中、副作用ありは18例(28.1%)であった。おもな副作用は肝障害が14例、腎障害が2例であった。

結核の治療中にARTを開始した症例は42例あり、結核の治療開始後8週以内に始めた症例が最も多く、4週以内に開始した症例では全例が免疫再構築症候群(immune reconstitution inflammatory syndrome:IRIS)を発症していた。対処法としてはNSAIDsのみ17例、ステロイドのみ9例、NSAIDsとステロイド3例であった。

ARTの内容が分かっている39例の治療内容では、key drugとしてefavirenz(15例)、raltegravir(12例)、atazanavir(4例)、darunavir(4例) lopinavir/r(3例)、fosamprenavir(1例)、が用いられていた。結核の転帰について回答のあった68例中、治癒32例、治療中28例、死亡8例であった。

外国人のHIV合併結核例は13例あり、アジア5例、アフリカ3例、南米2例、出身地不明3例であった。このうちMDR-TB症例が1例あった。MDR-TB症例は日本人で2例あり、合計3例であるが、2009年以降は認められていない。HIV合併結核例の中におけるMDR-TBの頻度は3.1%(3/96)である。MDR-TB症例のデータを示したが、1例は死亡、1例は治癒、1例は治療中という経過であった。

2. 全国のHIV合併の結核患者と多剤耐性結核の症例数調査。全国保健所、結核病院、HIV診療拠点病院に一次アンケート調査。(藤田)(表32)

(1) 一次調査の結果

各調査年別の回収率は、結核医療機関は40.9%~53.7%、HIV拠点病院(結核病床を有さない)は55.2%~61.9%、保健所の74.6%~82.7%と、保健所からの回収率が高かった。施設の統廃合など理由が判明した場合には施設数を調整し回収率を算定した。また、返答数には症例のない施設も含まれる。なお、結核医療機関数については、25年度には235施設と減少し、また結核患者の受け入れを休止した医療機関もあることから回収率が低かった可能性はあり、一方24年度調査については結核入院患者総数を尋ねなかったため、調査の簡易化により回収率がやや高くなったと推定される。

国立病院機構の病院を除く医療機関から報告されたHIV感染合併結核の症例数は、平均で年9例、うち多剤耐性結核は0例であった。HIV感染合併結核症例数に関しても経年的な増加傾向は認められなかった。

一方、保健所を対象とした調査からは、症例数は結核登録情報システムによるHIV合併例患者数統計よりも回収率見合いで下回り、新登録患者に対するHIV感染合併結核症例の割合は結核登録情報システムとほぼ同様の0.2%~0.3%前後であったが、2011年症例に関しては回収率を勘案しても本調査で症例を拾い切れていないと思われる結果となった。多剤耐性結核は6年間で3例であった。地域的な集積傾向も認められなかった。結核病床を有さないHIV拠点病院の症例数を加えた結果を示す。6年間でHIV拠点病院の症例数168例、結核医療機関(結核病院)54例の計222例であり、HIV拠点病院において少なからずHIV感染合併結核患者を診療している状況であった。多剤耐性結核についてはHIV拠点病院から合計2例の報告があった。なお、本分担研究には国立病院機構の症例は含まれていないが、国立病院機構分を加えると保健所調査による症例数をやや上回ると思われた。

(2) 二次調査の結果

症例を有すると回答した医療機関に対して二次調査を行った結果、222例中191例の症例調査票が回収された(86.0%)。男性168例、女性17例、性別記載なしが6例と9割弱が男性であった。外国人は48例(25.0%)、出身国は東南アジアが31例、アフリカが6例と結核高蔓延国が多くを占めた。結核診断時のCD4陽性リンパ球数は1~707とばらつきがみられたが、平均は $148 \pm 144/\mu\text{L}$ であった。粟粒結核を除く肺外結核は75例(39.3%)、粟粒結核は48例(25.1%)と肺外結核が多いのが特徴であった。何らかの検体で結核菌陽性(塗抹陽性または培養陽性)であったものは144例(75.4%)で、喀痰検体で陽性は94例(49.2%)、喀痰陰性・胃液陽性は15例(7.9%)と、感染性またはその疑いありの例は約半数であった。

(3) 抗結核薬に対する耐性の状況

何らかの薬剤に耐性があったと記載された例は22例で、少なくともINHに耐性は最も多く12例、うちINH単独耐性は5例であった。二次調査で確認された多剤耐性結核は2例(日本人と中国人)で、そのパターンは前者がINHとRFPの2剤耐性、後者がINH、RFP、SM耐性であった。外国人においては、何らかの薬剤耐性を有する例が48例中6例であり、日本人と頻度に差を認めなかった。しかしながら、RFP耐性の2例の出身国は東南アジアであり、1例はRFP単独耐性、1例はRFPとSMに耐性であった。

結核菌陽性例中の薬剤耐性頻度をに示す。国内における耐性頻度については、結核発生動向調査によるデータや結核療法研究協議会による菌株検査の報告は存在するが、本調査は各施設あるいは委託施設の薬剤感受性試験結果によるものであり、また詳細な結核治療歴などは調査しておらず、単純な比較が困難である。しかしながら、結核発生動向調査の結果と比較して明らかな差はないように思われた。

(4) HIV合併結核の患者を受け入れた施設における病室環境(24年度単年度調査)

2010年と2011年にHIV感染症合併結核患者（喀痰塗抹陽性およびその恐れ）を受け入れた病室については、結核医療機関10施設のうち、「結核病棟内の病室」が6施設、「結核病棟内のHIV専用室」が1施設、その他が3施設であった。「前室あり」が3施設、「前室なし」が5施設、未記入2施設であった。「陰圧換気あり」が6施設、「陰陽圧を調整可能」が2施設、未記入2室で、患者入室時に毎日陰圧を確認した施設は設備を有する8施設中7であった。

一方、HIV拠点病院17施設では、「一般病棟内の個室」3施設、「一般病棟内の専用室（陰圧室を含む）」5施設、「感染症病棟内の病室」4施設、「感染症病棟内の専用室」2施設、その他3施設であった。「前室あり」が9施設、「前室なし」が5施設、未記入3施設であった。陰圧換気ありが9施設、陰陽圧を調整可能が2施設、未記入が6施設で、患者入室時に毎日陰圧を確認した施設は設備を有する11施設中8施設であった。

（5）結核医療機関における結核入院患者に対するHIVスクリーニング検査の実施率（25年度単年度調査）

HIVスクリーニング検査の実施率について、101施設におけるアンケート調査結果を図3に示す。56.4%の施設はHIV検査を「ほとんど実施していない」と回答した。「ほぼ全例に検査」は7施設6.9%で、60%以上と80%以上の検査実施を併せても10施設9.9%であった。

3. HIV感染結核における次世代IGRAのQFTゴールドアッセイに関する研究：(青木) (表33)

(1) HIV合併結核症例129例は、男性117例(90.6%)、平均発症年齢 39.3 ± 11.3 歳で、31例(24.0%)は外国籍であった。当院通院中に発見された例が35例(26.5%)で、89例(67.4%)は結核発症を機にHIV感染が判明していた。発症時平均CD4数は $165.3 \pm 158.3/\mu\text{l}$ 、平均HIV-RNAは $5.53 \pm 5.98 \log \text{ copies/ml} (\pm \text{SD})$ であった。当センターの平成21年度の初診患者225例を対照として比較すると、性別、年齢、及びHIV-RNA量は有意差を認めないが、CD4数は結核群で有意に低値であった。

薬剤耐性試験が施行された102例のうち12例(11.8%)に、薬剤耐性(INH 5例、RFP 3例、その他 6例)を認めた。多剤耐性(INHとRFP)は2例(2.0%)のみであった。

抗結核薬で有害事象を生じた症例は、128例中70例(54.6%)であった。その内訳は、INH 13.4%、RFP 26.1%、RBT 17.6%、EB 14.3%、PZA 18.1%、キノロン 21.2% (重複有)と、RFPが最も多かった。年齢、性別、国籍、体重、CD4値、HIV-RNA量と抗結核薬の有害事象について検討したところ有害事象発生群では、有意に体重が軽く、CD4値 <100 の症例が多いことが判明した。

結核症自体の経過はおおむね良好であり、結核を直接の原因とする死亡の症例はなかった。経過中に死亡した7例はいずれも、結核以外のエイズ関連疾患での死亡であった。

129例の症例の中、結核発症時に抗HIV療法を施行していなかった症例が105例中で、抗結核治療導入後に抗HIV療法の導入を確認できた症例が74例であった。74例のうち、免疫再構築症候群を生じた症例は5例であった。5例中2例では抗HIV療法の中断を余儀なくされた。4例でステロイドの使用を認めた。5例ともHIV・結核の経過は良好であった。

(2) 登録患者数は149例で、男性が140例(94%)、年齢の中央値は38歳(18-63)、国籍は日本131例(87.9%)、男性同性愛者126例(84.6%)、CD4の中央値は240(4-819)であった。同期間の当院の新規HIV患者は220例で、その患者背景と有意差はなかった。149例中に活動性結核4例(2.7%)、潜在性結核4例(2.7%)を認めた。

QFT-3Gの判定結果は、陽性例7例(4.7%)、判定保留11例(7.4%)で、日本国籍131例に限ると、陽性例は5例(3.8%)、判定保留8例(6.1%)であった。判定不可は、8例(5.4%)で、全例QFT-3G施行時のCD4値が $50/\mu\text{L}$ 以下であった。QFT-3Gの判定別の患者背景を見ると、判定不可群で有意にCD4値が低い以外には、年齢、性別、国籍、および感染経路に群間差はなかった。

QFT-3G陽性例7例中、活動性結核が3例、潜在性結核が4例であった。活動性結核例は、全例標準的結核治療に反応し奏功したが、QFT

値は必ずしも低下を認めなかった。潜在性結核例は、全例イスコチン300mg/日にて9ヶ月治療を行ったが、QFT値は必ずしも低下を認めなかった。

判定保留例11例では、1例は活動性結核(QFT値0.30)、1例は判定保留持続、7例は以後2回連続陰性、1例は2・5回目が陽性で3・4回目は陰性となった。2例は追跡不能であった。

判定不可例8例では、抗HIV療法を開始後、全例でQFT判定可能となった。CD4 1桁(CD4値 4/μL)でも判定可能な症例を認めた。また、1例は判定可能となった後にQFT陽性となった。

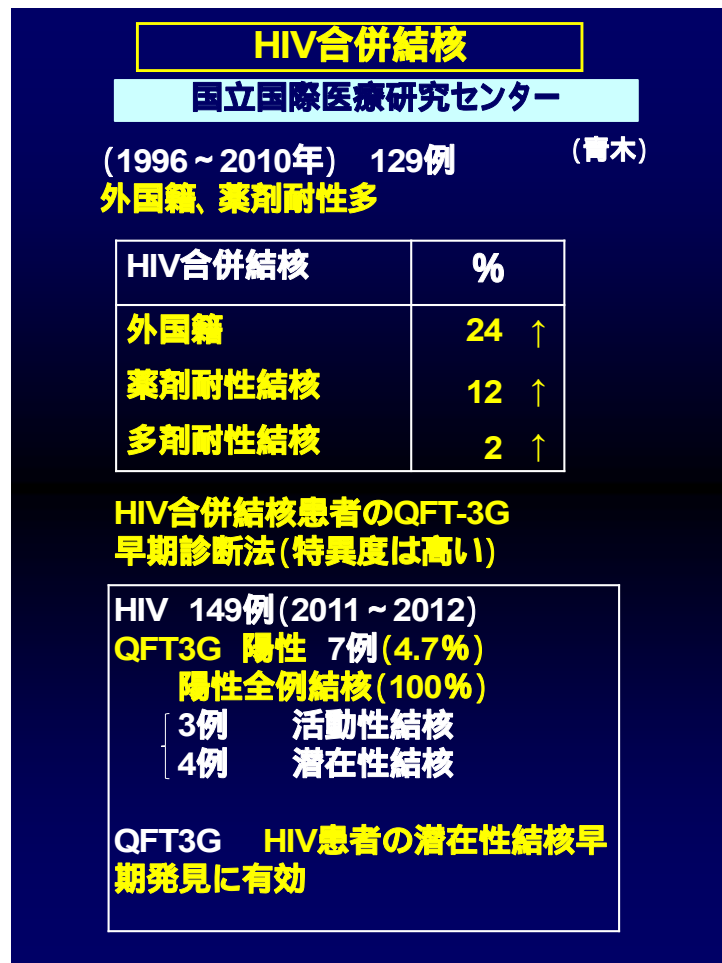
陰性例は123例で、初診時の胸部単純写真上で、明らかな結核患者は認めなかった。QFT

施行後1年間経過観察を施行し、明らかな結核発症例は認めなかった。陰性例の1例でQFT陽転化を生じた。この症例では、吃逆の精査時にQFT陽性と判明した(初診時QFT値-0.13 8か月後5.1)。気管支肺胞洗浄液などにて精査するが、確定診断は得られなかった。抗酸菌症については、各種検体で塗抹・培養・PCRとともに全て陰性であった。抗酸菌症の治療は導入しなかったが、症状、画像、QFT値とも改善傾向となった。(3)QFT-3Gの判定結果は、陽性例0例(0%)、判定保留例2例(7.7%)、判定不可例1例(3.8%)であった。T-スポットTBIは26例全例で陰性であった。HIV合併活動性結核症例は当該期間に1例で、両IGRA共に陽性であった。

表3 2

() HIV合併結核			
国立病院機構呼吸器ネットワーク (永井)		全国病院施設・HIV拠点病院・保健所との連携 (藤田)	
NHO病院におけるHIV感染症合併結核患者数の推移			
年	結核患者数	HIV感染症合併数	HIV合併多剤耐性結核患者数
2007	4388	15 (0.34%)	1
2008	4165	19 (0.46%)	2
2009	4129	18 (0.44%)	0
2010	4122	16 (0.39%)	0
2011	4091	18 (0.44%)	0
2012	3502	10(0.29%)	0
合計	24397	96 (0.39%)	3
外国人HIV合併結核の薬剤耐性結核 9.8%			
(1) 国立病院機構病院 ● (2007年～2012年)6年間 結核23213名中 HIV合併結核0.4%。 ● HIV合併結核多剤耐性結核のうち3.3%。死亡例や粟粒結核等治療に難渋。CD4陽性T細胞100以下。		(2) 全国病院施設、HIV拠点病院 症例調査票を用いた二次調査: ● 外国人HIV合併結核 薬剤耐性 11.1% ● 結核患者の57%がHIVスクリーニング実施せず	
HIV感染合併結核: 日本人と外国人における抗結核薬耐性例数 (二次調査全191例)			
	日本人	外国人	合計
症例数	140	48	191*
何らかの薬剤耐性	16	6	22
MDR	1	1	2
INH耐性	10	2	12
RFP耐性(MDR以外)	0	2	2
SM単独耐性	2	2	4
PZA単独耐性	3	0	3
LVFX耐性	1	0	1
* 国籍記載なし3例を含む			

表3 3



・新しい迅速診断の開発

1. rpoBの変異を用いて、多剤耐性結核患者の迅速隔離方法を構築。6施設に普及。(鈴木、岡田) 331例のうち、培養陰性であった8例を除く323例で比較検討を行った。ジェノスカラー-Rif-TBでRFP感受性と判定されたのは308例であり、307例は通常の薬剤感受性検査でもRFP感受性であったが、1例はMGIT法では感受性であったが小川比率法では耐性であった。この例は臨床的には排菌陽性が遷延しておりRFP耐性と考えられた。また、ジェノスカラー-Rif-TBでRFP耐性と判定された15例中、14例はMGIT法・小川比率法いずれもRFP耐性であったが、1例はMGIT法で感受性であった。RFP耐性の14例中11例(78.6%)はINHにも耐性を示す多剤耐性菌であった。
2. 多剤耐性結核患者の迅速発見法(rpo B 変異)を用い、多剤耐性結核患者迅速入院法及び病院内で多剤耐性結核が感染しない体制を構築した(鈴木、露口、岡田)。現在この方法を6施設に普及した。これの普及をさらに進める。
3. GST融合ESAT-6タンパク質を用いたGST pull down解析で、ESAT-6に会合する宿主分子を探索した。その結果、従来ESAT-6に相互作用することが報告されている、TLR2, MHC class I分子が同定された。このことから、この解析系は、ESAT-6の会合分子を解析するのに適した実験系であることが示唆された。そこで、さらにプルダウンされてきたタンパク質のシークエンスを行った結果、これら分子以外にLAMP-1を同定した。次に、LAMP-1とESAT-6遺伝子をそれぞれ動物細胞様発現ベクターに組み込み、HEK293細胞に導入し、免疫沈降法により両分子の会合を解析した。その結果、ESAT-6を発現した細胞では、LAMP-1の発現が抑制されることが明らかになった。また、ESAT-6の種々のdeletion mutantを発現させた解析から、ESAT-6のN末端から30-60塩基の領域が、LAMP-1の発現抑制に関与することが明らかになった。

AIM2欠損マウスに結核菌を経気道的に感染させ、その後の生存率を野生型マウスと比較した。その結果、AIM2欠損マウスは、全例が7週以内に死亡した。また、感染4週後の肺や

肝臓の結核菌数もAIM2欠損マウスで有意に増加していた。このように、AIM2欠損マウスは、野生型マウスに比べて有意に結核感染に対する感受性が高いことが明らかになった。AIM2はインフラマゾームを活性化させ、IL-1beta/IL-18などのIL-1ファミリーサイトカインの分泌を誘導することが知られている。そこで、結核菌感染後の血清中のIL-18の濃度を測定した。野生型マウスでは結核感染3週後に血清中IL-18濃度が上昇したが、AIM2欠損マウスでは全く上昇しなかった。IL-18はTh1応答に関与していることが知られているので、次に結核感染3週後の脾臓のCD4陽性T細胞からのIFN-gamma産生を解析した。その結果、AIM2欠損マウスでは、IFN-gamma産生が野生型マウスに比べて有意に低下していた。

さらにAIM2の結核感染防御機構を解析した。AIM2欠損マウス由来の腹腔マクロファージは、結核菌感染によるcaspase-1 (p10)の発現が誘導されなかった。また、結核菌ゲノムDNA刺激によるIL-1beta, IL-18分泌が認められなかった。またcaspase-1 (p10)の発現も誘導されなかった。結核菌DNAをHoechst 33342で蛍光ラベルし、マクロファージ細胞株RAW264.7に感染させ、貪食胞を認識する抗Rab7抗体で免疫染色すると、貪食胞とマージする結核菌だけでなく、マージしない結核菌が認められた。結核菌感染により、肺組織でヒアルロン酸が著明に蓄積した。ヒアルロン酸合成酵素HAS1, HAS3の発現が結核菌感染によりマクロファージや肺胞上皮細胞で高くなった。HAS3欠損マウスは、結核感染に対する感受性が正常マウスとの間に有意な差を認めなかった。一方、HAS1欠損マウスでは、結核感染4週間後の肺での結核菌数が有意に多くなっていた。

4. これらの上記の新しい迅速診断法の普及を国立病院機構呼吸器ネットワーク65施設を用いて行う予定である。幸い当院はこの65施設呼吸器ネットワークグループリーダーを岡田が担当している(図13)。

・外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報

収集（図14）

中国Heping博士、韓国Cho博士、タイSrisin博士等と確立した結核ネットワークで開始。中国のMDR-TBの頻度（特に上海）等や対策の情報をすでにHeping博士より入手した（図14）。

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

図13

{ } アジア諸国の結核対策・治療システム

すでに確立した
結核研究ネットワーク

アジア諸国

日本

中国	X Heping H Ling X Wu L Weimin	上海医大 ハルビン医大 309軍病院 北京結核研	中国: 岡田、服部、加藤
韓国	S N Cho Y-K Park K H Yoon E J Song	Yonsei大 韓国結核研 韓国結核研 釜山国立大	韓国: 岡田、加藤
タイ	S Khusmith P Sawanpanyalert C Chochothawom K Ruxrungham	マヒドン大 国立衛生研 タイ保健省 タイ赤十字	タイ: 野内 櫻田、慶長
フィリピン	R M. Olveda P Saunderson T Tupasi	熱帯医学研 レオナルド研 結核病財団	フィリピン: 服部、岡田
ベトナム	B D Duong L B Tung	国立衛生研 国立結核対策	ベトナム: 慶長、野内
WHO本部	U Fruth	WHO結核部	外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集(岡田・服部等)。
			中国 Heping、韓国 Cho等と開始。
			薬剤感受性検査 不備多し。

図14

表3 4

行政施策への貢献

1. 外国人由来の特定結核菌株の蔓延対策により厚生行政に貢献。
2. 東アジア諸国、結核菌が由来した国の同定を可能とした、各国結核菌のデータベース構築。
3. 外国人結核手引書作成。
4. 日本語学校健診普及。
5. HIV合併結核の早期発見。
6. 多剤耐性結核迅速診断隔離法

今後考えられる新たな課題

1. 外国人結核に対する手引書作成。
2. 外国人結核が多いアジアの国(中国、フィリピン、韓国、タイ、ベトナム)の結核対策や情報収集と治療連携システム構築。
3. 外国人結核由来株分子疫学(全ゲノム解読)解析。
4. SNPでアジア各国の結核菌解析。
5. HIV合併結核診療ガイドライン

D. 考察

行政施策への貢献(表34)

1. 外国人由来の特定結核菌株の蔓延対策により厚生行政に貢献。
2. 東アジア諸国、結核菌が由来した国の同定を可能とした。各国結核菌のデータベース構築。
3. 外国人結核手引書作成。
4. 日本語学校健診普及。
5. HIV合併結核の早期発見。
6. 多剤耐性結核迅速診断隔離法

今後考えられる新たな課題(表34)

1. 外国人結核に対する手引書作成。
2. 外国人結核が多いアジアの国(中国、フィリピン、韓国、タイ、ベトナム)の結核対策や情報収集と治療連携システム構築。
3. 外国人結核由来株分子疫学(全ゲノム解読)解析。
4. SNPでアジア各国の結核菌解析。
5. HIV合併結核診療ガイドライン

(1) 外国人結核の問題点

外国人結核の問題点として「外国人結核：医療上困難であった問題点と対応」に記載された問題点をまとめた。この指摘の問題点は当班が初めて詳細に調査したものとする。

まとめると、5つの大きな問題点がある。

- (1) 言葉の問題
- (2) 転帰としての治療途中の帰国(不法滞在等)
- (3) 食事の問題(宗教上)
- (4) 生活習慣の違い
- (5) 経済的な問題

である。

(1) の言葉の問題として、通訳対策の重要性が明らかとなった。翻訳パンフレットは英語と中国語は多く(24%~35%)認められた。一方、外国人結核の多い韓国語、ブラジル人のポルトガル語、フィリピン人のタガログ語は0.4%~7.1%と非常に少なく大きな問題点であった。今後これらの韓国語、ポルトガル語、タガログ語の翻訳パンフレット作成が重要であるとする。

(2) 転帰としての治療途中の帰国は12%も存在

し、大きな問題点である。さらに連絡(国外のみでなく国内においても)が非常に困難であることが調査の結果、明白となった。

(3) 食事の問題について：宗教上の理由により豚肉等の摂取困難が多く報告された。

(4) 生活習慣の違いで、うつ状態になる報告も多く認められた。このうつ状態等による服薬が順調にいかないことも示された。

(5) 経済的な問題も深刻である。結核と判ると退職させられるかもしれないとの思いを多くの外国人結核患者が抱いているようである。

一方、これらの障壁に対し、通訳などの積極的なサポートがなされている。職場、学校などでの通訳が45.7%にものぼり、又友人・知人の通訳サポートが19.2%認められた。これらの対応をさらに進展させるとともに、外国人結核に対する新しい治療剤の開発(デラマニド等)の可能性が示された。(岡田)

- (2) 新宿区は東京都のなかで最も多くの外国人結核患者を診療しているが、外国人登録者の絶対数が多いのがその原因と考えられる。また、国籍別では韓国人のコミュニティが存在するため、韓国人の結核患者の率が大きいのが特徴といえるが、最近韓国人の減少、中国人の増加がみられている。国立国際医療研究センターにおいて最近6年間で診療を行った外国人結核患者は、20~30歳代の若年者が多く、女性の割合が日本人結核患者と比較して多くみられたが、この傾向は以前の調査と同様の傾向であった。6年間で前半3年と後半3年に分けて、その差について検討した。特徴的なことは、韓国人とくに韓国人女性が減少し、フィリピン人が増加していることである。職業については学生と主婦の率の減少がみられている。いずれも原因は明らかではないが、東日本大震災の影響があるのかもしれない。治療成績については、後半では脱落例が減少し、外国人結核対策強化の効果と考えられる。結核菌の薬剤耐性については、RFP耐性と多剤耐性の率が日本人と比較して高率にみられた。外国人結核患者の多剤耐性率は1.5%であり、統計学的に日本人結核より高いが、全国集計の4.4%に比べて低かった。その原因は明らかではないが、本研究は1つの病院における結果であり、集計数が少ないための誤差である可能性も

ある。また、外国人結核といっても日本の地域により国籍や職業、滞在年数などが異なるため、薬剤耐性率や多剤耐性率についても地域により異なる可能性がある。2011年の新宿区全体の結核患者の統計では、外国人結核8名中に多剤耐性結核が3名(中国2名、韓国1名)みられた。いずれも20歳代前半の学生であり、初回治療1名、再治療2名であり、外来での治療経過中に発見された。母国から日本への持ち込み例と考えられ、多剤耐性結核の流入に関しては、さらなる検討と対策が必要と思われる。

東京における外国人結核患者由来株87株のRFLP解析によると、そのうち30%は相同性70%以上の「グループ」を、6%は「グループ」を形成していた。「グループ」ではそれ以外と比べて、中国、韓国など東アジア出身者が多く、薬剤耐性率やHIV合併率が高い傾向であった。さらに、「グループ」では新興型の北京型株が多く、日本人とのクラスター形成率が高い傾向にあった。以上のことから、中国、韓国など東アジアから新興型の北京型株が日本国内に入りこみ、日本人とクラスターを形成している可能性が示唆された。とくにグループでは薬剤耐性率やHIV陽性率が高い傾向にあり、その日本国内での拡がりは公衆衛生の上で脅威となりうると考えられる。

全ゲノムシーケンス法による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、東京における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。さらに、日本国内において外国人と日本人は異なる結核菌に感染し、各コミュニティで維持されていることが示唆された。同時に、外国人あるいは旅行者を通じて、これまで国内に存在しなかった新たな表現型を持つ結核菌が、国内に持ち込まれる可能性が示された。(小林、切替)

- (3) 東アジア諸国の結核菌の遺伝的背景が異なり、結核菌が由来した国の同定を可能とした。各国結核菌のSNP解析系統情報とVNTR解析を統合したデータベース構築による行政施策への貢献：本年度は、リアルタイムPCRでSNPを検出する

ためのプローブ合成と型別能確認作業に手間と時間が必要だった。結核菌標準株のH37Rvを鋳型DNAとして利用することで、ほとんどのローカスの野性型コントロールが得られた。一方、分析した結核菌中で変異の割合が高い場合は、容易に臨床分離株から変異体の陽性コントロールは入手できるが、頻度が低い場合はそれが難しかった。そこで、今回の実験では8ローサイで、変異を持ったPCR産物が得られる様に鋳型となるDNAを人工合成し、変異コントロールとした。これらの変異コントロールの取得によって、リアルタイムPCR系でSNPがうまく検出できているかを容易に確認することができた。

次年度は、この完成したSNP分析システム(各ローカスは、野性型と変異型の2種類のプローブ、PCRプライマー、野性型と変異型コントロールからなる)及び分析用試薬を各国の施設に送付し、それぞれの地域内で分離された結核菌の分析を行ってデータを提供してもらう予定である。この点について、各国の研究者からは既に承諾を得ている。

このような共同研究によって確立した共通な方法を使って結核菌を解析することで、各国で広まっている結核菌の特徴を明らかにできると考えられる。本システムの有用性が確立され、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、各地域における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。(加藤、前田)

- (4) 2011年日本の活動性結核新登録患者数は22681人で人口10万対17.7%と報告されている。そのうち外国人結核患者数は921人(4.1%)で、20才代が419人と最多で、同年代の結核患者数1417人の29.6%をしめており、実数が増加しているわけではないが日本人の結核が減少するに相まって年々この割合は上昇している。欧米諸先進国の状況を見ても、国際交流と諸外国の結核状況のギャップの流れのなかで、外国人結核は日本の結核において無視できないものとなっている。若年者結核の多くが外来患者であるように、入院を要する外国人結核患者はむしろ少数である。一方で日本の結核患者の半数以上が高齢者で殆どが日本人であるが、外国人高齢者

の結核も散見されるようになった。今回の対象では、中国残留孤児で帰国した人や子育て支援に観光ビザで入国した人が含まれている。学校検診や会社検診を除く、一般外国人の健診制度はなく、欧米諸先進低蔓延国においても有効なシステムは見当たらない。日本人と結婚している女性の結核が目立っている。外国人に限らず20～40才台の主婦層は結核の発見が遅れやすいグループと思われる。受診しやすい環境が望まれる。

病型や排菌状況については他の日本人の結核と殆ど差はなかった。HIVは30代、40代の女性2例で今回判明した(4.0%)。これは日本全国の0.9%と比較すると高値である。

糖尿病の合併は5例(10%)で全国の19.0%と比較して低い。当院の2010年～2011年の新規活動性結核入院患者数821例中、HIV5例(0.6%)、糖尿病150例(18.2%)となっており、一つには年齢層の偏り、HIVでは出身国の状況を反映しているものと思われる。耐性菌については、821例中いずれか主要薬剤耐性68例(INH19例、SM25例、EB3例、RFP1例、SH12例、HE3例、SE2例、SHE3例)および多剤耐性3例であった。何らかの主要耐性率8.4%vs16%、多剤耐性率0.4%vs4.0%で外国人結核では高いと思われる。多剤耐性やINH耐性を除き殆どの症例は標準治療を実施し、帰国や転出が半数を占めるが、当院で治療中のもの22例中1例が脱落となっている。言葉の問題は若年者では滞在期間が短いこと、高齢者では外国語になかなかたない状況と思われるが、家族や友人、雇用者、日本語学校の職員、東京都から派遣される通訳の協力を得て、退院後も保健所との連携で安心して治療を継続できるよう支援することが重要である。

当院における外国人結核患者は種々の状況で発病、診断され、治療されることは日本人の場合と大差ないが、言葉の問題や服薬支援ではより力を注ぐ必要がある。結核で入院治療する外国人は、診断・治療・服薬管理に日本人と大きな差はない。HIVや耐性は日本人よりも高率と思われるが、対象が少ないため比較は困難である。将来的なことを考慮して、若年層の外国人結核を対象とした、焦点を絞った検討と対策が必要と思われる。(豊田)

- (5) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向
全結核患者に占める外国人結核患者の割合は年々増加しており、特に20代で外国人の占める割合が高く、2012年には29.3%に達していた。年齢の中央値は2012年27.5歳であり、ここ3年は大きな変化は見られなかった。出身国は、5年間の合計では中国・韓国・フィリピンの順に多かったが、特に近年韓国が減少し、中国の増加がみられた。また入国から5年未満で登録された者は約半数を占めていた。日本語学校生の割合は、2008年には12.1%であったが、2012年には23.5%を占めていた。これらの結果より外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。

日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

2011-13年の日本語学校健診において発見された活動性結核は19名(0.4%)であり、2014年大阪市の定期・住民健診における患者数6名(0.09%)より発見率は有意に高かった($p<0.001$)。結核と診断された19名のうち、入国後1年未満である者は不明2名を除く17名中16名(94.1%)を占めていた。これは大阪市における外国人結核(2007~11年、20~29歳79名)で入国後1年未満である者の割合38.0%より高かった。また、塗抹陰性は16名中14名(87.5%)であり、より軽症で発見されていた。以上より日本語学校における健診は結核の早期発見に寄与していると考えられた。

外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析

外国出生者内で24領域一致したものは1例もなかったが、日本出生者内では44例(20.4%)と日本出生のほうが有意に高く、外国人由来株が日本人由来株同様に国内で感染伝播しているとはいえなかった。日本出生と外国出生で24領域が一致していたのは2組4名であったが、疫学的なつながりは見いだせなかった。(下内、小向)

- (6) SNP分析で各国、地域で分離された約200株の結核菌解析を行う。各国を代表できる結核菌株を選択。さらに細区分できるVNTRシステムを構築。簡易ラインプロブ・アッセイ系構築。(加藤ら)
- (7) 中国との結核ネットワーク研究を活用した多剤耐性結核の分子疫学低解析:

中国とフィリピンにおける結核の共同研究体制を確立した。この3年間のデータをもとに、結核菌の北京型同定のための抗Rv0679c抗原に対する血清診断の試みとIgA抗体産生機序とその意義についてさらに研究を行う。さらにインドネシアの検体もHuman security courseの教育経由で入手が可能であり、既にLTBI, TB患者由来の血漿は入手済みである。さらにインドネシアの留学生結核患者の結核菌も現在解析中であり、その遺伝子型の解析にも努める。また東北地方はの外来結核菌の侵入程度を検索するための東北地方の結核菌の遺伝子型も検索する。

この研究において、で中国における北京型・薬剤耐性の頻度が極めて高いことが再確認された。またフィリピンにおいては北京型がいまだに確認されておらず、その理由の解明も必要である。今後我が国の結核菌型も同定しながら、我が国に留まらず近隣諸国の結核感染阻止対策を提言したい。(服部)

- (8) 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。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。菌体と宿主要因のそれぞれと相互作用の研究を症例数が大きく必要であり、日本での研究基盤が輸入感染症の検討という観点でも必要である。臨床疫学因子、細菌学的因子、免疫遺伝学的因子を測定し、それらの因子の難治化に及ぼす影響を相互作用も含めて定量化する。

タイでの大規模でより詳細な菌解析は、論文報告した古典的なRFLP解析による少数の解析による北京型菌株がより難治性に関与するという仮説を検証する結果が得られている。多剤耐性に対する検討や、多変量解析を使用している検討など詳細な検討を進め、論文化を進めている。

日本の複十字病院での検討は、輸入感染症としての多剤耐性結核の重要性が明らかになった。2011年度は日本国籍であるが米国滞在42歳、タイ在住42歳、19歳、2012年度はインドネシアに長期在住していた66歳、2013年度はフィリピンでボランティアをしていた2名を経験しており、

海外渡航歴の聴取が重要と考えられる。

複十字病院では10年以上の菌体を保持しており、また文部科学省オーダーメイド医療プロジェクトに協力してヒト検体も収集してきた。倫理委員会の承認を得て、検査残余検体を活用した菌と人の検体バンクによる結核研究を継続している。菌体の分子疫学解析に先立つ疫学因子解析の結果を報告する。タイ国も同様に菌と人検体を臨床データと共に長期に保存しており、並行した菌体バンクを活用して伝播の検討や比較検討などの相乗効果が期待される。(野内)

- (9) ベトナム人における多剤耐性結核と宿主要因の関連について、本研究班で、初めてアプローチを実施している。

ベトナム人における多剤耐性結核と宿主要因の関連について、本研究班の3年間で、初めてアプローチした。

NAT2遺伝子の遺伝子型は、これまでイソニアジドによる肝障害が遅延代謝型(S)に多いことが報告されてきたが、薬剤動態研究の結果により、迅速代謝型(F)では不十分な治療によりイソニアジドの濃度が十分に上がらない可能性が強く疑われる。最近、迅速代謝型(F)が治療失敗や薬剤耐性の獲得に関連するとの報告があるが

(Pasipanodya JG, et al. Clin Infect Dis. 55:169-77, 2012.)、多剤耐性結核とNAT2遺伝子型との関連解析については十分な報告が無く、今後、さらに検討を進める必要がある。

MBL遺伝子多型は多剤耐性結核自体とは強い関連は示さなかったが、MBL 遺伝子多型は非炎症状態のみならず、結核治療中のような炎症状態でも血中濃度に強い影響を与えていた。同時に測定された患者のCRP値などの炎症指標には大きなばらつきがあったが、MBL血中濃度はむしろ宿主側要因により明確に規定されていることが明らかになった。またMBLはインターフェロン 血中濃度と正の相関を示し、IL12 鎖 (p35) 遺伝子発現と負の相関を示した。

自然免疫系の分子として知られるMBL遺伝子多型が疾患におけるTh1応答に関連することは、MBLが従来言われている菌のオプソニン化のみならず、宿主のTh1応答とも緊密に関連していることを示唆するものであった。また別のTh1系遺伝子であるIL12 鎖 (p35) のmRNA発現が

MBLの高濃度と逆相関するという事は、すでに病変局所に動員されているのか、何らかのnegative feedbackメカニズムによって抑制されている、などが考えられた。

DUSP14は、T細胞が刺激された時、早期に発現誘導され、CD28と相互作用し、MAPKを不活化して副刺激分子からのシグナルを抑制する分子MKP6 (MAP kinase phosphatase-6)として見いだされた (Marti F, et al. J Immunol 166: 197-206, 2001)。しかしながら、他のDUSPファミリーと比べてDUSP14に関する知見はまだ少なく、その発現や役割に関しては不明な点が多い。我々の多剤耐性結核患者の全血由来のtotal RNAからの検討では、遺伝子型とmRNA発現量に有意な関連がみられず、それぞれの細胞の感染時のDUSP14の発現についてはさらに検討が必要である。

一方、今回の我々の結果から、DUSP14の遺伝的多型のハプロタイプとTh1系免疫関連遺伝子である *IL12RB1* mRNA発現量には有意な関連がみられており、DUSP14遺伝的多型によってTh1系免疫関連遺伝子発現がトランスに影響を受けているのではないかと推測される。また、既報のrs712039 SNP単独の効果より、プロモーター領域のSNPを含めたハプロタイプの方が、遺伝子発現とより強く関連する可能性が示唆されたため、プロモーター領域のSNPの機能的意義が注目された。

今回の結果から、DUSP14の低発現型がTh1応答の増強を通じ、結核の発病や病態において宿主に有利に働く可能性があると考えられた。多剤耐性結核患者において、DUSP14によるTh1応答や炎症性サイトカイン反応の制御がどのように病態に影響するか等については、今回の検討では症例数が少ないため、今後、より大規模な研究で検討する必要がある。

この3年間、ベトナム人多剤耐性結核について、迅速に研究を実施することができたことは、長い共同研究の歴史に基づく信頼関係によるものである。多剤耐性菌は、ベトナムにおいても最近、深刻な問題としてとらえられており、さらに両国に裨益する研究成果が期待される。(慶長)

- (10) 1. 今回の研究では、血漿グラニュリシン値とIFN- γ 遊離テスト陽性の関連が示唆されたが、

末梢血中のグラニュリシンの発現レベルの低下が、活動性結核発症のリスクと相関するマーカーになり得るかを明らかにするためには、潜在性結核感染者を同定し前向きコホート研究を行う必要がある。前向きコホート研究等を実施することで、潜在性結核感染症から活動性結核への発症リスクと血漿グラニュリシン値の発現が関連すれば、活動性結核発症のリスクマーカーとして、潜在性結核感染者のなかのハイリスクグループを特定できる可能性がある。この場合、開発途上国等の高蔓延国においては、ハイリスクグループに的を絞っての予防的治療を行うことによって、コストを削減することができる(約十分の一)。

2. 同じように末梢血単球から分化したマクロファージであっても、GM-M においては、活性型ビタミンD₃による関連遺伝子の発現増幅はまったく認められなかった。遊走性食細胞としての性格の強いIM-M と比較するとGM-M はresidential macrophageとしての性格が強い細胞である。また、双方のマクロファージにおいてIFN- γ により発現が増幅されるIL-15は、キラーT細胞におけるグラニュリシンの発現を誘導すると言われている。現在、dermicidinの発現は検討中であるが、活性化ビタミンD₃の活性化メカニズムが働かないような低濃度の25(OH)D₃の存在下でもM-M は結核菌を効率的に殺菌することが分かっている。この細胞においては、活性化ビタミンD₃の活性化メカニズム以外の殺菌メカニズムがより重要であることが示唆された。(櫻田)

- (11) 1996年にARTが導入されてからHIV感染症の予後は著明に改善し、AIDS関連疾患の減少とHIV感染者の死亡率の減少が認められている。ARTはHIV感染症における活動性結核の合併リスクを減少させたという報告もみられ1)2)、HIV感染者を早期に発見し適切な時期にARTを開始することが、結核発病を防ぐ上できわめて重要と言える。

HIV対策と結核対策を進める上で、サーベイランスは非常に重要であるが、わが国における結核患者におけるHIV合併率は明確ではない。

結核登録者情報調査年報(「結核の統計」)では、2007年から結核患者におけるHIV陽性者

数を載せるようになった。しかし、結核患者の全員にHIV検査を行っているわけではないので実際の値はこれらの値よりも高いと思われる。

結核患者におけるHIV陽性率については、前向き全国調査において0.37%（関東7都県では0.65%）という報告がある。

今回の調査では、2007年～2012年のNHO病院における結核患者のHIV陽性率は毎年0.29-0.46%、6年間では0.39%であった。この値は上記の前向き調査の0.37%に近い。わが国のHIV合併結核は、現時点では結核患者の0.4%前後と考えられる。

しかし、HIV合併結核96例中82例（85.4%）は東京・大阪・愛知の大都市圏に集中している。この地域だけのHIV陽性率は0.91%となり、1%に近い値となる。HIV感染症も結核も多い大都市圏では結核患者におけるHIV陽性率は1%前後であろう。

HIV合併結核は日本人中年男性が多く、結核を契機にHIV陽性と判明した症例が56%であった。いまだに「いきなりAIDS」という形で発病して、初めてHIVと判明する例が多く、重症例となってからの発見となり治療に難渋する例があるので早期診断が必要である。

CD4数<200 μ Lの免疫機能低下例、肺外結核が多かったが、これは以前より指摘されている通りであった。

結核の治療開始後にARTを開始した症例では8週以内に開始した症例が多く、4週以内にARTを開始した症例では全例IRISを合併していた。ARTにより早期に免疫機能の回復を図り、予後の改善を期待したためと思われるがIRISの発症には注意が必要である。

HIV感染者では薬剤による副作用が出現しやすく、結核薬による副作用を63.9%に認め、ARTによる副作用頻度28.1%に比べきわめて高い。結核治療が軌道に乗るまでに時間を要し、ARTを早期に開始できないことがうかがえる。結核の転帰については治療中の症例が多くあり、治癒率を計算できなかった。

MDR-TBは3例のみであり、1例は外国人であった。わが国の結核患者で薬剤感受性検査が行われた8,365例中MDR-TBは60例0.7%であり（2012年）、HIV合併結核96例中3例3.1%の頻

度は高いと言えるが、幸いこの6年間では増加傾向は見られていない。

HIV合併結核の多い国では、結核患者全員にHIVスクリーニング検査を行うべきであるとされているが、わが国において結核患者全員にHIVスクリーニング検査を行うかどうかについては議論のあるところである。しかし、HIV合併結核の多い東京・大阪・愛知では積極的にHIV検査を行うべきであると考えられる。（永井）

(12) 過去に海外でHIV感染者における多剤耐性結核のアウトブレイクが報告され、HIV感染と多剤耐性結核の関係については注目されてきた。しかし、WHOは18国・地域におけるコホート調査から、HIV陽性者ではHIV陰性者と比べて多剤耐性結核はオッズ比1.4であったが統計学的には有意でなかったと報告している。今回の日本国内における調査においても、HIV感染者の間に多剤耐性結核が蔓延している状況はないと考えられた。しかしながら、191例のうちで外国人比率が25.0%と2011年の全国新登録結核患者の外国出生者率4%よりも多く、多剤耐性のうち1例は中国人で、東南アジア出身者2例のRFP耐性であり、引き続き耐性菌の動向には注意していく必要がある。

また、前述のWHOの検討においても多数例がHIV検査結果不明であると付記されており、今回の調査でも結核医療機関のうち結核入院患者に対するHIV検査を実施状況調査では、患者の60%以上に実施しているのが1割未満の医療機関であり、外来のみの患者の状況はさらに低いと推測されることから、結核患者における正確なHIV感染の有無を把握することが今後の課題である。

薬剤感受性結核のうちINH耐性については日本人でやや目立つ結果であったが、対照とすべき結核療法研究協議会の調査は菌株を収集して統一した方法で検査する方式であり、薬剤感受性試験方法の違いなどのため、単純な比較ができない。既治療例では耐性の頻度が上がるが、本調査では詳細な結核治療歴については調査していない。しかしながら、今後HIV感染症患者における潜在性結核感染症治療の普及が見込まれることから、注目していく必要はある。

日本の結核対策・国際合同レビュー2011年に

よると「TB/HIV」に関して、(1)結核とHIVに関わる機関やグループは、保健と社会福祉システムのすべてのレベルで連携と協調をすべきである、(2)厚労省あるいは結核病学会はHIVプログラムと協調して、すべての結核患者にHIV検査を実施することを義務付けるべきである、(3)厚労省・県・市はHIV合併結核患者で入院を要する場合には、結核病棟を有する69のHIV専門病院のみに入院させて治療するようにすべきである、と提言されている。

そこで、24年度の調査では、HIV合併結核の患者を受け入れた施設における病室環境を尋ねた。結核病棟を有さないHIV拠点病院においても喀痰塗抹陽性の恐れがある患者に対して、個室や専用室を利用して対応している実態が判明した。結核医療機関とHIV拠点病院のうち陰圧室を持つ施設の79%では陰圧を毎日確認しており、一部の施設では陰陽圧の調整が可能であった。医療機関内で多剤耐性結核の感染予防対策としては、個室や専用室の利用、前室の設置、陰陽圧の調整が有効であると考えられる。

日本の結核登録情報システムにおいてもHIV合併例の把握がなされており、調査期間の6年間の症例数については概ね結核登録情報システムのデータと同様の傾向であった。保健所側からはHIVの有無に関しては把握しきれていないとの指摘がある。ただ、医療機関に対する調査によるHIV感染結核合併頻度は行政レベルの統計と大きな差はないように思われた。今後は結核登録情報システムを活用あるいはそれを発展させた仕組みに基づいて、多剤耐性結核とHIV合併の実態を把握することは可能であろう。その前提としては、前述のように結核患者における

正確なHIV感染の有無を把握することが重要であり、そのためには結核患者に対するHIV抗体検査を保険適応とし、保健所においてその結果を把握できるようなシステムを構築することを提案したい。(藤田)

(13) 国立国際医療研究センター病院：(1)平成24年度施行したQFT-3Gの結果では、新規HIV感染者149例中のQFT3-G陽性率は4.7%で、陽性例は全例活動性結核または潜在性結核の診断であった。本年度は2種類のIGRAの比較検討試験を施行したが、症例数が現時点では少なく、両検査法の有用性について確定的な事は言えない。更なる症例の集積を要する。

(2) HIV感染者で、本法が陽性となりづらい理由として、以下の2つの可能性を考える。MAC症のHIV患者は高度免疫不全状態であるため、MAC特異的抗体の産生が低い。非HIV患者における肺MAC症は、経気道感染であるが、HIV感染者における播種性MAC症は、経腸管感染であり、特異的IgA抗体の産生がHIV患者では低い。更なる検討が必要であると考えられる。(青木)

(14) 多剤耐性結核の迅速診断・迅速隔離法の普及と自動化。

本法の感度は93.3%、特異度は99.7%と優れた結果が得られており、また多剤耐性結核の迅速なスクリーニング法としても有用であると考えられた。

中国から日本の移民にスーパー・スプレッダー多剤耐性結核を我々は世界で初めて発見した。(日本のみならず中国のある都市にも12%でスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌が存在することも我々は発見)(鈴木、露口、岡田ら)

E. 結論

・日本の外国人結核

1. 外国人結核対策のガイドライン（国際的な協力も含め）を策定した。東京及び全国の外国人結核（2009年～2011年）の外国人結核診療マニュアル（第二版）を策定（小林、岡田等）。また大阪市における外国人結核対策マニュアルを策定（小向、下内、岡田等）。アジア諸国との結核対策共同ガイドライン（中国、Heping 博士等と）の作成が進展中。
2. 日本全国：2012年全国保健所528、結核病院262、合計790施設に2009～2011年の調査票送付（外国人結核）。90%の回答。2121例（重複なし）を解析（岡田）。外国人結核は年々増加。20代48%。国籍は中国、フィリピン、韓国の順。学生22.4%と著増。多剤耐性結核は4.4%で日本人結核0.7%に比べ6.4倍と高頻度。〔さらに（2006年～2008年）外国人結核調査票と比較解析：前回の調査結果の対策を厚生行政に反映、改善された結果〕：日本語学校健診4.2%と増加改善。学生が多いという前回調査結果より、保健所が日本語学校健診を増やす対応（大阪市等）。通訳を増加（行政サービス15%）。帰国者の減少。治療中断・脱落者減少。（結核2012,2013, UW Conf 2012）（岡田）さらに強い感染力を持つスーパー・スプレッダー多剤耐性結核菌（S・S多剤耐性結核菌：我々が世界に先駆けて発見）が日本のみでなく、中国にも存在し、S・S多剤耐性結核の患者の中国と日本の移動が示唆された。神戸市の外国人結核（藤山理世・岡田）51名/年。20代39%。学生36%。日本語学校健診必要。
3. 国立国際医療研究センターにおける外国人結核と分子疫学研究：国際医療研究セの外国人結核、2007年以降の6年間を前後半に分けて検討。国籍別では中国が最多。韓国が減少しフィリピンが増加。脱落者は減少し治療成績は改善。外国人株でRFP耐性と多剤耐性率が高率。外国人結核患者由来結核菌株のRFLP解析から、86株のうち29%は

クラスター（中国、韓国籍多）を、6%はクラスターを形成していた。外国人結核91株および日本人結核菌167株の全ゲノムを次世代シーケンサーで決定した。外国人由来分離株は日本人株と異なり、菌株特異的一塩基多型の数も多く、外国人由来分離株が海外から持ち込まれたことが示唆。東京都の外国人結核対策マニュアルを作成（2013）。（小林、切替）

4. 東京病院（豊田恵美子・岡田）では外国人結核患者50例解析。有空洞40%。HIV合併結核4%と高率。多剤耐性結核2%。
5. 大阪市における外国出生結核患者の発生動向

大阪市における外国出生結核患者の発生動向：2008～2012年に大阪府で新規登録された外国人（外国出生）結核患者を対象とした。外国人は、20代に限ると2008年13.6%から2012年29.3%へと年々増加していた。性別は、日本出生者で男性の割合が多いのとは対照的に外国人では女性が多く約半数を占めており、2012年15名（44.1%）であった。年齢の中央値は2012年27.5歳であり、ここ3年は大きな変化は見られなかった。出身国は、5年間の合計では中国・韓国・フィリピンの順に多かったが、特に近年韓国が減少し、中国の増加がみられた。また入国から5年未満で登録された者は約半数を占めていた。日本語学校生の割合は、2008年には12.1%であったが、2012年には23.5%を占めていた。これらの結果より外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。大阪市の外国人結核対策マニュアル（2013）を作成。

・日本・中国・韓国・台湾の分子疫学研究

1. 東アジアに位置する日本、中国、韓国、台湾では近年、ビジネスや観光で多くの人々がそれぞれの国を訪れている。そのため、人の移動に伴い結核をはじめとした感染症も輸入・輸出されている可能性がある。これらの地域では、台湾を除き北京型結核菌の割合が高い

という共通の特徴を持っている。また、結核罹患率は先進諸国に比べて高く、罹患率を低下させるためには今後も精力的な対策が必要である。このような対策のひとつとして、各国の分子疫学担当者と会議を持ち、型別データを共有できる 10-locus の反復配列多型 (VNTR) システムを構築した。また、次世代シーケンサー (NGS) を用いた結核菌の全ゲノム解析から報告されている一塩基多型 (SNP) を利用して、結核菌を遺伝系統的にグループ分けできる新しいシステムの構築を行った。共通な型別システムを用いて各国で分離された結核菌を分析することでデータを直接比較することが可能となる。その結果、各地域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る。本研究で樹立した SNP 分析システムは、リアルタイム PCR を利用して 23 箇所の SNP を検出するもので、分離された結核菌を網羅的に解析することができる。今までの型別法では、北京型結核菌は NTF 領域への IS6110 の挿入の有無で、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 分析システムで日本と台湾からの結核菌を分析すると、少なくとも ancient 型は 4 グループ、modern 型も 5 グループに分けることができた。このような解析により、各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るので、今後注目する結核菌の由来国等の推定も可能となると考えられる。

2. VNTR の MST 解析で、日本、韓国の結核菌は北京型の“祖先型”、中国は北京型の“蔓延型”、韓国は RD181 陽性、台湾は非北京型で、日、中、韓、台の結核菌は各々区分可能な発見。(加藤・前田)

・アジア諸国の多剤耐性結核

1. 中国・黒竜江省の結核菌の解析では44例中42例 (95%) は北京型であり、その中2例は新たな北京型を同定。さらに1,230株黒竜江省の結核菌の解析を行い、通常の抗結核剤に対する薬剤耐性株は58.4%でMDRは23.3%。さらに Rv0679c点突然変異検出multiplex PCR法を開発し、非北京型と北京型を100%鑑別。(J. Cli.

Mic. 2013) (服部)

2. フィリピン・マニラのサンラザロ病院の抗酸菌染色陽性菌は100% MTB complex。Spoligo typingでマニラ型。(Cli. Dev. Imm. 2012) (服部)
3. タイでのHIV合併結核493名中活動性結核は15.6%。初回MDR-TB 12.5%が、2回目22.5%と著増。これらの結核で北京型67%と高率(タイ平均21%)。複十字病院の結核1958名中外国人結核5.7%で、そのうち多剤耐性結核患者26%と高率。(野内)
4. ベトナム・タイにおける再発結核患者では血清granulysin値低下を明らかにした(Micro.Imm.2011)。HIV感染は、ピタミンDのMφ活性化を阻害し易結核感染(タイ)。ハノイ市の潜在性結核感染者では健常者よりグラニューリシンの発現が低下。(Int. J. Med. 2013) 抗菌ペプチドcathelicidin遺伝子の発現への影響を検討した。結核菌(H37Rv)殺菌後の培養液上清中の殺菌活性に関与している可能性があるdermicidin遺伝子の発現への関与について検討を試みた。(タイ・ベトナム 櫻田)
5. ベトナム ホーチミン市で宿主側の要因を検討。薬剤代謝：多剤耐性結核は、INH代謝関連遺伝子NAT2は代謝遅延型遺伝子が少ない。免疫関連：血漿マンノース結合レクチン(MBL)濃度は多剤耐性結核患者でも遺伝子型により規定され、IFN- γ の血中濃度と正の相関。DUSP14イントロン1に局在するC/T SNP (rs712039)のCアリルはDUSP14の遺伝子高発現型として知られているが、そのCアリル数に依存して多剤耐性結核の血液細胞由来のTNF α 遺伝子発現量が低くなる傾向がみられた。しかし、Cアリル数はDUSP14遺伝子発現量自体とは有意な関連を示さなかった。さらにDUSP14遺伝子高発現型と推定されるH2ハプロタイプ数に依存して、全血中のIL12レセプター α 1 mRNAなどTh1系免疫関連遺伝子の発現量が低くなる傾向が認められた。免疫炎症制御に関連して注目されるDUSP14の遺伝子多型が、トランスの作用を通じて結核免疫にも関連している可能性が示された。(慶長)

・ HIV合併

1. 国立病院機構 (NHO) 病院144施設に対して調査票を送り、HIV感染症合併結核症例数の把握と臨床データの集積を行った。 HIV合併結核症例の解析。2007～2011年の5年間で結核20,895例。 HIV合併結核87例(0.42%)とほぼ一定。このうち多剤耐性結核3例。すべて男性、国籍は中国1例、日本2例で、CD4は100/μl以下と低値。肺結核2例、粟粒結核1例。 HIV合併多剤耐性結核は治療に難渋。INHのみ耐性3例、SMのみ耐性3例。 結核発病を契機にHIV陽性と判明した症例は61%。(永井)
2. 全国のHIV(エイズ)診療拠点病院・結核診療病院(国立病院機構を除く)保健所を対象に、HIV合併結核症例の有無に関する調査を実施した。 HIV合併結核症例の解析。2007～2011年の5年間で結核20,895例。 HIV合併結核87例(0.42%)とほぼ一定。このうち多剤耐性結核3例。すべて男性、国籍は中国1例、日本2例で、CD4は100/μl以下と低値。肺結核2例、粟粒結核1例。 HIV合併多剤耐性結核は治療に難渋。INHのみ耐性3例、SMのみ耐性3例。 結核発病を契機にHIV陽性と判明した症例は61%。(藤田)
3. 国際医療研究セのHIV合併結核患者129例。男性91%、24%は外国籍。12%抗結核剤耐性。多剤耐性2%。 HIV合併結核患者のQFT-3G診断法は有用(特異度高い): HIV149例中QFT-3G陽性7例(4.7%)。陽性全例結核。LTBI診断はQFT陽性。治療は全例INH。 HIV感染者における結核症の早期診断を目指し、2種類のインターフェロン 遊離試験の有用性を検討した。結核症とMAC症の鑑別を目的として、キャピリアMAC抗体ELISAをHIV合併播種性MAC症の患者で施行したが、陽性率は4.3%と極めて低かった。 HIV合併播種性MAC症の補助診断としては有用ではなかった。(青木)

・ 新しい迅速診断の開発・新治療剤(化学療法剤等)の開発

1. rpoBの変異を用いて、多剤耐性結核患者の迅速隔離方法を構築。6施設に普及。(鈴木、岡田、露口) 多剤耐性結核は世界的に問題となっている。そ

の診断の遅れは、治療失敗につながるのみならず、他者への感染リスクの増大をももたらすため、迅速な診断はきわめて重要である。我々は、多剤耐性結核のスクリーニング法としてのリファンピシン(RFP)耐性迅速診断法の有用性につき検討を行った。従来法の薬剤感受性検査をgood standardとした場合の感度は93.3%、特異度は99.7%と優れた成績が得られた。本法はRFP耐性迅速診断、ひいて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ると考えられた。

2. 結核菌の病原性因子ESAT-6がマクロファージ内で、貪食胞の機能に関わる分子LAMP-1と会合し、何らかの分子機構でLAMP-1を分解し、貪食胞の成熟をブロックしていることが示唆された。

自然免疫応答に関わるAbsent in Melanoma 2(AIM2)の遺伝子欠損マウスは、結核菌に対する感受性が高くなった。その分子機構として、AIM2は、細胞質内に逃れた病原性結核菌のDNA認識し、インフラマゾームの活性化、そしてIL-1beta, IL-18の分泌を誘導することにより、結核菌感染防御を担っていることが明らかになった。

また、ヒアルロン酸合成酵素HAS1の欠損マウスが、結核菌感染に対する感受性が高いことが明らかになった。

・外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集を中国 Heping、韓国 Cho、タイ Srisin博士等と確立した結核ネットワークで開始。

・研究代表者(岡田全司)(表1、2、3、4)

- (1) 外国人結核対策のガイドライン(国際的な協力も含め)を策定した。東京及び全国の外国人結核(2009年～2011年)の外国人結核診療マニュアル(第二版)を策定(小林、岡田等)。また大阪市における外国人結核対策マニュアルを策定(小向、下内、岡田等)。アジア諸国との結核対策共同ガイドライン(中国、Heping博士等と)の作成が進展中。
- (2) 日本全国:2012年全国保健所528、結核病

院262、合計790施設に2009～2011年の調査票（外国人結核）。90%の回答。2121例（重複なし）を解析（岡田）。外国人結核は年々増加。20代48%。国籍は中国、フィリピン、韓国の順。学生22.4%と著増。多剤耐性結核は4.4%で日本人結核0.7%に比べ6.4倍と高頻度。〔さらに（2006年～2008年）外国人結核調査票と比較解析：前回の調査結果の対策を厚生行政に反映、改善された結果〕：日本語学校健診4.2%と増加改善。学生が多いという前回調査結果より、保健所が日本語学校健診を増やす対応（大阪市等）。通訳を増加（行政サービス15%）。帰国者の減少。治療中断・脱落者減少。（結核2012,2013, U W Conf 2012）

- (3) 東京病院（豊田恵美子・岡田）では外国人結核50例解析。有空洞40%。多剤耐性結核2%。
- (4) 神戸市の外国人結核（藤山理世・岡田）51名/年。20代39%。学生36%。日本語学校健診必要。
- (5) 中国からの日本移民にスーパー・スプレッダー(S・S)多剤耐性結核(MDR-TB)発見。
- (6) 外国人結核の多い中国・韓国・フィリピン・タイ・ベトナムの結核対策や治療システムの情報収集を中国 Heping、韓国Cho、タイSrisin、フィリピンDayrit、ベトナムThuong博士等と確立した結核ネットワークで蓄積。

・研究分担者（小林信之） 研究協力者 切替照雄

国際医療研究セの外国人結核、2007年以降の6年間を前後半に分けて検討。国籍別では中国が最多。韓国が減少しフィリピンが増加。脱落者は減少し治療成績は改善。外国人株でRFP耐性と多剤耐性率が高率。外国人結核91株および日本人結核菌167株の全ゲノムを次世代シーケンサーで決定した。外国人由来分離株は日本人株と異なり、菌株特異的一塩基多型の数も多く、外国人由来分離株が海外から持ち込まれたことが示唆。外国人結核患者由来結核菌株のRFLP解析から、86株のうち29%はクラスター（中国、韓国籍多）を、6%はクラスターを形成していた。東京都の外国人結核対策

マニュアルを作成（2013）。

・研究分担者（下内昭） 研究協力者 松本健二、小向潤、津田侑子 大阪市における外国出生結核患者の発生動向：2008～2012年に大阪市で新規登録された外国人（外国出生）結核患者を対象とした。外国人は、20代に限ると2008年13.6%から2012年29.3%へと年々増加していた。性別は、日本出生者で男性の割合が多いのとは対照的に外国人では女性が多く約半数を占めており、2012年15名（44.1%）であった。年齢の中央値は2012年27.5歳であり、ここ3年は大きな変化は見られなかった。出身国は、5年間の合計では中国・韓国・フィリピンの順に多かったが、特に近年韓国が減少し、中国の増加がみられた。また入国から5年未満で登録された者は約半数を占めていた。日本語学校生の割合は、2008年には12.1%であったが、2012年には23.5%を占めていた。これらの結果より外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。 大阪市の外国人結核対策マニュアル（2013）を作成。

・研究分担者（加藤誠也） IS6110遺伝子とVNTRのMST解析で、日本、韓国の結核菌は“祖先型”。中国は“蔓延型”で、韓国はRD181陽性、台湾は非北京型で日、中、韓、台の結核菌は各々区分可能な発見。全23箇所のSNPを検出するためのリアルタイムPCR系を確立した。今まで北京型結核菌は、modern型とancient型の2群にしか分けられなかったが、本SNPシステムで日本の株はmodern型が5グループ、ancient型は4グループに細かくグループ分けができた。

・研究分担者（永井英明） HIV合併結核症例の解析。2007～2011年の5年間で結核20,895例。HIV合併結核87例（0.42%）とほぼ一定。このうち多剤耐性結核3例。すべて男性、国籍は中国1例、日本2例で、CD4は100/μl以下と低値。肺結核2例、粟粒結核1例。HIV合併多剤耐性結核は治療に難渋。INHのみ耐性3例、SMのみ耐性3例。結核発病を契機にHIV陽性と判明した症例は61%。

・研究分担者（藤田明） HIV合併結核を調査。全国531保健所、248結核病院（国立病院機構を除く）

230 HIV診療拠点病院（国立病院機構を除く）を対象。2007～2011年菌陽性121例（二次調査）中、多剤耐性結核1例（0.8%）、INH耐性8.3%、RFP耐性が1.7%（外国人）。HIV抗体検査なしの結核医療機関6割。結核病棟がないHIV拠点病院で排菌陽性疑い患者に個室や専用室を利用。

・**研究分担者（服部俊夫）** 中国・黒竜江省の結核菌の解析では44例中42例（95%）は北京型であり、その中2例は新たな北京型を同定。さらに1,230株黒竜江省の結核菌の解析を行い、通常の抗結核剤に対する薬剤耐性株は58.4%でMDRは23.3%。さらにRv0679c点突然変異検出multiplex PCR法を開発し、非北京型と北京型を100%鑑別。（J. Clin. Mic. 2013） フィリピン・マニラのサンラザロ病院の抗酸菌染色陽性菌は100% MTB complex。Spoligotypingでマニラ型。（Clin. Dev. Imm. 2012）

・**研究分担者（櫻田紳策）** ベトナム・タイにおける再発結核患者では血清granulysin値低下を明らかにした（Micro.Imm.2011）。HIV感染は、ビタミンDのMφ活性化を阻害し易結核感染（タイ）。ハノイ市の潜在性結核感染者では健常者よりグラニューリシンの発現が低下。（Int. J. Med. 2013）

・**研究分担者（慶長直人）** ベトナム ホーチミン市で宿主側の要因を検討。薬剤代謝：多剤耐性結核は、INH代謝関連遺伝子NAT2は代謝遅延型遺伝子が少ない。免疫関連：血漿マンノース結合レクチン（MBL）濃度は多剤耐性結核患者でも遺伝子型により規定され、IFN- γ の血中濃度と正の相関。DUSP14イントロン1に局在するC/T SNP (rs712039)のCアレルはDUSP14の遺伝子高発現型として知られているが、そのCアレル数に依存して多剤耐性結核の血液細胞由来のTNF遺伝子発現量が低くなる傾向がみられた。しかし、Cアレル数はDUSP14遺伝子発現量自体とは有意な関連を示さなかった。さらにDUSP14遺伝子高発現型と推定されるH2ハプロタイプ数に依存して、全血中のIL12レセプター α 1 mRNAなどTh1系免疫関連遺伝子の発現量が低くなる傾向が認められた。免疫炎症制御に関連して注目されるDUSP14

の遺伝子多型が、トランスの作用を通じて結核免疫にも関連している可能性が示された。

・**研究分担者（野内英樹）** タイでのHIV合併結核493名中活動性結核は15.6%。初回MDR-TB 12.5%が、2回目22.5%と著増。これらの結核で北京型67%と高率（タイ平均21%）。複十字病院の結核1958名中外国人結核5.7%で、そのうち多剤耐性結核患者26%と高率。

・**研究分担者（青木孝弘）** 国際医療研究セのHIV合併結核患者129例。男性91%、24%は外国籍。12%抗結核剤耐性。多剤耐性2%。HIV合併結核患者のQFT-3G診断法は有用（特異度高い）：HIV149例中QFT-3G陽性7例（4.7%）。陽性全例結核。LTBI診断はQFT陽性。治療は全例INH。HIV感染者における結核症の早期診断を目指し、2種類のインターフェロン 遊離試験の有用性を検討した。結核症とMAC症の鑑別を目的として、キャピリアMAC抗体ELISAをHIV合併播種性MAC症の患者で施行したが、陽性率は4.3%と極めて低かった。HIV合併播種性MAC症の補助診断としては有用ではなかった。

・**研究分担者（竹田潔）** 結核菌の病原性因子ESAT-6がマクロファージ内で、貪食胞の機能に関わる分子LAMP-1と会合し、何らかの分子機構でLAMP-1を分解し、貪食胞の成熟をブロックしていることが示唆された。自然免疫応答に関わるAbsent in Melanoma 2 (AIM2)の遺伝子欠損マウスは、結核菌に対する感受性が高くなった。その分子機構として、AIM2は、細胞質内に逃れた病原性結核菌のDNA認識し、インフラマゾームの活性化、そしてIL-1 β 、IL-18の分泌を誘導することにより、結核菌感染防御を担っていることが明らかになった。

また、ヒアルロン酸合成酵素HAS1の欠損マウスが、結核菌感染に対する感受性が高いことが明らかになった。

・**研究分担者（鈴木克洋）** 多剤耐性結核迅速発見法（rpo B変異）を用い、迅速入院法及び病院内で多剤耐性結核が感染しない体制構築（鈴木、露口、岡田）。この方法を6施設に普及。（結核2012）

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1 . Okada M., Y. Kita, T. Nakajima, S. Hashimoto, H. Nakatani, S. Nishimatsu, Y. Nishida, N. Kanamaru, Y. Kaneda, Y. Takamori, D. McMurray, E V.Tan, M L. Cang, P. Saunderson, and E.C.Dela Cruz.: The study of novel DNA vaccines against tuberculosis: Induction of pathogen-specific CTL in the mouse and monkey models of tuberculosis. *Human Vaccines and Immunotherapeutics* . 9(3):515-525, 2013.
- 2 . Kita, Y., S. Hashimoto, T. Nakajima, H. Nakatani, S. Nishimatsu, Y. Nishida, N. Kanamaru, Y. Kaneda, Y. Takamori, D. McMurray, E V.Tan, M L. Cang, P. Saunderson, E.C.Dela Cruz, and M. Okada .: Novel therapeutic vaccines [(HSP65+IL-12)DNA-, granulysin- and Ksp37-vaccine] against tuberculosis and synergistic effects in the combination with chemotherapy. *Human Vaccines and Immunotherapeutics* . 9(3):526-533, 2013.
- 3 . Pitabut N, Sakurada S, Tanaka T, Ridruechai C, Tamura J, Aoki T, Kantipong P, Piyawarawong S, Kobayashi N, Dhepakson P, Yanai H, Yamada N, Oka S, Okada M, Khusmith S, Keicho N. : Potential function of granulysin, other related effector molecules and lymphocyte subsets in patients with TB and HIV/TB coinfection. , *International Journal of Medical Sciences*. 10(8):1003-1014. 2013.
- 4 . Siddiqi UR, Punpunich W, Chuchottaworn C, Jindaku S, Ashino Y, Saitoh H, Okada M, Chotpittayasunondh T, Hattori T.: Elevated anti-tubercular glycolipid antibody titers in healthy adults as well as in pulmonary TB patients in Thailand. *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*. 2012;16(4):532-538
- 5 . Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Kaneda Y, Saunderson P, Tan E.V., N.McMurray D.: A Novel Therapeutic and Prophylactic Vaccine against Tuberculosis Using the Cynomolgus Monkey Model and Mouse Model. *Procedia in Vaccinology*. 2012
- 6 . Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Nishimatsu S, Sekine Y, Inoue Y, McMurray DN , Sakatani M.: Novel prophylactic vaccine using a prime-boost method and hemagglutinating virus of Japan-envelope against tuberculosis. *Clin Dev Immunol*. 2011:ID549281
- 7 . Okada M, Kita Y, Kanamaru N, Hashimoto S, Uchiyama Y, Mihara M, Inoue Y, Ohsugi Y, Kishimoto T, Sakatani M.: Anti-IL-6 receptor antibody causes less promotion of tuberculosis infection than anti-TNF- α antibody in mice. *Clin Dev Immunol*. 2011:ID404929.
- 8 . Pitabut N, Mahasirimongkol S, Yanai H, Ridruechai C, Sakurada S, Dhepakson P, Kantipong P, Piyaworawong S, Moolphate S, Hansudewechakul C, Yamada N, Keicho N, Okada M, Khusmith S.: Decreased plasma granulysin and increased interferon-gamma concentrations in patients with newly diagnosed and relapsed tuberculosis. *Microbiol Immunol*. 55(8):565-573, 2011.
- 9 . Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Nishimatsu S, Sekine Y, Inoue Y, Matsumoto M, McMurray DN, E.C.Dela Cruz, E.V. Tan, R.M.Abalos, J.A.Burgos, Saunderson P, Sakatani M: Novel therapeutic vaccine : Granulysin and new DNA vaccine against Tuberculosis. *Human Vaccines*. 7: 60-67, 2011
- 10 . Kita Y, Okada M, Nakajima T, Kanamaru N, Hashimoto S, Nagasawa T, Kaneda Y, Yoshida S, Nishida Y, Nakatani H, Takao K, Kishigami C, Nishimatsu S, Sekine Y,

Takamori Y, McMurray DN, E.C.Dela Cruz, Tan EV, R.M.Abalos, J.A.Burgos, Saunderson P, Sakatani M.: Development of therapeutic and prophylactic vaccine against tuberculosis using monkey and granulysin transgenic mice models. Human Vaccines. 7: 108-114, 2011

11. 岡田全司、喜多洋子、橋元里実、西田泰子、仲谷均、西松志保、木岡由美子: 予防接種 Q&A (B) BCG100. (結核予防ワクチン; DNA ワクチン) 結核予防ワクチン (DNA ワクチン) の開発状況とその応用の可能性について教えてください。予防接種 Q&A 改訂 3 版 小児内科. 2013;45 (増刊号):281-283
12. 岡田全司、喜多洋子、橋元里実、西松志保、仲谷均、木岡由美子、西田泰子: 結核の免疫反応「免疫学的機序からみた呼吸器疾患」日本胸部臨床. 2013;72(12):1336-1345
13. 喜多洋子、岡田全司: ヒト結核感染に最も近いカニクイザルを用いた新規結核予防ワクチン開発及び臨床応用に向けて「結核 古くて新しい感染症」最新医学. 2013; 68(11):2479-2487
14. 橋元里実、西松志保、岡田全司: 多剤耐性結核治療ワクチンと T 細胞免疫「結核 古くて新しい感染症」最新医学. 2013;68(11):2488-2495
15. 岡田全司: はじめに (序論) 「結核—古くて新しい感染症—」最新医学. 2013;68(11):2437-2438.
16. 岡田全司、小林信之、小出幸雄: 座談会: 結核の現状・問題点と最新の知見 「結核—古くて新しい感染症—」最新医学. 2013;68(11): 2439-2450.
17. 吉田志緒美、露口一成、岡田全司、鈴木克洋、林清二、富田元久、斎藤肇: Mycobacterium abscessus とその近縁菌 Mycobacterium massiliense および Mycobacterium bolletti との鑑別 結核.86(5):557-558 (2011.05)
18. 岡田全司: 新たな結核ワクチン. 感染・炎症・免疫. 41:46-51, 2011

2. 学会発表

1. 岡田全司、喜多洋子、橋元里実、林清二、鈴木克洋、露口一成、小林信之、切替照雄、豊田恵

美子、藤田明、下内昭、加藤誠也、小向潤、松本健二: 海外から輸入される多剤耐性結核の調査(本邦における外国人結核に対する調査研究). 結核. 88(2):251. 2013.

2. 岡田全司、喜多洋子、橋元里実、林清二、西松志保、小林信之、切替照雄、豊田恵美子、藤田明、下内昭、加藤誠也、小向潤、松本健二: 海外から輸入される多剤耐性結核の調査(本邦における外国人結核に対する調査研究). 日本呼吸器学会誌. 2:91. 2013.
3. 木岡由美子、喜多洋子、橋元里実、仲谷均、西松志保、西田泰子、林清二、鈴木克洋、露口一成、岡田全司、小林信之、切替照夫、豊田恵美子、藤田明、下内昭、加藤誠也、小向潤、松本健二: 海外から輸入される多剤耐性結核の調査(2012)(本邦における外国人結核に対する調査研究). 第 111 回結核病学会・第 81 回呼吸器学会近畿地方会
4. Kanamaru, N., Y. Kita, N. Kobayashi, T. Kirikae, T. Hattori, A. Shimouchi, S. Kato, K. Tsuyuguchi, and M. Okada. : Study of very infectious (super-spreader) multi-drug resistant tuberculosis in Japan and Asia. The 43rd Union World Conference on Lung Health (International Union Against Tuberculosis and Lung Disease), 13-17 November, 2012, Kuala Lumpur, Malaysia.
5. 岡田全司、喜多洋子、金丸典子、林清二、鈴木克洋、露口一成、小林信之、切替照雄: 海外から輸入される多剤耐性結核の調査・対策(治療・迅速診断). 第 87 回日本結核病学会総会 2012 年 5 月 10 日 広島
6. 岡田全司、喜多洋子、橋元里実、林清二、鈴木克洋、露口一成、小林信之、切替照夫、豊田恵美子、藤田明、下内昭、加藤誠也、小向潤、松本健二: 海外から輸入される多剤耐性結核の調査(本邦における外国人結核に対する調査研究). 第 88 回日本結核病学会総会 2013 年 3 月 28 日 千葉
7. 岡田全司、喜多洋子、橋元里実、林清二、西松志保、小林信之、切替照夫、豊田恵美子、藤田明、下内昭、加藤誠也、小向潤、松本健二: 海外から輸入される多剤耐性結核の調査(本邦における外国人結核に対する調査研究) 第 53 回

日本呼吸器学会学術講演会プログラム P.208

8. 金丸典子, 喜多洋子, 林清二, 岡田全司, 豊田恵美子 : 本邦における多剤耐性結核の調査 (2010年) 研究. 第87回日本結核病学会総会 2012年5月10日 広島
9. 金丸典子, 喜多洋子, 林清二, 豊田恵美子, 加藤誠也, 岡田全司 : 新結核化学療法剤を含めた治療方式の開発・評価 調査票(新しい結核治療剤使用)の解析について. 結核(0022-9776)86巻3号 Page387(2011.03)
10. 吉田志緒美, 露口一成, 鈴木克洋, 岡田全司, 和田崇之, 岩本朋忠 : 遺伝的背景の異なる結核菌北京型株の薬剤耐性獲得能力の差異に関する検討. 感染症学雑誌(0387-5911)85巻5号 Page549 (2011.09)
11. 吉田志緒美, 露口一成, 岡田全司, 鈴木克洋, 林清二, 富田元久, 岩本朋忠 : リファンピシン単独耐性結核菌の分子疫学的解析. 結核 (0022-9776)86巻10号 Page845(2011.10)
12. 吉田志緒美, 露口一成, 鈴木克洋, 富田元久, 岡田全司, 林清二, 岩本朋忠 : 遺伝子型別解析から推定されたリファンピシン単独耐性結核菌の地域拡散. 国立病院総合医学会講演抄録集65回 Page333(2011.10)
13. 喜多洋子, 金丸典子, 岸上知恵, 橋元里実, 高見泰子, 仲谷均, 西松志保, 名倉香織, 林清二, 小林信之, 豊田恵美子, 下内昭, 加藤誠也, 星野齊之, 岡田全司 : 本邦における外国人結核に対する調査研究. 国立病院総合医学会講演抄録集65回 Page407(2011.10)
14. 藤山理世, 樋口純子, 白井千香, 河上靖登, 岩本朋忠, 鈴木克洋, 岡田全司, 坂谷光則, 森亨, 若林一郎 : 新しい結核感染診断法QFT-2Gの有用性 接触者健診における「接触度」を用いたツベルクリン反応検査との比較検討. 結核 (0022-9776)86巻11号 Page869-877(2011.11)
15. 櫻田紳策, 田中崇裕, PitabutNada, KhusmithSrisin, 赤川清子, 岡田全司, 慶長直人 : タイ人HIV結核合併患者におけるgranulysinに関する検討. 日本エイズ学会誌(1344-9478)13巻4号 Page347(2011.11)
16. 松本智成, 阿野裕美, 岡田全司, 鈴木克洋, 露口一成, 喜多洋子, 金丸典子, 安部聖裕, 西村一孝, 田尾義昭, 村上一生, 豊田恵美子, 中島由槻, 四

元秀毅, 坂谷光則 : 国立病院機構呼吸器ネットワークを利用し入手した薬剤耐性結核菌のVNTR解析. 結核 86巻3号 Page319(2011.03)

17. 吉田志緒美, 露口一成, 鈴木克洋, 岡田全司, 林清二, 和田崇之, 岩本朋忠, 田丸亜貴 : VNTR解析活用における課題について. 結核 86巻3号, Page319(2011.03)
18. 岡田全司, 金丸典子, 喜多洋子, 林清二, 小林信之, 切替照雄, 豊田恵美子, 下内昭, 加藤誠也, 星野齊之, 小向潤 : 本邦における外国人結核に対する調査研究. 結核86巻3号 Page331(2011.03)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

岡田全司, 高森靖, 小川一行, 永田欽也
「感染症治療剤 15K granulysin」WO
03/070268 A1

2002年

岡田全司, 吉田栄人, 中島俊洋, 松本真
「結核ワクチン HVJ-liposome/Hsp65
DNA+IL-12 DNA」

整理番号 : MED-A0504

受付番号 : 50501768464

特許番号 : 特願2005-280379

提出日 : 2005年9月27日

発明の名称 : DNAワクチン組成物
2005年

岡田全司, 高森靖, 安井正文

「感染症治療剤15K granulysin」

特許取得2008年7月4日

特許4149713号

2008年

岡田全司, 高森靖, 安井正文

「感染症治療剤」

特許取得登録日 : 2012年10月31日

登録番号 : (欧州特許2243489号)

2012年

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

外国人結核対策マニュアルの作成

外国人結核対策マニュアル(保健所向け)

- 定期健診の徹底
 - 外国人では入国後早期健診重要。外国人雇用企業、学校(大学、日本語学校など)に対し定期健診の徹底勧奨。
- 患者面接時の注意点
 - 日本語によるコミュニケーションが困難な場合、家族・友人の同席やボランティア通訳を依頼。
- 国内での治療・接触者健診の完了を目指して

外国人結核対策 マニュアル(保健所向け)

大阪市西成区保健所
下内昭
2013年

厚生労働科研
“海外から輸入される
多剤耐性結核に関する
研究”(岡田班)

外国人結核診療マニュアル(医療者向け) (全国、東京)

- 外国人結核の最近の傾向
 - 増加傾向(全体の4%が外国人)。
- 外国人結核の診療上の問題点
 - 高い薬剤耐性率(多剤耐性結核の輸入)。
- 結核高蔓延国からの移住者に対する感染者と発病者の早期発見
 - 入国時の健診(胸部レントゲン)の励行。入職時及び、接触者健診時におけるクオンティフェロン(QFT)検査の実施。
- 外国人結核に対する適切な治療体制の確立
 - 母国語で書かれた結核診療ハンドブック、在日外国人結核相談室。

外国人結核診療 マニュアル(医療者向け)

小林信之、岡田全司等
2013年

厚生労働科研
“海外から輸入される
多剤耐性結核に関する
研究”(岡田班)

外国人結核対策マニュアル (保健所向け)

はじめに

本邦で登録される外国国籍結核患者の割合は、3.3%（2007年）から4.1%（2011年）と微増であったが、20代に限ると20.3%（2007年）から29.6%（2011年）と増加していた（図1）。そのため保健所の外国人結核対策に資することを目的に外国人結核に関するマニュアルを作成した。

1. 定期健診

外国人が入国後早期に健診を受ける機会を充実させる必要がある。外国人が多く在籍する日本語学校や、外国人を雇用する企業などに対して、定期健診を来日後、できるだけ早い時期に実施し、徹底することを伝える。

（参考）

2012年の大阪市の日本語学校健診における患者発見率は0.5%（10名）と高率であった。活動性結核と診断された10名の年齢中央値は23.5歳（18～29歳）、入国から診断まで中央値152日（55～401日）と入国後早期に診断されていた。このことから、結核高蔓延国（表1）出身の外国人に対し入国後早期に健診を行うことが重要であるといえる。

2. 患者支援

(1) 患者面接

患者面接は、治療中断・脱落を防ぐために、患者との人間関係づくりと結核について正しく理解してもらうことに重点をおく。面接は以下のような点に留意し実施する。

これまでの生活状況（出身国、入国年月日、職歴等）
日本語の理解力、通訳の有無（(5)のコミュニケーションの問題を参照）
経済的側面（健康保険加入の有無、収入、職業、常勤か臨時雇用か等）
同居者の有無
国内での治療希望の有無

(2) 結核に関する基本的な健康教育

外国人の場合、話ことばは理解できても、結核に関する医学的知識や医療費の支払い方法など事務的な面では、文字によって正確に理解することが必須である。そのためには、財団法人結核予防会が各国語の小冊子を作成しているので、それを使用する。（大阪市保健所でも増刷しており、在庫がある。）

(3) 接触者健診

接触者健診は、感染者の発見と治療による発病防止のために必要である。初発患者居住地保健所の調査結果や、関係機関からの情報をもとに疫学調査を実施し健診を進めていくことを説明する。本人から情報を得られない場合は、家族・友人等からも情報収集を行う。居住形態（外国人同士の寮への入居等）を詳細に確認する。

家事従事者など無職の者は健診を受ける機会に恵まれず、医療機関への受診が困難なことが多いので、同居の者に該当する者がいる場合には特に健診を受けるよう勧め、呼吸器症状が出現した場合に医療機関に受診しやすくする体制を整える。

また、外国人の場合接触者健診の対象となっても途中で脱落・中断が多い。最後まで受診することが重要であることを本人へしっかりと指導する。就労している者や在学中の患者については雇用先の企業や学校と連携し、希望者には可能な限り国内にて健診を完了できるよう配慮する。

(4) 治療支援

外国人結核患者の治療を支援する場合、治療の脱落中断を防ぐこと、国外転出への適切な対応が必要である。

大阪市における外国人結核患者では、多剤耐性結核（MDR）、脱落中断、転出が多いため、最後まで治療を完了できるよう支援することが重要である（表2）。また、塗抹陰性、来日から診断までの期間が5年未満、日本語が日常会話レベル以下の者で脱落中断割合が高かった（表3）。喀痰塗抹陰性例では陽性例に比べて脱落中断しやすく、来日間もない患者や日本語コミュニケーションが困難な者では、特に外来治療の際に説明をより丁寧に行う必要性がある。

また治療中の帰国は治療方針の違いなどのため患者管理を困難にすることが多い。就労している者や在学中の患者については、日本国内での治療完了を希望すれば雇用先の企業や学校と連携し可能な限り国内にて治療を完了できるよう配慮する。なお、国内の他の地域に転出になった場合には、患者の情報を本人の了承のもとに転出先の保健所に伝えて、治療支援に資するとともに、治療結果を確認できたときには、「転出」ではなく、実際の治療結果とする。

また、母国に帰るなど、日本以外の国で治療を継続する場合には、公益財団法人結核予防会などに連絡して、患者が結核治療を受ける地域の施設の紹介を受け、日本における治療状況を説明し、治療が継続できるようにする。また、国内と同様に治療結果が判明した場合には、参考に治療結果を記録する。

(5) コミュニケーションの問題

日本語によるコミュニケーションが困難な場合は、面談時に家族・友人など日本語による会話が可能な通訳者の同席を依頼する。医学用語や公費負担制度等、説明が困難な場合にはボランティアの通訳*や、結核予防会の電話相談**なども必要に応じ活用する。

結核についての説明の際には、指導用パンフレット「結核?!でも心配しないで（英語・中国語・タガログ語・韓国語・ポルトガル語）」や「外国人結核患者用パンフレット集（結核予防会）」などを活用して指導する。

* CHARM

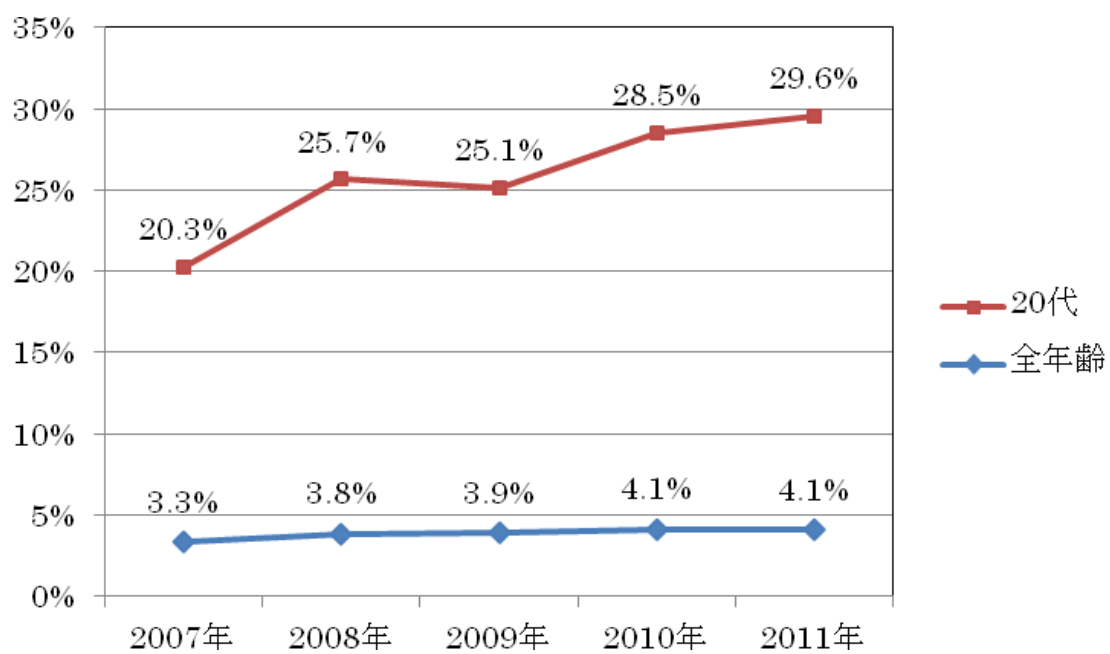
（URL: <http://www.charmjapan.com/index.html>、2013年11月5日アクセス）参照

**結核予防会の結核電話相談（英語、韓国語、中国語）

（URL: <http://www.jatahq.org/headquarters/index9.html>、2013年11月5日アクセス）参照

おわりに

外国人は言語の問題や保険など、生活基盤の脆弱性を抱えていると考えられ、治療の脱落中断、国外転出の割合の高い背景を考慮した患者支援が必要である。



(図 1) 外国人結核患者割合の推移 (全国)

(表1) WHO指定の「22の結核高負担国」および韓国・日本の患者数(2007年)

	推定結核患者数(千人)	推定罹患率
インド	1962	168
中国	1306	98
インドネシア	528	228
南アフリカ	461	948
ナイジェリア	460	311
バングラデシュ	353	223
エチオピア	314	378
パキスタン	297	181
フィリピン	255	290
コンゴ	245	392
ロシア	157	110
ベトナム	150	171
ケニア	132	353
タンザニア	120	297
ジンバブエ	104	782
ウガンダ	102	330
ブラジル	92	48
モザンビーク	92	431
タイ	91	142
ミャンマー	83	171
カンボジア	72	495
アフガニスタン	46	168
韓国*	43	90
日本*	25	20

(WHO Reprot 2009より改変し引用)

* 結核高負担国以外の国・地域

(表2) 大阪市における外国人結核の背景

項目	外国人 (n=81)		日本出生 (n=1231)		P value	
年齢	平均±標準偏差	26.0±7.0	62.8±17.9		<0.001	
	中央値(範囲)	24 (16-58)	66(6-99)			
性別	男	47 58%	906 74%		0.002	
	女	34 42%	325 26%			
職業	学生	40 50%	27 2%		<0.001	
	その他	40 50%	1165 98%			
治療歴	なし	71 88%	1091 90%		0.495	
	あり	10 12%	121 10%			
発見方法	健診	30 37%	195 16%		<0.001	
	その他	51 63%	1034 84%			
胸部X線	空洞なし	69 85%	966 80%		0.222	
	空洞あり	12 15%	248 20%			
塗抹検査	陰性	47 65%	518 48%		0.004	
	陽性	25 35%	562 52%			
薬剤感受性	MDR	5 10%	11 1%		<0.001	
	非MDR	44 90%	794 99%			
治療成績 (肺結核のみ)	治療成功	45 66%	393 69%		<0.001	
	死亡	0 0%	127 22%			
	治療失敗	0 0%	7 1%			
	脱落	9 13%	25 4%			0.002
	転出	14 21%	20 3%			<0.001

(表3) 大阪市における外国人結核の治療脱落・中断者の背景

項目	治療成功 (n=108)	脱落・中断 (n=14)	P value
性別			
男性	54 (88.5)	7 (11.5)	0.611
女性	54 (88.5)	7 (11.5)	
年齢			
30歳未満	64 (90.1)	7 (9.9)	0.351
30歳以上	44 (86.3)	7 (13.7)	
職業			
有職	34 (85.0)	6 (15.0)	0.285
無職	74 (90.2)	8 (9.8)	
来日から診断まで			
5年未満	66 (84.6)	12 (15.4)	0.137
5年以上	32 (94.1)	2 (5.9)	
保険区分			
有保険	94 (87.9)	13 (12.1)	0.496
無保険	13 (92.9)	1 (7.1)	
健診の有無			
あり	59 (89.4)	7 (10.6)	0.569
なし	46 (90.2)	5 (9.8)	
発見方法			
健診発見	50 (90.9)	5 (9.1)	0.324
医療機関受診・他疾患通院中	58 (86.6)	9 (13.4)	
日本語レベル			
可能	72 (91.1)	7 (8.9)	0.223
日常会話レベル以下/不可能	33 (84.6)	6 (15.4)	
喀痰塗抹			
陽性	47 (97.9)	1 (2.1)	< 0.05
陰性	59 (85.5)	10 (14.5)	

人数 (%) Fisherの直接法で検定

**外国人結核診療マニュアル（医療者向け）
（全国、東京）**

小林信之、岡田全司等

2013年

厚生労働科研

“ 海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究 ”

（岡田班）

外国人結核診療マニュアル（医療者向け）

はじめに

米国や西欧の先進諸国では結核蔓延国からの人口移動に伴い、結核患者の半数以上を外国出生または外国国籍の外国人が占めるようになってきた。そして、外国人結核では罹患率が高い、治療成功率が低い、薬剤耐性率が高いなどの問題を抱えている。わが国においても同様の傾向がみられ、近い将来、先進諸国と同様の課題に対面する可能性もあろう。外国人結核は高い感染率、受診の遅れ、治療完遂率の低下、その結果としての薬剤耐性菌の出現、さらに、外国からのわが国への耐性結核菌、とくに多剤耐性菌の持ち込みは新たな脅威として認識されている。このような外国人結核の諸問題に対し、わが国では様々な取り組みがなされてきたが、その現状はいかなるものであろうか？厚生労働科学研究事業「輸入感染症としての多剤耐性結核の対策・制御に関する研究」（平成20～22年度）、および、同「海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究」（平成23～25年度）（研究代表者：岡田全司）では、最近の外国人結核の実態を把握し、適切な対応策を提示するための研究を行ってきた。本マニュアルは、その研究成果をもとに、外国人結核患者に対する適切な取り組み方をまとめたものである。この冊子が、結核医療に携わっている医療機関の皆さまにとって、少しでも参考になれば幸いである。

1. わが国における外国人結核の最近の動向

わが国における結核罹患率は低下してきているが、その中の外国人結核の比率は増加傾向にあり、とくに、20歳代の結核患者では約30%が外国人となっている。（図1）。しかし、外国人結核の割合は先進諸国に比べると低く、増加しているといっても全結核の4%程度にすぎない。図2は日本全国の集計「結核の統計2012」に基づいて年齢分布を作成したものであるが、外国人結核は若年に多く、日本人結核との差は歴然としている。本研究班では、外国人結核の診療に関する実態把握を目的として、外国国籍の結核患者を対象とした調査票を作成し、全国の保健所および結核病棟を有する病院に送付した。外国人結核の実態調査は、2006年から2008年までの3年間、および2009年から2011年までの3年間に、計2回行われた。第1回調査（2006-2008年）では、解析した外国人結核2136名の性別については男性が45%、女性が55%であり、日本人結核患者とは逆に女性の割合が高くなっていった。年齢別にみると男女とも20歳代にピークがあり全体の49%を占め、10代から30代までを加えると全体の79%になり、若年の患者が多数を占めていた。第2回調査（2009-2011年）でも同様の傾向がみられ、性別では女性が55%であり、年齢では20歳代が48%と最も多く、次いで30歳代の順であった（図3）。国籍については第1回調査では中国、フィリピンが多く、この2か国で50%を占めており、次いで韓国・北朝鮮、ブラジル、インドネシア、ベトナム、タイ、ペルー、ネパール、インドの順となっていた。第2回調査では上位3国は同じであるが、インドネシアが4位、ネパールが5位と増加し、逆にブラジル、ペルーが減少していた（図4）。都道府県別にみると、第1回調査では東京が最も多く、以下、神奈川、愛知、大

阪、埼玉の順であったが、第2回調査では東京、愛知、神奈川、大阪、千葉の順となっていた(図5)。国籍については、東京では中国、韓国・北朝鮮、ネパール、ミャンマーが多く、大阪では中国、韓国・北朝鮮、愛知ではフィリピン、ブラジル、インドネシア、神奈川ではフィリピン、インドネシアが多い等、都道府県によって出身国に偏りのあることが明らかとなった。職業別では、常勤者、臨時雇・日雇、学生の割合が高く、とくに第2回調査では学生は14.5%から22.4%に増加していた(表1)。これは日本語学校健診の増加等に起因すると考えられる。第2回調査では、結核診断時の来日年数は3年未満が多く(表2)、保険については無保険が12%から5.9%に減少した。結核の罹患臓器では肺結核が77.7%であり、肺外結核としては胸膜炎、リンパ節結核が多く、第1回調査と著変はみられなかった。HIVの合併率は1.4%であった。結核菌の薬剤感受性については、第1回調査でイソニアジド(INH)耐性は10.0%、リファンピシン(RFP)耐性は3.7%、多剤耐性結核(INHとRFPに耐性)は3.8%にみられ、日本人結核のデータより明らかに頻度は高かった(表3)。第2回調査ではINH耐性12.0%、RFP耐性4.4%、多剤耐性結核4.4%であり、耐性率は第1回調査よりいずれも上昇がみられた(表3)。多剤耐性結核50名の出身国は中国が17名で最も多く、フィリピンが8名、韓国・北朝鮮、ペルーが3名、タイ、モンゴルが2名、その他15名であった。入国6ヵ月以内の外国人排菌患者では7.4%が多剤耐性結核であり、この数値は異常に高い。治療成績については、治療完了が73.8%であるが、治療途中の帰国が12.3%にみられた(図6)。

2. 東京都および新宿区における外国人結核

東京都における結核罹患率は人口10万対22.9(平成23年)であり、全国平均17.7と比べて5人ほど高く、この差については10年ほど大きな変化はない。結核患者の年齢別分布をみると、3つのピーク(25-29歳、60-64歳、80-84歳)がみられ、若年のピークには外国人が多く含まれている。2010年において、全国の結核患者のなかで外国人の占める比率は4.1%であるが、東京都では6.9%(211名)と過去5年間で最大であり(図7)、都道府県別では最多であった。このうち塗抹陽性肺結核患者は56名(26.5%)である。東京都の外国人結核患者を保健所別にみると新宿区、豊島区、荒川区、江戸川区に多く、国籍や職業については東京都内の地域により差がみられることが推測されるが、詳細には検討されていない。新宿区は東京都のなかで多くの外国人結核患者を診療しているが(図8)、在留外国人の絶対数が多いためと考えられる。また、国籍別では韓国人のコミュニティが存在するため、韓国人の結核患者の比率が大きいのが特徴といえる。2011年の新宿区における外国人結核は20名で、最近3年間ではほぼ一定しており、年齢別では15-19歳が2名、20-29歳が10名、30-39歳が5名、40-49歳が2名、70-79歳が1名であった(図9)。国籍別では中国8名、韓国7名、フィリピン2名、ネパール1名、その他2名で、入国から発病までの期間が1年未満のものは4名であった。結核菌の薬剤耐性に関しては、排菌患者8名中に多剤耐性結核が3名(中国2名、韓国1名)みられた(表4)。いずれも20歳代前半の学生であり、初回治療1名、再治療2名であり、外来での治療経過中に発見された。うち1名は培養陰性結核として治療終

了後に、多剤耐性結核として再発した症例である。いずれも母国から日本への持ち込みと考えられ、多剤耐性結核の流入に関しては、さらなる対策が必要と思われる。

国立国際医療研究センターでは蔓延国由来の結核菌が日本の中に入り込んでいるかどうか、その実態について明らかにすることを目的に、東京在住の外国人結核患者由来87株についてRFLP解析を行ったところ、そのうち30%の株は相同性70%以上の「グループ」を、6%は「グループ」を形成していた。「グループ」ではそれ以外の株と比べて、中国、韓国など東アジア出身者が多く、薬剤耐性率やHIV合併率が高い傾向であった。さらに新宿区保健所および結核研究所との共同研究によりスポリゴタイピングおよび疫学調査を行ったところ、「グループ」では新興型の北京型株が多く、日本人とのクラスター形成率の高い傾向がみられた。以上のことから、中国、韓国など東アジアから新興型の北京型株が日本国内に入りこみ、日本人との間にクラスターを形成している可能性が示唆された。とくにグループでは薬剤耐性率やHIV陽性率が高い傾向にあり、その日本国内での拡がりは公衆衛生の上で脅威となりうると思われる。

3. 外国人結核の診療上の問題点

平成24年末における在留外国人数は約204万人であり、わが国総人口の約1.6%を占めている。そのうち、中長期在留者は166万人ほどであり、内訳は日本人の配偶者等、定住者、留学、家族滞在、人文知識・国際業務、研修、技術、就学、技能、転勤などとなっている。さらに、外国人としては短期滞在者のほか、不法残留者が6万人程度存在する。不法残留者は韓国、中国、フィリピン、台湾、タイの順に多い。一般に外国人はどこの国であっても文化や言語の異なる社会の中で生活するため、医療を含む公的サービスを受けるのが難しい場合が多く、新しい社会に適応する過程において、困難な社会条件のなかで生活していることが多い。日本国内に居住している外国人は、日本より結核罹患率の高い国で出生したものが多く、入国時にすでに母国で感染している人も多いと考えられる。

外国人結核の診療についてはこれまで様々な問題点が指摘されている。まず、受診の遅れとそれに伴う重症化である。言語の障害や文化・習慣の違い、医療情報の不足が指摘されているが、不法残留者では経済的な問題や法的な問題への不安などが強く影響していると思われる。第1回調査では無保険者は12%であったが、第2回調査では半減していた。また、健診の機会に恵まれない企業が多いこと、雇用者側に結核に対する十分な知識がないことも指摘されている。診断のための検査に費用がかかるため、再診しなくなってしまう患者がいるのも問題である。

一般に途上国では経済的・社会的理由や医薬品の供給の不安定さなどから治療中断が多く、耐性菌の出現しやすい環境にある。とくに多剤耐性結核菌の検出率は、在留外国人の多い国では日本より高くなっており（図10、WHO：Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance 2002-2007）、多剤耐性菌の日本への持ち込みは脅威として認識されている。本研究班による第1回調査結果でも、INH耐性が10.0%、RFP耐性が3.7%にみられ、いずれも日本人結核の耐性頻度（INH3.8%、RFP1.2%）よりも高く、多剤耐性結核の率（3.8%）

は日本人結核（0.7%）より明らかに高い。さらに、第2回調査では、それぞれの比率はさらに高くなり、多剤耐性率は4.4%に増加していた。とくに入国6ヵ月未満の患者では多剤耐性率が7.4%と極めて高率となっており、これらの多剤耐性菌は母国からの日本への持ち込みと考えられる。

治療の中断も大きな問題である。DOTSの導入により治療完遂率は改善しているものの、不法残留者を中心に治療脱落者は少なくない。その理由は、言語バリアーによるコミュニケーションの欠如、治療開始による自覚症状の消失や副作用のための治療中断・脱落、入院から外来治療に変わる際の医療費の増額による脱落などが多く、また、転居や帰国により治療が中断されることが多い。とくに、中途帰国については、母国での結核診療体制が不十分であることが多く、母国の医療機関への引き継ぎができるかどうか、帰国後の治療が完遂されているかどうか、という点が明らかでない。

治療における患者本人の社会的・経済的な問題もある。結核治療は長期に及ぶため、患者の生活背景・生活習慣を踏まえた対応が必要である。保険に加入していない患者では感染症法による補助があるものの、就労ができないことによる経済的な負担・損失は大きい。

4. 外国人結核対策

定期健診

結核患者の早期発見のために最も重要な対策事業は定期健診である。外国人結核は、入国時にすでに感染していることが多いと推定されるため、入国時あるいは入国後早期に健診を行うことが重要である。とくに結核高蔓延国出身の外国人に対しては入国時の結核健診は必須である。そして、外国人を雇用する企業、外国人を受け入れる大学、専門学校、日本語学校では入職時、入学時に必ず胸部レントゲンによる結核検診を行うようにする。しかし、入国後半年以内に発見される結核は全体の15%程度に過ぎず、1度の健診だけでは不十分である。入国1年後3年以内、あるいは5年以内に発病するケースも多いため、毎年健診を実施することが推奨される。東京都では日本語学校就学生健診のほか、外国人結核健診、保険未加入者の外国人結核健診を実施して結核患者の早期発見に努めている。

潜在性結核感染者の発見と治療

接触者健診は、発病者の発見、潜在性感染者の発見と治療による発病防止、および感染源と感染経路の追及の上で必要である。外国人はとくに自国のコミュニティーを作っていることが多く、徹底した接触者健診を実施することが重要である。潜在性感染の有無はクオンティフェロン（QFT）検査により診断が可能となったため、QFTを利用して感染者を発見し、その治療を進めることが推奨される。さらに、新たに発売された結核感染の診断検査法であるTスポットは、QFTよりも診断感度が高く有用性が期待されているが、両者をまとめてインターフェロン 遊離試験（IGRA）と言われる。IGRAは接触者健診だけでなく、結核高蔓延国からの入国者に対しては入国時や入職、入学時に行ったほうがよいのではないと思われるが、この管理方法に関しては今後の検討課題であろう。

患者支援

外国人結核患者の中には日本語によるコミュニケーションが困難な患者も少なくない。医療機関を受診する場合、あるいは保健所で面談をする場合は、家族・友人・後見人・ボランティアなど日本語による会話が可能な通訳の同席を依頼する。結核についての説明の際には、母国語で書かれた指導用のパンフレット「結核?!でも心配しないで(英語・中国語・タガログ語・韓国語・ポルトガル語・インドネシア語・モンゴル語)」や「外国人向け結核パンフレット(結核予防会)」などを活用して指導する。結核予防会では電話相談(英語、中国語、韓国語など)にも応じている。東京都では外国人結核患者治療・服薬支援員制度が実施されており、患者と同一国籍など、言語や文化が同じ治療・服薬支援員が登録されている。支援員は保健師が行う療養支援に同行し、言語の壁や心理的不安を軽減することにより、治療の促進と服薬の中断を防ぐことを目的とし、実績をあげている。今回の全国調査では、何らかの形で通訳を利用していた例は41.6%となっており、通訳の重要性が示された(表4)。また、翻訳パンフレットは41.1%で利用されていたが、患者数の多いタガログ語、インドネシア語、ポルトガル語の利用が少なく問題と思われた(表5)。また、治療途中の帰国者が12%ほど存在したことは大きな問題ではないかと思われる。帰国の理由としては、コミュニケーションがうまくできないため病気や治療について理解できないことや、医療費などの経済的な問題や不法滞在などの法的な問題もある。長期治療で就労が切れると帰国せざるを得ないという状況があり、そのような場合にも日本で治療を完了できる制度があればよいのではないかと思われる。

多剤耐性結核菌の迅速診断、結核菌の分子疫学解析

多剤耐性結核の診断の遅れは、患者本人の治療失敗に加えて周囲への感染拡大につながるため、迅速な感受性検査が極めて重要である。すでに実用化されているジェノスカラー Rif-TB[®]は、喀痰中の結核菌に存在するRFP耐性遺伝子である *rpoB* 遺伝子領域の変異をラインプロブアッセイで検出することによるRFP耐性迅速診断法であり、24時間以内に結果を得ることができる。本法の感度は93.3%、特異度は99.7%と優れた結果が得られており、本研究班の検討では、実際に本法でRFP耐性と判定された例の78.6%は多剤耐性であった。すなわち、RFP耐性結核の多くは多剤耐性結核であるため、多剤耐性結核の頻度の高い外国人結核患者のスクリーニング法として期待できる。さらに、近年開発されたXpert[®]MTB/RIFは、喀痰を採取して前処理液を加え、カートリッジに注入して測定器に挿入するだけで、2時間足らずで自動的に結核菌の存在の有無とRFP感受性が判明する。このような機器がわが国でも導入されれば、結核診療が一変する可能性がある。

外国人結核患者から排菌している結核菌の感染源について、すなわち母国から日本に持ち込んだものか、あるいは日本で感染したものかを明らかにすることは公衆衛生上、重要である。結核菌は遺伝子レベルで解析すると菌株ごとに様々な個性(遺伝子型)がある。この違いを利用して菌の区別が可能となり、結核感染のルートとその感染源を特定するだけでなく、遺伝系統別の地理的分布や地域に蔓延する遺伝系統を解明することができるようになってきた。その遺伝子型別法として制限酵素断片長多型(RFLP)分析、スポリゴタ

イピング、反復配列多型（VNTR）分析、一塩基多型（SNP）分析法などがあるが、各国で蔓延している菌の特徴を明らかにすることができれば、外国人から排菌される結核菌の由来（感染した国など）を推定することも可能となりうる。また、日本国外で問題となっている多剤耐性結核菌や病原性の強い結核菌株の型別情報を把握できれば、それらの日本への流入を監視できるシステムを構築することも可能となると期待されている。

おわりに

外国人結核をめぐる最近の実態調査の結果と問題点、それに基づく対策について述べた。外国人結核と言っても、日本の地域による違いや国籍による背景因子、臨床像の違いがみられ、それぞれに応じた適切な取り組みが必要である。外国人結核は徐々にではあるが増え、とくに耐性結核の日本への持ち込みは脅威にも感じられるが、IGRAを使った健診による感染者の発見と潜在性結核感染の治療、発病者の早期発見と治療完遂の支援を徹底すればその克服は決して困難なものではない。しかし、グローバル化は進む一方であり、逆に日本人が結核蔓延国に行き感染機会が増えることも予想され、出張等により海外から帰国した日本人の結核感染、発病についての調査も重要な研究課題になると思われる。そして、日本への結核の輸入をブロックするだけでなく、日本に入ってくるアジア諸国の結核蔓延状態を改善し、多剤耐性菌を減らすことがとくに重要なことであろう。

文献

- 1) 岡田全司．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「輸入感染症としての多剤耐性結核の対策・制御に関する研究」平成 22 年度 総括・分担研究報告書、平成 23 年 3 月．
- 2) 岡田全司．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「海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究」平成 24 年度総括・分担研究報告書、平成 25 年 5 月．
- 3) 結核予防会．結核の統計 2012．公益財団法人結核予防会、東京、2012 年．

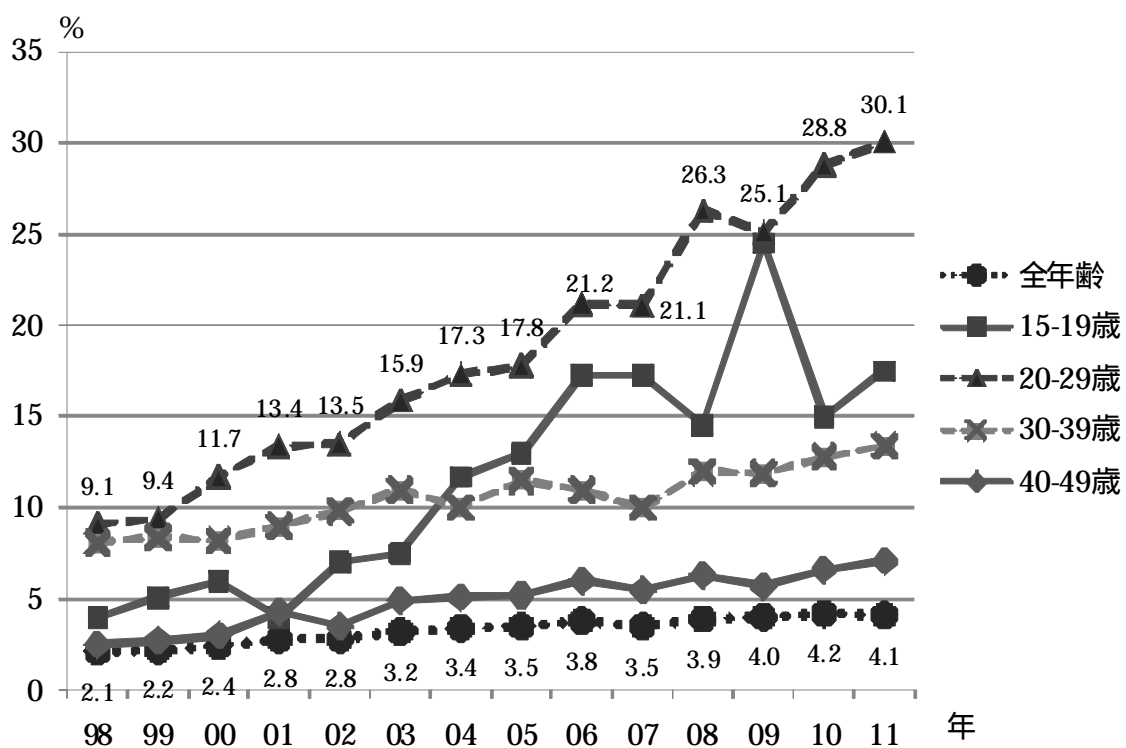


図1 新登録結核患者に占める外国人の割合（1998-2011年）

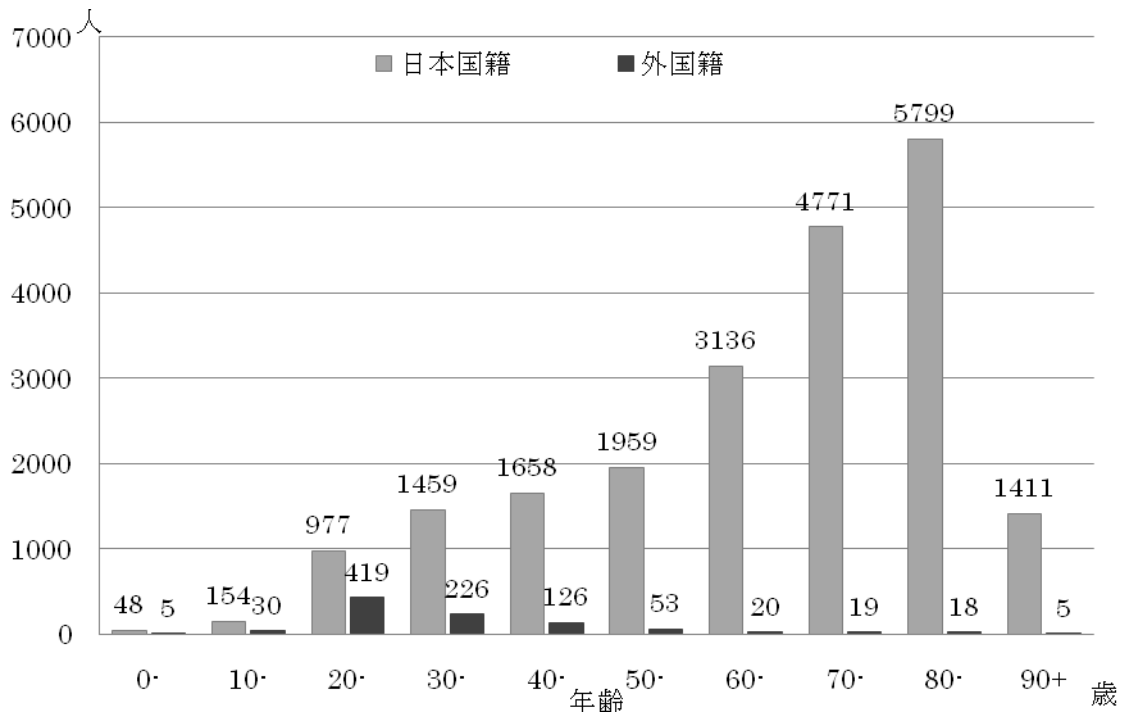


図2 2011年 新登録結核患者数（文献³⁾より作成）

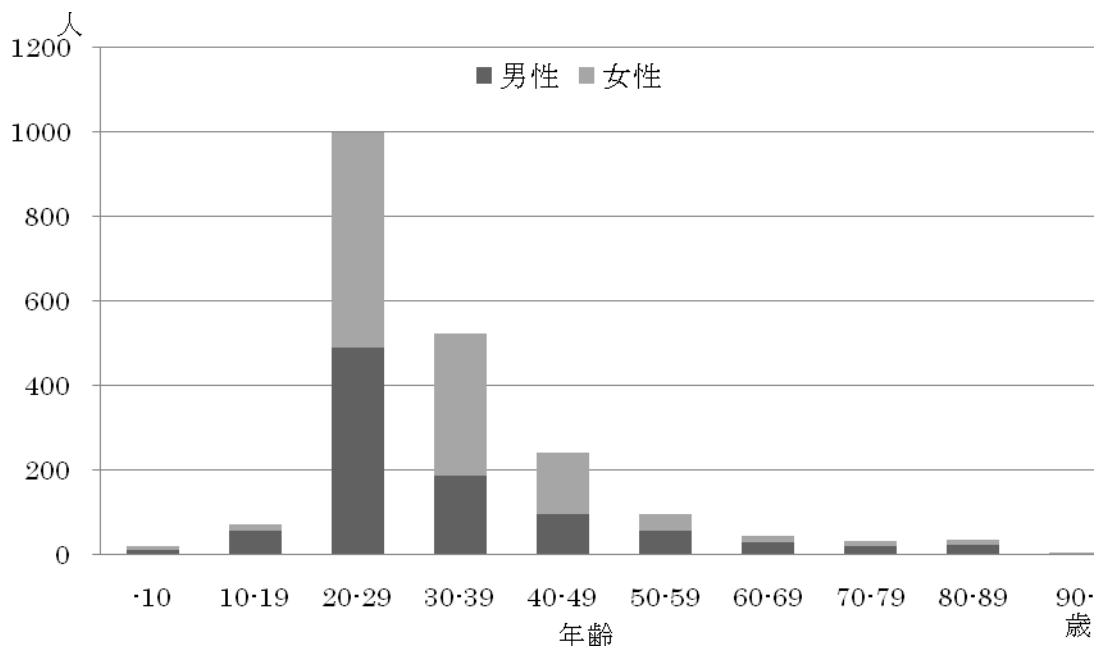


図3 外国人結核患者の性別、年齢別分布

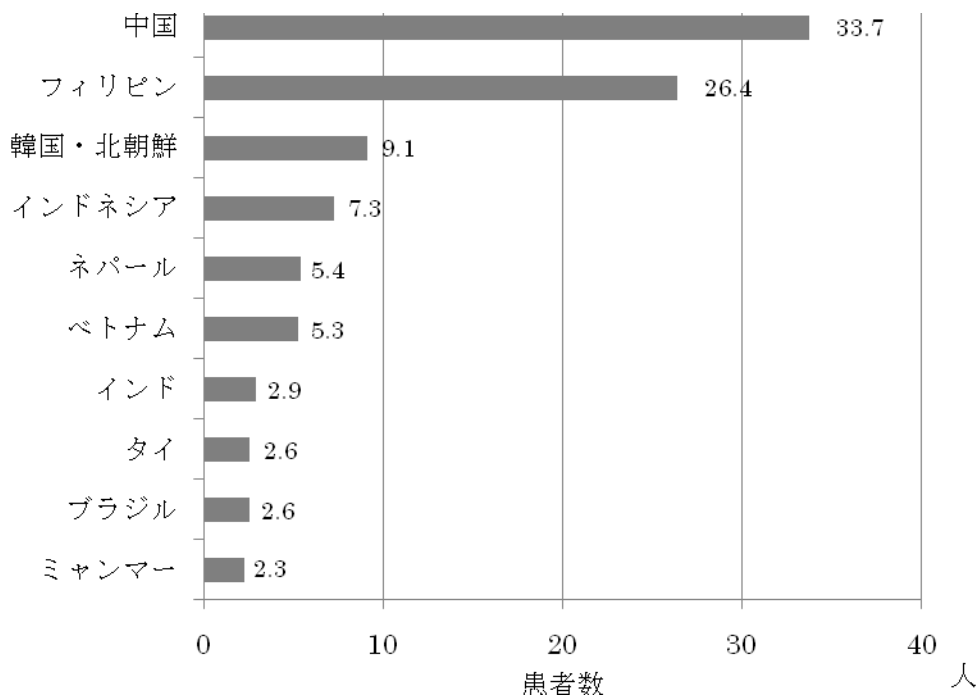


図4 外国人結核患者の国籍

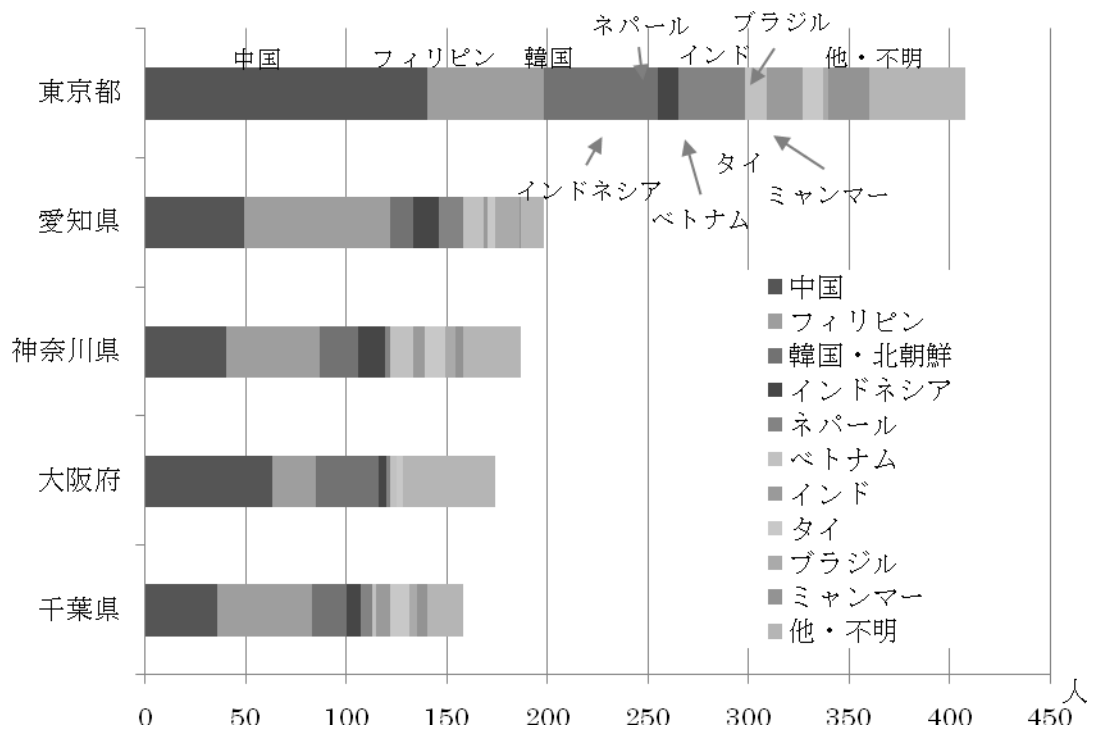


図5 都道府県別の外国人結核患者数

表1 外国人結核患者の職業

職業	比率 (%)
接客業	9.5
学生(高校)	0.8
学生(大学)	9.4
学生(専門学校)	2.4
学生(日本語学校)	9.8
常勤者	25.9
臨時雇・日雇	14.4
主婦	11.2
無職	14.7
不明	1.9

表2 結核診断時の来日年月数別の患者数と多剤耐性率

来日年月数	人数 (%)	多剤耐性率
6ヵ月未満	264(14.1%)	7.4%
6ヵ月～1年未満	232(12.3%)	4.4%
1年～3年未満	524(28.1%)	5.5%
3年～5年未満	216(11.5%)	4.3%
5年以上	635(33.9%)	3.2%

表3 薬剤耐性結核

	外国人結核 (2006-2008年)	外国人結核 (2009-2011年)	日本人結核 (療研2007)
多剤耐性	3.8%	4.4%	0.7%
INH耐性	10.0%	12.0%	3.8%
RFP耐性	1.2%	5.4%	1.2%
EB耐性	1.4%	3.9%	1.4%

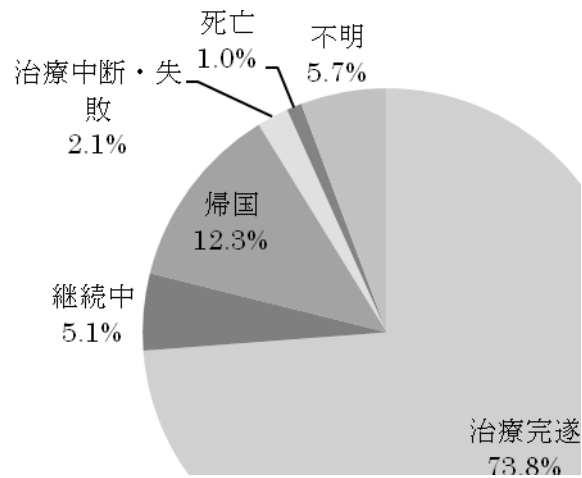


図6 治療転帰

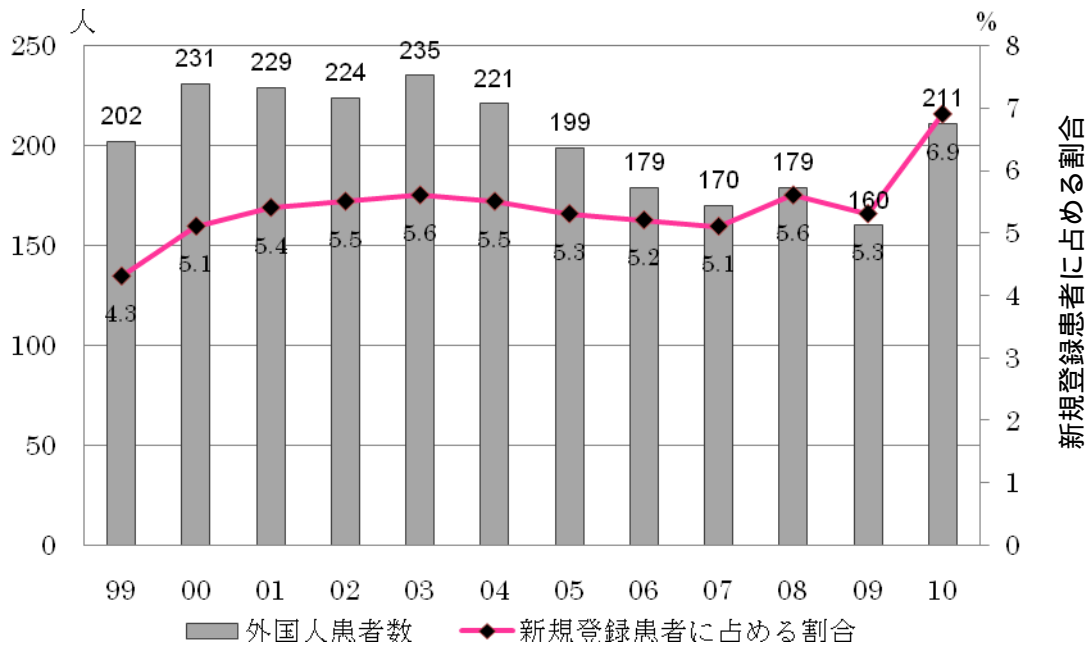


図7 東京都における新規登録外国人結核患者 (1999年～2010年)

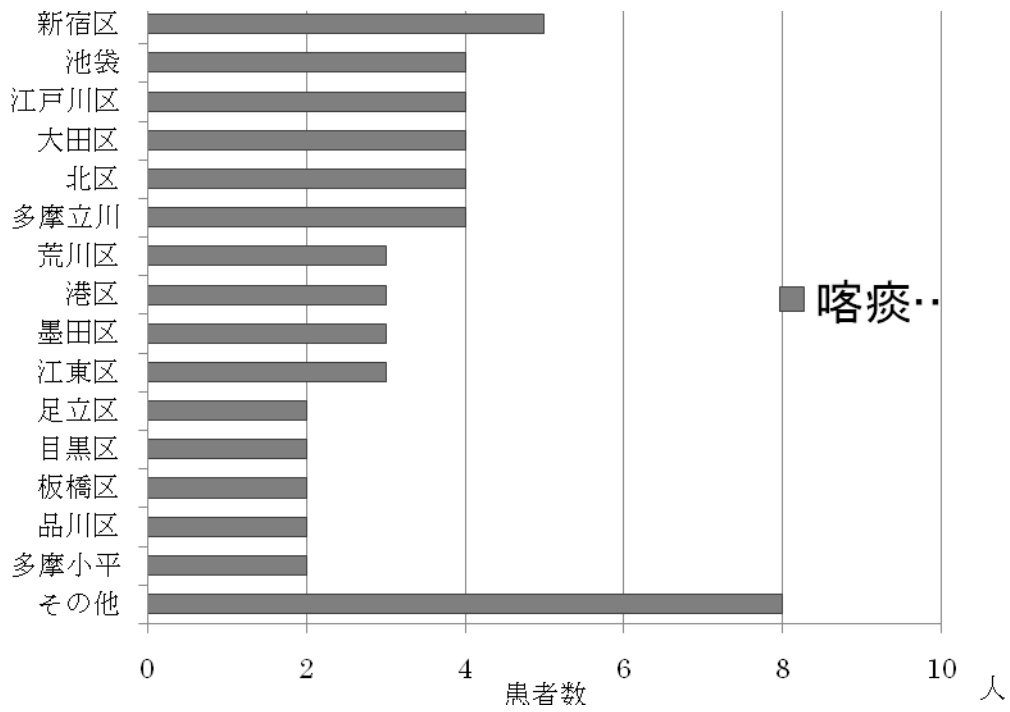


図8 東京都保健所別の外国国籍 新登録塗抹陽性結核患者数
(東京都：2010年、全体で56名)

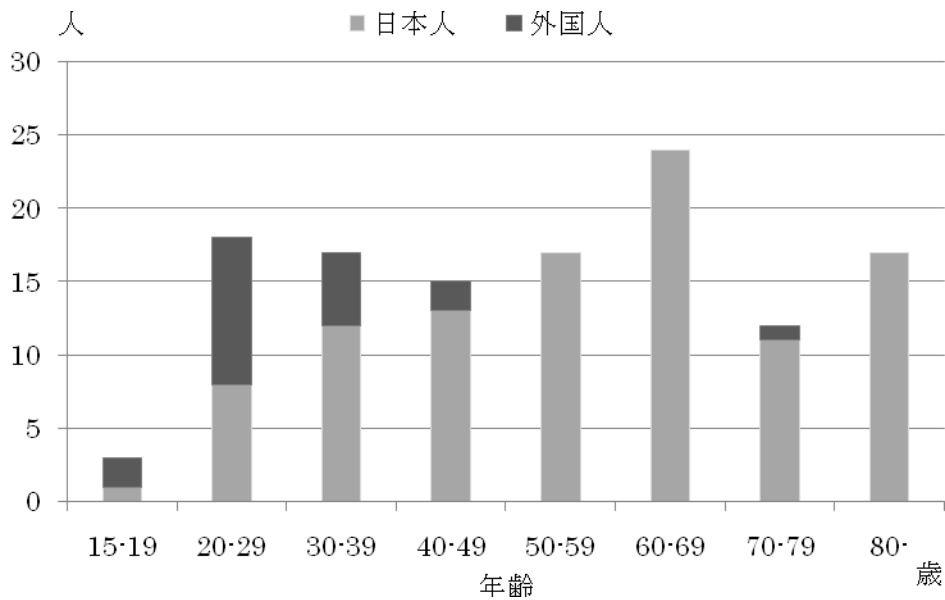


図9 新宿区における年齢別の新規登録結核患者数 (2011年：新宿保健所)

表4 新宿区における結核患者の薬剤耐性人数（2011年：新宿保健所）

	一般	外国人	ホームレス	合計
INH+RFP	0	3	0	3
INH(+その他)	2	0	1	3
RFP	0	0	0	0
その他の耐性	6	1	2	9
耐性なし	51	4	15	70
不明	8	8	0	16
合計	67人	16人	18人	101人

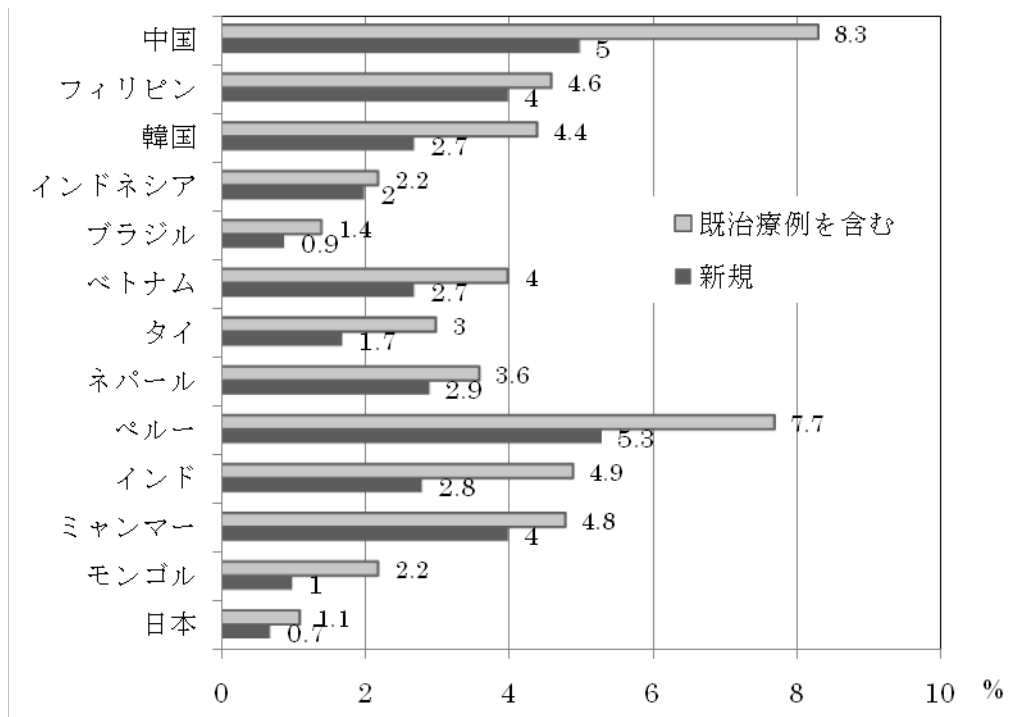


図10 結核菌の多剤耐性率

表4 通訳の利用

あり	41.6%	職場・学校など	45.7%
		友人・知人	19.2%
		行政サービス	14.5%
		ボランティア	4.4%
		その他	20.2%
なし	58.4%		

表5 翻訳パンフレットの利用

あり	41.1%	中国語	35.7%
		英語	25.5%
		タガログ語	7.1%
		韓国語	4.1%
		ネパール語	1.3%
		ベトナム語	1.3%
		インドネシア語	0.9%
		ヒンズー語	0.7%
		ポルトガル語	0.4%
		その他・不明	23.0%
なし	58.9%		

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

[] 多剤耐性結核と H M 合併の実態把握と対策

研究分担者 永井英明 国立病院機構東京病院 呼吸器センター

研究要旨

全国の NHO 病院を対象に H M 合併結核および多剤耐性結核 (MDR-TB) 合併例についての実態調査を行った。結核患者における H M 陽性率は 0.29-0.46% (平均 0.39%) であった。H M 合併結核総数は 96 例であったが、そのうち 82 例 (85.4%) は東京・大阪・愛知の大都市圏に集中しており、この地域だけでの H M 陽性率は 0.91% であった。大都市圏では結核患者に H M スクリーニング検査を積極的に行うべきである。H M 合併結核患者の男女比は 90:5、年齢の中央値は 43 歳であった。結核発病を契機に H M 陽性と判明した症例は 56% に及んだ。CD4 数の平均値は 156/μl であり、免疫機能低下例が多かった。肺結核患者は 48 例、肺外結核患者は 39 例 (このうち 25 例は粟粒結核) であった。結核薬による副作用は 83 例中 53 例 (63.9%) と高頻度であった。結核の治療中に ART を開始した症例は 42 例あり、結核の治療開始後 8 週以内に始めた症例が最も多く、4 週以内に開始した症例では全例が免疫再構築症候群を発症していた。MDR-TB を 3 例に認め、1 例は外国人であった。しかし、2009 年以降は MDR-TB 合併例を認めておらず、幸い増加傾向にならなかった。

A. 研究目的

生体内における結核感染の防御は細胞性免疫が担っている。したがって、細胞性免疫が低下するすべての疾患で結核発病のリスクは高まる。中でも CD4 陽性 T リンパ球 (CD4) が減少し重篤な細胞性免疫障害が生じる H M 感染症は、他の疾患に比較し桁違いに結核発病のリスクが高い。多剤耐性結核 (multidrug-resistant tuberculosis: MDR-TB) が H M 感染者に合併した場合、極めて予後不良である。

日本の結核の罹患率は人口 10 万対 16.7 (2012 年) まで低下したが、欧米先進国の中には 10 万対 4 前後の国もあり、日本は結核については中まん延国である。また、H M 感染者数は減少傾向になく、2012 年の報告例は 1400 名を越えている。

このような状況下では、H M 感染症合併結核の症例は減る傾向にないであろう。しかしながら、わが国における H M 感染症合併結核例の正確な継続的な統計はなかった。「結核の統計」では 2007 年のデータから H M 陽性者数を掲載するようになり (表 1)、それによると毎年 52-75 人の H M 陽性者があり、結核患者の中での陽性率は 0.22-0.33% であり、大きな変動はない。しかし、H M 陽性者の詳しい臨床的データは記載されていない。

H M 感染者に合併した MDR-TB についても正確な疫学的データはない。

国立病院機構 (national hospital organization: NHO) 病院は全国に 143 施設あり、全国の結核病床の 40% 以上を抱えている。NHO 病院の中には H M 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 H M 感染症合併結核の実態調査を行うことは、わが国における両者合併例および MDR-TB 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。そこで、この研究班では NHO 病院を対象に両者合併例および MDR-TB 合併例の症例調査を継続的に行った。

B. 研究方法

NHO 病院 143 施設に対して調査票を送り、2007 年～2012 年の間に入院した H M 感染症合併結核症例数の把握と臨床データの集積を行った。調査項目は、結核患者数、H M 陽性者数、H M 陽性者については年齢、性別、国籍、結核の病態、結核の治療、H M 感染症の治療、免疫再構築症候群の合併、転帰等である (別掲: 調査票 1, 調査票 2)。

C. 研究結果

(調査票の項目のすべてに回答が得られているわけではないので、回答数の少ない項目は除いた)

表 2 に年別症例数を示した。毎年、3,502-4,388 人の結核患者が入院し、そのうち H M 陽性者は 0.29-0.46% (平均 0.39%) であった。ほぼ毎年、同程度の率で H M 陽性者が入院していたが、2012 年はやや減少していた。H M 合併結核総数は 96 例であったが、そのうち 82 例 (85.4%) は東京・大阪・愛知の大都市圏に集中していた。この地域だけで見ると、結核患者 8,990 例中 82 例となり、H M 陽性率は 0.91% となる。

H M 合併結核患者 96 例 (1 例は症例の詳細が不明のため以下は 95 例のデータ) の男女比は 90:5、年齢の中央値は 43 歳であった。年齢分布を見ると (図 1)、外国人も日本人も 30 歳代、40 歳代が多かった。

結核発病を契機に H M 陽性と判明した症例は 56% に及んだ。

CD4 数の平均値は 156 (2-765) /μl であり、CD4 数別の患者数の分布を見ると (図 2)、CD4 数 200 /μl 以下の症例が 67.0%、100 /μl 以下の症例が 48.3% と免疫機能低下例が多かった。肺結核患者は 48 例、肺外結核患者は 39 例 (このうち 25 例は粟粒結核) であった。

結核菌の耐性なしは 60 例、何らかの耐性がある症例は 9 例 (MDR-TB 3 例、I N 囲み耐性 3 例、

表1.日本におけるHIV合併結核患者数
- 結核登録者情報調査年報 -

年	HIV(+)/新登録結核患者数
• 2007	57 / 25311 (0.23%)
• 2008	67 / 24760 (0.27%)
• 2009	52 / 24170 (0.22%)
• 2010	53 / 23261 (0.23%)
• 2011	75 / 22681 (0.33%)
• 2012	62 / 21283 (0.29%)

結核の統計

表2. NHO病院におけるHIV感染症合併結核患者の推移

年	結核患者数	HIV感染症合併数	HIV合併多剤耐性結核患者数
2007	4388	15 (0.34%)	1
2008	4165	19 (0.46%)	2
2009	4129	18 (0.44%)	0
2010	4122	16 (0.39%)	0
2011	4091	18 (0.44%)	0
2012	3502	10 (0.29%)	0
合計	24397	96 (0.39%)	3

図1. HIV感染症合併結核症例の年齢分布

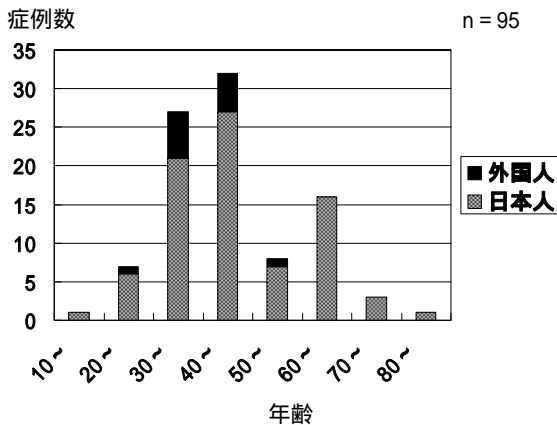
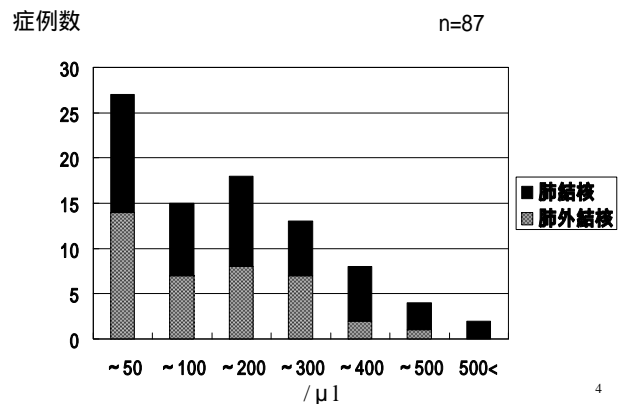


図2. HIV感染症合併結核症例のCD4数別症例数



SMのみ耐性 3例)であった。

結核の治療は、HREZ 56例、HEZ-RBT 12例、HRE 6例、HE-RBT 6例、HRS-FQ 2例、RZSL 1例であった(H:isoniazid, R:rifampicin, E:ethambutol, Z:pyrazinamide, RBT:rifabutin, S:streptomycin, FQ:fluoroquinolone, L:levofloxacin)。

結核薬による副作用について、回答のあった83例中、副作用ありは53例(63.9%)と高頻度であった。主な副作用は肝機能障害(20例)、発熱(12例)、薬疹(11例)、白血球減少(9例)、血小板減少(3例)、聴力障害(4例)であった。原因薬剤としては、RFP(9例)、PZA(9例)、INH(4例)、RBT(2例)があげられていた。対処法の記載があった症例は、減感作療法例9例、薬剤の変更例12例であった。抗HM薬による副作用について回答があった64例中、副作用ありは18例(28.1%)であった。おもな副作用は肝障害が14例、腎障害が2例であった。

結核の治療中にARTを開始した症例は42例あり、結核の治療開始後8週以内に始めた症例が最も多く

(図3)、4週以内に開始した症例では全例が免疫再構築症候群(immune reconstitution inflammatory syndrome:RIS)を発症していた。対処法としてはNSAIDsのみ17例、ステロイドのみ9例、NSAIDsとステロイド3例であった。

ARTの内容が分かっている39例の治療内容では、key drugとしてefavirenz(15例)、raltegravir(12例)、atazanavir(4例)、darunavir(4例)、lopinavir/r(3例)、fosamprenavir(1例)が用いられていた。

結核の転帰について回答のあった68例中、治癒32例、治療中28例、死亡8例であった。

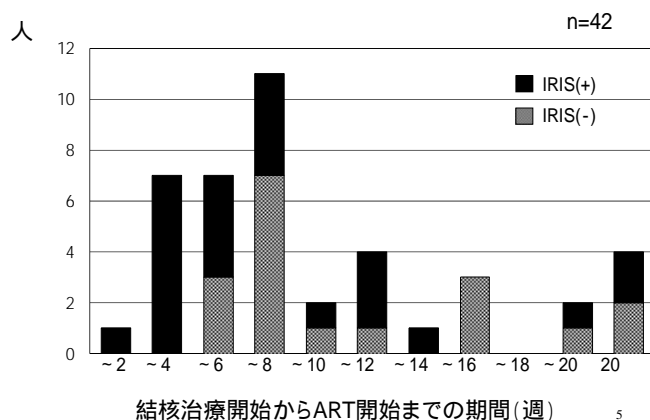
外国人のHM合併結核例は13例あり、アジア5例、アフリカ3例、南米2例、出身地不明3例であった。このうちMDR-TB症例が1例あった。MDR-TB症例は日本人で2例あり、合計3例であるが、2009年以降は認められていない(表2)。HM合併結核例の中におけるMDR-TBの頻度は3.1%(3/96)である。表3にMDR-TB症例のデータを

表3 . HIV合併多剤耐性結核症例

年齢	性別	国籍	結核診断時のCD4数 (μl)	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
40代	男	日本	48	3.1×10^5	肺結核	治癒
30代	男	日本	31	2.05×10^6	粟粒結核	治療中

INH	RFP	EB	PZA	SM	KM	EVM	LVFX
○	○	○	○	○			○

図3 . 結核の治療開始後のART開始時期



示したが、1例は死亡、1例は治癒、1例は治療中という経過であった。

D. 考察

1996年に ART が導入されてから H M 感染症の予後は著明に改善し、A D S 関連疾患の減少と H M 感染者の死亡率の減少が認められている。ART は H M 感染症における活動性結核の合併リスクを減少させたという報告もみられ¹⁾²⁾、H M 感染者を早期に発見し適切な時期に ART を開始することが、結核発病を防ぐ上できわめて重要と言える。

H M 対策と結核対策を進める上で、サーベイランスは非常に重要であるが、わが国における結核患者における H M 合併率は明確ではない。結核登録者情報調査年報(「結核の統計」)では、2007年から結核患者における H M 陽性者数を載せるようになった(表1)。しかし、結核患者の全員に H M 検査を行っているわけではないので実際の値はこれらの値よりも高いと思われる。

結核患者における H M 陽性率については、前向きの全国調査において 0.37%(関東 7 都県では 0.65%)という報告がある³⁾。

今回の調査では、2007年～2012年の NHO 病院における結核患者の H M 陽性率は毎年 0.29-0.46%、6年間では 0.39%であった。この値は上記の前向き調査の 0.37%に近い。わが国の H M 合併結核は、現時点では結核患者の 0.4%前後と考えられる。

しかし、H M 合併結核 96例中 82例(85.4%)は東京・大阪・愛知の大都市圏に集中している。この地域だけの H M 陽性率は 0.91%となり、1%に近い値となる。H M 感染症も結核も多い大都市圏では結核患者における H M 陽性率は 1%前後であろう。

H M 合併結核は日本人中年男性が多く、結核を契機に H M 陽性と判明した症例が 56%であった。いまだに「いきなり A D S」という形で発病して、初めて H M と判明する例が多く、重症例となつてからの発見となり治療に難渋する例があるので早期診断が必要である。

CD4 数 <200μ/L の免疫機能低下例、肺外結核が多かったが、これは以前より指摘されている通りであった。

結核の治療開始後に ART を開始した症例では 8 週以内に開始した症例が多く、4週以内に ART を開始した症例では全例 R I S を合併していた。ART により早期に免疫機能の回復を図り、予後の改善を期待したためと思われるが I R I S の発症には注意が必要である。

H M 感染者では薬剤による副作用が出現しやすく、結核薬による副作用を 63.9%に認め、ART による副作用頻度 28.1%に比べきわめて高い。結核治療が軌道に乗るまでに時間を要し、ART を早期に開始できないことがうかがえる。

結核の転帰については治療中の症例が多くあり、治癒率を計算できなかった。

M D R - T B は 3例のみであり、1例は外国人であった。わが国の結核患者で薬剤感受性検査が行われた 8,365例中 M D R - T B は 60例 0.7%であり(2012年)、H M 合併結核 96例中 3例 3.1%の頻度は高いと言えるが、幸いこの 6年間では増加傾向は見られていない。

H M 合併結核の多い国では、結核患者全員に H M スクリーニング検査を行うべきであるとされているが、わが国において結核患者全員に H M スクリーニング検査を行うかどうかについては議論のあるところである。しかし、H M 合併結核の多い東京・大阪・愛知では積極的に H M 検査を行うべきであると考えられる。

E. 結論

全国の NHO 病院を対象に H M 合併結核および M D R - T B 合併例についての実態調査を行った。結核患者における H M 陽性率は 0.29-0.46%(平均 0.39%)であった。H M 合併結核 85.4%は東京・大阪・愛知の大都市圏に集中しており、これらの地域では結核患者に H M スクリーニング検査を行うべきである。M D R - T B を 3例に認めたが、2009年以降は認めておらず、幸い増加傾向にない。

<参考文献>

1. Girardi E, Pamieri F, Cingolani A, et al. Changing clinical presentation and survival in HIV-associated tuberculosis after highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 26:326-331, 2001
2. Kirk O, Gatell JM, Mocroft A, et al. Infections with *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* among HIV-infected patients after the introduction of highly active antiretroviral therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 162:865-872, 2001
3. 厚生労働省科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業(研究代表者 加藤誠也)「結核菌に関する研究」平成 18~20 年度 総合研究報告書, 2009 年 4 月

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamashita Y1, Hoshino Y, Oka M, Matsumoto S, Ariga H, Nagai H, Makino M, Ariyoshi K, Tsumetsugu-Yokota Y Multicolor flow cytometric analyses of CD4+ T cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*-related latent antigens. *Jpn J Infect Dis*. 66:207-215, 2013
2. Tamura A, Higaki N, Kusaka K, Akashi S, Suzuki J, Shimada M, Suzuki J, Kawashima M, Suzuki J, Oshima N, Masuda K, Matsui H, Yamane A, Nagai H, Nagayama N, Toyota E, Akagawa S, Hebisawa A, Shoji S, Ohta K Doctor's delay in endobronchial tuberculosis. *Kekkaku*. 88:9-13, 2013
3. Ariga H, Nagai H, Kurashima A, Hoshino Y, Shoji S, Nakajima Y. : Stratified Threshold Values of Quantiferon Assay for Diagnosing Tuberculosis Infection in Immunocompromised Populations. *Tuberc Res Treat* 2011: Article ID 940642, 2011.
4. Komiyama K, Ariga H, Nagai H, Kurashima A, Shoji S, Ishii H, Nakajima Y. : Reversion rates of Quantiferon-TB Gold are related to pre-treatment IFN-gamma levels. *J Infect*. 63:48-53, 2011.
5. 永井英明 新しい結核感染診断検査法 T-SPOT-TB の有用性. *アニムス*. 19:37-42, 2014.
6. 永井英明 :【非結核性抗酸菌症の進歩】HIV における非結核性抗酸菌症. *THE-LUNG-Perspectives*. 22:56-59, 2014
7. 永井英明 :【忘れるな 皮膚結核-真正結核・結核疹・BCG 副反応を中心に】(Part4.日本の結核の現状 総説 02) HIV と結核. *Visual Dermatology*. 12:964-967, 2013
8. 永井英明 :「結核-古くて新しい感染症-」新しい診断法: HIV 合併結核と IGRAs. *最新医学*, 68:2467-2471, 2013
9. 永井英明 :【呼吸器感染症の実地診療 最近の臨床の進歩と課題の克服】実地医家が遭遇する

- 治療上の課題の克服の実際. 結核, 標準治療の実際と特定治療のすすめかた, *Medical Practice*. 30:1783-1787, 2013
10. 永井英明 関節リウマチ治療中に問題となる感染症 結核と非結核性抗酸菌症 結核. *化学療法*の領域. 30:152-157, 2013
11. 永井英明 明日の結核医療と人材育成への展望 結核病学会認定単位取得へ向けた研修機会の在り方. *結核*, 88:790-792, 2013
12. 永井英明 Quantiferon-3G について教えてください. *Frontiers in Rheumatology & Clinical Immunology*. 6:158, 2012
13. 永井英明 臨床検査 Q&A 結核の検査結果の判断. *Medical Technology*. 4:0919-920, 2012
14. 永井英明 感染症の臨床 結核の最新情報 薬剤師としての関わり. *薬剤学:生命とくすり* 72:232-238, 2012
15. 永井英明 :【結核と非結核性抗酸菌症】合併症のある結核患者の治療戦略. *Pharma Medica* 30:23-25, 2012
16. 永井英明 :【感染症と抗菌薬の使い方-多剤耐性菌感染症時代の予防から治療まで】結核(特に肺結核). *診断と治療*. 100:383-388, 2012
17. 永井英明 :【最近 10 年で最も進歩した研究分野を検証する】抗酸菌感染症 (NTM を含む). *呼吸*. 31:946-948, 2012
18. 永井英明 診断の進歩 QFT の新しい展開 (解説) 永井厚志、巽浩一郎, *Annual Review 呼吸器* 2011. 中外医学社. 東京, 187-192, 2011
19. 永井英明 特集 HIV 感染症と結核・非結核性抗酸菌症. *日本胸部臨床*. 70:469-478, 2011
20. 久能木真喜子, 川辺芳子, 鈴木純子, 島田昌裕, 金子有吾, 松井芳憲, 川島正裕, 大島信治, 有賀晴之, 益田公彦, 松井弘稔, 田村厚久, 永井英明, 赤川志のぶ, 長山直弘, 豊田恵美子, 町田和子, 中島由槻 結核標準治療が行えない症例における levofloxacin の使用状況と治療成績の検討. *結核*. 86:773-779, 2011
21. 永井英明 :【結核医療が変わる】多剤耐性結核の現況 (解説 特集). *感染と抗菌薬*. 14:201-205, 2011
22. 重藤えり子, 吉山崇, 藤兼俊明, 藤井俊司, 斎藤武文, 佐藤和弘, 田野正夫, 露口一成, 小橋吉博, 藤田次郎, 尾形英雄, 永井英明, 御手洗聡 : 日本結核病学会「薬剤耐性結核の医療に関する提言」作成合同委員会 薬剤耐性結核の医療に関する提言 (解説). *結核*. 86:523-528, 2011
23. 石井崇史 (国立病院機構東京病院 呼吸器疾患センター 内科), 松井芳憲, 長山直弘, 檜垣直子, 戸根一哉, 日下圭, 妹尾真美, 有賀晴之, 大島信治, 益田公彦, 松井弘稔, 寺本信嗣, 山根章, 田村厚久, 永井英明, 赤川志のぶ, 豊田恵美子, 庄司俊輔, 中島由槻 : 結核性胸膜炎の治療中に対側胸水を呈した 1 例. *結核*. 86:723-727, 2011
24. 佐藤滋樹, 永井英明 : 第 85 回総会ミニシンポジウム .QFT の臨床応用-その可能性と限界. *結核*. 86:101-112, 2011

2. 学会発表

1. 永井英明. 第 16 回国際結核セミナー. HM 合併結核の動向と問題点. 2011年 3月(東京)
2. 永井英明. 第 51 回日本呼吸器学会学術講演会. 日本結核病学会との共同企画「潜在性結核をどのように見つけるか、治療対応をどうするか」HM 感染症. 2011年 4月(東京)
3. 永井英明. 第 86 回日本結核病学会総会 第 121 回 ICD 講習会. 免疫低下患者の結核の特徴と対策 - 発病の早期診断と発病防止のために - 「免疫低下者における結核の特徴」. 2011年 6月(東京)
4. 永井英明. 第 59 回日本化学療法学会総会. 教育セミナー 1: 23 価肺炎球菌ワクチン - 再接種のインパクト -. 2011年 6月(札幌)
5. H Nagai. 3rd Asia-Pacific Region Union Conference. International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases. Symposium: Tuberculosis in special settings and its management Geriatric Patients in Japan. 2011年 7月(Hong Kong)
6. 永井英明. 第 20 回日本呼吸器内視鏡学会中国四国支部会. 第 62 回日本結核病学会中国四国支部会. HM 感染症と結核. 2012年 3月(出雲)
7. 永井英明. 第 52 回日本呼吸器学会学術講演会. 日本結核病学会との共同企画(結核講習会): 「結核治療に自身を持つために」特殊病態下の治療(血液透析、妊婦、HM). 2012年 4月(神戸)
8. 永井英明. 第 52 回日本呼吸器学会学術講演会. 特別企画 1: 高齢者を中心とする呼吸器感染症ワクチンの新展開: インフルエンザワクチン. 公費助成拡大の必要性. 2012年 4月(神戸)
9. 永井英明. 第 86 回日本感染症学会総会・学術講演会. アジュバント添加 A 型インフルエンザ HA ワクチン(H1N1 株)接種後の抗体価の 1 年間の推移. 2012年 4月(長崎)
10. 永井英明. 第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会. シンポジウム 17: 合併症を伴う RA 治療の実際 B. 感染症(主に非結核性抗酸菌症感染) - 呼吸器内科医の立場から -. 2012年 4月(東京)
11. 永井英明. 第 87 回日本結核病学会総会 教育講演. 免疫不全と抗酸菌感染症. 2012年 5月(広島)
12. 永井英明. 第 43 回結核・非定型抗酸菌症治療研究会. 国立病院機構病院における HM 感染症合併結核の実態調査. 2012年 12月(東京)
13. 永井英明. 第 21 回日本呼吸器内視鏡学会中国四国支部会 第 63 回日本結核病学会中国四国支部会. 結核に対するニューキノロンの有用性. 2013年 2月(徳島)
14. 永井英明. 第 28 回日本環境感染学会. 結核院内感染対策. 2013年 3月(横浜)
15. 永井英明. 第 28 回日本環境感染学会 第 157 回 ICD 講習会. 医療関連感染制御の総合的ストラテジー 呼吸器感染対策 - 結核と新型インフルエンザ. 2013年 2月(横浜)
16. 永井英明. 第 88 回日本結核病学会総会. シンポジウム. 明日の結核医療と人材育成への展

望: 結核病学会認定単位取得へ向けた研修機会の在り方. 2013年 3月(千葉)

17. 永井英明. 第 88 回日本結核病学会総会. 新しい結核感染診断検査法 T-SPOT® TB の科学的エビデンス - QFT と ELISPOT の比較検討 -. 2013年 3月(千葉)
18. 永井英明. 第 88 回日本結核病学会総会. イブニングセミナー 高齢者肺炎の予防: ワクチン接種の意義. 2013年 3月(千葉)
19. 永井英明. 第 87 回日本感染症学会総会 第 161 回 ICD 講習会. ワクチンと感染制御 - 肺炎球菌ワクチン -. 2013年 4月(東京)
20. 永井英明. 第 65 回日本気管食道科学会学術講演会. シンポジウム: 肺炎の予防 - 肺炎球菌ワクチン -. 2013年 10月(東京)
21. 永井英明ほか. 第 67 回国立病院総合医学会. 緩和ケア病棟における AIDS 患者の受け入れの変遷と課題. 2013年 11月(金沢)
22. 永井英明. 第 122 回日本結核病学会東海地方学会・第 104 回日本呼吸器学会東海地方学会合同学会. 教育講演: 結核の現状と院内感染対策 - 見逃してはならない結核 -. 2013年 11月(浜松)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

[] 日本、中国、韓国および台湾で分離される結核菌の型別解析

研究分担者 加藤誠也 結核予防会結核研究所 副所長
研究協力者 前田伸司 結核予防会結核研究所 抗酸菌部
結核菌情報科 科長

研究要旨

東アジアに位置する日本、中国、韓国、台湾では近年、ビジネスや観光で多くの人々がそれぞれの国を訪れている。そのため、人の移動に伴い結核をはじめとした感染症も輸入・輸出されている可能性がある。これらの地域では、台湾を除き北京型結核菌の割合が高いという共通の特徴を持っている。また、結核罹患率は先進諸国に比べて高く、罹患率を低下させるためには今後も精力的な対策が必要である。このような対策のひとつとして、各国の分子疫学担当者と会議を持ち、型別データを共有できる 10-bcusの反復配列多型 (VNTR) システムを構築した。また、次世代シーケンサー (NGS) を用いた結核菌の全ゲノム解析から報告されている一塩基多型 (SNP) を利用して、結核菌を遺伝系統的にグループ分けできる新しいシステムの構築を行った。共通な型別システムを用いて各国で分離された結核菌を分析することでデータを直接比較することが可能となる。その結果、各地域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る。本研究で樹立した SNP 分析システムは、リアルタイム PCR を利用して 23箇所の SNP を検出するもので、分離された結核菌を網羅的に解析することができる。今までの型別法では、北京型結核菌は NTF領域への I 6110の挿入の有無で、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 分析システムで日本と台湾からの結核菌を分析すると、少なくとも ancient型は 4グループ、modern型も 5グループに分けることができた。このような解析により、各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るので、今後注目する結核菌の由来国等の推定も可能となると考えられる。

研究協力者

韓国

Dr. Park, Young-K i 分子疫学部長 韓国結核研究所

中国

Dr. Zhao, Yan-L i n 結核研究部長 中国疾病管理予防センター (CDC)

Dr. Mei, Jian 結核部門長 上海市疾病管理予防センター (CDC)

Dr. Gao, Q ian 微生物教室 教授 上海 Fudan大学医学部

台湾

Dr. Jou, Ruwen 抗酸菌部部長 台湾疾病管理予防センター (CDC)

日本

岩本朋忠 神戸市環境保健研究所

和田崇之 長崎大学熱帯医学研究所 国際保健学

A. 研究目的

近年、日本から中国、韓国、台湾への渡航及びこれらの国からの来日者が増加している。これら人の移動に伴い結核を含めた感染症がアジア地域内の国々に広まる可能性も考えられる。また、台湾を除きこれらの国々では、北京型結核菌がそれぞれの国内で広まっているという共通の地域性があり、他の地域とは異なる特徴を持っている。そこで、東アジア諸国内で共通で利用できる結核菌型別システムの構築を目的として共同研究を開始した。結核菌の型別法として、比較が難しい I 6110制限酵素断片長多型 (RFLP) 分析ではなく、迅速で容易に型別結果を比較できる反復配列多型 (VNTR) 分析法を採用した。VNTR分析では、分析ローカスの選択が分解能を決定する上で最も重要である。将来のデータベース化および型別データの比較には共通のローカスで結核菌の型別を行う必要があり、それぞれの研究者間でコンセンサスを得る必要がある。また、次世代シーケンサーによる結核菌の全ゲノム解析から得られた一塩基多型 (SNP) を用いた型別法を利用した分析システムの構築を進めた。SNPは結核菌

の遺伝系統に応じて発生し、蓄積されていくことから VNTRのような亜種型別ではなく、もっと安定した遺伝系統 (型別情報) を提供するものと期待される。各国で既に広まっている結核菌の系統情報を調べることで、それぞれの地域の結核菌の特徴が判明すると期待される。

東アジア諸国で共通の SNP 解析や VNTR 分析システムを構築し、型別情報の蓄積と情報交換ができれば、例えば、各国で広がっている多剤耐性菌や病原性の高い株の型別情報を共有することができる。

B. 研究方法

日中韓台分子疫学研究会議

平成 23年 9月 1日、平成 24年 12月 10-11日、平成 26年 1月 14-15日と全体で 3回、結核菌の分子疫学担当者会議を開催した。VNTR分析は株ごとに複数ローサイを PCR にかけて、得られた PCR 産物の分子量を測定し、コピー数に換算する必要がある。しかし、SNP 解析なら最初にプローブとプライマーの設計さえ行えば、リアルタイム PCR の系で簡単に分析・型別することができる。本研究所でまとめ

表. 北京型結核菌と非北京型結核菌を分ける 3284855 部位と 779615 部位の SNP 解析

各部位における SNP 分析でスポリゴタイピング結果と一致した株数と一致率

Spoligotyping	SNP position	
	3284855	779615
Beijing	318 (100%)	318 (100%)
non-Beijing	313 (98.4%)	318 (100%)

これら 2箇所の分析で結核菌は、非北京型、北京型 (ancient)、北京型 (modern) の 3つのグループに区別することができた。3つのグループは、非北京型結核菌はさらに 7箇所の SNP 分析、北京型 (ancient) はさらに 10箇所、北京型 (modern) はさらに 4箇所の SNP 分析を行うことで遺伝的背景に基づき、全体を 21 のサブグループに分類することができた。

4. 各国で分析する株について

各国で 200 株程度の結核菌を分析することとした。各国結核菌のサブグループの存在比等の比較を行うためには、一定期間内に分離された population-base の株を用いる必要があるが、本システムが国際比較に活用可能であるか等、有用性を早く検証することを優先して各国の事情に応じて出来るだけバイアスがかからないように株を選択することとした。

5. SNP 法による分析

日本 (東京都内: 191 株) と台湾 (210 株) で分離された結核菌について本 SNP システムで分析した。779615 位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 グループに分けた。各グループはさらに別の SNP 部位の分析を行った。北京型 ancient と北京型 modern についてサブタイプの存在比を比較した。

東京で分離された北京型 ancient 株は、大きく 4 グループに分けることが可能で最大グループは BJ06-II サブグループで 36.4% であった。一方、台湾で分離された ancient 株も 4 グループに分けることが可能で最大グループは東京都同じく BJ06-II で 30% であった。台湾で 20% を占めている BJ06-I と BJ07-III は日本では 2% しか存在していなかった。また、BJ04-I グループは台湾では存在せず、日本だけで存在 (全体の 19.2%) する型の結核菌であることがわかった (図 2-a)。

日本の Modern 株の分析では、BJ09 (72.1%) と BJ11-III (23.3%) の 2 グループで大部分を占めていた。台湾の modern は BJ09 型が 45.6%

で最も多く、他に 4 つのサブタイプが存在した。また、BJ11-N 型は、台湾で 11.8% 占める型であるが、日本では検出されなかった (図 2-b)。同じ北京型 ancient あるいは北京型 modern のグループの結核菌でも、分離された地域によってサブタイプの種類やその割合が異なることが明らかになった。

今までの型別法では、北京型結核菌は NTF 領域への IS6110 の挿入の有無で、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 分析システムで日本と台湾からの結核菌を分析すると少なくとも ancient 型は 4 グループ、modern 型も 5 グループに分けることができた。

6. 会議での合意

本研究所で樹立した SNP 分析システムで、それぞれの地域で分離された最低 200 株の結核菌を分析しデータを平成 26 年 5 月まで本研究所に送るということで合意が得られた。その分析のために必要なデザインしたプローブや試薬を本研究所が準備して供給することにした。試薬類は平成 26 年 2 月に送付済である。

D. 考察

北京型結核菌と非北京型結核菌を区別する SNP 部位に関して検討した結果、3284855 位の分析では一部の非北京型結核菌が北京型と判定され、本部位の SNP は結核菌 Lineage-2 の分岐と関連していることが明らかになった。一方、最近報告された 779615 位の変異は、北京型結核菌の定義であるスポリゴタイピングの結果と一致していることが本研究から確認できた。そのため、今まで使用していた 3284855 位ではなく、今後は北京型と非北京型を区別する SNP として 779615 位の SNP を利用して分析を進めることとした。また、3284855 位は、今後も非北京型結核菌の型別のための SNP 部位として利用することにした。

完成した 23 箇所の SNP 分析システム (各ロークラスは、野性型と変異型の 2 種類のプローブ、PCR プライマー、変異型用コントロールからな

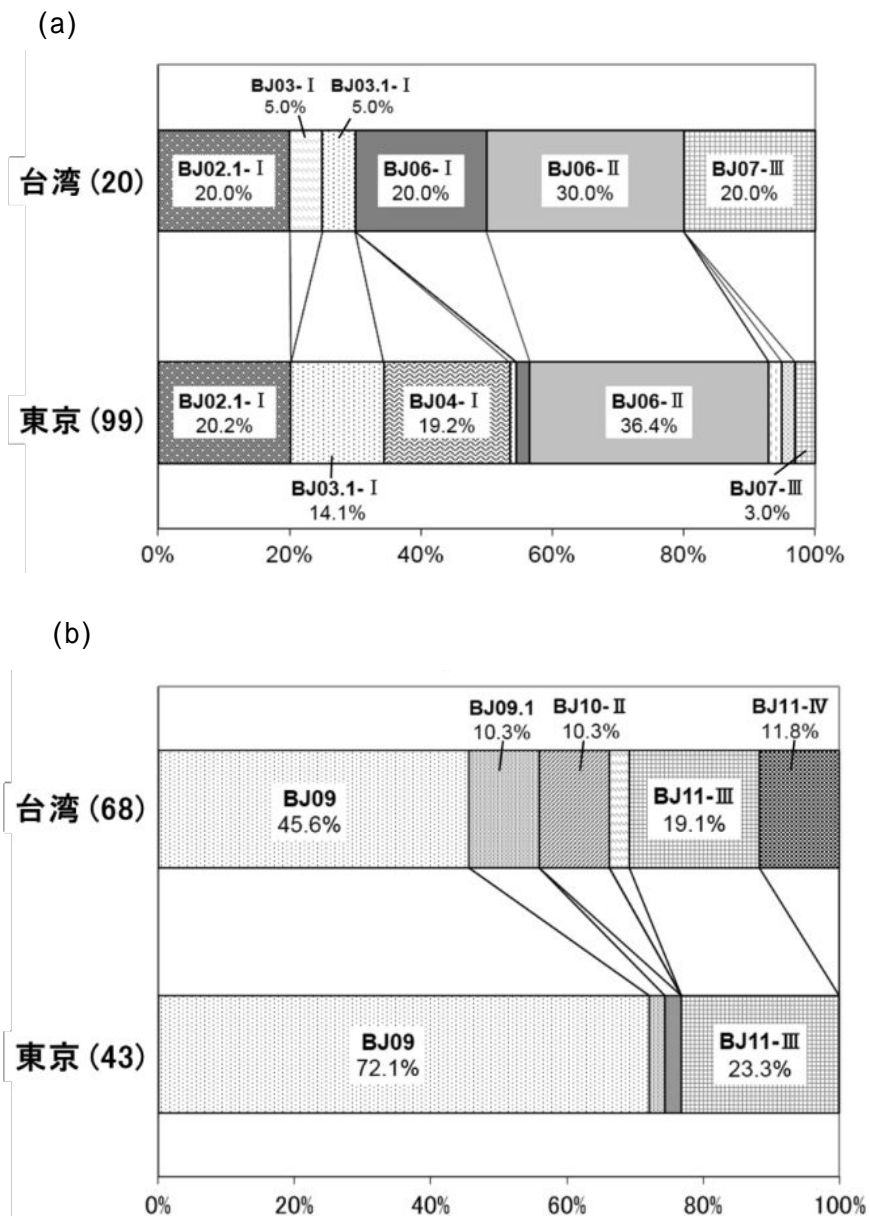


図 2. 樹立した SNP 分析システムを用いた結核菌の分析

779615 部位と 1477596 部位の SNP を調べることで結核菌を非北京型、北京型 ancient (a)、北京型 modern (b)に分けて、それぞれのグループ毎に SNP 解析を行った。各グループ内で SNP 分析により型別できたサブグループの割合を示した。

る)及び分析用試薬を既に各国の施設に送付した。各施設では、地域内で分離された結核菌を分析し、得られた型別データを平成 26 年 5 月までに提供してもらうことで合意を得ている。このように共同研究によって、共通な手法を利用してそれぞれの地域の結核菌を解析することで、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、各地域で広まっている結核菌の遺伝的な特徴を明らかにできる。実際に、東京と台湾で分離された結核菌を SNP 分析すると同じ北京型 ancient や北京型 modern でも分離された場所によってサブタイプの

種類やその組成が異なることが明らかになった。特定の地域で特異的にみられる遺伝型が判明すれば、感染した地域の推定も可能となると考えられる。

本システムが確立され、広く活用できるようになれば、より簡便に系統解析が可能になり、それぞれの国や地域における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。今後、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、各地域における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。

E. 結論

人の移動が活発になり、感染症が流入する可能性が高まっている。アジアの国や地域で共通で利用できる型別法（VNTR や SNP など）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れば、結核菌が由来した国（将来的には感染した国や地域など）を推定することができると考えられる。また、近隣諸国で問題となっている病原性の高い結核菌や多剤耐性結核菌などを特定して監視可能な遺伝子型情報を共有することができれば、注意すべき高病原性結核菌の流入を早期に把握するための国際的な共通システムの確立が可能となる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

【 】 東京における外国人結核 臨床像の推移と分子疫学解析

研究分担者	小林信之	国立病院機構東京病院 統括診療部長
研究協力者	切替照雄	国立国際医療研究センター研究所 感染症制御研究部長
	秋山 徹	国立国際医療研究センター研究所 感染症制御研究部
	加藤雅子	国立国際医療研究センター研究所 感染症制御研究部
	菅野芳明	国立国際医療研究センター 呼吸器内科
	高崎 仁	国立国際医療研究センター 呼吸器内科

研究要旨

外国人結核患者は結核蔓延国を母国とすることが多いため、とくに多剤耐性結核のわが国への持ち込みは新たな脅威として懸念されている。本研究では、東京における外国人結核の臨床像の経年的推移を明らかにするため、2007年1月から2012年12月の6年間に国立国際医療研究センターで診療した外国人結核患者を対象として、前半（2007-2009年）と後半（2010-2012年）に分け、その臨床的特徴の推移について検討した。前半と後半を比較し、国籍別では中国が最多で変わりなかったが、韓国が減少したのに対し、フィリピンの増加がみられた。職業では学生と主婦の減少、就労者の増加がみられ、治療成績は後半で改善し、脱落者は減少した。2007-2012年に診療した外国人133名と日本人1300人の結核患者の薬剤感受性を比較したところ、外国人結核では日本人結核と比較してRFP耐性率と多剤耐性率が有意に高値であった。結核菌の分子疫学解析は2通りの方法によって行った。東京の外国人結核患者由来株87株についてRFLP解析を実施した結果、相同性70%以上の株を「グループ」と定義すると、全体の30%は「グループ」を、6%は「グループ」を形成していた。「グループ」ではそれ以外と比べて、中国、韓国など東アジア出身者が多く、薬剤耐性率やHIV合併率が高い傾向であった。さらに、「グループ」では新興型の北京型株が多く、日本人とのクラスター形成率が高い傾向にあった。次に、東京における外国人由来91株および日本人由来コントロール168株の全配列を用いて分子疫学解析を行った。その結果、外国人および日本人から得られた計259株の結核菌は4つの遺伝系統に分類されたが、それぞれの遺伝系統における外国人由来株と日本人由来株の比率は全ての系統で有意に異なっていた。このことから、日本国内において外国人と日本人は異なる結核菌に感染し、各コミュニティで維持されていることが示唆された。同時に、これまで国内に存在しなかった新たな表現型を持つ結核菌が、外国人あるいは旅行者から国内に持ち込まれる可能性が示された。

A. 研究目的

わが国における外国人結核の割合は日本人結核とは逆に増加傾向にある。2012年の外国人患者の新登録結核患者数に占める割合は5.2%であり、若年層、とくに20歳代では37.0%にまで増加した。新規の外国人結核患者は結核蔓延国を母国とすることが多いため、とくに多剤耐性結核のわが国への持ち込みは新たな脅威として懸念されている。実際、岡田班の第2次調査では外国人結核の4.4%が多剤耐性であり、日本人結核に比べて高率であることが明らかとなった。また、同調査では都道府県別にみて、最も多くの外国人結核が発症しているのは東京都であった。国立国際医療研究センターは東京都新宿区に位置し、東京都各地域の外国人結核患者を扱っている。本分担研究では、東京における最近の外国人結核の発病と治療の現状、および臨床像の経年的推移を把握することを目的に、国立国際医療研究センターにおいて過去6年間に診療した外国人結核の臨床像について、さらに、新宿区保健所のデータをもとに新宿区における外国人結核患者の経時的推移を含めて検討する。さらに同期間における外国人由来結核菌の薬剤耐性について日本人結核患者と比較検討する。また、東京における外国人結核の感染状況を把握し、外国人結核患者が母国で感染してわが国に入国したのか、わが国で結核を感染したのかを推定することを目的に、東京に在住している外国人結核患者から分離された結核菌の分子疫学調査を実施する。

B. 研究方法

1) 国立国際医療研究センターにおいて2007年1月から2012年12月の間に診療した外国人結核患者を対象として、性別、年齢、国籍、社会背景、基礎疾患、合併症、塗抹、培養、薬剤耐性、転帰などの臨床的特徴について調査した。そして、6年間を前半（2007-2009年）と後半（2010-2012年）に分けて、それぞれの項目を比較検討した。結核菌の薬剤感受性に関しては、同期間における日本人結核菌株の感受性結果と比較した。

2) 前研究班では、国立国際医療研究センターで診療した外国人結核患者由来株を用いたIS6110-probed RFLP分析（解析ソフトFingerPrinting (Bio-Rad)を使用して解析）により、70%以上の相同性を認める2つの「グループ」が検出されたことを報告した。今回の研究班では、それぞれのグループに属する外国人結核患者の臨床情報を収集し、その特徴や遺伝子型について検討した。その中で、新宿区在住の外国人結核患者20名については、新宿区の結核患者の分子疫学データをもとにクラスター形成率を求めた。なお、新宿区における結核患者の分子疫学解析については、新宿区保健所（島 史子先生）と結核研究所（石川信克先生、大角晃弘先生、村瀬良朗先生）にご協力をいただいた。

3) 東京に在住している日本人および外国人由来結核菌の網羅的分子疫学解析を目的に、外国人結核患

者由来 91 株、および性別、年齢をマッチさせた日本人結核患者 168 名から分離された結核菌のゲノム DNA を抽出し、M iSeq(Illum ina Inc.) を用いて全ゲノム配列を決定した。Illum ina の配列の解析には CLC genom ics workbench ver.6.5 (CLC bio) を用いた。in silico genotyping は、Gagneux S R の定義を用いて、I n d Oceanic (Lineage 1)、East Asian (Lineage 2 or Beijing)、East African- Indian (Lineage 3)、Euro- American (Lineage 4)、West African I (Lineage 5) および West African II (Lineage 6) の系統分類を行った (Gagneux S et al 2006)。北京型結核菌は、NTF 領域への I 6110 の挿入および mut T 2 遺伝子の G ly58A rg の変異の有無によって modern 型と ancestra 型に分類した。系統樹は、PhyML 3.0 を用いて最尤法で作製した。

(倫理面への配慮)

外国人結核の臨床像の推移に関しては後ろ向き研究となり、国立国際医療研究センターの倫理審査委員会の承認を得た。外国人結核の分子疫学解析の研究計画については同センターの倫理審査委員会の承認 (NCGM -G-001467-0 9) を得てから開始した。

C. 研究結果

1) 東京における外国人結核の臨床像：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 2007 年以降の 6 年間で 178 名であり、3 年ずつの前後半に分けてその臨床像について検討した。前半は 2007-2009 年で 95 例 (31.7 人年)、後半は 2010-2012 年で 83 例 (27.6 人年) であった。年齢・性別では、前半、後半ともに 20 歳代が最も多く、次に 30 歳代であり、男性が女性よりも多かった (図 1)、籍別では中国が最多で変わりなかったが、韓国が減少したのに対し、フィリピンの増加がみられた (図 2)、性別ではフィリピンの女性の増加が目立っていた。なお、新宿区の外国人居住者数については、国籍別にみると、最近 3 年間で韓国または北朝鮮の減少、中国の増加がみられ、韓国または北朝鮮と中国がほぼ同数となり、他国と比べて圧倒的に多数であった。職業では学生と主婦が減少し就労者が増加した (図 3)、入国時期は結核診断の 1 年以内が 24% から 30% へと増加傾向であり、また、治療成績は改善し、脱落者は 5 名 (5.3%) から 3 名 (3.6%) に減少した (図 4)、薬剤感受性については、外国人 133 名と日本人 1300 人の結核患者の検査結果を比較した。2007-2009 年では外国人結核で R F 耐性率が有意に高く (p=0.003)、2010-2012 年では外国人結核で多剤耐性率が高い傾向がみられ、全体の 2007-2012 年を総合すると外国人結核では日本人結核と比較して、RFP 耐性率 (p=0.002) と多剤耐性率 (0.018) が有意に高値であった (表 1)、

2) RFLP 法による分子疫学解析：国立国際医療研究センターで経験した外国人結核患者由来株の RFLP 解析から、86 株のうち 26 株 (30% は相同性 70% 以上の「グループ」を、5 株 (6%) は「グループ」を形成していた (表 2)、グループ ではそれ以外と比べて、中国、韓国など東アジア出身者が 61.5% と多く、薬剤耐性率は 7.6% に認め、H M 陽

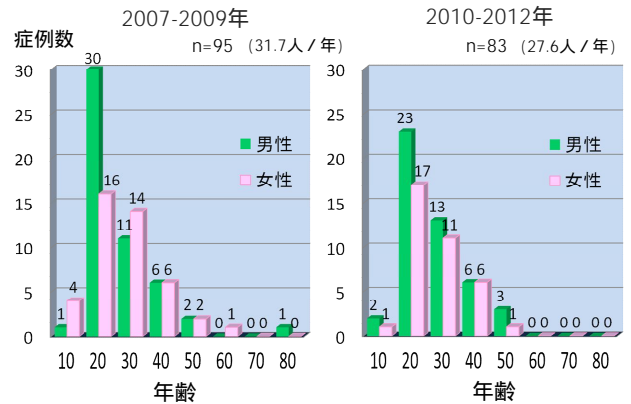


図 1 外国人結核患者の年齢・性別分布

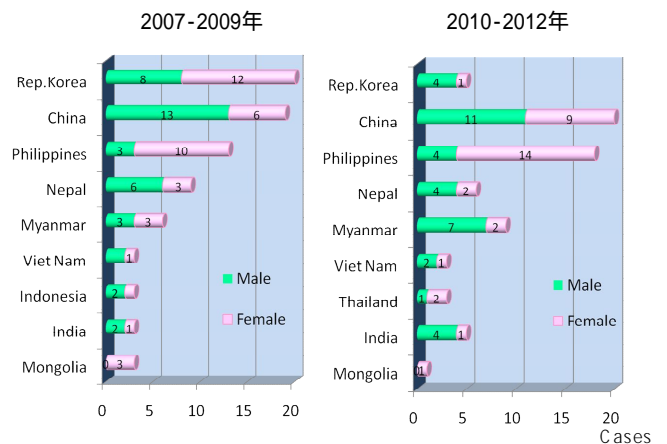


図 2 外国人結核患者の出身国別分布

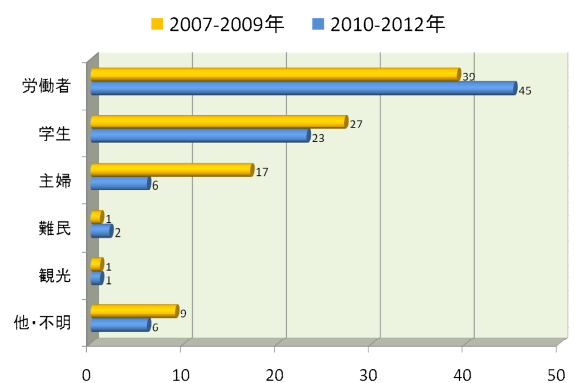


図 3 外国人結核患者の職業

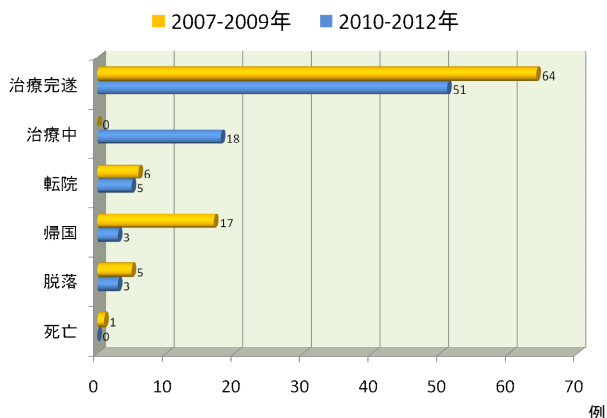


図4 外国人結核患者の治療経過

	日本人 2007-2012 n=1300	外国人 2007-2012 n=133	有意確率p
INH0.2	73 5.6 %	6 4.5 %	0.595
RFP40	4 0.31 %	3 2.3 %	<u>0.002</u>
SM10	102 7.8 %	9 6.8 %	0.657
EB2.5	10 0.77 %	1 0.75 %	0.983
KM20	5 0.38 %	0 0 %	0.474
LVFX1	21 1.6 %	0 0 %	0.140
INH/R/F	3 0.23 %	2 1.5 %	<u>0.018</u>

Pearsonの 2乗検定

表1 結核菌の薬剤耐性 日本人と外国人の比較 2007-2012年

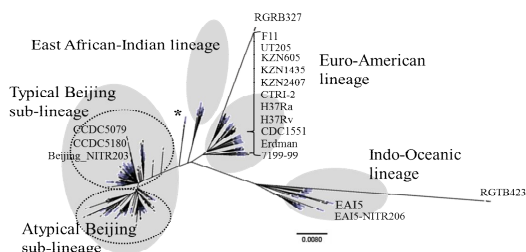


図5 全ゲノム配列による系統樹

RFLP解析	グループ (26)	グループ (5)	その他(56)	
年齢 (歳)	33	35.2	30.8	
性別 男性 (%)	20 (76.9%)	4 (80%)	33 (58.9%)	
国籍 東アジア (%)	16 (61.5%)	1 (20%)	27 (48.2%)	
居住地 新宿区 (%)	8 (30.7%)	0%	12 (21.4%)	
クラスター形成率	5/8 (62.5%)	-	4/12 (33%)	
入国1年未満 (%)	10 (38.4%)	0%	21 (37.5%)	
HIV陽性 (%)	3 (11.5%)	0%	2 (3.5%)	
薬剤(H,R)耐性あり (%)	2 (7.6%)	0%	2 (3.5%)	
肺結核 (%)	22 (84.6%)	4 (80%)	52 (92.8%)	
塗抹陽性率 (%)	14 (53.8%)	5 (100%)	40 (71.4%)	
遺伝子型	北京型 Modern	12 (67%)	0 (0%)	3 (8%)
	北京型 Ancient	6 (33%)	0 (0%)	9 (23%)
	非北京型	0 (0%)	5 (100%)	28 (70%)

性率は 11.5%と高い傾向がみられた。入国 1年未満の患者はグループ で 38.4%、グループ で 0%、その他で 37.5%であった。遺伝子型に関しては、グループ では北京型 (Modern) 67%、北京型 (Ancient) 33%、非北京型 0%に対して、グループ では非北京型が 100%であった。グループ、以外では北京型 (Modern) 8%、北京型 (Ancient) 23%、非北京型 70%であった。新宿区に居住している外国人結核患者は 20名で、そのうち 8名はグループ に属し、日本人とクラスターを形成しているのは 5例 (62.5%)であった。グループ に属している者はいなかった。グループ、以外の 12例については、日本人とのクラスター形成者は 4例 (33%)であった。

3) 全ゲノムシーケンス法による解析: 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 (外国人由来 91株、日本人由来 168株) の全配列を決定し、得られた Illumina の配列は DDBJ に登録した (accession No. DRA001219)。本研究で解析した全臨床分離結核菌 259株は、Beijing lineage (70.3%)、Euro-American lineage (17.8%)

表2 外国人結核菌株の RFLP 解析と臨床データ

Lineage	Isolates from patients				p-value*
	Foreign-born		Japan-born		
	n	%	n	%	
East-Asian (Beijing)	43	47.3	139	82.7	5.80E-09
typical Beijing	29	67.4	52	37.2	1.01E-03
atypical Beijing	14	32.6	87	62.8	1.01E-03
Euro-American	23	25.3	23	13.7	0.03089
Indo-Oceanic	19	20.9	4	2.4	1.87E-06
East African-Indian	6	6.6	2	1.2	0.04306

* Statistical analysis done using Fisher's exact test.

表3 外国人または日本人由来結核菌の結核菌型別

Indo-Oceanic lineage (8.9%) および East African-Indian lineage (3.1%) に分類された。しかし、その遺伝系統における外国人由来株と日本人由来株の比率は全ての系統で有意に異なった (表3)。特に、外国人由来株の大部分は Beijing lineage (47.3%)、Euro-American (25.3%) および Indo-Oceanic (20.9%) だったが、日本人由来株は 82.7% が Beijing lineage だった。また、Beijing lineage の中で、外国人由来株では 67% が modern 型であるのに対し、日本人由来株では 63% が ancient 型だった。図5は、臨床分離 259株およびゲノム公開されている 18株を用いた全ゲノム配列による系統樹を示す。各灰色の楕円内の臨床株は記載されている各系統 (lineage) に属した。

D. 考察

新宿区は東京都のなかで最も多くの外国人結核患者を診療しているが、外国人登録者の絶対数が多いのがその原因と考えられる。また、国籍別では韓国人のコミュニティが存在するため、韓国人の結核患者の率が大きいのが特徴といえるが、最近では韓国人の減少、中国人の増加がみられている。国立国際医療研究センターにおいて最近6年間で診療を行った外国人結核患者は、20~30歳代の若年者が多く、女性の割合が日本人結核患者と比較して多くみられたが、この傾向は以前の調査と同様の傾向であった。6年間で前半3年と後半3年に分けて、その差について検討した。特徴的なことは、韓国人とくに韓国人女性が減少し、フィリピン人が増加していることである。職業については学生と主婦の率の減少がみられている。いずれも原因は明らかではないが、東日本大震災の影響があるのかもしれない。治療成績については、後半では脱落例が減少し、外国人結核対策強化の効果と考えられる。結核菌の薬剤耐性については、RFP耐性と多剤耐性の率が日本人と比較して高率にみられた。外国人結核患者の多剤耐性率は1.5%であり、統計学的に日本人結核より高いが、全国集計の4.4%に比べて低かった。その原因は明らかではないが、本研究は1つの病院における結果であり、集計数が少ないための誤差である可能性もある。また、外国人結核といっても日本の地域により国籍や職業、滞在年数などが異なるため、薬剤耐性率や多剤耐性率についても地域により異なる可能性がある。2011年の新宿区全体の結核患者の統計では、外国人結核8名中に多剤耐性結核が3名 (中国2名、韓国1名) みられた。いずれも20歳代前半の学生であり、初回治療1名、再治療2名であり、外来での治療経過中に発見された。母国から日本への持ち込み例と考えられ、多剤耐性結核の流入に関しては、さらなる検討と対策が必要と思われる。

東京における外国人結核患者由来株87株のRFLP解析によると、そのうち30%は相同性70%以上の「グループ」を、6%は「グループ」を形成していた。「グループ」ではそれ以外と比べて、中国、韓国など東アジア出身者が多く、薬剤耐性率やHM合併率が高い傾向であった。さらに、「グループ」では新興型の北京型株が多く、日本人とのクラスター形成率が高い傾向にあった。以上のことから、中国、韓国など東アジアから新興型の北京型株が日本国内に入りこみ、日本人とクラスターを形成している可能性が示唆された。とくにグループでは薬剤耐性率やHM陽性

率が高い傾向にあり、その日本国内での拡がりには公衆衛生の上で脅威となりうると考えられる。

全ゲノムシーケンス法による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、東京における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9株および日本人由来コントロール16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。さらに、日本国内において外国人と日本人は異なる結核菌に感染し、各コミュニティで維持されていることが示唆された。同時に、外国人あるいは旅行者を通じて、これまで国内に存在しなかった新たな表現型を持つ結核菌が、国内に持ち込まれる可能性が示された。

E. 結論

東京における最近の外国人結核の特徴としては、国籍別では中国人が最多で変わらないが、韓国人の減少、フィリピン人の増加がみられ、職業では学生と主婦が減少した。治療成績は改善がみられ、治療脱落者は減少した。外国人結核菌株は日本人結核菌株と比べてRF耐性率と多剤耐性率が有意に高かった。結核菌全ゲノム解析によって、外国人から分離される結核菌株の集団は、日本人から分離される結核菌の集団とは異なっていることが明らかになった。すなわち分子疫学上、日本在住の外国人の結核は日本人にとって一定のリスクがあることが推定される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 菅野芳明、小林信之、森野英里子、高崎 仁 . 当センターにおける外国人結核患者の臨床像の推移 . 第53回日本呼吸器学会学術講演会、東京、平成25年4月 .
- 加藤雅子、秋山徹、小林信之、切替照雄 . Whole genome sequencing analysis of Mycobacterium tuberculosis isolates from residents in Tokyo . 第87回日本細菌学会総会、2014年3月 .

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

[] 全国病院施設・保健所との連携による多剤耐性結核と H M 合併の実態把握と対策

研究分担者 藤田 明 多摩北部医療センター 副院長

研究要旨

全国の H M (エイズ) 診療拠点病院、結核診療医療機関 (国立病院機構を除く) 保健所を対象に、2007 年から 2012 年の 6 年間に於ける H M 合併結核およびそのうちの多剤耐性結核症例の有無に関する調査を行った。一次調査の結果、H M 合併の多剤耐性結核は 3 例であり、H M 感染者の間で多剤耐性結核がまん延している状況はないと考えられた。医療機関からは合計 222 例の H M 合併結核症例が報告された。一方、保健所からの報告では結核新登録患者のうち約 0.3% が H M 合併結核であると報告され、多剤耐性結核は 3 例であった。H M 合併結核の症例を有する施設に対する匿名化症例調査票を用いた二次調査症例の 191 例においては、何らかの薬剤耐性 (PZA を含む) を有する例は日本人 16 例、外国人 6 例で、MDR 2 例は日本人と中国人、RFP 耐性 2 例の出身国は東南アジアであった。また、菌陽性例中の薬剤耐性頻度は「少なくとも NH 耐性」が 8.3%、「MDR 以外の RFP 耐性」が 1.4% であり、引き続き耐性菌の動向には注意を要する。

A. 研究目的

多剤耐性結核は治療の難しい結核であるが、H M 感染を合併していると予後が悪いことが海外から報告され、院内集団感染事例では死亡率がきわめて高い (死亡率 72~98%)¹⁾。国内では近年、村上・加藤ら²⁾、村松ら³⁾、千葉ら⁴⁾ によって 3 本の H M 合併結核に関する臨床検討が報告されている。それによると、外国人の割合は 17~29% であり、結核全体の外国人比率よりも多い。多剤耐性結核菌については、千葉らの報告では、2/129 例 1.6% (1996~2010 年のエイズ治療・研究開発センターにおける症例) また、全国 H M 感染合併結核症アンケート調査報告 (2003~2006 年に診療) は 3/105 例 2.9% で認められた。そこで日本における多剤耐性結核と H M 合併についてその実態を詳細に把握することを本研究の目的とした。

B. 研究方法

平成 23~25 年度に、全国 531 の保健所、全国 248 の結核診療医療機関 (国立病院機構を除く)、全国 231 の H M 診療拠点病院 (国立病院機構を除く、国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センターを含む) を対象に、H M 合併結核の症例の有無を尋ねる一次調査を実施した。ただし、調査機関数は統廃合・追加等のため調査年度間で必ずしも一致しない。その結果をもとに、症例を有した医療機関に対して匿名化症例調査票による二次調査を実施した (保健所に対しては二次調査を行わなかった)。過去に村上、加藤らによる全国 H M 感染合併結核症アンケート調査報告 (2003~2006 年) が行われているので、今回は 2007 年以降 2012 年まで診療した症例について収集した。一次調査、二次調査ともに各施設の担当者に記入を依頼し、郵送法により実施した。

一次調査の内容は以下である。

結核病床を有する (有した) 医療機関には、年次ごとの結核入院患者のうち H M 感染症合併例数・H M 感染症合併例のうちの多剤耐性結核例数、H M 拠点病院 (結核病床を有さない) には、H M 感染症合併の結核例数・H M 感染症合併結核例のうちの多剤耐性結核例数、保健所には、結核新登録患者数 (確定例) 数・結核患者のうち H M 感染症合併例数・H M 感染症合併例のうちの多剤耐性結核例数である。

関連調査としては、24 年度の単年度調査では、H M 合併結核の患者を受け入れた経験がある施設に対して、病棟内でどの病室 (陰圧室) を使用するか、前室の有無、などについてもアンケート調査を行った。また、25 年度の単年度調査では、結核診療機関を対象に「結核入院患者に対する H M スクリーニング検査の実施率 (概数) を教えてください。」と質問し、20% 区切りの概数選択方式による回答を求めた。

H M 感染合併結核症例を有すると返答があった医療機関に対して、症例に関する匿名化二次調査を行った。二次調査に使用した症例調査票は国立病院機構病院の症例調査票と共通のフォーマットとし、主として結核および H M に関する臨床的データに関して記載を依頼した。返送された調査票に基づき、H M 耐性結核の臨床像および抗結核薬に対する耐性状況について検討した。

(倫理面への配慮)

症例を持つ施設に対して患者データ提供を求めるところについては患者を特定できないよう匿名化されたデータのみを収集した。厚労省の「疫学研究に関する倫理指針」に基づき、研究者分担者の所属する東京都立多摩総合医療センターの倫理委員会 (平成 23 年 9 月 5 日: 受付番号 20)、公益財団法人東京都保健医療公社多摩北部医療センターの倫理委員会 (平成 24 年 7 月 23 日: 受付番号 24-4、平成 25 年 6 月 21 日: 受付番号 25-7) にて承認を得た。

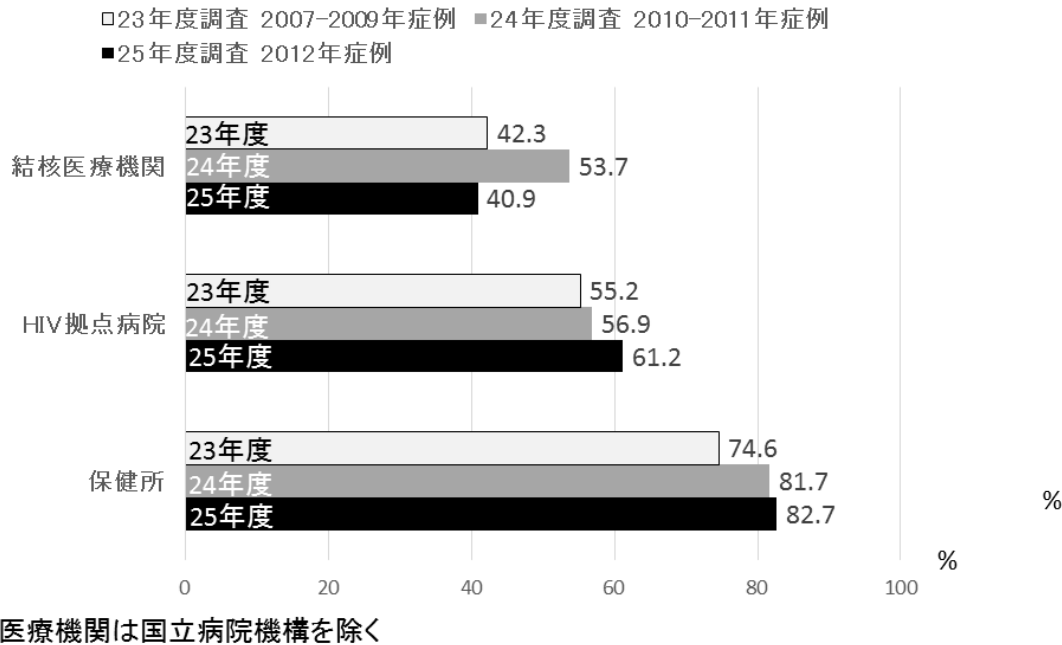
C. 研究結果

(1) 一次調査の結果

各調査年別の回収率は、結核診療機関は 40.9%~53.7%、H M 拠点病院 (結核病床を有さない) は 55.2%~61.9%、保健所の 74.6%~82.7% と、保健所からの回収率が高かった (図 1)。施設の統廃合など理由が判明した場合には施設数を調整し回収率を算定した。また、返答数には症例のない施設も含まれる。なお、結核診療機関数については、25 年度には 235 施設と減少し、また結核患者の受け入れを休止した医療機関もあることから回収率が低かった可能性はあり、一方 24 年度調査については結核入院患者総数を尋ねなかったため、調査の簡易化により回収率がやや高くなったと推定される。

年次別の結核診療機関と保健所の H M 感染合併

図1 一次調査の回収率 (%)



結核症例数の集計結果を表1に示す。国立病院機構の病院を除く医療機関から報告されたHM感染合併結核の症例数は、平均で年9例、うち多剤耐性結核は0例であった。HM感染合併結核症例数に関しても経年的な増加傾向は認められなかった。

一方、保健所を対象とした調査からは、症例数は結核登録情報システムによるHM合併例患者数統計よりも回収率見合いで下回り、新登録患者に対するHM感染合併結核症例の割合は結核登録情報システムとほぼ同様の0.2%~0.3%前後であったが、2011年症例に関しては回収率を勘案しても本調査で症例を拾い切れていないと思われる結果となった。多剤耐性結核の6年間で3例であった。地域的な集積傾向も認められなかった。

表2に、結核病床を有さないHM拠点病院の症例数を加えた結果を示す。6年間でHM拠点病院の症例数168例、結核医療機関(結核病院)54例の計222例であり、HM拠点病院において少なからずHM感染合併結核患者を診療している状況であった。多剤耐性結核についてはHM拠点病院から合計2例の報告があった。なお、本分担研究には国立病院機構の症例は含まれていないが、国立病院機構分を加えると保健所調査による症例数をやや上回ると思われた。

(2) 二次調査の結果(表3)

症例を有すると回答した医療機関に対して二次調査を行った結果、222例中191例の症例調査票が回収された(86.0%)。男性168例、女性17例、性別記載なしが6例と9割弱が男性であった。外国人は48例(25.0%)、出身国は東南アジアが31例、

アフリカが6例、と結核高蔓延国が多くを占めた(表2)。結核診断時のCD4陽性リンパ球数は1~707とばらつきがみられたが、平均は $148 \pm 144/\mu\text{L}$ であった。粟粒結核を除く肺外結核は75例(39.3%)、粟粒結核は48例(25.1%)と肺外結核が多いのが特徴であった。何らかの検体で結核菌陽性(塗抹陽性または培養陽性)であったものは144例(75.4%)で、喀痰検体で陽性は94例(49.2%)、喀痰陰性・胃液陽性は15例(7.9%)と、感染性またはその疑いありの例は約半数であった。

(3) 抗結核薬に対する耐性の状況

何らかの薬剤に耐性があったと記載された例は22例で、少なくともNHに耐性は最も多く12例、うちNH単独耐性は5例であった。二次調査で確認された多剤耐性結核は2例(日本人と中国人)で、そのパターンは前者がNHとRFPの2剤耐性、後者がNH、RFP、SM耐性であった。外国人においては、何らかの薬剤耐性を有する例が48例中6例であり、日本人と頻度に差を認めなかった。しかしながら、RFP耐性の2例の出身国は東南アジアであり、1例はRF単独耐性、1例はRFとSMに耐性であった(表4)。

結核菌陽性例中の薬剤耐性頻度を表5に示す。国内における耐性頻度については、結核発生动向調査によるデータや結核療法研究協議会による菌株検査の報告は存在するが、本調査は各施設あるいは委託施設の薬剤感受性試験結果によるものであり、また詳細な結核治療歴などは調査しておらず、単純な比較が困難である。しかしながら、結核発生动向調査の結果と比較して明らかな差はないように思われた。

表1 年次別のHIV感染合併結核患者数(結核医療機関・保健所)

	2007年			2008年			2009年			2010年			2011年			2012年		
	結核患者	HIV感染合併	多剤耐性結核	結核患者	HIV感染合併	多剤耐性結核	結核患者	HIV感染合併	多剤耐性結核	結核患者	HIV感染合併	多剤耐性結核	結核患者	HIV感染合併	多剤耐性結核	結核患者	HIV感染合併	多剤耐性結核
結核病院入院例	4424	7 0.16%	0	4280	14 0.33%	0	4091	9 0.22%	0	NA	7	0	NA	11	0	3152	6 0.19%	0
(参考) HIV陽性率前向き調査*				0.37%														
保健所	20827	47 0.23%	1	20364	62 0.30%	1	19873	35 0.18%	0	18613	42 0.23%	0	18204	46 0.25%	0	18519	51 0.28%	1
(参考) 結核統計**	23511	57 0.24%		24730	67 0.27%		24170	52 0.22%		23261	53 0.23%		22681	75 0.33%		21283	62 0.29%	

* 結核病院入院患者調査:加藤 誠也; 日本におけるHIV合併結核に関する調査. 厚生労働科学新興・再興感染症研究費事業「結核菌に関する研究」平成20年度総括・分担研究報告書 191-201, 2009

** 結核登録情報システムによる報告数

表2 HIV感染合併結核と多剤耐性結核の報告数

	2007年		2008年		2009年		2010年		2011年		2012年		計	
	HIV感染合併	多剤耐性結核	HIV感染合併	多剤耐性結核	HIV感染合併	多剤耐性結核	HIV感染合併	多剤耐性結核	HIV感染合併	多剤耐性結核	HIV感染合併	多剤耐性結核	HIV感染合併	多剤耐性結核
①結核病院入院例	7	0	14	0	9	0	7	0	11	0	6	0	54	0
②HIV拠点病院	29	0	34	1	34	0	23	0	22	0	26	1	168	2
③=①+②	36	0	48	1	43	0	30	0	33	0	32	1	222	2
保健所	47	1	62	1	35	0	42	0	46	0	51	1	283	3

表3 191例(二次調査)の結核診断状況

	例数 (%)
部位	
肺結核	90 (47.1%)
肺外結核合併(粟粒以外)	75 (39.3%)
粟粒結核	48 (25.1%)
菌検査	
菌陽性(塗抹または培養)	144 (75.4%)
喀痰検体	94 (49.2%)
胃液検体(喀痰陰性)	15 (7.9%)
その他の検体で陽性*	33 (17.3%)
何らかの薬剤耐性	22 (11.5%)
全症例	191

* 検体種類不詳を含む

図2 外国人(45例)の国籍別症例数

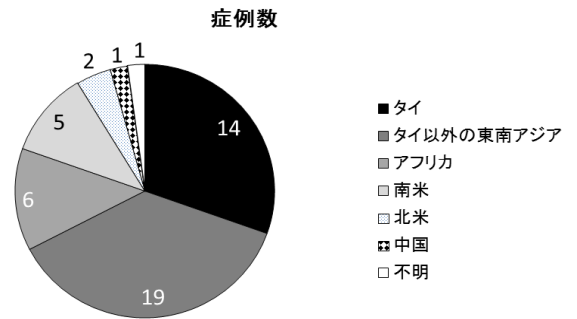


表4 日本人と外国人における抗結核薬耐性例数(二次調査全191例)

	日本人	外国人	合計
症例数	140	48	191 *
何らかの薬剤耐性	16	6	22
INH耐性	10	2	12
INH単独	6	0	6
INH+SM	3	0	3
INH+EB+SM	0	1	1
MDR	1	1	2
RFP耐性(MDR以外)	0	2	2
SM単独耐性	2	2	4
PZA単独耐性	3	0	3
LVFX耐性	1	0	1

* 国籍記載なし3例を含む

表5 二次調査における抗結核薬耐性頻度

	菌陽性	全例
例数	145	191
何らかの薬剤耐性	15.2%	11.5%
PZA除く薬剤耐性	13.1%	9.9%
INH耐性	8.3%	6.3%
INH単独	4.1%	3.1%
INH+SM	2.1%	1.6%
INH+EB+SM	0.7%	0.5%
MDR	1.4%	1.0%
RFP耐性(MDR以外)	1.4%	1.0%
SM単独耐性	2.8%	2.1%
PZA単独耐性	2.1%	1.6%
LVFX耐性	0.7%	0.5%

(4) HM合併結核の患者を受け入れた施設における病室環境(24年度単年度調査)

2010年と2011年にHM感染症合併結核患者(喀痰塗抹陽性およびその恐れ)を受け入れた病室については、結核医療機関10施設のうち、「結核病棟内の病室」が6施設、「結核病棟内のHM専用室」が1施設、その他が3施設であった。「前室あり」が3施設、「前室なし」が5施設、未記入2施設であった。「陰圧換気あり」が6施設、「陰陽圧を調整可能」が2施設、未記入2室で、患者入室時に毎日陰圧を確認した施設は設備を有する8施設中7であった。

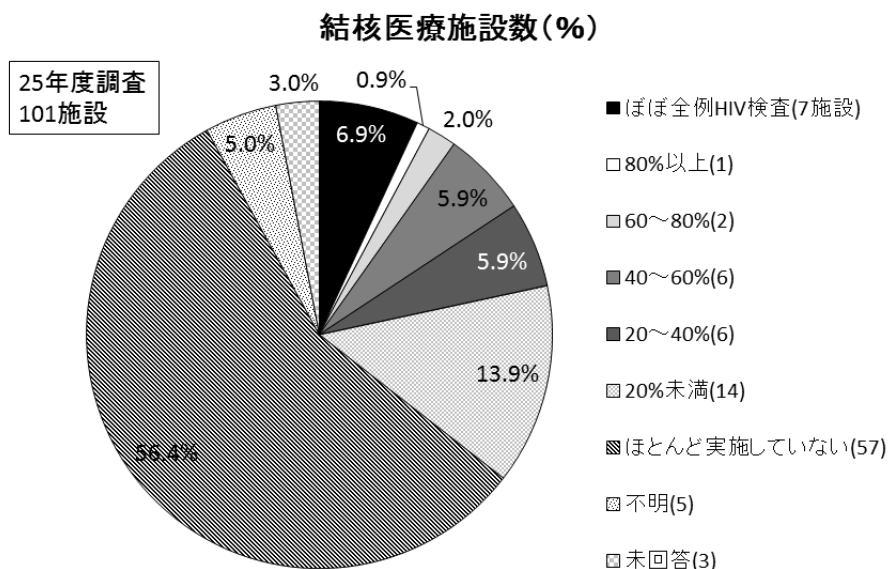
一方、HM拠点病院17施設では、「一般病棟内の個室」3施設、「一般病棟内の専用室(陰圧室を含む)」5施設、「感染症病棟内の病室」4施設、「感染症病棟内の専用室」2施設、その他3施設であっ

た。「前室あり」が9施設、「前室なし」が5施設、未記入3施設であった。陰圧換気ありが9施設、陰陽圧を調整可能が2施設、未記入が6施設で、患者入室時に毎日陰圧を確認した施設は設備を有する11施設中8施設であった。

(5) 結核医療機関における結核入院患者に対するHMスクリーニング検査の実施率(25年度単年度調査)

HMスクリーニング検査の実施率について、101施設におけるアンケート調査結果を図3に示す。56.4%の施設はHM検査を「ほとんど実施していない」と回答した。「ほぼ全例に検査」は7施設6.9%で、60%以上と80%以上の検査実施を併せても10施設9.9%であった。

図3 結核医療機関における結核入院患者に対する HIVスクリーニング検査の実施率(概数)



D. 考察

過去に海外で H M 感染者における多剤耐性結核のアウトブレイクが報告され、H M 感染と多剤耐性結核の関係については注目されてきた。しかし、WHO は 18 国・地域におけるコホート調査から、H M 陽性者では H M 陰性者と比べて多剤耐性結核はオッズ比 1.4 であったが統計学的には有意でなかったと報告している⁵⁾。今回の日本国内における調査においても、H M 感染者の間に多剤耐性結核がまん延している状況はないと考えられた。しかしながら、191 例のうちで外国人比率が 25.0%と 2011 年の全国新登録結核患者の外国出生者率 4%よりも多く、多剤耐性のうち 1 例は中国人で、東南アジア出身者 2 例の R F 耐性であり、引き続き耐性菌の動向には注意していく必要がある。

また、前述の WHO の検討においても多数例が H M 検査結果不明であると付記されており⁵⁾、今回の調査でも結核医療機関のうち結核入院患者に対する H M 検査を実施状況調査では、患者の 60%以上に実施しているのが 1 割未満の医療機関であり、外来のみの患者の状況はさらに低いと推測されることから、結核患者における正確な H M 感染の有無を把握することが今後の課題である。

薬剤感受性結核のうち I N 耐性については日本人でやや目立つ結果であったが、対照とすべき結核療法研究協議会の調査は菌株を収集して統一した方法で検査する方式であり、薬剤感受性試験方法の違いなどのため、単純な比較ができない。既治療例では耐性の頻度が上がるが、本調査では詳細な結核治療歴については調査していない。しかしながら、今後 H M 感染症患者における潜在性結核感染症治療の普及が見込まれることから、注目していく必要はある。

日本の結核対策・国際合同レビュー 2011 年⁶⁾によると「TB/H M」に関して、(1)結核と H M に関わる機関やグループは、保健と社会福祉システムのすべてのレベルで連携と協調をすべきである、(2)厚労省あるいは結核病学会は H M プログラムと協調して、すべての結核患者に H M 検査を実施することを義務付けるべきである、(3)厚労省・県・市は H M 合併結核患者で入院を要する場合には、結核病棟を有する 69 の H M 専門病院のみに入院させて治療するようにすべきである、と提言されている。

そこで、24 年度の調査では、H M 合併結核の患者を受け入れた施設における病室環境を尋ねた。結核病棟を有さない H M 拠点病院においても喀痰塗抹陽性の恐れがある患者に対して、個室や専用室を利用して対応している実態が判明した。結核医療機関と H M 拠点病院のうち陰圧室を持つ施設の 79%では陰圧を毎日確認しており、一部の施設では陰陽圧の調整が可能であった。医療機関内で多剤耐性結核の感染予防対策としては、個室や専用室の利用、前室の設置、陰陽圧の調整が有効であると考えられる。

日本の結核登録情報システムにおいても H M 合併例の把握がなされており、調査期間の 6 年間の症例数については概ね結核登録情報システムのデータと同様の傾向であった。保健所側からは H M の有無に関しては把握しきれていないとの指摘がある。ただ、医療機関に対する調査による H M 感染結核合併頻度は行政レベルの統計と大きな差はないように思われた。今後は結核登録情報システムを活用あるいはそれを発展させた仕組みに基づいて、多剤耐性結核と H M 合併の実態を把握することは可能であろう。その前提としては、前述のように結核患者における正確な H M 感染の有無を把握することが重要であり、そのためには結核患者に対する H M 抗体検

査を保険適応とし、保健所においてその結果を把握できるようなシステムを構築することを提案したい。

E. 結論

1. 多剤耐性結核と HIV 感染合併に関する全国調査の結果、多剤耐性結核は 2007~ 2012年の 6年間に 3例(一次調査)であり、地域も異なることから HIV 感染者の間で多剤耐性結核がまん延している状況はないと考えられた。
2. 2007~ 2012年までの菌陽性 145例(二次調査)において、多剤耐性結核は 2例(1.4%)で日本人と中国人あった。また、「少なくとも NH耐性」は 12例 8.3%、「MDR以外の RFP耐性」は 2例 1.4%で、RFP耐性は 2例とも外国であり多剤耐性化リスクが高いため注意を要する。
3. 結核中蔓延国である日本において、多剤耐性結核と HIV 感染の合併例の報告は少なかったが、結核患者に対する HIV 抗体検査を実施していない結核医療機関が 6割弱存在していたので、把握されていない例が存在する可能性はある。

謝辞

調査にご協力いただきました全国の保健所、結核病床を有する病院、HIV 拠点病院に深謝致します。

参考文献

1. Wells CD, Cegielski JP, Nelson LJ, et al. HIV infection and multidrug-resistant tuberculosis—The perfect storm. *J Infect Dis.* 196 (Suppl 1):S86–S107, 2007.
2. 加藤誠也: 日本における HIV 合併結核に関する調査. 厚生労働科学新興・再興感染症研究費事業「結核菌に関する研究」平成 20 年度総括・分担研究報告書 191–201, 2009
3. 村松崇、藤田明、柳澤如樹、他: HAART 時代の HIV 合併結核に関する検討. *日本エイズ学会誌* 11:502, 2009
4. 千葉明生、田沼順子、橋本亜希、他: 当センターの HIV 感染者における結核症例の検討. 第 24 回日本エイズ学会学術集会口演 2010
5. Zignol M, von Gemert W, Dennis Falzon D et al. Surveillance of anti-tuberculosis drug resistance in the world: an updated analysis, 2007–2010. *Bulletin of the World Health Organization* 90:111–119D. doi:10.2471/BLT.11.092585. 2012
6. 厚生労働科学研究補助金新型インフルエンザ等新興・再興感染症事業「日本の結核対策 国際合同レビュー2011年」2011年

F. 健康危険情報

日本国内で HIV 感染者の間で多剤耐性結核がまん延している状況はないと考えられたが、多剤耐性化リスクを有する RFP 耐性 2 例の出身国は東南アジアであり、今後の動向には注意を要する。

G. 研究発表

1. 日本語論文

2. 国内学会発表

1. 藤田明. 第 86 回日本結核病学会シンポジウム 3-2「結核の現状と問題点—エイズ学会から」2011年6月(東京)
2. 藤田明. 第 86 回日本結核病学会ミニシンポジウム 3-2「HIV 感染者やステロイド服用患者等の免疫脆弱宿主において IGRAs (Interferon-Release Assays) をどのように利用するか?」2011年6月(東京)
3. 阪下健太郎, 藤田明, 畠山修司, 他. HIV 感染者患者におけるクオンティフェロン TB ゴールドを利用した潜在性結核感染症スクリーニングに関する検討. 第 52 回日本呼吸器学会学術集会 2012年4月(神戸)
4. 藤田明, 永井英明, 青木孝弘, 岡田全司. 多剤耐性結核と HIV 感染合併の全国実態調査. 第 29 回日本エイズ学会学術集会口演 2013年11月(熊本)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

[] 中国とフィリピンで収集した結核菌の遺伝子・免疫学的解析

研究分担者 服部俊夫 東北大学災害科学国際研究所 教授
研究協力者 凌 虹 ハルビン医科大学微生物学教室 教授
張曉燕 復旦大学公衆衛生学院新興感染症センター 教授
Elizabeth Telan SACCL 所長
鈴木定彦 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター
国際疫学分野 教授
中島千絵 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター
国際疫学分野 助教

研究要旨

結核感染拡大阻止に向けて、結核菌の遺伝子解析とそれに対する免疫反応の解析をフィリピンと中国の検体を用いて行った。中国の検体では北京型特異的な抗体反応の存在を認めた。抗 PCR 法も用いた。フィリピンではフィリピンの患者の喀痰を用いて結核菌を LAMP 法で確認し、spoligo typing 法で遺伝子型を同定した。

A. 研究目的

中国東北部（ハルビン医科大学）、南部（上海・復旦大学）、フィリピン（マニラ・サンラザロ病院）との共同研究を通して同地の結核菌の分子遺伝子学的に特性、薬剤耐性、免疫応答性の解析によって日本に輸入感染症としての危険性を把握し対策を立案する。

北京/非北京型の結核菌を新たな Rv0679c multiplex PCR 法を用いて平易で、さらに低価格でモニターできる方法の開発を目指した。さらに Rv0679c 抗体を測定することによって血清学的に活動性結核患者と潜在性結核感染者の結核菌の遺伝子型を同定する。

フィリピンに loop isothermal amplification assay (LAMP) を導入し、その有効性を実証する。Spoligo typing 法を用いてアジアに多く流布する北京型結核菌感染をマニラにおいて確認する。各遺伝子型の特徴な免疫反応を 40 種以上のバイオマーカーを用いて明らかにする。さらに適切なカットオフを同定し、将来の診断方法に用いられるマーカーとマーカーの組み合わせを明示する。

B. 研究方法

1. ハルビン医科大学で収集した 44 例の喀痰からの結核菌を培養し、抽出した DNA の分析が日本で行った。PCR を用いて Rv0679c, RD105, RD207, Tbd1 の領域を調べた。復旦大学で肺結核 45 人、肺外結核 26 人、AIDS 結核 16 人を含め、87 例の結核患者 39 例健康者ともに血漿中の Rv0679c IgG と IgA 抗体を ELISA 法で測定した。

2. サンラザロ病院の未治療結核患者（37 例）の喀痰と血漿を集めた。喀痰から DNA を抽出し、現場で LAMP 法を用いて MTB complex を確認した。また日本において spoligo typing 法で結核菌遺伝子型を同定した。血漿中の 38 種のサイトカインとケモカインを Luminescence 法で、osteopontin (OPN), galectin-9 (gal-9) と TBGL IgG・IgA を ELISA 法で測定した。

C. 研究結果

1. 中国・黒竜江省の結核菌の解析では 44 例中 42 例 (95%) は北京型であり、その中 2 例は新たな北京型を同定した。他の 2 例 (5%) はまだ分類されていない新たな非北京型のサブタイプであった。さらに薬剤耐性結核の解析を行い黒竜江省の結核菌の解析では 1,230 株の解析を行い、通常の抗結核剤あるいはフルオロキノロンに対する抵抗性を検討した。その結果、通常の抗結核剤に対する抵抗性は 2007 年から 2011 年までの薬剤耐性株は 58.4% で MDR は 23.3% であった。耐性株の比率は 2009 年が最も高く、2011 年が最も低かった。2011 年では新規患者の 8.1% が、治療歴のある患者の 31.9% が MDR-TB であった。期間全体では、何らかの薬剤耐性を示したものが 35%、MDR が 23% であった。

さらに Rv0679c 点突然変異を検出するため単純な multiplex PCR 法を開発し、619 臨床分離株に適用した。この法によって非北京型と北京型の株を 100% の正確さで鑑別できる。この迅速なかつ費用対効果の高い multiplex PCR 法を北京型結核菌感染の有病率を監視するために使用することができた。

復旦大学に所属する上海公衆衛生臨床センターで 200 検体の結核患者及び正常人のサンプルを検索した。肺結核中 TBGL-IgG 抗体の検出感度及び特異度はそれぞれ 67.4% と 81.0% であった。また TBGL-IgA 抗体の検出感度及び特異度はそれぞれ 45.7% と 89.7% である。Rv0679c 蛋白の BCG 型 (Asn) と北京型 (Lys) との IgG・IgA 抗体を検索した。肺結核患者中に Rv0679c-Asn-IgA 及び Rv0679c-Lys-IgA の高値を検出した。空洞と胸水のある症例では Rv0679c-Asn-IgA 及び Rv0679c-Lys-IgA が低い傾向があった。上海での 45 例の肺結核中の 24 例 (53.3%) は Rv0679c-Lys142 に対する IgG 抗体を検出した一方、4 例 (8.9%) は Rv0679c-Asn142-IgG を検出しなかった。Lys142-IgG と C-Reactive Protein (CRP) の相関を初めて発見した。

2. フィリピン・マニラのサンラザロ病院の抗酸菌染色陽性菌は 100% MTB complex であることを LAMP 法で確認した。Spoligotyping によって結核菌の遺伝子型は全てマニラ型であることを明らかにした。判別関数解析およびレシーバオペレータ特性曲線分析によってバイオマーカーの予測能力を評価し、最大限に検討グループ間を区別検体のセットを選択するカットオフ値を同定した。OPN, IP-10 と好中球は結核発症のマーカーとして使用できた。また OPN, IP-10, 好中球, IL-6, IL-8, TNF- α , MCP-1 血小板, gal-9, 及び白血球数との組み合わせで結核を 96.3% 正確に予測できた。フィリピンにおいては TBGL IgG の適切なカットオフは 4 U/ml が妥当と思われた。

E. 考察と D. 結論

中国とフィリピンにおける結核の共同研究体制を確立した。この3年間のデータをもとに、結核菌の北京型同定のための抗 Rv0679c 抗原に対する血清診断の試みと IgA 抗体産生機序とその意義についてさらに研究を行う。さらにインドネシアの検体も Human security course の教育経由で入手が可能であり、既に LTBI, TB 患者由来の血漿は入手済みである。さらにインドネシアの留学生結核患者の結核菌も現在解析中であり、その遺伝子型の解析にも努める。また東北地方はの外来結核菌の侵入程度を検索するための東北地方の結核菌の遺伝子型も検索する。

この研究において、中国における北京型・薬剤耐性の頻度が極めて高いことが再確認された。またフィリピンにおいては北京型がいまだに確認されており、その理由の解明も必要である。今後我が国の結核菌型も同定しながら、我が国に留まらず近隣諸国の結核感染阻止対策を提言したい。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakajima C, Tamaru A, Rahim Z, Poudel A, Maharjan B, Aye KS, Ling H, Hattori T, Iwamoto T, Fukushima Y, Suzuki H, Suzuki Y, Matsuba T. A simple multiplex PCR for the identification of Beijing family of Mycobacterium tuberculosis with a lineage-specific mutation in Rv0679c. *J Clin Microbiol* 51(7):2025-2032, 2013

2. 学会発表

1. Shiratori B., Okumura, M., Yanai, H., Yoshiyama, T., Chagan-Yasutan, H., Tanaka, M., Matsumoto, M., and Hattori, T.: A ttempt to distinguish between LTBI and active TB by latency-related antigens and biomarkers. The Third B izan Immunology Symposium at The University of Tokushima (BSUT3) "Immune System Development, Deviation, and Regulation". Tokushima, Japan. 13-14th February 2014.
2. Shiratori B., Hasibuan, FM., Senoputra AM., Alisjahbana B., and Hattori, T.: A ttempt

to find novel biomarkers for LTBI diagnosis - Indonesia study. The 3rd Conference on Otsuka-Biotec Collaborative Research of the Strategic Japanese-Thailand Cooperative Programme "Development of new diagnostic and drug for latent tuberculosis or non-replicating tuberculosis". Tokushima, Japan. 15th February 2014.

3. Shiratori B., Leano, S., Nakajima C., Chagan-Yasutan, H., Niki, T., Suzuki, Y., Telan, E., and Hattori, T.: High levels of OPN, IP-10 and neurophilia in LAMP confirmed TB patients in Manila. 87th Annual Meeting of Japanese Society for Bacteriology. Tokyo, Japan. 26-28th March 2014.
4. Shiratori B., Leano, S., Zhao, J., Chagan-Yasutan, H., Niki, T., Hirashima, M., Telan, E., and Hattori, T.: Increased production of galectin-9 in treatment naive pulmonary TB patients in Metro Manila. NIIH Tohoku University-JSPS Symposium. Sendai, Japan. 9-11th May 2013.
5. Shiratori B. and Hattori, T.: Immunological status of treatment-naive sputum positive TB patients in Manila. The 1st meeting of Ministry of Health, Labour and Welfare science research grants (Emerging and reemerging infectious disease research project). Osaka, Japan. 5th July 2013.
6. Shiratori B., Leano, S., Zhao, J., Chagan-Yasutan, H., Niki, T., Hirashima, M., Telan, E., and Hattori, T.: Immunological status of Treatment-Naive Sputum Positive Pulmonary TB Patients in Metro Manila. US-JAPAN Cooperative Medical Science Program: Tuberculosis and Leprosy Panel. Sapporo, Japan. 17th August 2013.
7. Shiratori B., Leano, S., Chagan-Yasutan, H., Niki, T., Okada, M., Nakajima C., Suzuki, Y., Telan, E., and Hattori, T.: Molecular and immunological status of sputum positive TB in Philippines. 67th Annual Meeting of Japanese Society for Bacteriology. Tohoku Branch. Sendai, Japan. 30-31st August 2013.

その他

DVD 教材

サハラ以南アフリカにおける感染症 -グローバル感染症入門-

【企画】厚生労働科学研究費補助金 地球規模保健課題推進事業

サハラ以南アフリカにおけるエイズ・結核研究ネットワーク構築に関する研究班

【原案監修】服部俊夫 (東北大学 教授)

【学術協力】鈴木定彦 (北海道大学 教授)

井戸栄治 (東京医科歯科大学 特任教授)

松岡正典 (国立感染症研究所 ハンセン病研究センター)

後藤正道（鹿児島大学鹿児島大学大学院医歯学総合
研究科 国立療養所星塚敬愛園 園長）
圓純一郎（鹿児島大学鹿児島大学大学院医歯学総合
研究科 国立療養所星塚敬愛園）
【企画協力】喜田宏（北海道大学 特任教授）
【制作】（株）医学映像教育センター

H. 知的財産権の出願・登録状況

出願番号：特願 2013-046197
発明者：大島吉輝 服部俊夫 他6名
発明の名称：ジクチオピロン誘導体又はジヒドロ
ジクチオピロン誘導体を有効成分とする
オステオポンチン産生阻害剤
出願人：国立大学法人東北大学 国立大学法人群
馬大学 扶桑薬品工業株式会社
出願日：2013年3月8日

[] 日本（大阪・神戸・西日本）における海外から輸入される結核の実態把握及び分子疫学的解析

研究分担者 下内 昭 結核研究所
研究協力者 小向 潤 大阪市保健所
松本健二 大阪市保健所

研究要旨

(1) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向

2008～2012年に大阪市で新規登録された外国人（外国出生）結核患者を対象とした。外国人は、20代に限ると2008年13.6%から2012年29.3%へと年々増加していた。性別は女性が約半数を占めており2012年15名（44.1%）であった。年齢の中央値は2012年27.5歳であり、ここ3年は大きな変化は見られなかった。出身国は、5年間の合計では中国・韓国・フィリピンの順に多かったが、特に近年韓国が減少し、中国の増加がみられた。また入国から5年未満で登録された者は約半数を占めていた。日本語学校生の割合は、2008年には12.1%であったが、2012年には23.5%を占めていた。これらの結果より外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。

(2) 日本語学校に在籍する外国人に対する結核健診

2011～13年に実施した日本語学校に在籍する外国出生者への結核健診受診者のうち、再受診者546名を除く4529名を対象として分析を行った。平均年齢は23.3歳であり、男性は2394名（52.9%）であった。出身国は、中国2378名（52.5%）、韓国920名（20.3%）、ベトナム739名（16.3%）、インドネシア101名（2.2%）、タイ68名（1.5%）、モンゴル44名（1.0%）、その他279名（6.2%）であった。入国時期不明1384名を除く3145名の入国から健診受診日までの期間は中央値63日であった。最終的に活動性結核と診断された者は19名（0.4%）であり、平成23年の大阪市の一般人口での健診発見率（0.08%）に比べて有意に高く、同年のホームレスなどを対象としたあいりん地域での健診発見率（0.6%）に近かった。入国から健診受診までの期間は中央値137日（17～401日）であった。健診時の胸部X線で空洞を認めた者は2名（10.5%）であり、2名とも塗抹陽性であった。塗抹陰性は16名中14名（87.5%）であり、より軽症で発見されていた。以上より日本語学校における健診は結核の早期発見に寄与していると考えられた。

(3) 外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析

外国出生患者由来結核菌株のVNTR解析をすることにより、国内での伝播状況を考察した。2010年～2013年に登録された外国出生結核患者のうちVNTR解析を実施した54名と、40歳未満の日本出生216名を比較した。VNTR解析は、JATA12-VNTRを行い、完全一致した場合にはHV4領域を含む12追加領域を解析した。

年齢の中央値は、外国出生群30.5歳、日本出生群31歳、男女比はそれぞれ1.8、1.6であった。外国出生群と日本出生群の間で追加領域を含む24領域すべて一致したものはなかった。外国出生群内で、追加領域を含む24領域すべて一致したものはなく、JATA12一致かつ追加領域不一致は15例（27.8%）、JATA12一致かつ追加領域不明は1例（1.9%）、JATA12不一致は38例（70.4%）であった。

一方、日本出生群内で追加領域を含む24領域すべて一致したのは44例（20.4%）、JATA12一致かつ追加領域不一致は43例（19.9%）、JATA12一致かつ追加領域不明は37例（17.1%）、JATA12不一致は92例（42.6%）であった。外国出生群の型別一致率は日本出生群より有意に低かった。外国出生者と日本出生者との型別を比較したところ、追加領域を含む24領域すべて一致したのは2例（3.7%）であった。この2組は、

49歳ブラジル出生者1名（入国8年）と29歳日本出生者1名、64歳ペルー出生者1名（入国3年）と24歳日本出生者1名であったが、疫学的なつながりはみいだせなかったため、外国人由来株が日本人由来株同様に国内で感染伝播しているとはいえなかった。

A. 研究目的

(1) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向

2008年以降に大阪市において登録された全結核患者に占める外国人（外国出生）の割合は、全年齢で見ると3%前後で大きな変化はみられなかったが、20代に限ると2008年13.6%から2012年29.3%へと年々増加していた。外国人結核対策に資するため、大阪市において外国出生結核患者の発生動向を調査した。

(2) 日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

2013年現在大阪市には34校の日本語学校があり、うち専修学校（健診義務あり）は13校、その他（健診義務なし）は21校であった。2011年4月より、健診義務の対象となっていない者（専修学校以外の学校および専修学校のうち短期コースの者）に対する健診を実施している。

(3) 外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析

外国出生患者由来結核菌株のVNTR解析をすることにより、国内での伝播状況を考察した。

B. 研究方法

(1) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向
2008年～2012年に大阪市で新規登録された外国人(外国出生)結核患者の発生動向を調査した。性別・年齢・出身国・入国から結核登録までの期間・職業について分析した。

(2) 日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

2011～13年に日本語学校19校に所属する外国出生者に対し結核健診を実施した。日本出生者、国籍不明、再受診者を除いて分析を行った。受診者の年齢・性別・出身国・健診結果・精密検査結果を分析した。最終的に活動性結核と診断された者については、来日から健診受診までの期間・症状・結核既往・病型・菌情報などについて分析した。

(3) 外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析

2010年～2013年に登録された外国出生結核患者は141名であり、うち培養陽性は74名(52.5%)であった。そのうちVNTR解析を実施した者は54名(73.0%)であった。対照として、2010年～2013年に登録された40歳未満の日本出生培養陽性結核患者338名の中でJATA12-VNTRを実施した216名(63.9%)と比較した。VNTR解析は、JATA12-VNTRを行い、完全一致した場合にはHV4領域を含む12追加領域を解析した。

C. 結果

(1) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向
外国人患者は、2008年の33名以降毎年30名余りで推移しており、2012年は34名であった。性別は女性が約半数を占めており、2012年は15名(44.1%)であった。年齢の中央値は、2008年33.0歳から2012年27.5歳へと推移していた。出身国を見ると、2008年は中国10名(30.3%)、韓国9名(21.2%)、次いでフィリピン、タイがともに3名(9.1%)であった。その後中国の割合が増え、韓国の割合が減少し、2012年には中国が19名(56.3%)を占め、韓国は2名(6.3%)まで減少した。また入国から登録までの期間は、1年未満が43名(25.1%)、1～4年が48名(28.1%)であった。日本語学校に所属していた者の割合は、2008年4名(12.1%)から2012年8名(23.5%)へと増加傾向にあった。

(2) 日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

日本語学校において2011～13年の3年間で5091名に健診を実施した。日本出生および出身国不明であった16名、および外国出生者で再受診者546名を除く4529名を対象として分析を行った。平均年齢は23.3±4.4歳、14～70歳であった。男性は2394名(52.9%)であり、20代が全体の73.9%を占めていた。出身国は、中国2378名(52.5%)、韓国920名(20.3%)、ベトナム739名(16.3%)、インドネシア101名(2.2%)、タイ68名(1.5%)、モンゴル44名(1.0%)、その他279名(6.2%)であった。入国時期不明1384名を除く3145名の入国から健診受診日までの平均日数は145.9±167.9日、中央値63(3-3877)日であった。健診の結果、

結核が疑われた者は71名(1.6%)であった。精密検査の結果、最終的に活動性結核と診断された者は19名(0.4%)であった。19名の性別は、男性14名(73.7%)、女性5名(26.3%)であり、年齢は中央値23歳、18～29歳であった。出身国は中国12名(63.2%)、韓国2名(10.5%)、ネパール3名(15.8%)、ベトナム1名(5.3%)、フィリピン1名(5.3%)であり、入国から健診受診までの期間は中央値137日(17～401日)であった。健診時の胸部X線で空洞を認めた者は2名(10.5%)であり、2名とも塗抹陽性であった。他は塗抹陰性培養陽性が2名(10.5%)、塗抹陰性培養陰性は9名(47.4%)、塗抹陰性培養不明、菌情報不明ともに3名(15.8%)であった。

(3) 外国出生結核患者由来菌株のVNTR解析

平均年齢は、外国出生群37.1±18.7歳、日本出生群29.8±6.8歳、年齢の中央値はそれぞれ30.5、31歳、男女比はそれぞれ1.8、1.6であった。外国出生群内で、追加領域を含む24領域すべて一致したものはなく、JATA12一致かつ追加領域不一致は15例(27.8%)、JATA12一致かつ追加領域不明は1例(1.9%)、JATA12不一致は38例(70.4%)であった。一方、日本出生群内で追加領域を含む24領域すべて一致したのは44例(20.4%)、JATA12一致かつ追加領域不一致は43例(19.9%)、JATA12一致かつ追加領域不明は37例(17.1%)、JATA12不一致は92例(42.6%)であった。

外国出生者と日本出生者との型別を比較したところ、追加領域を含む24領域すべて一致したのは2例(3.7%)、JATA12一致かつ追加領域不一致は12例(22.2%)、JATA12一致かつ追加領域不明は2例(3.7%)、JATA12不一致は38例(70.4%)であった。24領域が一致した2組は、49歳ブラジル出生者1名(入国8年)と29歳日本出生者1名、64歳ペルー出生者1名(入国3年)と24歳日本出生者1名であった。

D. 考察

(1) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向
全結核患者に占める外国人結核患者の割合は年々増加しており、特に20代で外国人の占める割合が高く、2012年には29.3%に達していた。年齢の中央値は2012年27.5歳であり、ここ3年は大きな変化は見られなかった。出身国は、5年間の合計では中国・韓国・フィリピンの順に多かったが、特に近年韓国が減少し、中国の増加がみられた。また入国から5年未満で登録された者は約半数を占めていた。日本語学校生の割合は、2008年には12.1%であったが、2012年には23.5%を占めていた。これらの結果より外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。

(2) 日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

2011-13年の日本語学校健診において発見された活動性結核は19名(0.4%)であり、2014年大阪市の定期・住民健診における患者数6名(0.09%)より発見率は有意に高かった($p<0.001$)。結核と診

断された 19名のうち、入国後 1年未満である者は不明 2名を除く 17名中 16名(94.1%)を占めていた。これは大阪市における外国人結核(2007 11年、20 29歳 79名)で入国後 1年未満である者の割合 38.0%より高かった。また、塗抹陰性は 16名中 14名(87.5%)であり、より軽症で発見されていた。以上より日本語学校における健診は結核の早期発見に寄与していると考えられた。

(3) 外国出生結核患者由来菌株の VNTR 解析

外国出生者と日本出生者の間で、24領域一致したものは 1例もなかった。外国出生者内で 24領域一致したものは 1例もなかったが、日本出生者内では 44例(20.4%)と日本出生のほうが有意に高く、外国人由来株が日本人由来株同様に国内で感染伝播しているとはいえなかった。日本出生と外国出生で 24領域が一致していたのは 2組 4名であったが、疫学的なつながりは見いだせなかった。

E. 結論

(1) 大阪市における外国出生結核患者の発生動向

全結核患者に占める外国人結核患者の割合は年々増加しており、特に 20代で外国人の占める割合が高かった。職業では学生、特に日本語学校在籍している者が増加してきており、外国人が入国後早期に在籍することが多いと思われる日本語学校への健診を強化することが重要である。

(2) 日本語学校に在籍する外国出生者に対する結核健診

2011 13年に日本語学校に在籍する外国出生者に健診を行ったところ、19名(0.4%)の結核患者を発見した。これらのうち塗抹陰性は 16名中 14名(87.5%)であり、日本語学校における健診は結核の早期発見に寄与していると考えられた。

(3) 外国出生結核患者由来菌株の VNTR 解析

外国出生者と日本出生者の間で、24領域一致したものは 1例もなかった。外国出生者内で 24領域一致したものは 1例もなかったが、日本出生者内では 44例(20.4%)と日本出生のほうが有意に高く、外国人由来株が日本人由来株同様に国内で感染伝播しているとはいえなかった。

[] 難治性結核の分子疫学解析 (Molecular epidemiology study on recurrence TB in Thailand and Japan)

研究分担者 野内英樹 公益財団法人結核予防会複十字病院臨床検査部臨床検査診断科長

研究要旨

複十字病院とタイ・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。得られた疫学情報、臨床情報、細菌学的情報と共に、血液サンプルを活用して、結核の感染・発病と治療転帰のモデルに基づき、難治化していない新規の結核患者、及び結核症を発症していない正常人と比較する事により、多角的に難治化に関する因子の同定を進めている。主な成果としては、タイ国における菌体側の解析で難治性結核で北京株は 66.7%と全国平均の 20.8%に比して高い事などを報告した [Microbiol Immunol 2013 ;57(1):21-9]。更に、結核菌培養 1,333例 (1,319人より) と数を増やし、より詳細な解析法にて菌体の解析を実施した結果、臨床情報との相関で、北京株がより若年者に多く、耐性菌症例など難治性結核に多いなど上記の論文結果をより多くの数で確認・定量する結果が得られている。この結核患者 1319人での 1年間での死亡に関する危険因子を見たところ、Cox-Proportional Hazard 比モデルによる単回帰解析で、EA 株による結核患者が非 EA 株による患者よりハザード比で 2.7倍 1年死亡の危険が高かった。EA 株は死亡率が高い事が多い年齢が高い群で比率が大きいので、年齢や HM 感染状況、体重など死亡に影響する因子による交絡を多変量回帰で調整したが、調整ハザード比は 1.75 で菌株の種類の影響が独立して存在する事が示された。

A. 研究目的

多剤耐性結核、難治性結核患者の前向きコホートを含めた人と菌の検体バンクを活用し、日本への伝播も検討した疫学研究を目的とした。

岡田班本体「海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究 (H23-新興-一般-002)」が掲げる 海外から輸入される多剤耐性結核の分子疫学的解析、HM 合併の把握、多剤耐性結核の診断・治療の対応し、タイ NH という日本が建設してアジアの中心研究機関に育てるネットワークを活用した。前岡田班時代より進めている多剤耐性結核を含む難治性結核 (再発、治療失敗、慢性排菌例) 患者の正常治癒例と比較した検体バンクとコホートを、日本には少ない HM 感染毎の情報も持ちながら補強し、前記の研究目的の為の疫学研究を遂行した。

B. 研究方法

結核の感染・発病と治療転帰のモデル (図 1) に基づき、難治性の結核患者 (再発例、治療失敗例、慢性排菌例等) の要因に関して研究をしている。

(1) 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前回の岡田班より継続している。(1) の群に関しては、菌側のタイピングを活用して、厳格に内因性の再燃と外来性再感染を区別している。(2) 結核治療に反応が良く再発をしなかった群、(3) 結核に罹患していない正常人のコントロール群を設定し、比較の対象としている。ケース・コントロール研究の形態にて、(1) と (2) の比較により結核症の難治に関する種々の要因検討、(3) と結核症群 (12) の比較により結核自体の発症に関連する様々な疫学的因子の検討を進めている。

日本においては、公益財団法人 (公財) 結核予防会・複十字病院臨床検査部にて、タイ国においては、結核予防会・結核研究所とタイ保健省の共同プロジェクトが設立母体となり、現在はタイ NH 等とコンソーシアムを組んで運営しているタイ国チェンライ県の結核研究フィールドに参画して、検体バン

クと臨床データ管理を実施している。

複十字病院は厚生労働省より 2011年 5月に独立行政法人 (独) 国立病院機構・近畿中央胸部疾患センターと共に日本で 2カ所の結核医療の「高度専門施設」に指定されて先駆的役割を期待されている。抗結核薬開発と共に抗酸菌診断法の研究開発の参加依頼が来る。複十字病院は数多く多剤耐性結核症例が多く紹介されるので、多剤耐性結核が少なく再発、治療失敗、慢性排菌例を含めて難治性結核として症例数を増加させて研究する必要があるタイと異なり、多剤耐性結核を単独で検討できる。

(倫理面への配慮)

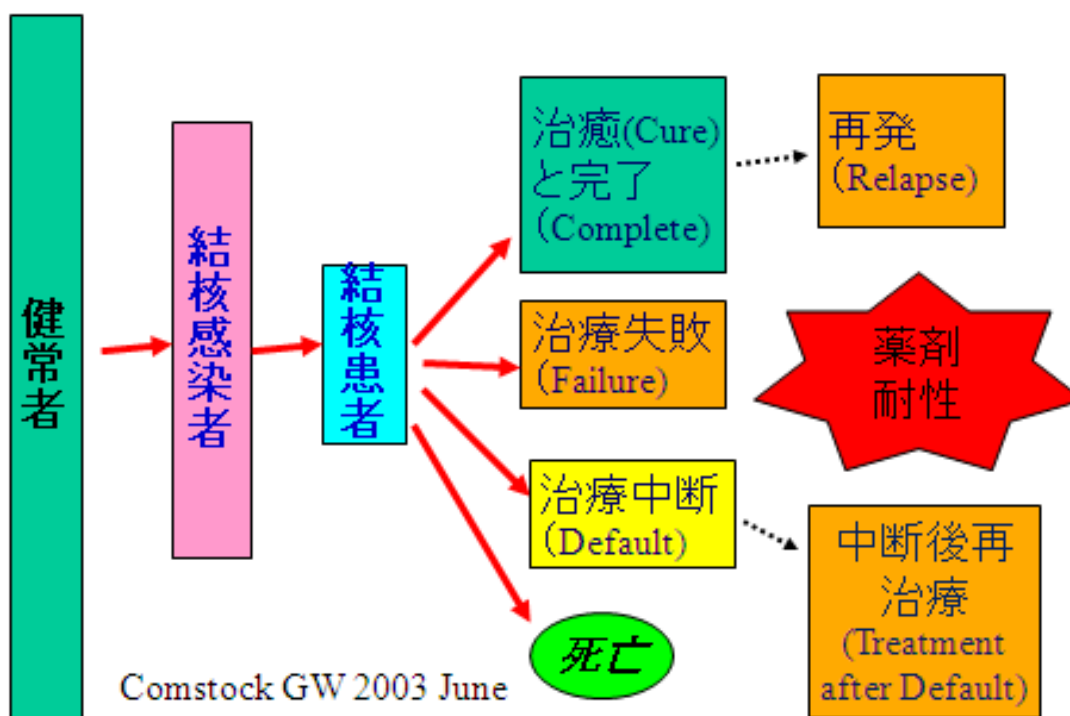
日本においては、臨床研究に関する倫理指針 (平成 20年厚生労働省告示第 415号) 疫学研究に関する倫理指針 (平成 19年文部科学省・厚生労働省告示第 1号) ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 16年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1号) に従っている。

これらの検体収集は既に倫理委員会の承認 (日本は、複十字病院倫理委員会を 2010年 10月 18日、(独) 理化学研究所横浜研究所研究倫理委員会を 2011年 2月 15日、東京大学ヒトゲノム・遺伝子研究倫理審査委員会を 2011年 2月 21日承認済みである。

タイ国側については、タイ保健省倫理委員会の定める倫理規定に沿って研究を実施している。参加研究者全員の合意を得た研究プロトコールを作成し、タイ国保健省倫理委員会に 2012年 12月 21日に再度承認を得た。

本研究に参加する患者については、担当医師による十分な説明の後、書面によるインフォームドコンセントを得た。研究を通して得られた個人情報は厳密に管理し、参加研究者以外のものが内容を知り得ることはない。現在までの日泰間の共同研究でこれらの基本原則を遵守し、更に、検体等の日泰間の移動等に関しては文書での Material Transfer Agreement 等を結び、知的財産権 (パテント) 等

図1 結核の感染・発病と治療転帰、難治化



の問題も含め国際共同研究に関連した倫理的な問題に配慮してきた実績がある。コホートの参加者にはインフォームド・コンセントに基づく自発的な参加を実施し、参加者のフォローアップにも強制は加えなかった。なるべく、医療的な利益が参加者に得られる様に、タイ保健省の発行する国民健康保険への参加の支援等を行った。

C. 研究結果

日本では、複十字病院の結核登録を活用した検討をした。2007年1月1日より2013年12月末までに登録された結核患者2,748名において、外国と関連がある結核患者は5.9%の162名で、そのうち多剤耐性結核患者は49名(30.2%)であった。これは、外国と関連のない結核患者2,586名での、多剤耐性結核患者91名(3.5%)と比べて、オッズ比11.89(95%信頼区間8.01-17.65)と有意に高かった。

HM合併結核研究としては、タイにおけるHM感染者コホートの研究での保存血清を活用した潜在性結核感染診断法の検討を目指した、表1の様に臨床情報を整理した。

難治性結核の分子疫学解析をタイで進めて来た成果論文(Sukkasem S, et al. Microbiology and Immunology 2013 Jan;57(1):21-9)で、図2・図3に示す様に、その主な内容は、再治療の為に結核菌培養が得られた42人について検討したところ、40人は同一のRFLPパターンであったが、2人は異なるRFLPパターンがあり外因性再感染が疑われた。初回では多剤耐性が12.5%であったのが、2回目では22.5%と有意に高かった。これらの難治性結核で

北京株は66.7%と全国平均の20.8%に比して高かった。

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 解析法では、EAI株が524人から531株(39.8%)、非EAI株として、北京株が591人より595例(44.6%)、Euro-American株が184人より187株(14.0%)、CAS株が11人より11株(0.83%)、その他9人より9株(0.68%)であった。

Spoligotyping (polymorphisms of the direct repeat (DR) region) による1,123株の菌体分類では、北京株が548例(48.8%)、EAI株が406例(36.2%)、Euro-American株が157例(14.0%)、CAS株が11例(0.98%)、その他1株(0.09%)で、LSP/RD法と相関していた。

菌の分類と臨床情報との相関の検討では、前述のRFLPの研究と同様に、年齢共に薬剤耐性が相関を示した。45歳で区別した場合、若年者での北京株は51.0%(353/692)と年配者での37.8%(242/641)とくらべオッズ比1.72(95%信頼区間1.38-2.14, $p < 0.0001$)と有意に高かった。また、多剤耐性菌の主であるRFP耐性菌での北京株の割合は56.5%(35/62)とRFP感受性菌での割合の44.0%(519/1180)とくらべオッズ比1.65(95%信頼区間0.99-2.76)と高かった。体重、結核病変の部位(肺外病変の有無等)胸部レントゲン所見(空洞の有無、広がり)、喀痰塗抹検査での菌量は、菌の分類と相関はなかった。

表2に、この結核患者1319人での1年間での死

表1 HIVコホートの中でQFTまたは保存血漿のある群の属性

特徴	QFTあり		特徴	QFTなし(n=246)	
	(n=247)	QFTなし(n=246)		QFTあり(n=247)	QFTなし(n=246)
Gender			CD4 at enrollment		
Male	21	87	<100	19	93
Female	32	107	100-149	8	13
Age			150-199	6	20
<15	5	8	200-249	6	10
15-34	12	79	250-299	3	11
35-59	36	104	300-349	2	10
60+	0	3	350+	9	37
BMI			ARV at enrollment		
<16	4	15	ARV	35	131
16-18.5	9	48	No ARV	18	63
18.5+	32	124	Missing	0	0
Missing	8	7	TB at enrollment		
TST			TB before enrollment	6	14
0	37	134	TB at enrollment	1	12
2-4	2	14	Non TB	46	168
5-9	4	13	Survival by April 2011		
10+	1	3	Dead	13	43
No TST	9	30	Alive	40	151

表2 結核患者1,319名の1年死亡危険因子(多変量回帰)

Factor	Category	Hazard ratio	P-value	Adjusted Hazard ratio	P-value
菌分類	非EAI株	Reference		Reference	
	EAI株	2.74 (1.95-3.86)	<0.001	1.75 (1.23-2.48)	0.002
Gender	Female	Reference		Reference	
	Male	1.20 (0.83-1.74)	0.335	1.21 (0.82-1.79)	0.327
Age group	0-34	Reference		Reference	
	35-49	1.5 (0.9-2.49)	0.118	1.6 (0.96-2.65)	0.07
	50-64	1.52 (0.87-2.65)	0.139	2.83 (1.55-5.18)	0.001
	65+	4.47 (2.75-7.27)	<0.001	6.95 (3.88-12.45)	<0.001
HIV status	Negative	Reference		Reference	
	Positive	2.47 (1.73-3.53)	<0.001	5.00 (3.22-7.77)	<0.001
	Unknown	1.23 (0.3-5)	0.772	(*Negative + unknown)	
Body Weight	>60	Reference		Reference (*combine 50-60,60+)	
	50-60	1.19 (0.49-2.89)	0.702		
	40-49	1.32 (0.56-3.12)	0.532	1.1 (0.69-1.76)	0.689
	<40	2.53 (1.05-6.08)	0.038	1.76 (1.05-2.96)	0.033
	Missing	3.51 (1.49-8.28)	0.004	2.43 (1.53-3.86)	<0.001

図2 難治性結核の分子疫学解析 - タイ(1)

●難治性結核の分子疫学解析をタイで進めて来た成果論文が一つ受託された。(Sukkasem S, et al. *Microbiol Immunol* 2013 Jan;57(1):21-29)

●再治療の為に結核菌培養が得られた42人について検討したところ、40人は同一のRFLPパターンであったが、2人は異なるRFLPパターンがあり外因性再感染が疑われた。

●初回で多剤耐性が12.5%であったのが、2回目で22.5%と有意に高。

●難治性結核で北京株は66.7%と全国平均の20.8%に比して高かった。

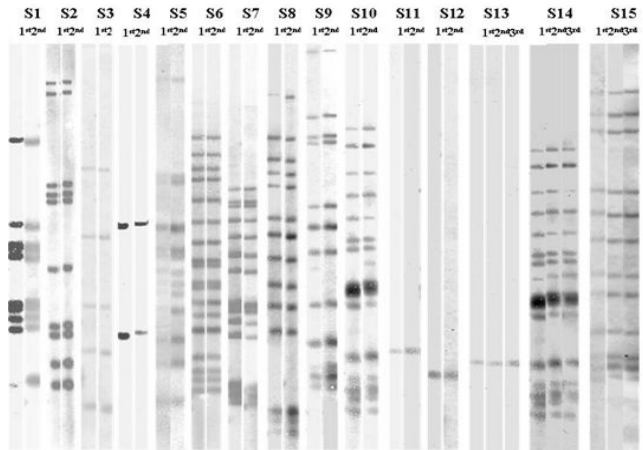


図3 難治性結核の分子疫学解析 - タイ(2)

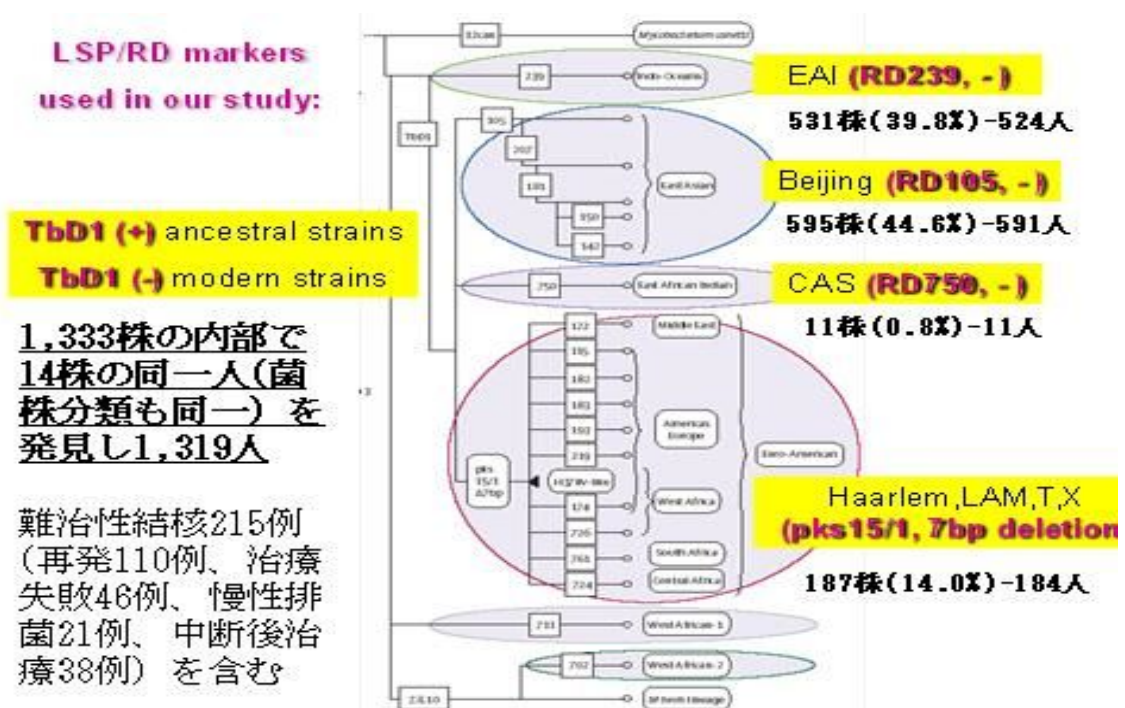
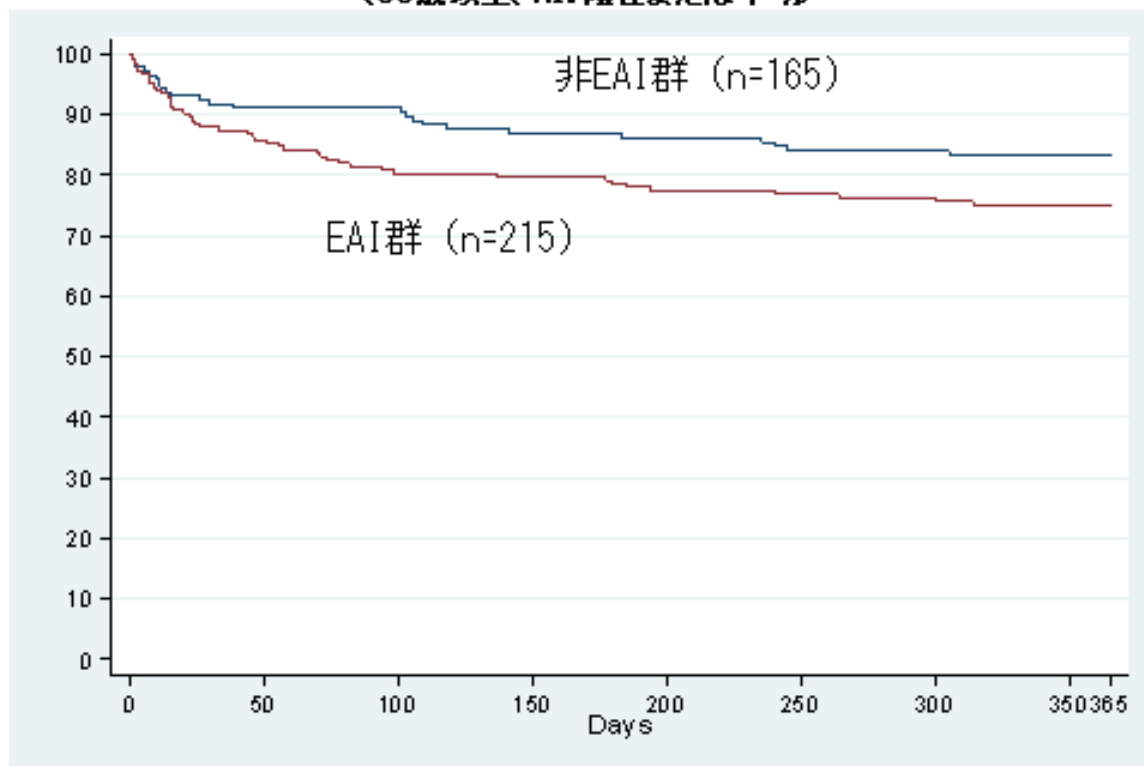


図4. EAI群と非EAI群の結核患者の治療開始1年間の生存曲線①
(55歳以上、HIV陰性または不明)



亡に關しての危険因子を示す。Cox-Proportional Hazard比モデルによる単回帰解析で、EA株による結核患者が非EA株による患者よりハザード比で2.7倍1年死亡の危険が高かった。EA株は死亡率が高い事が多い年齢が高い群で比率が大きいので、年齢やHM感染状況、体重など死亡に影響する因子による交絡を多変量回帰で調整しても、調整ハザード比は1.75で菌株の種類の影響が独立して存在する事が示された。

図4にEA株の比率が高い55歳以上のHM陰性(稀に不明)の結核患者での1年生存のカプラン・マイヤー法生存曲線を示す。この群でもEA株の比率が低い55未満の群でも有意の差で死亡率の差が認められている。

D. 考察

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の伝播していると考えられる。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。菌体と宿主要因のそれぞれと相互作用の研究を症例数が大きく必要であり、日本での研究基盤が輸入感染症の検討という観点でも必要である。臨床疫学因子、細菌学的因子、免疫遺伝学的因子を測定し、それらの因子の難治化に及ぼす影響を相互作用も含めて定量化する。

タイでの大規模でより詳細な菌解析は、論文報告した古典的なRFLP解析による少数の解析による北京型菌株がより難治性に関与するという仮説を検証

する結果が得られている。多剤耐性に対する検討や、多変量解析を使用するなどの詳細な検討を進め、論文化を進めている。

日本の複十字病院での検討は、輸入感染症としての多剤耐性結核の重要性が明らかになった。2011年度は日本国籍であるが米国滞在42歳、タイ在住42歳、19歳、2012年度はインドネシアに長期在住していた66歳、2013年度はフィリピンでボランティアをしていた2名を経験しており、海外渡航歴の聴取が重要と考えられる。

複十字病院では10年以上の菌体を保持しており、また文部科学省オーダーメイド医療プロジェクトに協力してヒト検体も収集してきた。倫理委員会の承認を得て、検査残余検体を活用した菌と人の検体バンクによる結核研究を継続している。菌体の分子疫学解析に先立つ疫学因子解析の結果を報告する。タイ国も同様に菌と人検体を臨床データと共に長期に保存しており、並行した菌体バンクを活用して伝播の検討や比較検討などの相乗効果が期待される。

HM合併結核に関して、WHOのTB/HM専門委員会がHM感染者の潜在性結核感染治療に関して再度の国際レビューを実施し、Efficacyに関して、HAART時代においてもNH等の抗結核薬が結核の予防に効果がある事を、結核研究所・山田国際部長のチェンライの解析データも含む確認後、HM感染者に対し推奨している。WHOより結核血清診断の限界が指摘された影響にて、倫理委員会よりHM陰性結核患者にて十分な結果が得られるか、細胞性免疫を活用した診断法を考える様に示唆された。複十字病院で、結核症の診断の一部で積極的な結核診断

法の活用をしており、精度管理について研究した。

E. 結論

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ている。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sukkasem S, Yanai H, Mahasirimongkol S, Yamada N, Rienthong D, Palittapongarn P, Khusmith S. : Drug resistance and IS6110-RFLP patterns of Mycobacterium tuberculosis from recurrent tuberculosis patients in northern Thailand. Microbiology and Immunology. 57(1):21-9, 2013 Jan. doi: 10.1111/1348-0421.12000.
2. 奥村昌夫、佐藤厚子、吉山崇、野内英樹、伊麗娜、工藤翔二、尾形英雄 : 当院職員の職場、職種別に分けて比較したQFT検査の検討 結核 2013 Apr;88(4):405-409

2. 学会発表

1. 野内英樹、Surakameth Mahasirimongkol、岩淵英子、吉森浩三、吉山崇、Supalert Nedsuan、Boonchai Chaiyasirinrija、奥村昌夫、尾形英雄、山田紀男、Pathom Sawanpanyalert、薙田泰誠、徳永勝士、工藤翔二 : 宿主と菌のゲノム情報の統合的活用による結核研究を基礎医学研究者と進めるためのコホート基盤形成 . 第 24 回日本疫学会学術総会 (演題番号 P 2061) 仙台、2014 年 1 月
2. 野内英樹、出井禎 : 結核菌特異的インターフェロン 産生能をみるクオンティフェロン TB 検査精度管理の為の研究とマニュアル作成 . 第 60 回日本臨床検査医学会学術集会 (一般口頭演題、感染症、演題番号 O-131) 2013 年 11 月 1 日、神戸
3. 野内英樹、関谷幸江、窪田素子、樋口一恵、吉山崇、尾形英雄、工藤翔二、原田登之 : クオンティフェロン TB 検査 (QFT-2G および 3G) における陰性コントロール値について . NPO 法人結核感染診断研究会・第 1 回総会・研究会 (一般口頭演題 演題番号 5) 2012 年 5 月、広島
4. 野内英樹、水野和重、青野昭男、吉山崇、倉島篤行、奥村昌夫、森本耕三、窪田素子、青木美砂子、上山雅子、早乙女幹朗、尾形英雄、工藤翔二 : 臨床検査残余検体を活用した菌と人の検体バンクによる難治性結核の研究 . 第 87 回日本結核病学会総会 (一般口頭演題、診断 (細菌学的診断、鑑別診断) 2、演題番号 127) 2012 年 5 月、広島
5. 野内英樹、出井禎 : 菌と人のコホート検体バンクによる結核の発症と難治化に関する要因研究 (第 3 報). 第 59 回日本臨床検査医学会学術集会 (一般口頭演題、遺伝子、感染症 演題番号

O-112) 京都、2012 年 11 月日

6. 野内英樹、吉山崇、倉島篤行、出井禎、水野和重、石井加津恵、青野昭男、奥村昌夫、佐々木結花、尾形英雄、薙田泰成、徳永勝士、工藤翔二 : 薬理遺伝学を含む難治性要因研究の基盤作成を目指した結核患者コホート研究 . 第 57 回日本人類遺伝学会 (一般演題 薬理遺伝学 P-18) 2012 年 10 月 25 日、東京
7. 野内英樹、出井禎 : 菌と人の検体バンクによる結核の発症に関する要因研究 (第 2 報). 第 58 回日本臨床検査医学会学術集会 (一般口頭演題、抗酸菌 演題番号 O-167) 岡山、2011 年 11 月

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

該当なし

[] ベトナム多剤耐性結核の宿主要因に関する研究

研究分担者 慶長直人 公益財団法人結核予防会結核研究所 生体防御部長
土方美奈子 同 病理科長
松下育美 同 免疫科研究員

研究要旨

ベトナム南部の結核拠点病院であるホーチミン市のファムゴックタック病院と共同で、多剤耐性結核の発生に関わる宿主側の要因を明らかにすべく、断面研究を実施した。58名の多剤耐性結核患者について、平成 23年度は、抗結核剤代謝に関連する宿主側遺伝子 NAT2の検討、平成 24年度は、結核自然免疫に関連する宿主側遺伝子 mannose binding lectin (MBL2) の検討、平成 25年度は、結核感受性遺伝子の候補の一つとして注目され、機能的には細胞内シグナルに対して負の制御を行う脱リン酸化酵素である dual specificity phosphatase 14 遺伝子 (DUSP14) の遺伝子多型と免疫関連遺伝子発現に関する検討を行った。NAT2 遺伝子型は、イソニアジド迅速代謝型 (F) と代謝遅延型 (S) の割合がほぼ 1 : 1 であり、ベトナムでは遅延型 (S) が日本、韓国より多く、ヨーロッパ集団よりは少なかった。多剤耐性結核で遅延型 (S) が少ない傾向を示す結果が得られたが検出力が低く有意差には至らなかった。MBL2 の遺伝子型により、明確に MBL の高発現型 (YA/YA)、中発現型 (YA/XA)、低発現型 (それ以外) に分けられた。高発現型の遺伝子型が多剤耐性結核群では健常者に比してやや低頻度に認められたが、検出力が低く有意差には至らなかった。さらに 27 種類のサイトカイン等の免疫系分子の血中濃度との関連を検討したところ、MBL とインターフェロン の血中濃度との間に有意な相関が認められた。また、インターロイキン 12 鎖 (p35) の遺伝子発現は MBL 値と逆相関にあった。MBL はヒトにおいて自然免疫の初期応答のみならず、Th1 応答にも影響を与えている可能性が示唆された。DUSP14 イントロン 1 に局在する C/T SNP (rs712039) の C アリルは DUSP14 の遺伝子高発現型として知られているが、その C アリル数に依存して多剤耐性結核の血液細胞由来の TNF 遺伝子発現量が低くなる傾向がみられた。しかし、C アリル数は DUSP14 遺伝子発現量自体とは有意な関連を示さなかった。さらに DUSP14 遺伝子高発現型と推定される H2 ハプロタイプ数に依存して、全血中の IL12 レセプター α 1 mRNA など Th1 系免疫関連遺伝子の発現量が低くなる傾向が認められた。免疫炎症制御に関連して注目される DUSP14 の遺伝子多型が、トランスの作用を通じて結核発症にも関連している可能性が示された。

A. 研究目的

わが国に居住している外国人のうち、アジア系の集団は 70%以上を占めることが知られている。このためアジア人の結核対策は外国人結核対策の主要部分を占める。さらに日本人の結核発症者の中で多剤耐性結核の占める割合は低いが、アジアを含む発展途上国では、治療歴のない患者でも数%以上の頻度で多剤耐性結核が認められるのが通例であり、今後、外国人結核対策がわが国の多剤耐性結核対策の主要部分を占めるようになるのではないかと懸念されている。このような背景のもと、アジア人における多剤耐性結核の発症要因を明らかにすることは、わが国を含むアジア地域全体の結核対策に貢献するものと期待される。

これまで我々は東南アジア諸国において結核に関する国際共同研究をおこなってきた。多剤耐性結核の発生は、不適切な治療により、結核菌ゲノムの中の薬剤効果に関連する遺伝子変異を有する菌が選択的に増殖することが重要とされており、結核医療に関わる人為的要因や制度が一義的な課題であるが、その背景となる宿主側の免疫応答、薬剤代謝能なども発生に関与しているものと推測される。そこで、本研究ではベトナム人多剤耐性結核の宿主要因を分子遺伝学的手法により明らかにすることを目的とした。

平成 23年度は、特に抗結核剤の代謝と深く関係する NAT2 遺伝子についてその特徴的な遺伝子変異と遺伝子頻度の解析を試みた。NAT2 遺伝子は多型性に富み、20 以上の対立遺伝子型を有するが、その中で特にイソニアジドを迅速に代謝する迅速代謝型

(F) と代謝遅延型 (S) は、主に 3 つの非同義置換 341T>C (rs1801280)、590G>A (rs1799930)、857G>A (rs1799931) によって決定されており、これらにより遺伝子型の分類を試みた。

平成 24年度、解析対象とした mannose-binding lectin (MBL) は分泌型のパターン認識受容体であり、微生物表面の糖鎖を認識して結合すると高次構造変化が起こり、プロテアーゼが活性化され、レクチン経路の補体活性化、オプソニン化～貪食、あるいは微生物の融解を引き起こす。MBL 遺伝子 (MBL2) に多型が存在することは古くから知られており、プロモーター領域の H/L, X/Y, P/Q 多型、エクソン 1 の非同義置換を伴う A/B/C/D 多型が認められるが、連鎖不平衡の存在によって存在するハプロタイプの種類は限定されており、アジア人集団では本来のオリゴマー構造がとれなくなる B allele を持つ LYPB、プロモーター活性が低い X allele を持つ LXPA の 2 つのハプロタイプが MBL 欠損 / 低発現型であり、他の HYP A、LYPA、LYQA は血中濃度も高い高発現型であるため、X/Y、A/B に注目すると、大きく YA/YA、YA/XA、その他の 3 群に分けられる。結核と MBL の遺伝的多型の関連はこれまでしばしば報告されてきたが、MBL 欠損 / 低発現型が結核に抵抗性であるという報告と、感受性であるという報告がともにあり、メタアナリシスでも結論が得られていないため、本検討を行った。

平成 25年度は、量的形質座位 expression quantitative trait locus (eQTL 解析と genome-wide association study (GWAS) を組み合わせることで新たに結核感受性遺伝子の候補として同定され

た (Barreiro LB, et al. PNAS 109:1204-9, 2012) DUSP14 (dual specificity phosphatase 14) の遺伝子多型を中心に検討を行った。DUSP14 は二重特異性タンパク脱リン酸化酵素 (DUSP) ファミリーに属し、リン酸化により活性化型となった MAP キナーゼ (MAPK) のリン酸化セリン / スレオニンとリン酸化チロシンをともに脱リン酸化し、MAPK を不活性化状態に戻し、サイトカインの発現量を調節するなど免疫炎症制御の役割を担っている。

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、ベトナム国内南北 2 カ所の薬剤感受性検査を実施する結核レファランスセンターのうちベトナム南部の結核対策の責任病院である。耐性結核の宿主要因の候補遺伝子の特徴的な遺伝子変異、アジア人の遺伝子分布の特徴を明らかにすることを目的として研究を実施している。エントリー基準は、薬剤感受性試験で多剤耐性結核 (NH, RFP 耐性) と診断された 18 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、HIV 陽性、悪性腫瘍、免疫抑制剤の使用者を除外した。外来通院中の多剤耐性結核患者 58 名から血液サンプルを収集し、EDTA 添加血より血漿 (血中タンパク濃度測定用) および血球 (ゲノム DNA 抽出用) を得た。また RNA 安定化剤を付加して凍結した全血より total RNA を抽出した。また多剤耐性結核患者ゲノム DNA から PCR にて各種遺伝子多型を同定した。

NAT2 遺伝子タイピングは、主に 3 つの非同義置換 341T>C (rs1801280) 590G>A (rs1799930) 857G>A (rs1799931) を同定することにより、実施した。

MBL 遺伝子タイピングは、H/L, X/Y, P/Q, A/B 多型のハプロタイプ構造を確認した後、MBL の発現に関連する X/Y と A/B の 2 カ所の多型については、約 600 bp の領域を PCR 増幅して、X/Y は Btg I による消化、A/B は Ban I による消化による PCR-RFLP 法によって判定した。

MBL の血中濃度は、EDTA 採血検体も正確に測定できる市販の ELISA キット (Quantikine ELISA Human MBL R&D) によった。

血漿中のサイトカイン等、27 種類のサイトカイン等の生理活性物質 (IL-1b, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12(p70), IL-13, IL-15, IL-17, Eotaxin, FGF-2, G-CSF, GM-CSF, IFN-g, IP-10, MCP-1, MIP-1a, MIP1b, PDGF-BB, RANTES, TNF-a, VEGF) の濃度は蛍光ビーズアレイ (Bio-Plex サスペンションアレイシステム) を用いて同時スクリーニングを行なった。

DUSP14 遺伝子タイピングは、プロモーター領域、エクソン領域を増幅し、ダイレクトシーケンスにより遺伝子配列を決定した。見いだされた遺伝的多型間の連鎖不平衡構造解析を行った。

全血より抽出した total RNA を用い、DUSP14 遺伝子および免疫関連分子 (GNLY, PRF1, GZMB, STAT1, STAT4, STAT6, CXCL10, IFNG, IFNGR1, IFNGR2, IL12RB1, IL12RB2, IL12A, SPP1, IL10, TGFB1, IL23A, TNF, LTA, IL15, IL18, FOXP3,

表1 ベトナムにおける多剤耐性結核の NAT2 遺伝子型から推測されるイソニアジド迅速代謝型 (F) と代謝遅延型 (S) の分布

Genotype	Activity	MDR-TB (n=58)		HC (n=111)		P-value	Fisher
		Count	Percentage	Count	Percentage		
Fast/Inter-mediate/Slow	Fast	12	20.7%	31	27.9%	0.025	2x3
	Inter-mediate	35	60.3%	43*	38.7%		
	Slow	11	19.0%	37	33.3%		
Allele	Fast	59	0.509	105	0.473	0.567	2x2
	Slow	57	0.491	117	0.527		

* HC did not follow Hardy-Weinberg Equilibrium

TBX21, GATA3, HIF1A, IL4, IL4d2, RORC, IL2) の mRNA 発現量を、TaqMan Gene Expression Assays を用いた定量的 RT-PCR 解析系にて測定した (n=48)。

(倫理面への配慮)

実際の患者検体を用いたゲノム解析は、両国の指針 (我が国では、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針) に準拠して、事前にプロトコールは、両国の倫理委員会の承認を得た上で実施した。

C. 研究結果

1) NAT2 遺伝子型

ベトナム人の NAT2 遺伝子型は、他の東南アジア集団における報告と同様、イソニアジド迅速代謝型 (F) と代謝遅延型 (S) の割合は、ほぼ 1 : 1 であり (表 1)、日本、韓国など東アジア集団より遅延型 (S) が多く、ヨーロッパ集団よりは遅延型 (S) が少なかった。

多剤耐性結核では、表に示すように、対照集団より、遅延型 (S) がより少ない傾向を示す結果が得られたが、対照集団の遺伝子型分布の偏位、検出力の問題が未解決で残っており、今後、より大規模な研究で、この結果を確認する必要がある。

2) MBL2 遺伝子型

MBL2 遺伝子は高発現型 (YA/YA)、中発現型 (YA/XA)、低発現型 (それ以外) に分けられた。MBL の高発現型と低発現型遺伝子型の比率をみると、MDR の例数が少ないので有意差は出ないが、高発現型 (YA/YA) の遺伝子型頻度は、多剤耐性結核群では健常対照群に比べてやや低値を示した (データ省略)。

MBL は急性期蛋白質であり、結核患者では健常者より血中 MBL 濃度が高いことが報告されている。今回の検討で治療中 (治療開始 3~6 か月後) の患者群でも、MDR-TB の血漿中の MBL 濃度は YA/YA で高値、YA/XA では中程度、それ以外は低値を示すことが明らかになった (図 1)。

次に MBL の濃度が血中サイトカイン量と関連するかどうか蛍光ビーズアレイを用いてスクリーニングしたところ、インターフェロン (IFNG) 濃度が最も確かな正の相関を示した (Spearman の相関係数 = 0.34, P=0.0099)。

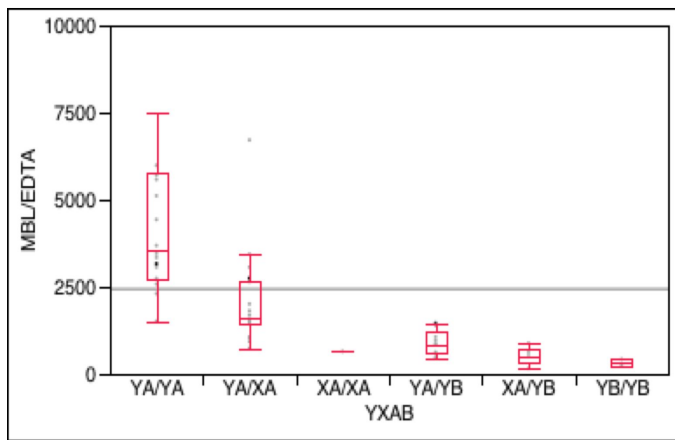


図1 MBL2 遺伝子型と多剤耐性結核治療中の血漿 MBL 濃度 (N=58)

MBL 血中濃度と IFNG 濃度の相関がみられたので、さらに MBL の YA アレル (野生型) の保有数との関係を調べたところ、YA の本数は IFNG 濃度と有意に相関していた ($P=0.006$)。

一方、全血中の免疫関連分子の遺伝子発現量と MBL 血中濃度の関連を検討したところ、インターロイキン 12 (IL12) の鎖 (p35) の遺伝子発現は血中 MBL 値と逆相関を示した (Spearman の相関係数 = -0.43 , $P=0.003$)。

3) DUSP14 遺伝子型

ベトナム人 58 名のプロモーターおよびエクソン領域のシーケンス解析で、15 カ所の部位で塩基の違いが認められ、Barreiro らの報告した DUSP14 のイントロン 1 内に存在する rs712039 SNP は、プロモーター領域にある rs853196 および rs853197、エクソン 2 の 5'UTR 内 rs1051838 と完全な連鎖不平衡状態にあることが明らかになった。

全血より抽出した total RNA から定量的 RT/PCR により、DUSP14 の mRNA 発現量と上記遺伝子配列解析で得られた各遺伝的多型との関連を検討したが、有意差はみられなかった ($P=0.57$)。一方、全血球細胞の TNF 遺伝子発現量は、Barreiro らによる rs712039 の DUSP14 高発現アリルとして知られる C の数に依存して低くなる傾向がみられた ($P=0.0121$)。

DUSP14 遺伝子プロモーター領域にある C/G SNP rs62076700 と rs712039 によって 3 ハプロタイプ H1, H2, H3 の存在が推定され、このうち高発現型と予想される H2 のハプロタイプ数に依存して、全血中の IL12RB1 mRNA 発現が有意に低値を示した ($FDR<0.05$)。他のいくつかの Th1 系免疫関連遺伝子の mRNA 発現量でも同様の傾向がみられたが、多重比較を考慮すると有意差には至らなかった (図 2)。既報と同様にベトナムにおいても、DUSP14 遺伝子多型頻度が結核症と関連 (疾患感受性) を示すか否かについて現在も検討中である。

D. 考察

ベトナム人における多剤耐性結核と宿主要因の関連について、本研究班の 3 年間で、初めてアプロー

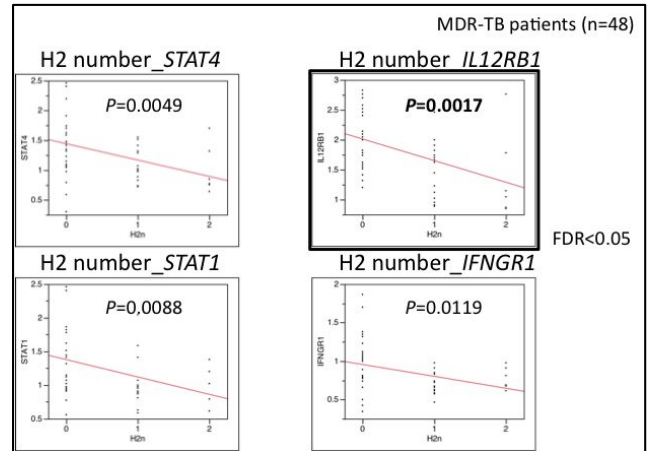


図2 DUSP14 ハプロタイプ H2 と全血球細胞の Th1 系免疫関連遺伝子発現

チした。NAT2 遺伝子の遺伝子型は、これまでイソニアジドによる肝障害が遅延代謝型(S)に多いことが報告されてきたが、薬剤動態研究の結果により、迅速代謝型(F)では不十分な治療によりイソニアジドの濃度が十分に上がらない可能性が強く疑われる。最近、迅速代謝型(F)が治療失敗や薬剤耐性の獲得に関連するとの報告があるが (Pasipanodya JG, et al. Clin Infect Dis. 55:169-77, 2012.)、多剤耐性結核と NAT2 遺伝子型との関連解析については十分な報告が無く、今後、さらに検討を進める必要がある。

MBL 遺伝子多型は多剤耐性結核自体とは強い関連は示さなかったが、MBL 遺伝子多型は非炎症状態のみならず、結核治療中のような炎症状態でも血中濃度に強い影響を与えていた。同時に測定された患者の CRP 値などの炎症指標には大きなばらつきがあったが、MBL 血中濃度はむしろ宿主側要因により明確に規定されていることが明らかになった。また MBL はインターフェロン 血中濃度と正の相関を示し、IL12 鎖 (p35) 遺伝子発現と負の相関を示した。

自然免疫系の分子として知られる MBL 遺伝子多型が疾患における Th1 応答に関連することは、MBL が従来言われている菌のオプソニン化のみならず、宿主の Th1 応答とも緊密に関連していることを示唆するものであった。また別の Th1 系遺伝子である IL12 鎖 (p35) の mRNA 発現が MBL の高濃度と逆相関するという事は、すでに病変局所に動員されているのか、何らかの negative feedback メカニズムによって抑制されている、などが考えられた。

DUSP14 は、T 細胞が刺激された時、早期に発現誘導され、CD28 と相互作用し、MAPK を不活化して副刺激分子からのシグナルを抑制する分子 MKP6 (MAP kinase phosphatase-6) として見いだされた (Marti F, et al J Immunol 166: 197-206, 2001)。しかしながら、他の DUSP ファミリーと比べて DUSP14 に関する知見はまだ少なく、その発現や役割に関しては不明な点が多い。我々の多剤耐性結核患者の全血由来の total RNA からの検討では、遺伝子型と mRNA 発現量に有意な関連がみられず、それぞれの細胞の感染時の DUSP14 の発現についてはさらに検討が必要である。

一方、今回の我々の結果から、DUSP14の遺伝的多型のハプロタイプとTh1系免疫関連遺伝子であるIL12RB1mRNA発現量には有意な関連がみられており、DUSP14遺伝的多型によってTh1系免疫関連遺伝子発現がトランスに影響を受けているのではないかと推測される。また、既報のrs712039 SNP単独の効果より、プロモーター領域のSNPを含めたハプロタイプの方が、遺伝子発現とより強く関連する可能性が示唆されたため、プロモーター領域のSNPの機能的意義が注目された。

今回の結果から、DUSP14の低発現型がTh1応答の増強を通じ、結核の発病や病態において宿主に有利に働く可能性があると考えられた。多剤耐性結核患者において、DUSP14によるTh1応答や炎症性サイトカイン反応の制御がどのように病態に影響するか等については、今回の検討では症例数が少ないため、今後、より大規模な研究で検討する必要がある。

この3年間、ベトナム人多剤耐性結核について、迅速に研究を実施することができたことは、長い共同研究の歴史に基づく信頼関係によるものである。多剤耐性菌は、ベトナムにおいても最近、深刻な問題としてとらえられており、さらに両国に裨益する研究成果が期待される

E. 結論

抗結核剤代謝に関連する宿主側遺伝子 NAT2、結核自然免疫に関連する MBL2、免疫炎症制御に関連する脱リン酸化酵素として注目される DUSP14 の遺伝子多型がそれぞれ、多剤耐性結核の異なる局面に影響を与える可能性を明らかにすることができた。

わが国の外国人登録者数はアジア人が全体の70%以上を占め、今後、日本人の結核罹患率の低下に伴い、相対的にアジア人の多剤耐性結核対策の重要度が増していくものと推測される。臨床疫学情報、宿主側の発症素因をとらえ、今後も多剤耐性結核対策に貢献すべく研究を進めたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Hang NTL, Maeda S, Lien LT, Thuong PH, Hung NV, Thuy TB, Nanri A, Mizoue T, Hoang NP, Cuong VC, Ngoc KTT, Sakurada S, Endo H, Keicho N. Primary drug-resistant tuberculosis in Hanoi, Viet Nam: present status and risk factors. *PLoS One* 8(8): e71867, 2013.
2. Hung NV, Ando H, Thuy TT, Kuwahara T, Hang NT, Sakurada S, Thuong PH, Lien LT, Keicho N. Clonal expansion of *Mycobacterium tuberculosis* isolates and coexisting drug resistance in patients newly diagnosed with pulmonary tuberculosis in Hanoi, Vietnam. *BMC Res Notes* 6:444, 2013.
3. Pitabut N, Sakurada S, Tanaka T, Ridruechai C, Tanuma J, Aoki T, Kantipong P, Piyaworawong S, Kobayashi N, Dhepakson P, Yanai H, Yamada N, Oka S, Okada M, Khusmith S, Keicho N. Potential function of granulysin, other related effector molecules

and lymphocyte subsets in patients with TB and HIV/TB coinfection. *Int J Med Sci* 10(8):1003-1014, 2013.

2. 学会発表

1. Hang NTL, Hijikata M, Sakurada S, Tam DB, Ngoc PTM, Thuong PH, Cuong VC, Lien LT, Keicho N. Latent tuberculosis infection assessed by interferon-gamma release assay and mRNA expression levels of immune-related genes. In: Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2014, January 20-22, Sendai, Japan, 2014.
2. Hang NTL, Maeda S, Thuong PH, Hoang NP, Hung NV, Cuong VC, Hijikata M, Sakurada S, Lien LT, Keicho N. Sublineages of *Mycobacterium tuberculosis* and unfavorable outcomes of anti-tuberculosis treatment. In: Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2014, January 20-22, Sendai, Japan, 2014.
3. Hijikata M, Matsushita I, Hang NTL, Thuong PH, Sakurada S, Cuong VC, Lien LT, Keicho N. Dual-specificity phosphatase 14 gene polymorphism in Vietnamese patients with pulmonary tuberculosis. In: Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2014, January 20-22, Sendai, Japan, 2014.
4. Pitabut N, Sakurada S, Tanaka T, Dhepakson P, Yanai H, Yamada N, Okada M, Khusmith S, Keicho N. Potential function of granulysin, perforin, IFN-gamma and lymphocyte subsets in patients with Tb and HIV/Tb coinfection. In: 18th Congress of the Asian Pacific Society of Respirology, November 11-14, Yokohama, Japan, 2013.
5. Sakurada S, Thuong PH, Ngoc PTM, Hang NTL, Tam DB, Hong LT, Cuong VC, Tanaka T, Lien LT, Keicho N. Granulysin in HIV/TB coinfection and latent TB infection. In: Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2013, Jan 23-24, 2013, Tokyo, Japan.
6. Tanaka T, Sakurada S, Takakura M, Unoki-Kubota H, Kaburagi Y, Kobayashi N, Keicho N. A biomarker study of tuberculosis by two-dimensional image-converted analysis of liquid chromatography and mass spectrometry. In: Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2013, Jan 23-24, Tokyo, Japan, 2013.
7. Thuong PH, Tam DB, Sakurada S, Hang NTL, Hong LT, Hijikata M, Ngoc PTM, Cuong VC, Lien LT, Keicho N. Latent tuberculosis infection assessed by interferon-gamma release assay and circulating granulysin

- levels. In: 18th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology, November 11-14, Yokohama, Japan, 2013.
- 8 . Hijikata M, Hang NTL, Yen NTB, Hong NT, Sakurada S, Lan NN, Kobayashi N, Dung NH, Keicho N. Association between Immune Gene Expression Levels in the Whole Blood from Patients with Multidrug-resistant Tuberculosis and Their Treatment Outcome. In: 第52回日本呼吸器学会総会, 4月20日-22日, 神戸, 2012.

G . 知的財産権の出願・登録状況

[] 海外から輸入される多剤耐性結核に関する研究

研究分担者 櫻田紳策 国立国際医療研究センター 国際医療協力局専門職

研究要旨

抗結核菌活性を持つ抗菌ペプチド等に焦点を中てた。すなわち、血漿中グラニュリシン値と潜在性結核感染の関連解析を行った。活性型ビタミン D₃による M-CSF 存在下に分化したヒト単球由来活性型マクロファージ (M-M) の活性化機構に与える影響、とくに抗菌ペプチド cathelicidin 遺伝子の発現への影響を検討した。結核菌 (H37Rv) 殺菌後の培養液上清中の殺菌活性に関与している可能性がある demicidin 遺伝子の発現への関与について検討を試みた。

A. 研究目的

1. 潜在性結核感染における末梢血グラニュリシン発現レベルを検討し、質問紙にて調査した臨床疫学的要因と併せて解析を実施して、活動性結核の発症や再活性化におけるグラニュリシンの役割について、将来のより大規模な臨床研究の足がかりとする。
2. 活性型マクロファージ M-M における活性型ビタミン D₃によるヒト型結核菌及び BCG に対する抗菌メカニズムを明らかにする。結核菌に感染した M-M が結核菌殺菌時に産生する抗菌活性因子の候補分子 demicidin 遺伝子の発現について検討を行う。

B. 研究方法

1. ベトナム・ハノイ市の肺病院及び地区の結核センターの医療従事者 109名を対象に、インタビューと採血を実施した。IFN- γ 遊離テスト (QuantiferonTM-Gold in tube) にて診断された潜在性結核感染における末梢血グラニュリシン発現レベルを ELISA にて検討し、質問紙から得られた臨床疫学的情報と併せて統計解析を行った。

(倫理面への配慮)

国立国際医療研究センターの倫理委員会とベトナム保健省の倫理委員会の審査を受け、研究の承認を得た。

2. M-CSF 存在下にヒト末梢血単球より活性型マクロファージ (M-M) を得た。培養液中の十分な濃度の 25(OH)D₃ 或いは 25(OH)D₃ と IFN- γ の存在下において BCG を感染させ、CYP27B1、VDR、cathelicidin、IL-15 遺伝子の発現を定量的 RT-PCR にて検討した。さらに、別研究で M-M に結核菌 (H37Rv) を感染させた 3日後の培養上清中に同定された抗菌ペプチド demicidin の遺伝子の発現検討を試みた。

C. 研究結果

1. ベトナム・ハノイ市の肺病院及び地区の結核センターの医療従事者 109名において、血漿グラニュリシン値と潜在性結核との関連性が示唆された。IFN- γ 遊離テスト陽性者では健常者と比較して有意にグラニュリシンの発現が低下していた。年齢や性別により補正しても結果は変わ

らなかった。また、他の臨床疫学的要因では BM1 以外では潜在性結核感染と関連する要因はなかった。

2. 活性型マクロファージの一種と考えられる M-M においては活性型ビタミン D₃による活性化メカニズムが働いていることが明らかとなった。すなわち、培養液中の十分な濃度の 25(OH)D₃の存在下において CYP27B1、VDR、cathelicidin 遺伝子の発現が増幅されることが示された。また、IFN- γ は CYP27B1の発現のみを増幅した。BCG 感染後一方、GM-CSF 存在下に分化した GM-M は抗原呈示細胞としての性格を示し、抗結核菌活性を示さないが、活性型ビタミン D₃による活性化メカニズムは働いていないと考えられた。ただし、IFN- γ による IL15 の誘導は双方のマクロファージにおいて認められた。demicidin 遺伝子の発現検討は現在行っているところである。

D. 考察

1. 今回の研究では、血漿グラニュリシン値と IFN- γ 遊離テスト陽性の関連が示唆されたが、末梢血中のグラニュリシンの発現レベルの低下が、活動性結核発症のリスクと相関するマーカーになり得るかを明らかにするためには、潜在性結核感染者を同定し前向きコホート研究を行う必要がある。前向きコホート研究等を実施することで、潜在性結核感染症から活動性結核への発症リスクと血漿グラニュリシン値の発現が関連すれば、活動性結核発症のリスクマーカーとして、潜在性結核感染者のなかのハイリスクグループを特定できる可能性がある。この場合、開発途上国等の高蔓延国においては、ハイリスクグループに的を絞っての予防的治療を行うことによって、コストを削減することができる(約十分の一)。
2. 同じように末梢血単球から分化したマクロファージであっても、GM-M においては、活性型ビタミン D₃による関連遺伝子の発現増幅はまったく認められなかった。遊走性食細胞としての性格の強い M-M と比較すると GM-M は residential macrophage としての性格が強い細胞である。また、双方のマクロファージにおいて IFN- γ により発現が増幅される IL-15は、キラーT細胞におけるグラニュリシンの発現を誘導すると言われている。現在、demicidinの

発現は検討中であるが、活性化ビタミン D₃ の活性化メカニズムが働かないような低濃度の 25(OH)D₃ の存在下でも M-M は結核菌を効率的に殺菌することが分かっている。この細胞においては、活性化ビタミン D₃ の活性化メカニズム以外の殺菌メカニズムがより重要あることが示唆された。

E. 結論

1. 潜在性結核と血漿グラニューロシン値の間には関連があることが示唆された。
2. 活性型マクロファージ M-M において BCG 感染時の活性型ビタミン D₃ は関連遺伝子の発現を増幅させた。一方、GM-M ではそのような増幅は認められなかった。活性型ビタミン D₃ による活性化はマクロファージの表現型によって反応が異なることが示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

無し

2. 学会発表

1. 櫻田紳策、PanaddaDehpakson、赤川清子、山崎利雄、慶長直人 :「M-CSF 及び GM-CSF により分化したヒト単球由来マクロファージにおける活性型ビタミン D₃ 関連遺伝子の発現解析」. 第 24 回日本生体防御学会、熊本、2013 年 7 月 .
2. 櫻田紳策、PanaddaDehpakson、赤川清子、山崎利雄、慶長直人 :「M-CSF 及び GM-CSF により分化したヒト単球由来マクロファージにおける活性型ビタミン D₃ 関連遺伝子の発現解析」. 第 83 回実験結核研究会、千葉、2014 年 3 月 .
3. 櫻田紳策、赤川清子、慶長直人 :「結核及び HIV 合併結核患者末梢血単球由来マクロファージにおけるビタミン D 関連遺伝子の発現についての検討」. 第 86 回日本結核病学会、東京、2011 年 6 月 .

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

該当無し

2. 実用新案登録

該当無し

3. その他

該当無し

[] アジア諸国・日本の外国人多剤耐性結核患者 TLR・リボカリン2の反応性と治療ワクチン開発の研究

研究分担者 竹田 潔 大阪大学大学院医学系研究科・免疫制御学・教授

研究要旨

結核菌の病原性因子 ESAT -6がマクロファージ内で、貪食胞の機能に関わる分子 LAMP -1と会合し、何らかの分子機構で LAMP -1を分解し、貪食胞の成熟をブロックしていることが示唆された。

自然免疫応答に関わる Absent in Melanoma 2 (AM2)の遺伝子欠損マウスは、結核菌に対する感受性が高くなった。その分子機構として、AM2は、細胞質内に逃れた病原性結核菌の DNA 認識し、インフラマゾームの活性化、そして IL1beta, IL -1 8の分泌を誘導することにより、結核菌感染防御を担っていることが明らかになった。

また、ヒアルロン酸合成酵素 HAS1の欠損マウスが、結核菌感染に対する感受性が高いことが明らかになった。

A. 研究目的

自然免疫系は、病原体の宿主内への侵入を最初に察知し、種々の炎症・免疫応答を誘導する重要な免疫系である。最近、Toll-like receptor (TLR)ファミリーの機能解析により、自然免疫系の活性化機構が明らかになり、TLRを介した自然免疫系の活性化の生体防御における重要性が明らかになった。結核菌に対する生体防御においても、自然免疫系が結核菌の認識が重要な役割を果たす可能性が考えられる。これまでに、マウスを用いた我々の解析から、リボカリン2や SLPIなどの分子群が、結核感染における自然免疫応答で重要な役割を担っていることが明らかになっている。本研究では、自然免疫系による結核感染防御機構を明らかにし、多剤耐性結核菌に対する、自然免疫系の活性化を利用した新規治療ワクチンの開発への基盤を提供することを目的とする。

B. 研究方法

結核菌がマクロファージに侵入後、貪食胞の成熟を抑制し、増殖をするが、貪食胞の成熟を抑制するメカニズムには不明な点が多い。結核菌の病原性因子として分泌たんぱく質である ESAT -6が知られていて、これらの遺伝子はワクチン株としてももちいられる M. bovis BCG株で欠損していることが知られている。ESAT -6は、T細胞に対する強い抗原性を有していることが知られているが、マクロファージの機能に及ぼす影響は明らかになっていない。そこで、マクロファージ内の貪食胞で分泌される ESAT -6が宿主細胞とどのように相互作用するかを解析した。GST融合 ESAT -6タンパク質を作製し、これをマクロファージ細胞株 RAW 264.7細胞の溶解液と混合し、その後 GST pull downを行うことにより、ESAT -6に会合する宿主分子の同定を試みた。

細胞内 DNA センサーとして同定された Absent in Melanoma 2 (AM2)の結核感染における役割を、遺伝子欠損マウスを定法により作製し、このマウスに結核菌を経気道的に感染させ、野生型マウスと感受性を比較した。

ヒアルロン酸合成酵素 HAS1, HAS3の遺伝子欠損マウスを作製し、結核菌を経気道的に感染させ、感受性を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は実験動物を用いたものを含むが、実験は大阪大学動物実験指針に基づき行った。実験動物の飼育は、空調設備、照明の時間制御の整った SPF 環境化で週に1回の床敷交換、餌水分補給を専門職員に委託し、行っている。また、毎年秋に動物慰霊祭を行っている。また実験に当たっては、麻酔操作を行い、苦痛の軽減を行うよう配慮している。

C. 研究結果

GST融合 ESAT -6タンパク質を用いた GST pull down解析で、ESAT -6に会合する宿主分子を探索した。その結果、従来 ESAT -6に相互作用することが報告されている、TLR2, MHC class I分子が同定された。このことから、この解析系は、ESAT -6の会合分子を解析するのに適した実験系であることが示唆された。そこで、さらにプルダウンされてきたタンパク質のシークエンスを行った結果、これら分子以外に LAMP -1を同定した。次に、LAMP -1と ESAT -6 遺伝子をそれぞれ動物細胞様発現ベクターに組み込み、HEK293細胞に導入し、免疫沈降法により両分子の会合を解析した。その結果、ESAT -6を発現した細胞では、LAMP -1の発現が抑制されることが明らかになった。また、ESAT -6の種々の deletion mutantを発現させた解析から、ESAT -6の N末端から 30-60塩基の領域が、LAMP -1の発現抑制に関与することが明らかになった。

AM2欠損マウスに結核菌を経気道的に感染させ、その後の生存率を野生型マウスと比較した。その結果、AM2欠損マウスは、全例が7週以内に死亡した。また、感染4週後の肺や肝臓の結核菌数も AM2欠損マウスで有意に増加していた。このように、AM2欠損マウスは、野生型マウスに比べて有意に結核感染に対する感受性が高いことが明らかになった。AM2はインフラマゾームを活性化させ、IL1beta/IL -18などの IL -1ファミリーサイトカインの分泌を誘導することが知られている。そこで、結核菌感染後の血清中の IL18の濃度を測定した。野生型マウスでは結核感染3週後に血清中 IL18濃度が上昇したが、AM2欠損マウスでは全く上昇しなかった。IL18は Th1応答に関与していること

が知られているので、次に結核感染3週後の脾臓のCD4陽性T細胞からのIFN- γ 産生を解析した。その結果、AM2欠損マウスでは、IFN γ 産生が野生型マウスに比べて有意に低下していた。

さらにAM2の結核感染防御機構を解析した。AM2欠損マウス由来の腹腔マクロファージは、結核菌感染によるcaspase-1(p10)の発現が誘導されなかった。また、結核菌ゲノムDNA刺激によるIL1 β , IL-18分泌が認められなかった。またcaspase-1(p10)の発現も誘導されなかった。結核菌DNAをHoechst33342で蛍光ラベルし、マクロファージ細胞株RAW264.7に感染させ、貪食胞を認識する抗Rab抗体で免疫染色すると、貪食胞とマージする結核菌だけでなく、マージしない結核菌が認められた。

結核菌感染により、肺組織でヒアルロン酸が著明に蓄積した。ヒアルロン酸合成酵素HAS1/HAS3の発現が結核菌感染によりマクロファージや肺胞上皮細胞で高くなった。HAS3欠損マウスは、結核感染に対する感受性が正常マウスとの間に有意な差を認めなかった。一方、HAS1欠損マウスでは、結核感染4週間後の肺での結核菌数が有意に多くなっていた。

D. 考察

結核菌の病原性因子として知られているESAT-6に会合する分子として、LAMP-1を同定した。ESAT-6を哺乳類細胞に発現させると、LAMP-1の発現が抑制されることから、結核菌がマクロファージに侵入後、貪食胞内で分泌されたESAT-6が、貪食胞の成熟に関与するLAMP-1と会合することにより、LAMP-1タンパク質を何らかの分子機構で分解し、その結果、貪食胞の成熟を抑制していることが示唆された。今後、ESAT-6がどのような機構でLAMP-1の発現を抑制するかを解析していく。

AM2欠損マウスは、結核感染に対する感受性が極めて高くなった。AM2は細胞内でDNAを認識し、インフラゾームを活性化し、IL1ファミリーサイトカインの分泌を誘導する分子として知られている。実際、AM2欠損マウスでは、結核感染後のIL-18濃度の上昇が認められなかった。今後、AM2がどのように結核菌を認識しているかを明らかにしていきたい。

ヒアルロン酸合成酵素HAS1が結核感染防御に重要な役割を担っていることが明らかになった。今後、HAS1による結核感染防御機構を明らかにしていきたい。

E. 結論

結核菌の病原性因子ESAT-6が宿主マクロファージ内での貪食胞の成熟に関与するLAMP-1を会合することを見出した。ESAT-6を発現させるとLAMP-1の発現が抑制されることを見出した。

AM2欠損マウスは結核感染に高感受性であった。また血清中のIL-18濃度の上昇も認められなかった。

HAS1欠損マウスは、結核菌に対する感受性が亢進していた。

G. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

1. Kiyoshi Takeda Regulation of gut homeostasis by innate immunity. The 2013 Fall Conference of the Korean Association of Immunologists 2013. 11. 7-8, Seoul, Korea
2. Kiyoshi Takeda Regulation of gut homeostasis by innate immunity. FMSA International Symposium on Autoimmune Diseases, 2013. 10-17-20, Beijing, China
3. Kiyoshi Takeda Innate immune responses and gut homeostasis. The 33rd Korean College of Rheumatology Annual Scientific Meeting. May 10-11, 2013, Seoul, Korea
4. Kiyoshi Takeda Regulation of gut homeostasis by innate immunity. Immunology 2013, May 3-7, 2013, Hawaii, USA
5. Kiyoshi Takeda Host-microbial interplay. 42nd JSI Annual Meeting 12. 11-13, 2013, Chiba
6. Kiyoshi Takeda Regulation of gut homeostasis by innate immunity and lymphoid tissues in the appendix. Gremany-Japan Immunology Seminar 2013. 12. 5-8, 2013 Shizuoka Japan
7. Kiyoshi Takeda Probiotics and innate immunity: Implication for chronic disease prevention. 5th India Probiotics Symposium, December 15-16, 2012, Bangalore, India
8. Kiyoshi Takeda Regulation of intestinal homeostasis by innate immunity. The 4th AsiaHORCs Joint Symposium, Buyeo, Korea, November 11-14, 2012
9. Kiyoshi Takeda Regulation of gut homeostasis by innate immunity. International Endotoxin & Innate Immunity Society Meeting 2012, October 23-26, 2012, Tokyo
10. Kiyoshi Takeda Regulation of gut homeostasis by innate immunity. The 34th Naito Conference, October 16-18, 2012, Sapporo, Japan
11. Kiyoshi Takeda Regulation of gut homeostasis by innate immunity. The 7th RCAI International Summer Program, June 22-27, 2012, Yokohama
12. Kiyoshi Takeda Regulation of gut homeostasis by innate immunity. Macrophage Molecular and Cellular Biology 2012, June 15-16, 2012, Tokyo
13. Kiyoshi Takeda Regulation of gut homeostasis by innate immunity. ICAD Forum, April 18-19, 2012, Tokyo
14. Kiyoshi Takeda, Hisako Kayama, Regulatory Mechanisms of Immune Responses to Intestinal Bacteria. Keystone Symposium. Mar 4-8, 2012. Keystone, USA
15. Kiyoshi Takeda, Regulation of gut

3. その他 なし

- homeostasis by microbiota and innate immunity. The 4th Symposium of Immunological Self. Jan 27-28, 2012, Kyoto, Japan
16. Kiyoshi Takeda. Innate immune responses to mycoacterial infection. The 46th U S- Japan Tuberculosis and Leprosy Research Conference, Dec 7-9, 2011, Saitama, Japan
 17. Kiyoshi Takeda, Hisako Kayama, A unique subset of intestinal myeloid cells suppress T cell-dependent intestinal inflammation. 第40回日本免疫学会学術集会(国際シンポジウム) 2011年 11月 27-29日、千葉
 18. Kiyoshi Takeda, Hisako Kayama. Regulation of intestinal homeostasis by innate immunity. 日本食品免疫学会第7回学術大会、2011年 10月 18-19日、東京
 19. Kiyoshi Takeda. Regulation of intestinal homeostasis by innate immunity. The New Zealand Australian Society for Immunology Branch Meeting 2011, June 30- July 1, 2011. Wellington, New Zealand
 20. 竹田 潔、慢性疼痛の病態理解のための免疫・炎症メカニズム。第6回日本運動器疼痛学会、2013年 12月 7- 8日、神戸
 21. 竹田 潔、腸管免疫の謎を解く。日本消化器病学会2013、2013年 10月 11日、東京
 22. 竹田 潔、腸内環境因子と炎症性腸疾患—基礎研究の立場から—。第50回日本消化器免疫学会総会、2013年 8月 1-2日、東京
 23. 竹田 潔、免疫系と腸管環境相互作用による腸管炎症の制御機構。第34回日本炎症・再生医学会、2013年 7月 2- 3日、京都
 24. 竹田 潔、自然免疫系による腸管炎症の制御機構。第19回日本ヘリコバクター学会学術集会、2013年 6月 28- 29日、長崎
 25. 竹田 潔、腸管免疫と炎症制御。第44回日本動脈硬化学会総会・学術集会、2012年 7月 20日、福岡
 26. 竹田 潔、プロバイオティクス細菌による腸管免疫制御機構。第12回日本抗加齢医学会総会、2012年 6月 24日、横浜
 27. 竹田 潔、自然免疫と消化管疾患。第24回日本アレルギー学会春季臨床大会、2012年 5月 12日、大阪
 28. 竹田 潔、自然免疫系による慢性炎症性腸疾患の制御。第49回日本臨床分子医学会学術総会、2012年 4月 13-14日、京都
 29. 竹田 潔、自然免疫と炎症性疾患。第48回日本眼感染症学会、2011年 7月 8-10日、京都
 30. 竹田 潔、自然免疫による腸管免疫の制御。第28回日本医学会総会、2011年 4月 8-10日、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

[X] H M感染者での結核早期診断方法としてのクオンティフェロン TBゴールドと T-スポット TBの比較検討及び播種性 MAC症の早期診断方法としての キャピリア MAC抗体 ELISAの有用性の検討に関する研究

研究分担者 青木孝弘 独立行政法人国立国際医療研究センター
エイズ治療・研究開発センター 医師

研究要旨

H M感染者における結核症の早期診断を目指し、2種類のインターフェロン 遊離試験の有用性を検討した。結核症と MAC症の鑑別を目的として、キャピリア MAC抗体 ELISAを H M合併播種性 MAC症の患者で施行したが、陽性率は 4.3%と極めて低かった。H M合併播種性 MAC症の補助診断としては有用ではなかった。

A. 研究目的

(1) 結核の診断では、近年、BCGの影響を受けず、客観性のある検査である Interferon Releasing Assay (以下 IGR) がツベルクリン反応に代わり行なわれるようになりつつある。

本邦では、平成 22年 4月 1日より IGRの 1つである第 3世代クオンティフェロン TB ゴールド (以下 QFT-3G) が保険診療で行なえるようになった。本研究では、平成 24年度に H M感染者における QFT-3Gの有用性について、当院の新規 H M感染者を対象に QFT-3Gを施行し、同群における陽性率などを明らかにした。

更に、平成 24年 11月より同じ IGRの 1つである T-スポット TBが本邦でも保険収載され利用可能となった。QFT-3Gと比較し T-スポット TBは感度・特異度ともに高いとされているが、本邦で H M感染者における両検査の比較検討は施行されていない。

そこで、平成 25年度は、当センターの初診 H M感染者及び抗酸菌症と確定した当センターの通院中の H M感染者を対象とし、QFT-3Gと T-スポット TBを施行することで、両検査の感度・特異度などの比較検討を行う。

以上の研究を行うことで、H M感染者における 2種類の IGRの診断法としての有用性を明らかとすることを目標とする。H M合併結核に関する診療ガイドライン策定の際の基礎データとなると考える。

(2) Mycobacterium avium complex (MAC) は、非 H M患者では経気道感染により肺に病変を生じるが、一般的に全身に播種性病変を生じることはない。一方、H M患者では、腸管から血流感染により全身に播種性病変を生じる播種性 MAC症を起こす。

播種性病変を生じた患者では、結核症と MAC症の鑑別に苦慮することがある。結核症に関しては、IGRを補助診断法として利用可能であるが、MAC症に関してはこれまで血清学的補助診断法は確立されていなかった。

近年、MACの GPL core抗原に対する IgA抗体を測定することにより、肺 MAC症を血清学的に診断する診断法 (キャピリア MAC抗体 ELISA) が確立された。本診断法の肺 MAC症における診断的有用性は、感度 84.3%、特異度 100%と報告されている。しかし、本診断法を H M合併播種性 MAC症に適用した報告は現時点では存在しない。

本研究では、本血清診断法の H M合併播種性 MAC症の診断に関する有用性を、H M合併播種性 MAC症と診断された症例の保存血清にて測定することで検討する。

B. 研究方法

(1) 平成 25年 10月から平成 26年 2月までに当センターを受診した新規 H M患者のうち抗 H M療法を導入前で、書面による研究参加の同意が得られた患者について、QFT-3G T-スポット TBを施行した。

いずれかの IGRが陽性の被験者では、結核症の有無について精査を施行する。抗酸菌が確認された場合は、菌種の同定と耐性検査を施行する。

IGRが判定保留または判定不可となった患者では、受診毎に IGRを施行し経過観察を行う。

IGRが陰性であった患者では、初回検査時より 1年間結核発症の有無について経過観察を施行し、結核発症が疑われた場合は、両 IGRを施行し、結核症の精査を施行する。

(倫理面への配慮)

本研究は、独立行政法人国立国際医療研究センター倫理委員会にて、研究開始前に承認を受け実施している。また、被験者に対して口頭および書面にて研究内容を説明し、同意書を取得の上で研究に参加いただいている。

(2) 平成 8年から平成 25年 3月までに当センターにおいて H M患者で、播種性非結核性抗酸菌症と細菌学的に確定診断された患者を対象とし、キャピリア MAC抗体 ELISAを施行した。

(倫理面への配慮)

本研究は、独立行政法人国立国際医療研究センター倫理委員会にて、研究開始前に承認を受け実施している。本研究は保存血清を使用する研究のため、本研究の施行で患者に有害事象が生じる可能性はない。また、当センター外来のモニターにて、本研究を施行することについて掲示を行うことで、患者への周知を行った。

C. 研究結果

(1) 新規 H M患者数は 26例で、全例男性で、年齢の中央値は 36歳 (23-64)、国籍は日本 23例 (88.5%)、男性同性愛者 22例 (84.6%)、CD4の中央値は

306(14-682)/ μ Lであった。全症例で、初診時の胸部単純写真上で明らかな結核患者は認めなかった。

QFT-3Gの判定結果は、陽性例 0例(0%)、判定保留例 2例(7.7%)、判定不可例 1例(3.8%)であった。T-スポット TBは 26例全例で陰性であった。

HIV合併活動性結核症例は当該期間に 1例で、両IGR共に陽性であった。

(2)当院にてMACを検出した患者は50例で、そのうち1例は保存検体なし、3例は定着例で、残る46例で解析を行った。46例中、播種性MAC症が24例、MAC-IRがS21例、肺MAC症が1例であった。性別は男性が40例(86%)、年齢の中央値は38歳(21-76)、国籍は日本42例(87.9%)、男性同性愛者30例(65.2%)であった。CD4の中央値は48/ μ L(1-323)、CD4が200/ μ L未満の症例は87.0%(40/46)であった。

46例中でキャピリアMACが陽性となった症例は2例で、陽性例2例ともに、気道検体のみからMACを認めた症例であった。そのうちの1例は、肺MAC症の診断日時より後からHIV感染を生じた症例と推定される症例であった。その他、M. Tuberculosis 10例、M. kansasii 7例、M. lentiflavum、M. genovense、M. kyorinense、M. chelonae各1例についても同様に検査を施行したが、全例で陰性であった。

D. 考察

(1)平成24年度施行したQFT-3Gの結果では、新規HIV感染者149例中のQFT3-G陽性率は4.7%で、陽性例は全例活動性結核または潜在性結核の診断であった。本年度は2種類のIGRAの比較検討試験を施行したが、症例数が現時点では少なく、両検査法の有用性について確定的な事は言えない。更なる症例の集積を要する。

(2)HIV感染者で、本法が陽性となりづらい理由として、以下の2つの可能性を考える。MAC症のHIV患者は高度免疫不全状態であるため、MAC特異的抗体の産生が低い。非HIV患者における肺MAC症は、経気道感染であるが、HIV感染者における播種性MAC症は、経腸管感染であり、特異的IgA抗体の産生がHIV患者では低い。更なる検討が必要であると考える。

E. 結論

(1)HIV患者では、結核菌への暴露後の結核発症率が、非HIV患者に比べきわめて高い。米国では、HIV患者全例でHIV診断時にIGRA(QFTまたはT spot TB)の施行を推奨している。本邦は結核中蔓延国(2011年：人口10万人対で17.7人)であり、結核菌への暴露のリスクは米国より高いと考えられる。本邦でも、HIV感染が判明した時点でのIGRA施行は有意義であると考えられる。

(2)MAC症と細菌学的に確定診断されたHIV症例での本検査の陽性率は、2/46例(4.3%)のため、HIV患者でのMAC症の早期診断には、有用ではない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 青木孝弘:合併症を有する結核治療 1. HIV合併結核. 結核 88:827-841, 2013.

2. 学会発表

1. 青木孝弘: HIV合併MAC症症例における血清学的診断の後視的検討. 第27回日本エイズ学会学術集会・総会、平成25年11月

H. 知的財産権の出願・登録状況

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）
研究協力報告書

国立病院機構呼吸器ネットワークを活用した多剤耐性結核の迅速診断・隔離法開発

研究協力者 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

研究要旨

多剤耐性結核は世界的に問題となっている。その診断の遅れは、治療失敗につながるのみならず、他者への感染リスクの増大をももたすため、迅速な診断はきわめて重要である。我々は、多剤耐性結核のスクリーニング法としてのリファンピシン（RFP）耐性迅速診断法の有用性につき検討を行った。従来法の薬剤感受性検査を good standardとした場合の感度は 93.3%、特異度は 99.7%と優れた成績が得られた。本法は RFP 耐性迅速診断、ひいて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ると考えられた。

A. 研究目的

多剤耐性結核の診断の遅れは、患者本人の治療失敗に加えて周囲への感染拡大につながるため、迅速な感受性検査はきわめて重要である。ジェノスカラー Rif-TB は、喀痰中の結核菌に存在する RFP 耐性遺伝子である rpoB 遺伝子領域の変異をラインプロブアッセイで検出することによる RFP 耐性迅速診断法であり、24 時間以内に結果を得ることができる。RFP 耐性結核の大部分は多剤耐性結核であるため、本法は多剤耐性結核のスクリーニング法としても期待できる。我々は本法の従来法との相関、有用性につき検討した。

B. 研究方法

結核を疑われて当院を受診した患者で、喀痰検査でアンプリコマイコバクテリウムによる PCR 検査を行って結核菌群陽性と判定された 331 例を対象とした。対象患者の喀痰を用いてジェノスカラー Rif-TB を行い RFP 感受性の有無を判定した。同時に、喀痰検体から培養された結核菌に対して通常の MG I 及びウェルパックによる小川比率法を用いた薬剤感受性検査を行って、結果を比較検討した。

（倫理面への配慮）

いずれも保険収載されている通常の検査キットを用いた検討であり、また retrospective な検討であり、倫理的な問題は無いものとする。

C. 研究結果

331 例のうち、培養陰性であった 8 例を除く 323 例で比較検討を行った。ジェノスカラー Rif-TB で RFP 感受性と判定されたのは 308 例であり、307 例は通常の薬剤感受性検査でも RFP 感受性であったが、1 例は MG I 法では感受性であったが小川比率法では耐性であった。この例は臨床的には排菌陽性が遷延しており RFP 耐性と考えられた。また、ジェノスカラー Rif-TB で RFP 耐性と判定された 15 例中、14 例は MG II 法・小川比率法いずれも RFP 耐性であったが、1 例は MG I 法で感受性であった。RFP 耐性の 14 例中 11 例 (78.6%) は INH にも耐性を示す多剤耐性菌であった。

D. 考察

本法の感度は 93.3%、特異度は 99.7%と優れた結果が得られており、また本法で RFP 耐性と判定された例の 78.6%は多剤耐性であり、多剤耐性結核の迅速なスクリーニング法としても有用であると考えられた。

E. 結論

ジェノスカラー Rif-TB による RFP 耐性迅速診断法は、従来法との相関も優れており、多剤耐性結核の迅速診断法としても有用である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1. K. Tsuyuguchi, S. Yoshida, T. Nakatani, Y. Inoue, K. Suzuki, M. Okada and S. Hayashi. : Clinical features of Mycobacterium kansasii pulmonary disease. American Thoracic Society 2013 International Conference (2013. 5. 21. Philadelphia)
2. 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
3. 露口一成: 日常の呼吸器診療に紛れ込む結核を見落とさないために 間質性肺炎に合併した結核. 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会シンポジウム、2013 年 4 月 20 日、東京
4. 露口一成: リスク要因集団における結核 -より積極的な潜在性結核感染治療を含めて-. 第 67 回国立病院総合医学会シンポジウム 28 結核発症のリスク要因とその対策、2013 年 11 月 9 日、金沢
5. 露口一成、吉田志緒美、鈴木克洋、岡田全司、林清二: イソニアジド (INH) による潜在性結核感染症治療後の INH 耐性誘導リスク. 第 109

- 回日本内科学会講演会、2012.4.15. 京都
6. 露口一成：結核の入院と退院の基準再考．ミニシンポジウム 2 再考・結核の入院と退院の基準．第 87 回日本結核病学会総会、2012.5.11. 広島

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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
永井英明	診断の進歩 QFTの新しい展開 (解説)	永井厚志、巽浩一郎	Annual Review 呼吸器 2011	中外医学社	東京	2011	187-192

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
岡田全司	The study of novel DNA vaccines against tuberculosis: Induction of pathogen-specific CTL in the mouse and monkey models of tuberculosis.	Human Vaccines and Immunotherapeutics	9(3)	515-525	2013
岡田全司	Novel therapeutic vaccines [(HSP65+ IL-12)DNA-, granulysin- and Ksp37-vaccine] against tuberculosis and synergistic effects in the combination with chemotherapy.	Human Vaccines and Immunotherapeutics	9(3)	526-533	2013
岡田全司	Potential function of granulysin, other related effector molecules and lymphocyte subsets in patients with TB and HIV/TB coinfection.	International Journal of Medical Sciences	10(8)	1003-1014	2013
岡田全司	Siddiqi UR, Punpunich W, Chuchottaworn C, Jindaku S, Ashino Y, Saitoh H, Okada M, Chotpitayasunondh T, Hattori T.: Elevated anti-tubercular glycolipid antibody titers in healthy adults as well as in pulmonary TB patients in Thailand.	International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases.	16(4)	532-538	2012
岡田全司	A Novel Therapeutic and Prophylactic Vaccine against Tuberculosis Using the Cynomolgus Monkey Model and Mouse Model.	Proceedia in Vaccinology.	4	42-49	2011
岡田全司	Novel prophylactic vaccine using a prime-boost method and hemagglutinating virus of Japan-envelope against tuberculosis.	Clin Dev Immunol.		D549281	2011
岡田全司	Anti-IL-6 receptor antibody causes less promotion of tuberculosis infection than anti-TNF- antibody in mice.	Clin Dev Immunol.		D404929	2011
岡田全司	Decreased plasma granulysin and increased interferon-gamma concentrations in patients with newly diagnosed and relapsed tuberculosis.	Microbiol Immunol.	55(8)	565-573	2011
岡田全司	Novel therapeutic vaccine: Granulysin and new DNA vaccine against Tuberculosis.	Human Vaccines	7	60-67	2011
岡田全司	Development of therapeutic and prophylactic vaccine against tuberculosis using monkey and granulysin transgenic mice models.	Human Vaccines	7	108-114	2011
永井英明	Multicolor flow cytometric analyses of CD4+ T cell responses to Mycobacterium tuberculosis-related latent antigens.	Jpn J Infect Dis	66	207-215	2013

永井英明	Doctor's delay in endobronchial tuberculosis.	Kekkaku	88	9-13	2013
永井英明	Stratified Threshold Values of QuantiFERON Assay for Diagnosing Tuberculosis Infection in Immunocompromised Populations.	Tuberc Res Treat	2011	Article ID 940642	2011
永井英明	Reversion rates of QuantiFERON-TB Gold are related to pre-treatment IFN-gamma levels.	J Infect	63	48-53	2011
服部俊夫	A simple multiplex PCR for the identification of Beijing family of Mycobacterium tuberculosis with a lineage-specific mutation in Rv0679c.	J Clin Microbiol.	51(7)	2025-2032	2013
野内英樹	Drug resistance and IS6110-RFLP patterns of Mycobacterium tuberculosis from recurrent tuberculosis patients in northern Thailand.	Microbiology and Immunology	57(1)	21-29	2013
慶長直人	Primary drug-resistant tuberculosis.	present status and risk factors.	8(8)	e71867	2013
慶長直人	Clonal expansion of Mycobacterium tuberculosis isolates and coexisting drug resistance in patients newly diagnosed with pulmonary Tuberculosis.	BMC Res Notes	6	444	2013
慶長直人	Potential function of granulysin, other related effector molecules and lymphocyte subsets in patients with TB and HIV/TB coinfection.	Int J Med Sci	10(8)	1003-1014	2013
岡田全司	予防接種Q&A(B) BCG100.(結核予防ワクチン; DNAワクチン) 結核予防ワクチン(DNAワクチン)の開発状況とその応用の可能性について教えてください。	小児内科	45(3)	281-283	2013
岡田全司	結核の免疫反応「免疫学的機序からみた呼吸器疾患」	日本胸部臨床	72(12)	1336-1345	2013
岡田全司	ヒト結核感染に最も近いカニクイザルを用いた新規結核予防ワクチン開発及び臨床応用に向けて「結核 古くて新しい感染症」	最新医学	68(11)	2479-2487	2013
岡田全司	多剤耐性結核治療ワクチンとT細胞免疫「結核 古くて新しい感染症」	最新医学	68(11)	2488-2495	2013
岡田全司	はじめに(序論)「結核 古くて新しい感染症」	最新医学	68(11)	2437-2438	2013
岡田全司	座談会:結核の現状・問題点と最新の知見「結核—古くて新しい感染症—」	最新医学	68(11)	2439-2450	2013
岡田全司	Mycobacterium abscessusとその近縁菌 Mycobacterium massilienseおよび Mycobacterium bollettiとの鑑別	結核	86(5)	557-558	2011
岡田全司	新たな結核ワクチン	感染・炎症・免疫	41	46-51	2011

永井英明	新しい結核感染診断検査法 T-SPOT.TBの有用性	アニムス	19	37-42	2014
永井英明	【非結核性抗酸菌症の進歩】HMにおける非結核性抗酸菌症	THE-LUNG Perspectives	22	56-59	2014
永井英明	【忘れるな 皮膚結核-真正結核・結核疹・BCG副反応を中心に】(Part4)日本の結核の現状(総説02) HMと結核	Visual Dermatology	12	964-967	2013
永井英明	「結核-古くて新しい感染症-」新しい診断法: HM合併結核と GRA	最新医学	68	2467-2471	2013
永井英明	【呼吸器感染症の実地診療 最近の臨床上の進歩と課題の克服】実地医家が遭遇する治療上の課題の克服の実際 結核標準治療の実際と特定治療のすすめかた	Medical Practice	30	1783-1787	2013
永井英明	関節リウマチ治療中に問題となる感染症 結核と非結核性抗酸菌症 結核	化学療法領域	30	152-157	2013
永井英明	明日の結核医療と人材育成への展望 結核病学会認定単位取得へ向けた研修機会の在り方	結核	88	790-792	2013
永井英明	Quantiferon-3Gについて教えてください	Frontiers in Rheumatology & Clinical Immunology	6	158	2012
永井英明	臨床検査 Q&A 結核の検査結果の判断	Medical Technology	40	919-920	2012
永井英明	感染症の臨床 結核の最新情報 薬剤師としての関わり	薬剤学:生命とくすり	72	232-238	2012
永井英明	【結核と非結核性抗酸菌症】合併症のある結核患者の治療戦略	Pharma Medica	30	23-25	2012
永井英明	【感染症と抗菌薬の使い方-多剤耐性菌感染症時代の予防から治療まで】結核(特に肺結核)	診断と治療	100	383-387	2012
永井英明	【最近10年で最も進歩した研究分野を検証する】抗酸菌感染症(NTMを含む)	呼吸	31	946-948	2012
永井英明	特集 HM感染症と結核・非結核性抗酸菌症	日本胸部臨床	70	469-478	2011
永井英明	結核標準治療が行えない症例における levofloxacinの使用状況と治療成績の検討	結核	86	773-779	2011
永井英明	【結核医療が変わる】多剤耐性結核の現況(解説 特集)	感染と抗菌薬	14	201-205	2011
永井英明	薬剤耐性結核の医療に関する提言(解説)	結核	86	523-528	2011
永井英明	結核性胸膜炎の治療中に対側胸水を呈した1例	結核	86	723-727	2011
永井英明	第85回総会ミニシンポジウム . QFTの臨床応用-その可能性と限界	結核	86	101-112	2011
野内英樹	当院職員の職場、職種別に分けて比較した QFT検査の検討	結核	88(4)	405-409	2013
青木孝弘	合併症を有する結核治療 1.HM合併結核	結核	88	827-841	2013