

〈教 育 講 演〉

1. 薬剤耐性結核菌迅速検出ラインプローブ法の開発

(国立国際医療研究センター研究所感染症制御研究部) 切替 照雄

2. 迅速発育菌の治療と予後

(天理よろづ相談所病院感染症管理センター・呼吸器内科) 田中 栄作

3. 結核病床の施設基準

(工学院大学建築学部建築デザイン学科) 笥 淳夫

4. 患者さんの人生を理解した肺結核の画像診断

(琉球大学大学院感染症・呼吸器・消化器内科学(第一内科)) 藤田 次郎

5. 新規抗結核薬

(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感染症研究部) 露口 一成

教育講演 1

薬剤耐性結核菌迅速検出ラインプローブ法の開発

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)

多剤耐性結核菌 (MDR-TB) や超多剤耐性結核菌 (XDR-TB) といった薬剤耐性結核菌の新興は、結核感染制御にとって極めて深刻な問題であり、その伝播を阻止するためには、迅速な薬剤感受性試験を開発することが必須である。

迅速な薬剤感受性試験として、まず、従来の結核菌培養法を改良した様々な診断法が開発され、一部は実用化されている。次の世代の診断法として、例えば「喀痰からの迅速診断」というような極めて迅速な診断を可能にするためには、どうしても遺伝子技術の導入が必須である。私たちは、森亨先生の指導で2004年から薬剤耐性結核菌遺伝子診断法を開発を始めた。本講演では、これまでの私たちの開発の経緯、特に結核菌臨床分離株で見出される変異が薬剤耐性に関与しているのかどうかをどのように実証し、その結果を遺伝子診断法の開発に組み込んでいったのかを紹介し、合わせて製品化されたラインプローブ法の臨床試験の結果を報告する。

結核菌はゲノム上の特定領域に変異を生じることによって薬剤耐性を獲得する。従って、薬剤耐性遺伝子診断法ではこれらの変異を同定すればよい。原理的に単純な薬剤耐性遺伝子診断法として、ダイレクトシーケンシング法がある。これは、薬剤耐性に関与する特定領域の遺伝子配列を決定し、変異の有無を明らかにする方法だ。しかし、この方法は現在のところ非常に高価で臨床現場での日常診断には使用できない。安価でより簡便な遺伝子変異同定法として、ラインプローブ法がある。この方法では、遺伝子配列の断片 (オリゴプローブ) をライン上に固定したストリップを用いる。これによって、調べたい結核菌の遺伝子とオリゴプローブとの塩基配列の違いを検出する。結核菌の薬剤耐性の機序を概説しながら、遺伝子診断法の必要性を考察する。

私たちは、まず、薬剤耐性臨床分離株を用いた耐性遺伝子の解析を進めた。この過程で、多くの遺伝子変異に遭遇した。しかし、これらの変異が本当に薬剤耐性に関与しているのかどうか明らかではなかった。加えて、これまでの論文やデータベースには、結核菌耐性菌で同定された遺伝子変異情報が数多く公開されてい

た。しかし、これらの多くの変異は、他の病原体ではすでに一般化している手法による実証を行わずに、薬剤耐性変異として登録されているのが現状だった。特定の遺伝子変異が薬剤耐性に関与することを明らかにするためには、遺伝子産物をクローニングしてその酵素活性を測定する、もしくは実験室株に遺伝子変異を挿入することによって薬剤耐性の原因がその変異であるかどうかを決定する必要がある。私たちは、薬剤耐性分離株で見出した遺伝子変異をできるだけ科学的に丁寧に実証し、薬剤耐性に関与する遺伝子変異だけを抽出するように心がけた。

ピラジナミドはプロドラッグで、結核菌体内に受動的に取り込まれると菌体内にあるピラジナミダーゼの作用によって活性化される。ピラジナミダーゼをコードする遺伝子 *pncA* の変異によってピラジナミド耐性を獲得する。ピラジナミド耐性臨床分離株ではこれらの変異が *pncA* に散在していること、これら株から変異を持った *pncA* 遺伝子をクローニングし、大腸菌で発現させ酵素活性を確認した。これらの情報をもとにピラジナミド耐性遺伝子検出のためのラインプローブ法を開発した。

イソニアジドもプロドラッグで菌体内にあるカタラーゼ・ペルオキシダーゼ (KatG) によって活性化され、ミコール酸合成酵素の一つである *InhA* と結合しその酵素活性を阻害する。イソニアジド耐性臨床分離株の解析と遺伝子発現実験から、様々な *katG* 内の変異が酵素活性に影響することその変異の場所によって、イソニアジド耐性度の度合いが異なることが明らかとなった。*inhA* プロモーター領域の変異によって、*InhA* が過剰に産生されることによってイソニアジドに中等度耐性になることが知られている。これとは別の *inhA* の上流にある *fabG1* のサイレント変異によってもイソニアジドに中等度耐性になることを明らかにした。

最終的には、これらの結果をもとに、結核菌及び主要な非結核性抗酸菌の菌種同定、リファンピシン、イソニアジド、ピラジナミド及びキノロン耐性結核菌の同定キットを作成した。多施設による臨床評価を実施した。その結果も紹介する。

教育講演 2

迅速発育菌の治療と予後

田中 栄作 (天理よろづ相談所病院感染症管理センター・呼吸器内科)

/Users/toratanug/De 抗酸菌のなかで、固形培地上の純培養で、7日未満で肉眼観察可能な成熟集落に達する菌群を迅速発育菌群 (RGM: rapidly growing mycobacteria) と定義している。RGMは慢性の肺感染症、皮膚軟部感染症、リンパ節炎、全身播種型感染症などの起炎菌となる。慢性肺感染症の80~90%は、*M. abscessus* が起炎菌であり、残りの殆どは、*M. fortuitum* によると報告されている。一方、皮膚軟部組織感染症の60-80%は *M. fortuitum* 感染症である。*M. chelonae* は主に皮膚軟部組織感染症の起炎菌となる。近年、これまで DDH マイコバクテリアによる同定法では *M. abscessus* と分類されていた菌種の中に、異なる菌種が含まれる事が明らかとなってきた。Harada らによれば、*M. abscessus* と同定された菌種の中で、26%は *M. massiliense*, 3%は *M. bolletii* であった。さらに、これらの菌種は、薬剤感受性や治療効果なども微妙に異なっている事が報告されており、今後臨床の現場でも問題となると予想される。治療においては、いずれの菌種もクラリスロマイシン (CAM) がキードラッグとなる。CAM 単剤治療を行うと耐性化し、その後の治療に非常に難渋する事になる。必ず多剤併用療法を行う事が重要であり、治療の正否は、CAM と組み合わせる薬剤の有無と、どれだけ長期間

使用できるかにより大きく左右される。*M. fortuitum* は、CAMに加えてニューキノロン、アミノグリコシド、ST 合剤、doxycycline などの感受性率が高い。特にニューキノロン系の薬剤が有効なこともあり、迅速発育菌による感染症の中では比較的予後良好である。一方 *M. abscessus* 症治療における CAM の併用薬としては、イミペネム、セフェム系薬、アミノグリコシド、ニューキノロンなどの中から、感受性のある薬剤を組み合わせて使用する。注射薬の長期投与が実際には困難であり、*M. abscessus* 症の治療は大変困難である。我国では、DPB などの慢性気道感染症に対して、エリスロマイシンの少量長期投与療法が標準治療として定着している。RGM は rRNA gene の突然変異に加えて、erm gene の誘導による CAM 耐性機序を有しており、エリスロマイシンの投与によっても耐性化する可能性があり注意を要する。慢性肺感染症や全身播種型感染症では、*M. abscessus* と MAC の合併感染例がしばしば見られる。当院の症例でも、MAC に対する CAM+EB+RFP 治療を施行すると、次第に CAM 耐性の *M. abscessus* が増加し、病状が悪化する例が見られた。このような合併例に対する最適な治療法も今後の問題である。

教育講演 3

結核病床の施設基準

笈 淳夫（工学院大学建築学部建築デザイン学科）

2011年5月に厚生労働省健康局結核感染症課長より新しい「結核に関する特定疾患予防指針」が通知として示された。新たな予防指針では、結核病床が減少している中で、一般に結核病棟を構成することが難しくなっているために、結核病床と一般病床が混在した病棟構成がより求められるようになることが示されている。そしてこのことから、一般病棟の一部を隔離空間としてしつらえるための施設基準を明らかにすることを求めていると考えられる。

一方で、現在の第二種感染症病室の施設基準の手引きには、空気感染を想定した記載がされていないために、結核治療施設の整備において齟齬が生じている。

●結核治療施設の施設環境調査

平成22年度厚生労働科学研究補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）「結核対策の評価と新たな診断・治療技術の開発・実用化に関する研究」主任研究者加藤誠也（公益財団法人結核予防会結核研究所 副所長）の分担研究「結核病床の実態調査」において、全国の結核治療施設を対象としてさまざまなタイプの結核治療施設を選定して実態調査を行った。

調査対象病院は全国にまたがる計20病院であり、その病院で結核治療を行っている計25区画を、複数の調査員が訪問して現地調査を行った。その結果、換気システムは多様で施設管理者にも十分に把握されていない場合があること、換気システムに感染管理上問題があると思われるケースが少なくないこと、換気システムの維持・管理は十分とは言いがたい場合があること、長期入院にふさわしい室内面積やアメニティを持つ施設は極めて限られていること等々が明らかになった。

●結核の施設基準の提案

前述の研究報告書には、今後の結核治療施設の施設基

準について試案を示している。この試案は平成20年度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）「我が国における一類感染症の患者発生時の臨床的対応に関する研究」の分担研究報告書「結核を想定した感染症指定医療機関の施設基準に関する研究」（分担研究者：笈淳夫）をベースとして作成したものであり、以下にその試案を一部抜粋して示しておく。

【結核患者を収容する病室等の施設基準】

- 1 病室は原則として個室とすること。
- 2 病室は前室を有していることが望ましい。
- 3 易感染性の患者を収容する病室の場合には前室を設けること。
- 4 病室面積はトイレ・シャワーを除いて15平米/室以上とすることが望ましい。
- 5 病室内にトイレ及びシャワー設備を設けること。
- 6 病室内に手洗い設備を設けること。
- 7 病室の開口部はできる限りふさぐこと。
- 8 病室の扉は自閉式とすること。
- 9 病室は原則として陰圧を保持すること。
- 10 病室では適切な換気を行うこと。
- 11 病室内の患者に安全に接することができるよう、空気流の方向を設定すること。
- 12 空調設備は、他の病室に結核の感染を拡大しない方式とすること。
- 13 病室に隣接して、結核患者が自由に行動できる特定区域を設けることが望ましい。
- 14 施設内の空気は、清潔区域から汚染区域へ流れるよう維持すること。
- 15 排水を適切に処理できる設備を有すること。

●まとめ

院内感染対策と同時に、長期にわたる入院生活に対応できるような療養環境に十分配慮した施設整備を行うことが求められるが、既存の極めて貧しい施設環境に引きずられることの無いようにしなければならない。

教育講演 4

患者さんの人生を理解した肺結核の画像診断

藤田 次郎 (琉球大学大学院感染症・呼吸器・消化器内科学 (第一内科))

肺結核は人生を通した慢性の感染症であるため、その病態に関する臨床的知識を持っていることが画像所見を理解するためにきわめて重要である。さらに肺の正常解剖に基づいた画像解析を行うことが肺結核を正しく診断するための重要なポイントである。以下に肺結核の進展様式と画像診断のポイントを述べる。1) 初期変化群を形成する初感染巣、およびリンパ節に関して 結核の感染経路として、ほとんどが経気道的感染であり、結核菌が気道を通り、肺内に入って初めて感染が成立する。結核菌が定着する肺胞は各肺葉の胸膜直下 (大部分は胸膜下1 cm以内、換気がこの部分で最もよく行われている) であることが多い。初感染巣の部位は、各肺葉の下部に多く、肺葉ごとの分布は大体それぞれの体積に比例している。肺尖部や気管支幹部に挟まれた肺実質内に初感染巣が形成されることは稀である。初感染巣の大きさは大部分が小豆大以下で1個のことが多い。また大部分の初感染巣は被包化されて治癒する。初期変化群リンパ節の乾酪化巣は初感染巣より大きいことが多い。初期変化群リンパ節病変に直接関係した異常の一つに epituberculosis がある。これは肺門リンパ節腫脹によって気管支幹部が圧迫され管腔が閉鎖されるために、その末梢肺領域に起こった無気肺である。Epituberculosis は気管支壁の柔らかい幼児の、主として右上葉に起こる。X線所見では広範な陰影があるにもかかわらず症状は少なく、自然経過でも数カ月後にはほとんど跡を残さず消失する。初期変化群の病巣内の結核菌は乾酪化とともに減少するものの、少数の菌は其中で dormant の状態で長く生き続けている場合がある。2) 粟粒結核の病態生理 初期変化群リンパ節病変に関連し、わずかな菌が肺下流のリンパ節を経て静脈角リンパ節に達し、血中に入る。血中に入った結核菌は、主として肺に転移して軽微な病巣を作る。いったん治癒するものの、宿主が免疫抑制状態に陥った際に、既存の病巣から発病すると考えられる。血中移行の菌数が多ければ粟粒結

核になり、少なれば主として肺尖領域に定着する。3) 第一次結核症と第二次結核症 第一次結核症は第二次結核症に対する言葉である。前者は初感染に引き続いて進展する結核症であり、小児に多いことから小児型結核症 childhood type tuberculosis ともいわれる。第二次結核症は初感染からある間隔を置いて進展し、初感染とは直接に関係ないようにみえる結核症で、成人の結核症の大部分がこれに属するので成人型結核症 adult type tuberculosis といわれる。4) 画像所見に必要解剖学的知識 肺結核の病変を理解するには小葉 (lobulus) を一つの単位として、その中の構造を細気管支と関連付けて理解しておくことが重要である。小葉の大きさは指頭大である。肺結核の画像診断を行う際には、その病理所見を知る必要がある。結核の病理所見は肉芽腫であり、この肉芽腫形成により結核に特徴的な画像所見が形成される。特に重要な画像所見は前述した Aschoff が 1924 年に結核に特徴的な病理所見として記載した acinar nodule と呼ばれる結核が形成する陰影である。この病理所見は、肺実質の最小単位である細葉 (大きさは 5-7 mm) 単位で病巣が進展することを示している。細葉性結核性病変 (acinus-nodos) とは Aschoff らが名付けた名称だが、特に増殖性細葉性病変が前述のように主として小葉辺縁に配列あるいは亜小葉内に同様な様相で集まった病巣である。5) 胸部 CT による活動性の判定 胸部高分解能 CT の導入により、肺結核の活動性の判定がある程度可能である。活動性の肺結核に特徴的な、画像所見として、細葉単位の病変 (特に辺縁のぼやけたもの)、すりガラス陰影、浸潤影、厚い壁を持った空洞、tree-in-bud appearance (小葉中心性分布の集合を木の芽と形容したもの) などがあふ。6) 肺非結核性抗酸菌症との鑑別 女性で、かつ糖尿病などの基礎疾患がないとき、病変の分布が中葉、および舌区主体であるとき、気管支拡張所見を認める際、などには非結核性抗酸菌症を考慮する。

教育講演 5

新規抗結核薬

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)

現在、結核に対する治療としては1980年代に確立された、イソニアジド (INH)、リファンピシン (RFP)、ピラジナミド (PZA) にストレプトマイシン (SM) またはエタンブトール (EB) を加えた4剤治療が今なお標準レジメンとなっている。このうちもっとも古いSMは1940年代、もっとも新しいRFPでも1960年代に発見された薬剤であり、以後はニューキノロン薬を除けば新たな抗結核薬は出現していなかった。しかし近年になりようやく、さまざまな新規抗結核薬の研究開発が行われ、いくつかは臨床試験の段階にある。

これは、毎年44万人の新規患者が全世界で発生しているとされる多剤耐性結核の治療に用いるのがもっとも重要な目的である。ただしそれ以外にも、より強力な薬剤の追加により6ヶ月という長期の治療期間を少しでも短縮すること、副作用による服薬困難例に用いること、他薬剤との相互作用が問題となるRFPを含まない治療レジメンを確立すること、等々が新規抗結核薬を必要とする理由となろう。なによりも結核は公衆衛生学的には必ず治しきらなければならない疾患であり、その面からも多数の薬剤を確保しておく必要は大きい。

現在すでに開発が進み、臨床での使用が期待されている薬剤には以下のようなものがある。

1. Bedaquiline (TMC207)

ジアリルキノリン系の薬剤であり結核菌のATP合成酵素を阻害する。結核菌に対するMICは $0.06\mu\text{g/ml}$ 程度であり既存の抗結核薬とは交叉耐性を示さない。またMACを含む非結核性抗酸菌に対しても優れた抗菌活性を示す。CYP3A4により代謝されるためRFPにより血中濃度は低下する。

2. PA-824

ニトロイミダゾール誘導体であり結核菌の細胞壁合

成を阻害する。結核菌に対するMICは $0.015\text{--}0.25\mu\text{g/ml}$ 程度でありやはり既存の抗結核薬とは交叉耐性を示さない。RFPとの相互作用はない。

3. Delamanid (OPC-67683)

大塚製薬が開発した化合物であり、PA-824とは同じニトロイミダゾール誘導体であり交叉耐性を示す。臨床分離結核菌に対するMICは $0.006\text{--}0.024\mu\text{g/ml}$ と報告されている。わが国を含めた9ヶ国で多剤耐性結核に対する臨床試験が行われ、有意に排菌陰性化率を向上させることが報告された。

4. Sutezolid (PNU-100480)

Linezolidと同様のオキサゾリジノン系の薬剤であり、結核菌の蛋白合成阻害作用を有する。Linezolidと同等の抗結核菌活性を示し、かつ副作用は少ないとされている。

5. SQ109

EBと類似した化合物で細胞壁合成阻害を示すが、EBとは交叉耐性はない。

結核治療の基本が多剤併用化学療法であることを考えると、異なった系統の薬剤を複数同時に手にすることができそうなのは喜ばしいことである。これら新規抗結核薬を複数含む治療レジメンの検討も、マウス実験あるいはヒトにおける臨床試験で行われつつあり、多剤耐性結核に対する新たな治療レジメンとして期待される。

今回の講演では、これら新規抗結核薬の現在における開発状況につき概説し、あわせて、これらの薬剤を耐性化させずに適正に使用していくためにはどのようにしていくべきか、考えてみたい。