

機関番号：11301

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008~2010

課題番号：20406024

研究課題名 (和文) 中国における多剤耐性結核菌の分離状況とその背景因子に関する調査研究

研究課題名 (英文) Analysis on the present state in multi-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* infection and its clinical background in China

研究代表者 川上 和義 (KAWAKAMI KAZUYOSHI)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10253973

研究成果の概要 (和文) : 中国広東省広州市にある中山大学医学部附属第三医院及び広州胸科医院を訪問し、多剤耐性結核の現状について調査を行った。胸科医院に入院した患者の中で、MDR-TB および超多剤耐性結核 (XDR-TB) は再治療例を含めて、2008 年度が 16.7%、2.0%、2009 年度が 9.1%、0.9%、2010 年度が 13.5%、0.3% であり、調査期間内では MDR-TB は変わらないものの、XDR-TB は減少傾向を示した。得られた MDR-TB 50 株、XDR-TB 5 株について *rpoB*、*katG*、*inhA*、*apC* 遺伝子の解析を行い、変異のみられた株がそれぞれ 90%、63%、22%、6% に認められた。併せて、患者の宿主要因を調べるために、BMI、血清アルブミン値、白血球数、T 細胞比率、CD4/CD8 比、NK 細胞比率、結核菌抗原に対する末梢血リンパ球の応答性について、感受性結核群と MDR-TB/XDR-TB 群間で比較検討を行ったところ、両群間に有意な差は検出できなかった。

研究成果の概要 (英文) : We investigated the present state in multi-drug resistant tuberculosis (TB) in Guangzhou City, Guangdong Province, China by collaborating with the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University and Guangzhou Chest Hospital. In the Chest Hospital, the proportion of MDR-TB and extensively drug-resistant (XDR)-TB was 16.7% and 2.0% in 2008, 9.1% and 0.9% in 2009 and 13.5% and 0.3% in 2010, respectively, which showed that XDR-TB tended to be decreased during the study period though no change in MDR-TB. We sequenced the drug resistance genes, *rpoB*, *katG*, *inhA* and *ahpC*, in 50 strains of MDR-TB and 5 strains of XDR-TB, and mutation was detected at 90%, 63%, 22% and 6%, respectively. In addition, we analyzed the host factors in these patients by measuring BMI, serum albumin levels, WBC counts, proportion of T and NK cells, CD4/CD8 ratio and reactivity of peripheral blood lymphocytes to TB antigens, and we did not find any significant difference between drug-sensitive and MDR-TB.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	3,000,000	900,000	3,900,000
2009 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010 年度	3,000,000	900,000	3,900,000
年度			
年度			
総計	8,200,000	2,460,000	10,660,000

研究分野：医歯薬学 B

科研費の分科・細目：感染症内科学

キーワード：アジア、結核、耐性菌

1. 研究開始当初の背景

かつて国民病と言われた結核は抗結核薬の開発によって一時は克服されたかに思われた。しかし、1980年頃から患者数の減少速度が鈍化し、1997年からは再び増加に転じたため、1999年時の厚生大臣から結核非常事態宣言が発せられ、再興感染症として国民の健康に重大な脅威となっている。一方、アジアでは毎年400~500万人が結核に罹患していると推定されており、世界で最も罹患率が多い地域とされている。この地域ではHIV感染者も右肩上がりの増加を続けており、エイズ合併結核も重要な問題である。それに加えて近年では、主要な抗結核薬であるイソニコチン酸ヒドラジド(INH)とリファンピシン(RFP)が無効な多剤耐性結核(MDR-TB)の増加とともに、ほとんどの抗結核薬が無効な超多剤耐性結核(XDR-TB)が出現し、世界的な脅威となりつつある。また、わが国とアジア地域は経済交流が益々活発化しており、今後輸入感染症として結核が増加することが予想され、さらには、これらの地域からMDR-TBやXDR-TBが流入してくる可能性も否定できない。このように結核は、アジア共通の健康上の脅威として社会経済情勢に重大な影響をもたらす可能性が高く、アジアを中心とした結核制圧のための対策が緊急に求められている。

2. 研究の目的

本研究では、アジアの中でも特に結核罹患率の多い中国におけるMDR-TB及びXDR-TBの分離頻度を解析するとともに、それぞれの患者背景、臨床経過や、解析地域における結核への取り組みについての調査を行い、多剤耐性結核菌の分離状況とその背景因子を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、中国南部に位置し、人口約1,000万人と北京、上海に次ぐ第3番目の都市である広東省広州市にある中山大学医学部第三附属病院の呼吸器内科と、結核専門病院である広州市胸科医院との共同研究を実施する。研究期間内に、得られた臨床検体から分離される結核菌の薬剤感受性検査成績を解析し、MDR-TBやXDR-TBの検出頻度を明らかにするとともに、個々の症例に対して患者背景や臨床経過、治療状況、さらには広東省における結核への取り組みについて調査を行い、多剤耐性結核菌の出現との関連性について疫学的な解析を実施する。さらには、分離された菌株を対象に薬剤耐性遺伝子について検討し、耐性獲得の分子メカニズムとの関連性についても検討する。

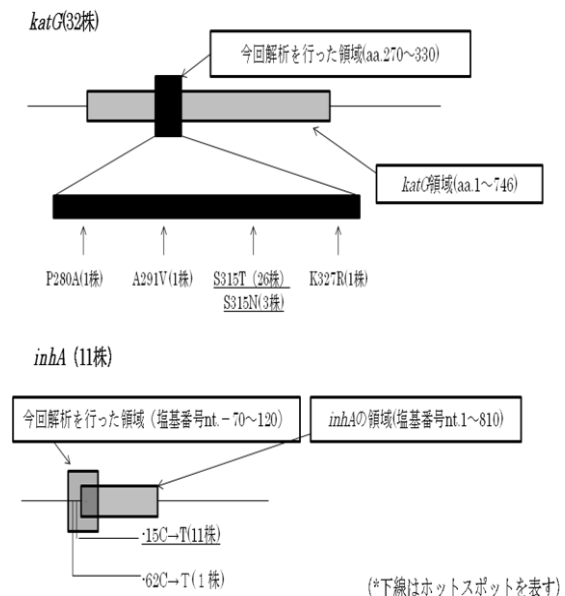
4. 研究成果

中国広東省広州市にある中山大学医学部附属第三医院呼吸器内科及び広州胸科医院を訪問し、結核の診療状況について調査を行った。各病院の結核の診療規模は、疑い症例も含めると、年間外来患者数は第三医院呼吸器内科、胸科医院それぞれ1,000人余り、80,000~200,000人、入院患者数は100余人、5,000~7,000人であった。第三医院呼吸器内科は結核病棟を有さず、結核性胸膜炎などの非排菌例の診療は行うが、塗沫陽性結核患者は胸科医院へ紹介されることが分かった。胸科医院は広州市及び広東省の結核診療の中核病院であり、その内部に結核検査センターを有し、日常検査業務に加え、結核菌の遺伝子解析やフローサイトメトリーを用いた末梢血リンパ球の表面抗原解析なども実施している。

広州胸科医院は病床数が375とその役割にしては少ないため、入院は基礎疾患のある患者や薬剤耐性結核のような難治症例に限られる。通常は塗沫陽性結核であっても市中のクリニックでの外来診療が行われ、問題点のひとつと考えられた。

広東省の2005年における統計では、活動性結核、塗沫陽性結核の罹患率はそれぞれ10万人当たり201、33であり、年齢との関係ではわが国同様高齢になるほど増加し、65歳以上では活動性結核が>500であった。また、広東省における多剤耐性結核(MDR-TB)は6.3%(初回治療5.3%、再治療15.7%)であった。

図1. 今回検出されたINH耐性遺伝子の変異

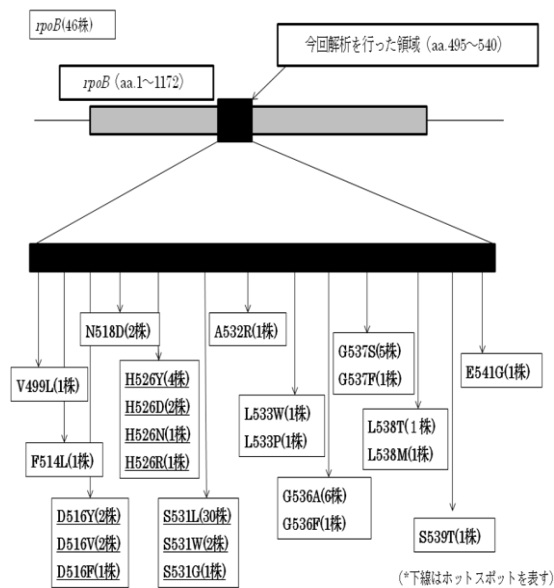


広州胸科医院に入院した患者の中で、

MDR-TB および超多剤耐性結核 XDR-TB の検出頻度は、再治療例を含めて、2008 年度が 16.7%、2.0%、2009 年度 9.1%、0.9%、2010 年度 13.5%、0.34% であり、調査期間内では MDR-TB は変わらないものの、XDR-TB は減少傾向を示した。

その中から、得られた MDR-TB 50 株、XDR-TB 5 株について DNA を抽出し、PCR にて *rpoB*、*katG*、*inhA* 遺伝子を増幅し、その塩基配列の解析を行った。解析した薬剤耐性株 55 株の中で、*rpoB*、*katG*、*inhA* に変異のみられた株がそれぞれ 90%、63%、22% に認められ、これまでの報告と同様であった。*rpoB*、*katG*、*inhA* に変異がみられた菌株の中では、それぞれ 92%、91%、100% がいわゆるホットスポットの変異であった。一方で、これまでにあまり報告のみられない部位にも変異が検出され (図 1, 2)、広州胸科医院あるいは広州市に特異な何らかの要因が関係している可能性も推察されたが、今後さらに解析を重ねる必要があると考えられた。

図 2. 今回検出された RFP 耐性遺伝子の変異



併せて、患者の宿主要因を調べるために、BMI、血清アルブミン値、白血球数、T 細胞比率、CD4/CD8 比、NK 細胞比率、QuantiFERON TB-2G キットを用いた結核菌抗原に対する末梢血リンパ球の応答性について、感受性結核群 (n=17) と MDR-TB/XDR-TB 群 (n=11) 間で比較検討を行ったところ、症例数が少ないものの両群間に有意な差は検出できなかった。以上の結果は、英文雑誌への投稿に向けて論文作成中である。

2008 年度には、中国から 3 人の共同研究

者を仙台に招き、第 1 回日本・中国多剤耐性結核フォーラムを開催し、日本と中国の多剤耐性結核、抗酸菌検査、結核感染管理の現状について講演を実施するとともに、相互に情報交換を行った。また、2010 年には、中国から 3 人の共同研究者を仙台に招き、第 2 回日本・中国多剤耐性結核フォーラムを開催し、本研究で得られた研究成果とともに、日本と中国における多剤耐性結核診療の現状について講演を実施するとともに、今後のさらなる研究協力へ向けた議論を行った。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川上 和義 (KAWAKAMI KAZUYOSHI)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号: 10253973

(2) 研究分担者: なし

(3) 連携研究者

加來 浩器 (KAKU KOKI)
防衛大学医学校・准教授
研究者番号：40431499

山本 夏男 (YAMAMOTO NATSUO)
福島県立医科大学・検査部・講師
研究者番号：50466562

(4) 研究協力者

張 天托 (ZHANG TIANTUO)
中山大学・医学部附属第三医院・教授

譚 守勇 (TAN SHOUYONG)
広州市胸科医院・院長

譚 耀驹 (TAN YAO-JU)
広州市胸科医院・臨床検査技師長