

第73回総会シンポジウム

I. 多 剤 耐 性 結 核

座長 齋 藤 肇 (広島県環境保健協会)
 網 谷 良 一 (京都大学医学研究科感染症学)

The 73rd Annual Meeting Symposium

I. MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS

Chairpersons : Hajime SAITO*
 Ryoichi AMITANI**

Symposium Topics and Presenters :

1. Drug susceptibility testing and its standardization : Chiyoji ABE (Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association)
2. Mechanisms of drug-resistance in *Mycobacterium tuberculosis*—Genetic mechanisms of drug-resistance— : Hideaki OHNO (The Second Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine, and Hokusho Chuou Hospital), et al.
3. Epidemiology of drug-resistant tuberculosis in Japan : Takashi YOSHIYAMA (Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association)
4. Treatment and prognosis of multidrug-resistant tuberculosis : Mitsumasa OGAWARA, et al. (Department of Internal Medicine, National Kinki-Central Hospital for Chest Diseases)
5. Human immunodeficiency virus infection and multidrug-resistant tuberculosis : Akira FUJITA (Tokyo Metropolitan Fuchu Hospital)

Additional Comment : Primary multidrug-resistant tuberculosis—diagnosis and Treatment : Kazunari TSUYUGUCHI (Department of Infection and Inflammation, Graduate School of Medicine, and Department of Internal Medicine, University Hospital, Kyoto University).

Multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) is defined as one that is resistant to both isoniazid and rifampicin regardless of its resistance to any other antituberculosis drugs.

According to "Study on the incidence of drug resistance for new admissions" reported by TB Sanatorium Council in 1992 in Japan, no increase of incidence was observed in either the first treatment or re-treatment as compared with former reports. However, U.S.A. study indicates a significant increase of MDR-TB, which is supposed to have been caused by a primary drug resistance prevailed in an infected area, or an acquired (secondary)

別刷り請求先 :
 齋藤 肇
 広島県環境保健協会
 〒730-8631 広島市中区広瀬北町9-1
 網谷 良一
 京都大学医学研究科感染症学
 〒606-8397 京都市左京区聖護院川原町53

* From the Hiroshima Environment and Health Association, 9-1 Hirosekita-machi, Naka-ku, Hiroshima 730-8631 Japan.
 ** From the Department of Infection and Inflammation, Graduate School of Medicine, Kyoto University, 53 Kawahara-cho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8397 Japan
 (Received 11 Sep. 1998)

drug resistance due to incomplete and/or faulty treatment for active TB. Many incidences were also reported for mass nosocomial infection of MDR-TB with HIV patients. In spite of these serious issues in U.S.A., MDR-TB has not yet been a major concern in Japan, while Japan should work out countermeasures in advance with careful observation of its trend.

One of the causes of mass nosocomial infection of MDR-TB observed in U.S.A. is reported due to a delayed treatment after long procedures of TB identification and susceptibility tests followed specimen sampling. Rapid tests of identification and susceptibility for TB, MDR-TB in particular, are long expected. The introduction of recent molecular genetics technology will help to develop new rapid tests. While a relationship between drug resistance and TB gene is recently known to certain extent, total mechanism of TB resistance cannot be fully explained with only certain gene identified in the connection with drugs.

Early treatment is critical for MDR-TB with HIV patient, as their prognosis is far worse than MDR-TB with non-HIV. Aside from HIV infection, very limited drugs are available for the treatment of MDR-TB. Drugs should be carefully selected based on the resistance patterns of each strain as well as its side effects anticipated.

Key words : Multidrug-resistant tuberculosis, Drug susceptibility test, Molecular genetics, Human immunodeficiency virus infection

キーワード : 多剤耐性結核, 薬剤感受性試験, 分子遺伝学, ヒト免疫不全ウイルス感染

シンポジスト

1. 感受性試験と耐性基準
阿部千代治 (結核予防会結核研究所)
 2. 耐性菌の発現機構—関連する遺伝子も含めて—
大野 秀明 (長崎大学医学部第二内科, 北松中央病院), 他
 3. 多剤耐性結核の疫学
吉山 崇 (結核予防会結核研究所)
 4. 多剤耐性結核の治療と予後
小河原光正, 他 (国立療養所近畿中央病院内科)
 5. HIV感染と多剤耐性結核
藤田 明 (東京都立府中病院呼吸器科)
- 追加発言 : 初回多剤耐性結核の現状
露口 一成 (京都大学医学部附属病院感染症科)

多剤耐性結核 (MDR-TB) は, 一般に「INH, RFPの2剤に耐性の結核 (この場合, 他の抗結核薬に対する耐性の有無は問わない)」と定義されることが多い。

わが国における結核菌の薬剤耐性頻度は, 結核療法研究協議会の1992年の「入院時薬剤耐性頻度に関する研究」によれば, 初回治療例では主要5剤 (INH, RFP, SM, EB, KM) のいずれかの耐性の頻度は5.6%, INH,

RFPを含む2剤以上に耐性の頻度は0.1%, 一方, 再治療例ではそれぞれ27.8%および10.1%で, 従来の調査成績に比べて耐性頻度の増加は特に認められていない。他方, 米国では活動性結核に対する不適當あるいは不完全な治療による acquired (secondary) drug resistance (ADR) と, MDR-TBの好発地域における Primary drug resistance (PDR) に起因すると考

えられる MDR-TB の著しい増加が指摘されている。また、HIV 感染者における MDR-TB の集団院内感染の事例も多数報告されており、MDR-TB はきわめて深刻な問題となっている。わが国では今のところ MDR-TB の集団発生はきわめて稀であるが、再治療例のみならず HIV 非感染者の初回 MDR-TB 症例も最近散見されており、今後の動向には十分な注意を払って対策を練っておく必要がある。

適切な結核治療の遂行のためには分離菌の薬剤感受性検査を速やかに行い、感受性薬剤の選択と耐性菌発現の早期検出に努めなくてはならない。日本結核病学会では平成8年に薬剤耐性検査検討委員会（委員長：斎藤 肇）を設置して多面的な観点から討議した結果、従来の1薬剤2濃度・絶対（固定）濃度法を変更し、原則として薬剤1濃度・耐性比率法とする薬剤“感受性”検査法を提案した。

米国における MDR-TB 集団発生の原因の一つとして、検体採取から分離結核菌の同定並びに薬剤感受性検査に長期間を要し、そのため適切な治療の開始に遅延が生じることが挙げられており、結核菌の検出および薬剤

感受性検査、なかんずく MDR-TB の菌株検出の迅速化が望まれてきた。今日の分子遺伝学的手法は結核菌の分野にも導入され、世界各国で薬剤耐性結核菌の迅速検出法の研究が鋭意進められている。現在までに耐性遺伝子が報告されている抗結核薬（および準ずる薬剤）としては、INH, RFP, SM, PZA, ニューキノロンなどがあり、結核菌における薬剤耐性と遺伝子との関係はここ数年間でかなり明らかになってきた。しかしながら、多くの薬剤において現在解明されている遺伝子のみで耐性機構のすべてを説明しうるまでには至っていないのが現状である。

HIV 感染 MDR-TB の予後は非 HIV 感染 MDR-TB に比べて悪く、早期に MDR-TB を疑って適切な治療を開始しなければならない。HIV 感染の有無にかかわらず、MDR-TB では治療に用いる有効薬剤は限られており、個々の菌株の示す耐性パターンによって薬剤の選択を行わざるを得ないため、薬剤の組合せは複雑であり、また投与薬剤による副作用についても十分な注意を払わなくてはならない。

第73回総会シンポジウム

I. 多剤耐性結核

1. 感受性試験と耐性基準

阿部 千代治

結核予防会結核研究所

The 73rd Annual Meeting Symposium

I. MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS

1. DRUG SUSCEPTIBILITY TESTING AND ITS STANDARDIZATION

Chiyoji ABE*

Drug susceptibility testing is one of the most difficult procedures to standardize in mycobacteriology laboratories. International standardization of the test is needed for comparative evaluation of controlled chemotherapeutic trials, for epidemiological surveys on the prevalence of drug resistance, and for guidance in the treatment of tuberculosis patients. In 1996, a new procedure for drug susceptibility testing was proposed by an ad hoc committee of the Japanese Society for Tuberculosis. The proposal is for a test with the proportion method using an Ogawa egg medium similar to those recommended by the WHO. Resistance is expressed as the percentage of colonies that grow on critical concentrations of the drugs, i.e. $0.2\mu\text{g/ml}$ for isoniazid, $40\mu\text{g/ml}$ for rifampicin, $10\mu\text{g/ml}$ for streptomycin and $2.5\mu\text{g/ml}$ for ethambutol. Strains of tubercle bacilli which are grown on drug-containing media represents more than 1% of the number of colonies that develop on drug-free media are considered to be clinically resistant to that agent. The results are recorded as susceptible (S) or resistant (R) on the laboratory forms. The proportion method using agar- and liquid-based media is used worldwide. In the near future a test with agar- or liquid-based media will be discussed for standardization of the test in Japan, as described by the National Committee for Clinical Laboratory Standards of the United States.

Key words : Drug Susceptibility Testing, *Mycobacterium tuberculosis*, Proportion Method, Ogawa Egg Medium

キーワード : 薬剤感受性試験, 結核菌, 比率法, 小川卵培地

別刷り請求先 :
阿部 千代治
結核予防会結核研究所
〒204-8533 東京都清瀬市松山3-1-24

* From the Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, 3-1-24, Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 204-8533 Japan.
(Received 11 Sep. 1998)

1. はじめに

5年ごとに行っている化学療法研究協議会の共同研究「入院時薬剤耐性に関する研究」の1992年の成績では、治療歴のない患者由来の結核菌の主要5種の薬剤 (INH, RFP, SM, EMB, KM) のうち、いずれかに耐性の割合は5.6%であるが、既治療例では27.8%と、約5倍耐性頻度は上昇していた¹⁾。さらに未治療例では耐性例のなかで85%以上は1剤に対する耐性で、2剤以上の薬剤に対する耐性は20%以下であるが、既治療例では50%以上が2剤以上の薬剤に耐性を獲得していた。5年前、10年前の成績と比べて未治療例でわずかに耐性頻度は上昇していたが、ほぼ横ばい状態である。

米国をはじめヨーロッパ諸国において、HIV感染者の間で多剤耐性結核菌による集団感染が多発している^{2)~4)}。これらの集団感染は主に病院で起こっており、最も効果的な薬剤であるINHとRFPを含む複数の薬剤に耐性を獲得している結核菌による感染であり、極端に高い死亡率が報告されている。日本でも複数の薬剤に耐性を獲得している結核菌による集団感染、小規模感染が頻発しており、感受性試験の重要性が高まっている。

ここでは、結核菌の薬剤感受性試験について1997年6月に日本結核病学会薬剤耐性検査検討委員会より提案された新しい試験法を中心に諸外国で用いられている方法も含め記述する。

2. 直接法と間接法

用いる接種材料の違いにより、直接法と間接法に分けられる。直接法とは、塗抹検査で抗酸菌が多数検出された喀痰材料または他の臨床材料 (10視野当たり少なくとも1個) をアルカリで処理後に、中和または水酸化ナトリウムの終濃度を1%以下にして、直接薬剤感受性試験培地に接種する方法である。これに対し、間接法は定法通りに分離培養を行い、発育した集落から菌液を作り接種する方法である。直接法には接種材料そのものを用いるので、材料中の耐性菌と感受性菌の菌構成を知ることができることとされていること、さらに間接法と比べ結果がより早く得られるため再治療には有効であると考えられている。しかし直接法では、接種菌量がふざろいであること、非抗酸菌の混入、前処理剤の影響などがあり、期待した成績が得られない場合が多い。

3. 感受性試験法

感受性試験の方法として absolute concentration method (絶対濃度法または固定濃度法)、resistance ratio method (耐性比率法)、proportion method (比率法) の3つの方法がある^{5)~7)}。

1) 固定濃度法

感受性と耐性の境界を示す特定濃度を設定し、その前後を含めて1薬剤につき2~3濃度検査する方法である。それぞれの薬剤について、国によりまたは同じ国の中でも検査室により独自の特定濃度が設定されている。これまでわが国では、この固定濃度法を試験に用いてきている。

2) 耐性比率法

試験ごとに被検株と標準株結核菌 H37Rv の薬剤に対する最小発育阻止濃度を測定し比べる方法である。2倍希釈薬剤含有培地を作製し、試験毎に被検株と H37Rv に接種し、菌の発育を阻止する (20個以下の集落数) 最低の薬剤濃度の比率をとり、耐性比率として表現する。この方法は、多数の培地を使用するため検査室の仕事量が増える欠点がある。

3) 比率法

薬剤濃度とその濃度に発育した菌数の薬剤非含有培地における菌数との割合から耐性を決めているので、耐性菌の割合が測定できるように数段階の濃度の菌数 (通常は2濃度) を接種する。それぞれの薬剤について、決められた濃度 (基準値) の薬剤を含む培地上の集落数が対照培地上の集落数の1%を超えた場合に耐性と判定する。この方法の利点は、結核菌集団の中の耐性菌の割合を知ることができることであり、多くの国で採用している。

4. 諸外国で用いている方法と日本の小川法の比較

世界各国で採用している試験法は雑多で、用いる培地、加える薬剤濃度、判定方法などがまちまちである。したがって、これらで得られた成績は相互に比較することは不可能に近く、方式を統一しようとする希望が古くからあったが実現は難しいものと思われる。感受性試験の成績は同一の条件で実施された場合にのみ、相互に比較可能である。

1994年にWHOとIUATLDは、抗結核剤に対する耐性菌のサーベイランスのための世界的規模のプロジェクトを開始した。このプロジェクトは1998年現在進行中である⁸⁾。その目的は、標準法を用いて先進工業国はもとより開発途上国における薬剤耐性の頻度を測定することと、耐性のレベルと国内の治療方針の関連を研究することである。ここで用いている標準法は、Canettiら^{5)~7)}により報告されたレーベンシュタイン・イエンセン培地 (L-J) を用いる比率法である。しかし関連する成績が得られるならばL-J培地を用いる比率法に限定されず固定濃度法、耐性比率法、寒天培地、液体培地による試験も認められている。

この種の研究で重要なことは試験の精度管理である⁹⁾。そのためWHOの地域内に2~3の研究所を supra-

national reference laboratory (SRL) として選び、SRL が属する地域内の各国の national reference laboratory の精度をチェックするという方法が取られている。WHO の reference laboratory で選んだ臨床分離株を SRL で試験することから精度管理研究は始められた。表1に、WHO/IUATLD およびこれまで日本で感受性と耐性の判定に用いている基準濃度を示した。臨床分離結核菌20株について小川培地による試験の成績と半数以上の SRL により報告された成績を judicial として表2に示した。小川法と SRL の間で、INH, SM, EMB に対する感受性に食い違いが見られる。この違い

は、SRL で耐性と判定しているものを小川法で感受性としていることによるものであり、これら3薬剤の基準値は小川法では諸外国で用いている濃度より高く設定されていることからきている(表1)。この成績は、日本の耐性のレベルを諸外国と比較するためには日本で用いられている試験法を変える必要があることを示している。一方、日本の結核専門医の間からも、これまで日本で用いてきた INH と EMB の基準値について検討を望む意見があった。これらの要望を受けて日本結核病学会では、薬剤耐性検査検討委員会を1996年に設置して検討を重ねてきた。

5. 日本結核病学会から提案された新しい検査法¹⁰⁾

新しい検査法が1997年6月に日本結核病学会薬剤耐性検査検討委員会より提案された。提案された試験法は小川培地を用いる比率法であり、結核菌の感受性試験に限定したものである。非結核性抗酸菌の試験についてはこの委員会で検討していない。以下に提案された新しい考え方を記述する。

1) 試験の名称

これまで結核では耐性試験という名称を使っていたが、

表1 薬剤感受性の判定に用いている抗結核薬の基準濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

| 薬剤 | WHO | 日本 |
|-----|-----|----|
| INH | 0.2 | 1 |
| RFP | 40 | 50 |
| SM | 4 | 20 |
| EMB | 2 | 5 |

表2 臨床分離結核菌の主要4薬剤に対する感受性、小川培地法と諸外国で用いられている方法で得られた成績の比較

| 臨床分離株 | 下記の試験法で次の薬剤に耐性 | |
|-------|-------------------|-------------------|
| | 小川培地法 | Judicial * |
| 1 | INH, RFP | INH, RFP |
| 2 | | |
| 3 | INH, RFP | INH, RFP |
| 4 | | INH, SM |
| 5 | INH, SM, EMB | INH, SM, EMB |
| 6 | INH, SM | INH, SM |
| 7 | INH, RFP, SM | INH, RFP, SM |
| 8 | | |
| 9 | RFP, EMB | INH, RFP, SM, EMB |
| 10 | INH, RFP | INH, RFP, EMB |
| 11 | RFP, SM, EMB | INH, RFP, SM, EMB |
| 12 | RFP | INH, RFP, SM, EMB |
| 13 | INH, RFP, SM | INH, RFP, SM |
| 14 | INH, SM, EMB | INH, SM, EMB |
| 15 | INH, RFP, SM | INH, RFP, SM |
| 16 | INH, RFP | INH, RFP |
| 17 | SM | SM |
| 18 | INH, RFP, SM | INH, RFP, SM |
| 19 | INH, RFP, SM, EMB | INH, RFP, SM, EMB |
| 20 | RFP, SM | RFP, SM |

小川培地法と Judicial で異なる感受性を示した薬剤に下線をした。

* : SRL の半数以上により報告された成績

表3 結核菌の薬剤感受性試験濃度

| 抗結核薬 | 略号 | 試験薬濃度 ($\mu\text{g/ml}$) | |
|------------|------|----------------------------|---------|
| | | 従来法 | 新しい提案 |
| イソニアジド | INH | 0.1, 1*, 5 | 0.2*, 1 |
| リファンピシン | RFP | 10, 50* | 40 |
| ピラジナミド | PZA | | |
| ストレプトマイシン | SM | 20*, 200 | 10 |
| エタンブトール | EMB | 2.5, 5* | 2.5 |
| カナマイシン | KM | 25, 100* | 20 |
| カプレオマイシン | CPM | 25, 100* | 20 |
| エンピオマイシン | EVM | 25, 100* | 20 |
| エチオナミド | TH | 25*, 50 | 20 |
| サイクロセリン | CS | 20, 40* | 30 |
| パラアミノサリチル酸 | PAS | 1*, 10 | 0.5 |
| レボフロキサシン | LVFX | | 1 |

* 基準濃度

他の微生物では感受性試験と呼んでいる。結核菌についても紛らわしさを避け用語の統一を図ることと、この濃度で菌の発育が見られない場合は効果的であるという意味から、薬剤感受性試験の用語が提案された。

2) 試験濃度

1 薬剤につき低濃度と高濃度の2濃度または3濃度の試験について、検査の意味、検査室の業務量、経済性、国際性などの見地から、1濃度で十分であるというのが大方の意見であった。しかし一部の委員から主要薬剤については2濃度にすべきであるという意見が出され、INHのみは2濃度、他の薬剤については1濃度とすることで意見の一致を見た。

現状では単剤による臨床試験を行うことは不可能であることから、諸外国で用いられている試験濃度、血中あるいは組織内到達濃度、試験管内感受性と臨床応答との相関性についての過去の報告を参考に討議した。またSMとEMBの試験濃度について、数施設で臨床分離株を用い小川培地とL-J培地（諸外国で感受性試験に用いている）の比較試験を行い得られた成績も参考にした。その結果、委員会から表3に示す試験濃度が提案された。

INHについては試験濃度を2濃度（0.2, 1 $\mu\text{g/ml}$ ）としたが、治療に用いる上での基準濃度は0.2 $\mu\text{g/ml}$ である。多剤耐性結核例で使用可能な薬剤がない場合に限り1 $\mu\text{g/ml}$ で得られた成績も参考にすることとすることが委員会での議論の根底にあり、現在の医療基準に示されている基準濃度より低い試験濃度が提案された。主要薬剤に耐性の結核の治療にフルオロキノロン剤が使われている。レボフロキサシン（LVFX）の基準濃度が新たに加えられた。PZAを用いる初期強化治療法が新しい医療基準に

加えられ治療に用いられていることから、近い将来PZA耐性菌の出現が問題になると考えられる。しかしPZAについてはまだ研究データが不十分であることから、試験法の提案は見送られた。現在同委員会で検討中である。

3) 菌の接種と結果の判定

従来からの方法との変更点は、菌の接種と得られた成績の判定にも見られる。McFarland No.1濁度に調整した菌原液から100倍および10,000倍希釈液を調製する。薬剤含有培地には100倍希釈液の0.1mlを接種する。対照として薬剤を含まない培地を2本用意し、1本には100倍希釈液、他の1本には10,000倍希釈液の各0.1mlを接種して37℃に培養する。

培養4週間以内で100倍希釈液接種対照培地上の菌の発育が十分（++++～++++）になった時点で判定する。薬剤含有培地上の集落数が10,000倍希釈液接種対照培地上の集落数より多ければ耐性菌の割合が1%以上と判定する。1%未満を感受性（S）、1%以上を耐性（R）と記載する。また10%の成績も同様にSまたはRで記載する。耐性菌の割合が1%以上になれば治療経過中に間もなく大多数の菌が耐性菌で占められるようになるとの考えから、治療には1%の成績を用いる。10%の成績は多剤耐性例の場合のみ参考にすることと。耐性菌の割合が1%を臨界点とする考えから、100倍希釈液接種対照培地の集落数が100個未満の場合は再試験する。特に直接法を用い薬剤感受性試験を行う場合は注意する必要がある。（詳細は結核1997; 72: 597-598参照）

4) 感受性試験の精度管理

新しく提案された試験法に基づいた簡便法はまだ確立されていないので、ここでは触れない。これまでの簡便

法では、培地量に比べて大量の菌を接種するため所定の判定日数を超えると感受性菌を耐性菌と誤って判定することがある^{11) 12)}。それぞれの施設では精度管理のために感受性の成績が既知の試験菌を凍結保存しておき、少なくとも半年毎に普通法と簡便法で試験して、各自で試験の精度を管理すべきである。薬剤感受性試験は抗酸菌検査の中でも最も精度管理の難しい検査である。初めてこの試験に携わる検査技師は、十分熟練の上日常の検査に携わるべきである。

保存中に薬剤が卵培地に吸着するため力価の低下が見られる。薬剤感受性試験培地は4℃に保存し、作製後1カ月以内に使用しなければならない。対照培地も薬剤含有培地と同一条件下に作製し保存する。

6. 寒天培地または液体培地を用いる感受性試験

わが国では、感受性試験にこれまで1%小川培地のみを用いてきた。米国を始めヨーロッパ諸国では寒天培地および液体培地を早くから取り入れ、現在ではそれらが主流である^{13) 14)}。従来からの試験法で主要5剤に感受性を示した結核菌に対する抗結核薬のMIC値を、3種の培地、卵培地、寒天培地と液体培地で比較してみると、RFPやTHなどの親脂溶性薬剤およびSM, KM, CPM, EVMなどのアミノグリコシド系、ペプチド系の薬剤は、卵培地で測定したとき寒天培地や液体培地と比べ約10倍高いMIC値を示す(表4)。このことはこれまで指摘されてきたように、これらの薬剤は培地製造中および保存中に卵培地への吸着が起こることを示している¹¹⁾。これに対し、INH, EMB, フルオロキノロ

ン剤は卵培地とMiddlebrook培地で大きな変化は見られない。CSのみは例外で液体培地では高いMIC値を示す。表4でみるように、寒天培地および液体培地で求めたMIC値と卵培地で求めたMIC値の間に相関が見られる。このことは、検査の精度管理を考えた時に卵培地よりMiddlebrook系の培地が優れていることを示している。近い将来、わが国でも薬剤の力価の低下がわずかな寒天または液体培地に替えるべきと考える。

米国でBACTEC法が開発され、感受性試験に要する時間が大幅に短縮された。現在米国を始めヨーロッパで広く用いられ、特に迅速な検査が要求されるエイズ患者においてはより有効であることが示されている。しかしその使用は放射性物質の使用が可能な検査室に限られ、その上廃棄物処理の問題も残ることから、わが国で日常検査に用いることはできない。

Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT)は有効な培養システムである^{15) 17)}。MGITシステムによる感受性試験の成績はBACTECや卵培地を用いて行った成績と良く相関することが報告されている^{18) 19)}。また5~10日で結果の判定が可能であり、迅速試験を可能にするものである。INHについての成績を表5に示した。

7. 薬剤耐性の分子機構

分子遺伝学的手法の導入により結核菌の薬剤耐性に関する遺伝子の研究が進み、耐性の分子機構が少しずつ明らかになってきた。この分子機構の解明は、感受性試験への遺伝子の利用のみにとどまらず新しい薬剤の開発

表4 感受性結核菌に対する抗結核薬のMIC値、測定培地による差

(n=48*)

| 抗結核薬 | 1%小川培地 | | 7H11寒天培地 | | 液体培地 (BACTEC) | |
|------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| | MIC ₉₀ | MIC ₁₀₀ | MIC ₉₀ | MIC ₁₀₀ | MIC ₉₀ | MIC ₁₀₀ |
| INH | 0.078 | 0.078 | 0.078 | 0.156 | 0.078 | 0.078 |
| RFP | 5 | 10 | 0.313 | 0.625 | 0.156 | 0.156 |
| SM | 5 | 10 | 0.625 | 1.25 | 0.625 | 0.625 |
| EMB | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 5 | 1.25 | 2.5 |
| KM | 20 | 40 | 0.625 | 1.25 | 2.5 | 5 |
| CPM | 40 | 80 | 1.25 | 2.5 | 1.25 | 2.5 |
| EVM | 20 | 40 | 2.5 | 2.5 | 1.25 | 2.5 |
| TH | 40 | 40 | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.25 |
| CS | 20 | 40 | 20 | 40 | 80 | >80 |
| OFLX | 1.25 | 2.5 | 0.625 | 1.25 | 0.625 | 1.25 |
| CPLX | 2.5 | 2.5 | 0.625 | 1.25 | 0.625 | 1.25 |
| SPLX | 0.313 | 0.313 | 0.078 | 0.156 | 0.156 | 0.156 |

*: 従来の試験法で主要4抗結核薬 (INH, RFP, SM, EMB) に感受性を示した結核菌

MIC₉₀: 試験菌株の中で90%の株がMICを示す薬剤濃度 (μg/ml)

MIC₁₀₀: 試験菌株の100%がMICを示す濃度

表5 MGITと小川法との比較, INHに対する感受性

| 分離株(数) | 小川法 | | | |
|---------------------------|-----------------------------|------|------|--------|
| | 次の濃度($\mu\text{g/ml}$)で耐性 | | | 感受性(%) |
| | 0.1 | 1.0 | 5.0 | 0.1 |
| MGIT 0.1 $\mu\text{g/ml}$ | | | | |
| 耐性(84) | 97.6* | 75.0 | 42.9 | 2.4 |
| 感受性(28) | 3.6 | 0 | 0 | 96.4 |

*: 耐性または感受性を示した菌株の割合(%)

にも道を開くものである。

8. おわりに

現在 WHO を中心に Directly Observed Treatment, Short course (DOTS) が進められ, その有効性が報告されている。しかしこれまで国の結核対策が遅れている国では抗結核薬に対する耐性の割合も高く(阿部ら, 未発表), このような国でただ単に DOTS を実施しても良い結果は得られないだろう。対策のためには正しい薬剤耐性の情報が必要である。

薬剤感受性試験の目的は, 薬剤を患者に使用して有効かどうかを知ることである。時には, この薬は一次薬で強力な薬でありできるだけ長く使いたいという考えのもとに使用を引き延ばしがちである。しかし耐性菌の発生を最小限に抑えるためには, 低度耐性が見られた時点で, また耐性菌の割合が少ないうちに, 別の薬に替えるかあるいは別の薬を加えるかすべきである。薬剤耐性検査検討委員会の議論の中心もここにあり, 基準値としてこれまでより低い濃度を提案することになった。

検査成績をあまり当てにせず, 患者に治療効果が見られない場合は薬を替えるという臨床医もいる。それは, 検査に余りにも時間がかかり過ぎることが一つの理由である。液体培地を用いる迅速診断システムがその種の問題を解決してくれるものと考え。米国の NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) は, 感受性試験の精度管理のためには, 卵培地でなく Middlebrook の寒天培地または液体培地の使用を推奨している²⁰⁾。そのことは, 薬剤耐性検査検討委員会でも議論された。しかしわが国には, 長い間小川培地のみを感受性試験に使用し, それで得られた成績を臨床医は治療に用いてきた経緯がある。この検査は臨床検査であり, 臨床医の混乱をできるだけ避けるために, 一っ飛びに寒天培地または液体培地に移行することは止め, 試験濃度の変更を含め方法を比率法に変えることにとどめられた。もちろんわが国でも, 迅速で精度

管理の容易な寒天または液体培地を用いた試験の導入を近い将来考えなければならない。

文 献

- 1) Hirano K, Kazumi Y, Abe C, et al.: Resistance to antituberculosis drugs in Japan. *Tuberc Lung Dis.* 1996; 77: 130-135.
- 2) Alland D, Kalkut GE, Moss AR, et al.: Transmission of tuberculosis in New York City—An analysis by DNA fingerprinting and conventional epidemiological methods. *N Eng J Med.* 1994; 330: 1710-1716.
- 3) Small PM, Shafer RW, Hopewell PC, et al.: Exogenous reinfection with multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients with advanced HIV infection. *N Eng J Med.* 1993; 328: 1137-1144.
- 4) Dooley SW, Jarvis WR, Marlone WJ, et al.: Multidrug-resistant tuberculosis. *Ann Intern Med.* 1992; 117: 257-259.
- 5) Canetti G, Froman S, Grosset J, et al.: *Mycobacteria*: Laboratory methods for testing drug sensitivity and resistance. *Bull WHO.* 1963; 29: 565-578.
- 6) Canetti G, Fox W, Khomenko A, et al.: Advances in techniques of testing mycobacterial drug sensitivity, and the use of sensitivity tests in tuberculosis control programmes. *Bull WHO.* 1969; 41: 21-43.
- 7) Canetti G, Rist N, Grosset J, et al.: Mesure de la sensibilite du bacille tuberculeux aux drogues antibacillaires par la methode des proportions. *Rev Tuberc.* 1963; 27: 217-272.
- 8) WHO: Antituberculosis drug resistance in the world. The WHO/IUATLD Global Project

- on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance, Geneva, 1997.
- 9) Laszlo A, Rahman M, Raviglione M, et al. : Quality assurance for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* in the WHO/IUATLD Supranational Laboratory Network: first round of proficiency testing. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1997; 1: 231-238.
 - 10) 結核病学会薬剤耐性検査検討委員会: 結核菌の薬剤感受性試験, 特に試験濃度変更と比率法導入への提案. *結核.* 1997; 72: 597-598.
 - 11) 阿部千代治: 抗酸菌の検査. *結核予防会, 東京,* 1997.
 - 12) 鹿住祐子, 平野和重, 阿部千代治, 他: 入院時薬剤耐性に関する研究: 1992年度の各施設の成績と結研判定の比較. *結核.* 1996; 71: 267-276.
 - 13) McClatchy JK: Susceptibility testing of mycobacteria. *Lab Med.* 1978; 9: 47-52.
 - 14) Siddiqi SH, Hawkins JE, Laszlo A: Interlaboratory drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* by radiometric and two conventional methods. *J Clin Microbiol.* 1985; 22: 919-923.
 - 15) 阿部千代治: 酸素反応性蛍光センサーを用いた新しい抗酸菌迅速培養システムの検討. *感染症誌.* 1996; 70: 360-365.
 - 16) 斎藤 肇, 柏原嘉子, 佐藤紘二, 他: Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) による抗酸菌の迅速検査法. *結核.* 1996; 71: 399-405.
 - 17) 斎藤 肇, 螺良英郎, 山中正彰, 他: MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) の評価に関する10施設での共同研究. *臨床と微生物.* 1997; 24: 897-903.
 - 18) 鈴木克洋, 露口一成, 松本久子, 他: Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) による結核菌の迅速薬剤感受性検査. *結核.* 1997; 72: 187-192.
 - 19) 阿部千代治, 平野和重 (未発表成績)
 - 20) Kiehn TE, Cynamon MH, Inderlied CB, et al. : Antimycobacterial susceptibility testing for *Mycobacterium tuberculosis*; tentative standard. *NCCLS M24-T.* 1995; 15: 1-31.

第73回総会シンポジウム

I. 多剤耐性結核

2. 耐性菌の発現機構

—関連する遺伝子も含めて—

大野 秀明**

北松中央病院内科

古賀 宏延・河野 茂

長崎大学医学部第二内科**

The 73rd Annual Meeting Symposium

I. MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS

2. MECHANISMS OF DRUG-RESISTANCE IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

—Genetic Mechanisms of Drug-Resistance—

Hideaki OHNO, Hironobu KOGA, and Shigeru KOHNO*

Multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* infection is now world wide health problem. However, according to the recent advances of molecular biological technics, some of the genetic mechanisms of drug-resistance of *M. tuberculosis* has been uncovered. Generally, drug-resistance of *M. tuberculosis* was caused by point mutations in chromosomal gene. In isoniazid (INH) resistant *M. tuberculosis*, mutations and genetic deletions in catalase-peroxidase gene (*katG*), *inhA* gene, or alkyl hydroperoxide reductase gene were reported. We also found that about 15% of INH-resistant *M. tuberculosis* isolates lacked *katG* gene, and these isolates showed highly resistance to INH with MIC ≥ 64 $\mu\text{g/ml}$. On the other hand, mutations and other genetic alterations in RNA polymerase β subunit gene (*rpoB*) were the major mechanisms of resistance to rifampicin (RFP) with high frequencies of 90% or more. Our evaluation of the relationship between RFP susceptibility and genetic alteration in *rpoB* gene also showed that 95% of RFP-resistant *M. tuberculosis* isolates involved genetic alterations in 69 bp core region of *rpoB* gene. Moreover, these genetic alterations in *rpoB* gene were suspected as the resistant mechanism to other rifamycin antituberculosis drugs, such as rifabutin and KRM-1648. In addition, it was reported that point mutations in 16S rRNA gene (*rrs*) and ribosomal protein S12 gene (*rpsL*) induced *M. tuberculosis* as streptomycin (SM) resistant phenotype. We analyzed

別刷り請求先：
河野 茂
長崎大学医学部第二内科
〒852-8501 長崎市坂本1-7-1

* From the Second Department of Internal Medicine,
Nagasaki University School of Medicine, Sakamoto 1-
7-1, Nagasaki 852-8501 Japan.
(Received 11 Sep. 1998)

genetic alterations in *rpsL* gene of clinically isolates of *M. tuberculosis*, about 60% of SM resistant isolates were shown point mutation in this gene and they were all high SM-resistant with MIC \geq 256 μ g/ml. Furthermore, nicotinamidase (*pncA*) gene, DNA gyrase A subunit (*gyrA*) gene, and *embB* gene were reported as the responsible gene to pyrazinamide-, quinolone- and ethambutol-resistance, respectively. Although all mechanisms of drug-resistance were still unclear, these informations are very useful and helpful for development of rapid diagnosis system of drug-resistant *M. tuberculosis*.

Key words: Drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*, *katG* gene, *rpoB* gene, *rpsL* gene, Point mutation.

キーワード: 薬剤耐性結核菌, *katG* 遺伝子, *rpoB* 遺伝子, *rpsL* 遺伝子, 点突然変異

はじめに

結核症は、わが国では1950年代には300万人もの罹患患者がみられたが、その後の化学療法の発達や、生活水準の向上、社会環境の整備により患者数は順調に減少してきた。しかし、1980年代後半よりその減少率の鈍化が認められるようになり、いまだに年間5万人弱の新規登録患者と約3,000人の死亡者がみられる、現在でもなおわが国における重要な伝染性感染症である。

結核症の診断は、通常喀痰などの臨床検体より結核菌を証明することによりなされる。しかしながら、近年の分子生物学の発達によるPCR法をはじめとする遺伝子診断法の導入は、結核症の診断成績の向上をもたらした。しかし、診断とともに重要視される結核菌の薬剤感受性については、いまだ従来法しかなく、結果判明までに数週間を要しているのが現状である。

1991年に報告されたアメリカでのAIDS患者における多剤耐性結核菌の集団感染¹⁾を契機に、先進諸国の間でも再び結核症、とりわけ多剤耐性結核菌に対する関心が高まり、再興感染症として、いかに迅速に結核症の診断および薬剤耐性結核菌の検出を行うかが問題として浮上した。その後、これらを背景に、世界各国で結核菌の薬剤耐性化をもたらす遺伝子の究明や分子生物学的手法による薬剤耐性結核菌の迅速検出法の開発が進められ、現在までにイソニアジド (INH)^{2)~5)} やリファンピシン (RFP)⁶⁾、ストレプトマイシン (SM)⁷⁾⁸⁾ 耐性に関与しているとされる遺伝子などが報告されている。一方、われわれの教室においても、結核菌の薬剤感受性と遺伝子との関係についての検討を数年来行ってきた。今回は、再興感染症としての結核症、とりわけ薬剤耐性結核菌に焦点をあて、遺伝子学的薬剤耐性機構および迅速検出法に対する分子生物学的アプローチについて、当教室の成績を中心に述べたいと考えている。

1. 日本における薬剤耐性結核菌の現状

結核療法研究協議会の報告書による、1992年の時点での日本における肺結核患者から分離された結核菌の主要抗結核薬に対する耐性頻度をみると⁹⁾、一次抗結核薬であるINHやRFPに対する耐性頻度は、初回治療例でそれぞれ1.5%、0.7%であり、全結核例ではそれぞれ5.2%、3.9%と、以前と比較し大きな変動はみられない。また「多剤耐性」と一般的に定義されるINH、RFP両剤に耐性を示すものも、全結核例においてもわずか1.1%である。これのみを限り、わが国での薬剤耐性結核菌感染の増加はないようであるが、これはあくまでも1992年の成績であり、その後の動向が注目される。

2. 細菌の薬剤耐性機構

一般的に、細菌の薬剤耐性機構としては表1に示すような機構が挙げられる。なかでも結核菌の抗結核薬に対する耐性は、染色体遺伝子の突然変異によるものと考えられており、薬剤耐性プラスミドが分離されたとの報告は現在のところみられない。また、突然変異のおこる頻度としては、INHやSMに対しては $1/10^6$ 、RFPに対しては $1/10^7$ と言われており、しかもこれらは各々独立して発現されると考えられている。すなわち、INH、RFPおよびSMの3剤に対し耐性を示す菌の出現する確率は、 $1/10^6 \times 1/10^7 \times 1/10^6 = 1/10^{19}$ という極めて低いものとなり、このことが結核症治療における多剤併用療法の根拠ともなっている。

3. 結核菌の抗結核薬耐性化に関与する遺伝子

a. INH

INHの結核菌に対する抗結核作用は現在でもなお詳細は不明であるが、結核菌のミコール酸合成の阻害と考えられている。

表1 細菌の主な薬剤耐性機構

1. 生化学的機構

- a) 酵素による薬剤の不活性化 (β -ラクタマーゼなど)
- b) 薬剤の作用点における変化 (MRSA, 結核菌など)
- c) 膜の変化による薬剤の透過性低下 (*Pseudomonas* 属など)

2. 遺伝的機構

- a) 染色体性の耐性
 - 菌の染色体上の遺伝子の自然突然変異
- b) プラスミドによる耐性
 - 細胞質性遺伝因子 薬剤不活性化酵素の産生や細胞膜透過性の変化

一方、カタラーゼ活性の低下した結核菌が、INH 耐性を示すことは以前から専門家の間ではひろく知られていた事実であった。1992年に Zhang らは、結核菌のカタラーゼ産生を司る遺伝子、catalase-peroxidase (*katG*) 遺伝子を同定し、しかも INH 耐性結核菌の一部にこの *katG* 遺伝子の欠損している菌がみられたこと、また INH 耐性 *Mycobacterium smegmatis* ならびに結核菌に *katG* 遺伝子を導入し、INH 感受性を付与できたとはじめて報告した²⁾。その後、*katG* 遺伝子の欠損のみでなく、この遺伝子内の点突然変異 (point mu-

tation) が関与していたとする報告や³⁾、*inhA* 遺伝子の変異が関与するという報告⁴⁾、alkylhydroperoxidase reductase (*ahpC*) 遺伝子変異が関与するという報告が出された⁵⁾。また INH 耐性結核菌において、それぞれの遺伝子内に変異の認められる頻度は、おおよそ50%、20%、30%程度とされている。

われわれの教室においても、*katG* 遺伝子の欠損の有無と結核菌の INH 感受性について検討した。まず、*katG* 遺伝子内の216bpを増幅する primer を設定し、PCR を行い、増幅産物をアガロースゲル電気泳動ならびにエチジウムブロマイド染色を行った。その後、サザンブロット法で *katG* 遺伝子の有無を確認した (図1)。その結果、INH 耐性菌と判定された結核菌の約15%にこの *katG* 遺伝子の欠損が認められ、しかも欠損株はすべて INH に対し MIC \geq 64 μ g/ml と高度耐性を示していた。一方、INH 感受性菌と判定された株では *katG* 遺伝子の欠損は認めなかった。われわれの結果からも *katG* 遺伝子の欠損は、結核菌が INH 耐性となる遺伝子学的機序の一つであることが示されたが、その頻度は低いものであった。しかし、この方法は比較的手技が簡単であり、結核菌の INH 感受性について、迅速な INH 耐性菌検出スクリーニング法としては有用であると考えられた。

b. RFP

RFP は結核菌の RNA ポリメラーゼ β サブユニットに結合し、RNA 合成を阻害することで抗菌活性を発現

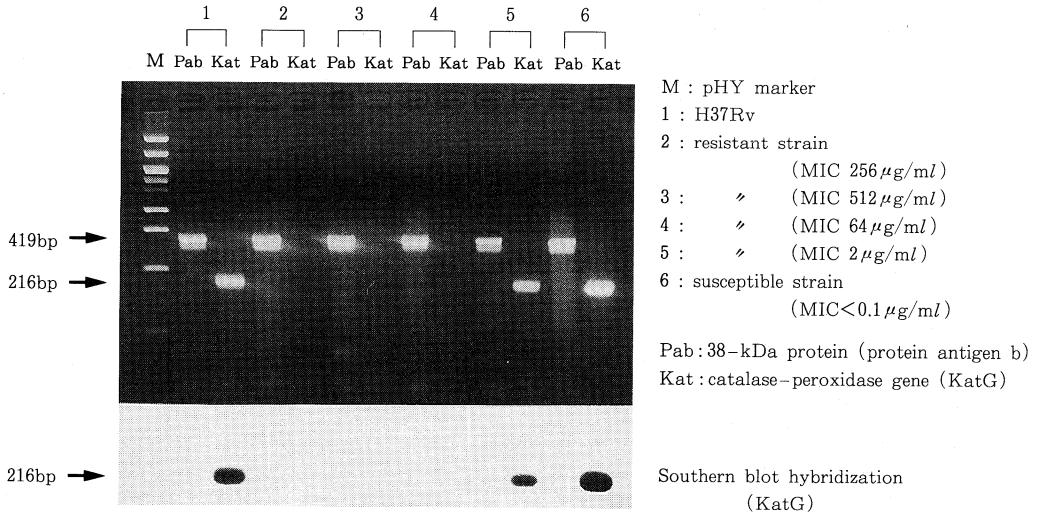


図1 PCR法を用いたINH耐性結核菌検出例。図の1~6検体はすべて結核菌であることを証明するPab遺伝子が検出されたが、2~4の検体では*katG*遺伝子が欠損しており、いずれもINHに対し高度耐性であった。

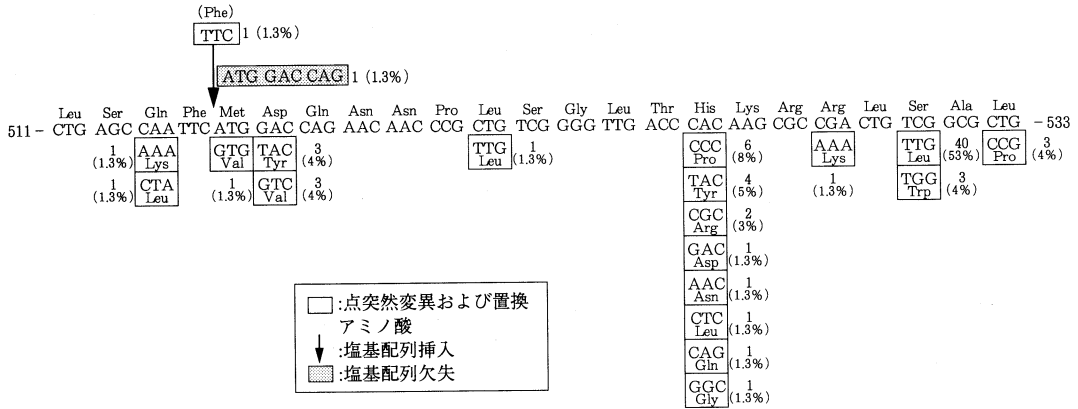


図2 *rpoB* 遺伝子内の変異と頻度。対象株数130株中、74株に計76の変異が認められた。数字は株数、()は頻度を示す。

表2 RFPのMICと*rpoB*遺伝子内の変異との関係

| RFP MIC (μg/ml) | 分離菌株数 (計130株) | 変異がみられた株数 (計74株) | 変異部位 ^a と変異アミノ酸 (株数) |
|-----------------|---------------|------------------|--|
| >512 | 4 | 4 | Asp-526(1), Trp-531(1), Pro-526(1), Tyr-516(1) |
| 512 | 18 | 18 | Leu-531(7), Pro-526(4), Tyr-526(3), Arg-526(2), Trp-531(2) |
| 256 | 14 | 14 | Leu-531(10), Pro-526(1), Lys-513(1), 515-517del(1), Tyr-516 and Asn-526(1) |
| 128 | 19 | 19 | Leu-531(16), Tyr-516(1), Tyr-526(1), Leu-513(1) |
| 64 | 7 | 7 | Leu-531(7) |
| 32 | 1 | 0 | |
| 16 | 3 | 3 | Leu-526(1), Lys-529(1), Phe(INS)-514(1) |
| 8 | 4 | 3 | Gly-526(1), Val-516(1), Gln-526 and Pro-533(1) |
| 4 | 3 | 2 | Val-516(2) |
| 2 | 1 | 0 | |
| 1 | 2 | 1 | Pro-533(1) |
| 0.5 | 2 | 1 | Pro-533(1) |
| 0.25 | 2 | 0 | |
| 0.125 | 2 | 0 | |
| 0.063 | 48 | 2 | Val-515(1), Leu-521(1) ^b |

a : *E. coli* numbering system
b : silent mutation

する。

結核菌のRFP耐性化に関与する遺伝子として、RNA polymerase β subunit (*rpoB*) 遺伝子が Telentiらにより1993年に報告された⁶⁾。これはRFP

耐性結核菌の90%以上の株において、*rpoB* 遺伝子内のわずか69bpの領域 (core region) に point mutation などの遺伝子学的変異が認められたというものであった。

一方、われわれは結核菌臨床分離株130株の RFP に対する MIC 値と *rpoB* 遺伝子内の変異との関係について検討した¹⁰⁾。その結果、われわれの検討でも同様に、RFP 耐性 (MIC \geq 2 μ g/ml) と判定された菌の90%以上が何らかの遺伝子学的変異をこの69bpの領域に有していた (図2, 表2)。さらに、この *rpoB* 遺伝子内の変異がおこる部位や変異アミノ酸の種類により、結核菌が RFP に対し高度耐性を示したり、逆に変異がみられても RFP に感性であるなど、結核菌の RFP 感受性に一定の傾向がみられることが示された¹⁰⁾。また、同様な検討をリファマイシン誘導体の rifabutin や KRM-1648についても行った。結果として、これらの薬剤に対しても耐性化に *rpoB* 遺伝子が関与することが確認され、RFP と交叉耐性を示す変異や、RFP のみに耐性を示す変異があることが認められた¹¹⁾。以上のことから、結核菌の RFP ならびに他のリファマイシン系抗結核薬に対する耐性化では、*rpoB* 遺伝子内の変異が主要な耐性機構であることが確認された。

また近年、複数の DNA プローブを用いて、この core region 内の変異を迅速に検出するキット (*rpoB* line probe assay kits; Inno-LiPA Rif. TB, Innogenetics, ベルギー) が開発されており、迅速耐性菌検出法としての実用化が期待されている¹²⁾。

c. SM

SM の抗結核作用の機序として、結核菌の30Sリボソームのサブユニットと作用し、情報解読を誤らせて蛋白合成を阻害することによって考えられている。

一方、遺伝子学的レベルにおける結核菌の SM 耐性機序として、16S rRNA (*rrs*) 遺伝子や ribosomal protein S12 (*rpsL*) 遺伝子内の point mutation が

現在までに判明している⁷⁾⁸⁾。また SM 耐性結核菌におけるこの *rrs* 遺伝子、*rpsL* 遺伝子内に変異を持つ結核菌の頻度はそれぞれ10%、50%程度とされている。

われわれの教室でも、結核菌の SM 感受性と *rpsL* 遺伝子内変異との関係について検討した¹³⁾。その結果、SM 耐性と判定された結核菌の約61%に *rpsL* 遺伝子内変異が認められ、変異のみられた株はすべて SM に対し MIC \geq 256 μ g/ml の高度耐性を示していた。しかも、これらの変異はすべて同一箇所と同様の変異 (Lys-43 (AAG) \rightarrow Arg-43 (AGG)) であった。われわれの結果より、結核菌の SM 高度耐性化には *rpsL* 遺伝子内変異が大きく関与していることが推定された。さらにわれわれは、上記の結果を踏まえ、PCR 法と制限酵素法とを組み合わせるにより、遺伝子配列決定法を経ずに *rpsL* 遺伝子内変異の検出、すなわち SM 耐性結核菌検出ができないか検討した。具体的には、変異が見られた部位をはさむように設定した primer を用いて PCR を行い、次に増幅産物を制限酵素である *Mbo* II を用いて処理し、電気泳動を行って切断の有無を確認した。この方法では、*rpsL* 遺伝子内変異に上述した変異があれば、PCR 産物は *Mbo* II で切断されないことになる。結果はこの方法により、変異をもつ株と変異を持たない株を明らかに判断することができ、SM 耐性結核菌の迅速検出法として有用であると考えられた (図3)。

d. その他の抗結核薬

INH, RFP, SM 以外の抗結核薬において、耐性化に関与する遺伝子が現在までに判明しているものにピラジナミド (PZA) とキノロン薬 (保険適用は認められていない) がある。

PZA の抗結核作用についてはまだ不明な点が多いが、

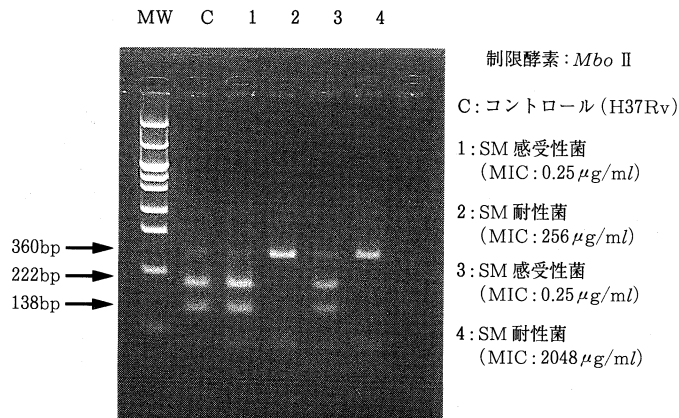


図3 制限酵素法による SM 耐性結核菌検出例

菌体内でPZAがピラジナミダーゼ(PZase)と呼ばれる酵素により修飾を受け、抗菌作用を発揮すると考えられている。このピラジナミダーゼの活性が低下している結核菌はPZAに耐性を示し、近年結核菌のピラジナミダーゼをコードする遺伝子、nicotinamidase (*pncA*) 遺伝子が同定され、PZA耐性結核菌では*pncA* 遺伝子内に point mutation がみられると報告されている¹⁴⁾。変異のみられる頻度としてはおおよそ90%程度ともいわれている。

一方、キノロン薬の作用機序は細菌のDNA gyraseの作用を阻害することによるが、キノロン耐性結核菌においては、その約30%にDNA gyrase A subunit (*gyrA*) 遺伝子内変異がみられたと報告されている¹⁵⁾。

さらに、エタンプトール耐性に関しては*embB* 遺伝子内の変異の関与が考えられるといった報告も最近では散見される¹⁶⁾。

おわりに

以上述べたように、結核菌における薬剤耐性と遺伝子との関係は、ここ数年で急速に明らかになりつつある。幸い、わが国では薬剤耐性結核菌による感染症は欧米ほど問題にはなっていないが、今後の動向に十分注意を払わねばならない。いまや結核症に対する分子生物学的手法の応用は、診断のみならず薬剤感受性にまで応用されようとしている。しかし、いずれもまだ実験室段階の検討レベルであり、今後、一日も早い臨床応用が期待されるが、われわれの検討の結果も一助となれば幸いである。(最後に、本研究に御協力頂いた教室の諸先生方に感謝するとともに、発表の機会を与えて頂いた近藤有好会長、ならびに座長の労をお取り頂いた斎藤肇先生、網谷良一先生に心より深謝致します。)

文 献

- 1) Edlin BR, Tokars JI, Grieco MH, et al.: An outbreak of multidrug resistant tuberculosis among hospitalized patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med.* 1992; 326: 1514-1521.
- 2) Zhang Y, Heym B, Allen B, et al.: The catalase-peroxidase gene and isoniazid resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nature (London).* 1992; 358: 591-593.
- 3) Pretorius GS, Van Helden PD, Sirgel F, et al.: Mutations in *katG* gene sequences in isoniazid-resistant clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* are rare. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995; 39: 2276-2281.
- 4) Banerjee A, Dubnau E, Quemard A, et al.: *InhA*, a gene encoding a target for isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis*. *Science.* 1994; 263: 227-230.
- 5) Sherman DR, Mdluli K, Hickey MJ, et al.: Compensatory *ahpC* gene expression in isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Science.* 1996; 272: 1641-1643.
- 6) Telenti A, Imboden P, Marchesi F, et al.: Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. *Lancet.* 1993; 341: 647-650.
- 7) Honore N, and Cole S: Streptomycin resistance in mycobacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994; 38: 238-242.
- 8) Meier A, Kirschner P, Bange FC, et al.: Genetic alterations in streptomycin-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: Mapping of mutations conferring resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994; 38: 228-233.
- 9) 結核療法研究協議会: 入院時薬剤耐性に関する研究。平成6年度療研研究報告書, 1994, 5-11.
- 10) Ohno H, Koga H, Kuroita T, et al.: Rapid prediction of rifampin susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997; 155: 2057-2063.
- 11) 楊兵, 古賀宏延, 大野秀明, 他: 結核菌臨床分離株における*rpoB* 遺伝子内の変異とリファブチンおよびKRM-1648に対する感受性との関係。結核。1997; 72: 350.
- 12) Rossau R, Traore H, Beenhouwer HD, et al.: Evaluation of the INNO-LiPA Rif. TB assay, a reverse hybridization assay for the simultaneous detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and its resistance to rifampin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997; 41: 2093-2098.
- 13) 福田美穂, 古賀宏延, 大野秀明, 他: 結核菌の*rpsL* 遺伝子内変異とストレプトマイシン感受性の検討。結核。1997; 72: 507-513.
- 14) Scorpio A, and Zhang Y: Mutations in *pncA*, a gene encoding pyrazinamidase/nicotinamidase, cause resistance to the antituberculous drug pyrazinamide in tubercle bacillus. *Nature Med.* 1996; 2: 662-667.

- 15) Takiff HE, Salazar L, Guerrero C, et al. : Cloning and nucleotide sequence of *Mycobacterium tuberculosis gyrA* and *gyrB* genes and detection of quinolone resistance mutations. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994 ; 38 : 773-780.
- 16) Lety MA, Nair S, Berche P, et al. : A single point mutation in the *embB* gene is responsible for resistance to ethambutol in *Mycobacterium smegmatis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997 ; 41 : 2629-2633.

第73回総会シンポジウム

I. 多剤耐性結核

3. 多剤耐性結核の疫学

吉山 崇

結核予防会結核研究所

The 73rd Annual Meeting Symposium

I. MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS

3. EPIDEMIOLOGY OF DRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS IN JAPAN

Takashi YOSHIYAMA*

In Japan, the frequency of drug-resistant tuberculosis has been investigated every 5 years since 1950s and increase of initial and acquired drug resistance has not been observed. However, the mathematical model analyse of time trend of prevalence of drug-resistant tuberculosis and frequency of initial drug resistance in Korea shows that there is little difference of infectivity and/or proportion of clinical breakdown between susceptible bacilli and resistant ones. The prognosis of isoniazid (INH) and rifampicin (RFP) resistant tuberculosis cases in Fukujuji Hospital was investigated. 367 cases including 50 initial drug resistant cases were analyzed with life table analysis. 50% of all cases and 70% of initial drug resistant cases became negative, 13% of all cases and 4% of initial drug resistant cases remained as positive, 37% of all cases and 27% of new cases died. Among cases who did not convert negative within one year, 41% of all cases and 34% of initial drug resistant cases died. The prognosis of INH and RFP resistant tuberculosis cases were still not satisfactory.

Key words: Tuberculosis, Drug resistance, Epidemiology, Prognosis

キーワード: 結核, 薬剤耐性, 疫学, 予後

はじめに

米国において、おもに HIV 陽性者の中で多剤耐性結核症が流行したことに端を発し、薬剤耐性結核菌の問題が再びクローズアップされてきた。日本においても、多

剤耐性結核症の集団感染事例が 2 例¹⁾²⁾明らかとなり、その疫学像を検討する必要がある。

1. 日本における耐性結核症の頻度

日本における薬剤耐性の頻度は結核療法研究協議会に

別刷り請求先:

吉山 崇
結核予防会結核研究所
〒204-8533 東京都清瀬市松山 3-1-24

* From the Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, 3-1-24, Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 204-8533 Japan.
(Received 11 Sep. 1998)

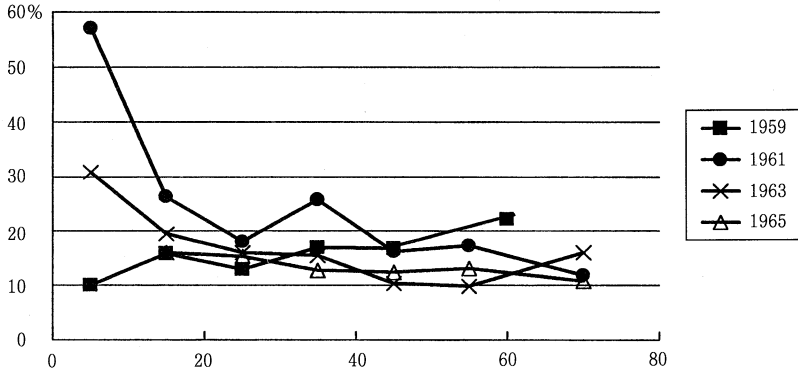


図1 年齢別耐性菌の割合—いずれかの薬 (1959-1965)
(文献14, 15, 16, 17, 18)

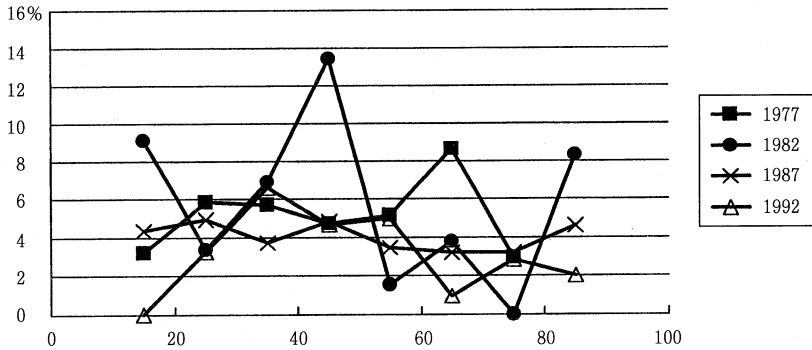


図2 年齢別 INH 0.1 µg/ml 耐性の割合 (1977-1992)
(文献4一部改変)

において、1957年より検討が行われている。ただし、その成績については、参加施設で行われた結果をそのまま用いている場合と結核研究所に菌株を集めて再検査した場合とがあり、経年的な比較を直接は出来ない。1957年から82年まで、各医療施設の未治療患者の耐性頻度は、その各施設における成績がすでに報告されており³⁾、INH耐性は4-6%、SM耐性は6-12%で一定で推移している。

1977年から92年までの成績は既報⁴⁾⁵⁾のとおり、INH 1 µg/ml が1-2%、RFP 50 µg/ml が0-1%と一定で推移している。INH 0.1 µg/ml については未報告であるが、5.6% (1982) から3.7% (1992) へと減少傾向にあった。INHとRFPの両剤に耐性の患者の頻度は、INH 0.1 µg/ml で1% (1977) から0.3% (1992) へ、INH 1 µg/ml で0.3% (1982) から0.1% (1992) へと減少傾向にあり、全体としては未治療耐性結核の頻度は

横ばいもしくは減少傾向にあるものと判断された。

年齢別に耐性の頻度を検討した。年齢が進むほど既感染発病が多く、過去の感染状況を反映し、若い世代では新しい感染状況を反映すると思われる。図1のごとく1960年代までの調査では、若い世代に未治療耐性が多く、年齢が進むとともに未治療耐性の頻度は減少していた。70年代から80年代にかけては未治療耐性の頻度に年齢による違いがなかったが、1992年の調査では、INH 0.1 µg/ml は図2のごとく30歳代で7%、ついで40-50歳代で5%と高く、RFPは図3のごとく20歳代で2%と比較的若い世代の結核患者で高い未治療耐性が見られた。表1のごとく既治療者では未治療者より遙かに高い耐性の頻度を示しており、INH、RFP両剤耐性の頻度は、10-12%であった。

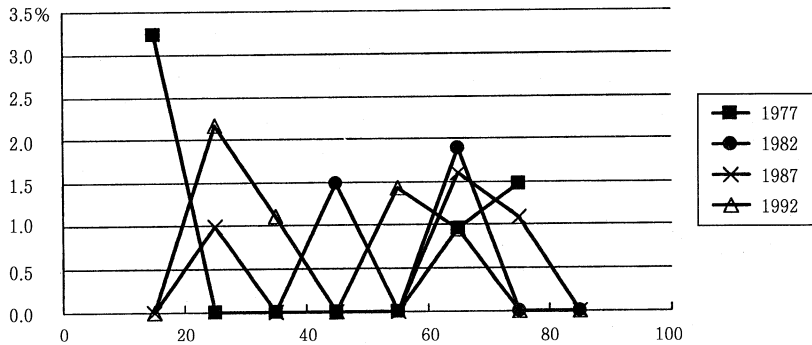


図3 年齢別 RFP 耐性の割合 (1977-1992)
(文献4一部改変)

表1 未治療耐性と既治療耐性の頻度 (1992)

| 抗結核剤 | 未治療例 | 既治療例 |
|--------------------|------|-------|
| INH 1 μ g/ml | 1.5% | 17.9% |
| INH 0.1 μ g/ml | 3.7 | 26.2 |
| RFP | 0.7 | 15.1 |
| SM | 3.8 | 10.4 |
| EB | 0.1 | 1.9 |
| INH1+RFP | 0.1 | 10.1 |
| INH0.1+REP | 0.3 | 12.3 |

(文献4一部改変)

2. 感性菌と耐性菌の感染、発病の
起こりやすさの差

結核菌の感染と発病のしやすさについては、薬剤耐性菌の患者との接触者と感受性菌の患者との接触者の間で発病率に有意な差が出ないという報告がいくつかなされている⁶⁾⁷⁾。接触者が発病するまでを、接触者の中で感染する者の割合と、感染した者の中で発病した者の割合とにわけて考え、菌陽性患者との接触者の中で感染する者の数についての耐性菌と感性菌の比を感染力の比、および感染者のうち発病する者の割合の比を発病率の比とし、この2つの比についていずれも1であると仮定すると、感性菌と耐性菌の患者で発症してから医療機関で見つかるまでの期間には違いは見られないと思われるが、発見後の有病期間は耐性菌に感染している者の方が長いのであるから、発症した1人の患者が感染させている人数は耐性菌の方が多く、後日発病する者の割合は耐性菌の方が多くなり、未治療患者における耐性菌の割合は増加の一途をたどるはずであるが、実際にはそうになってはいない。それ故に、感染力の比と発病率の比は、個々の

患者ではさまざまな数を取りうるものの、集団としては、感染力の比か発病率の比かのいずれかが1以下であると想定される。

今回の検討では、個々の人の宿主側の条件は一定と仮定し、感染力の比と発病率の比を集団として検討し、これまでの感染性についての議論との整合性を議論した。

[対象]

韓国におけるINH 0.2 μ g/ml, RFP 40 μ g/ml 耐性菌患者と感性菌患者。

[方法]

韓国においては1965年以来5年ごとに95年まで有病率の実態調査が行われ⁸⁾、その際に培養陽性であった者の薬剤耐性検査も行っている⁹⁾。1965年以来韓国では耐性結核の割合は、未治療例でも既治療例でも減少してきた。実態調査の成績から、その時点(y年)での結核有病率(R(y))がわかり、耐性菌の割合から、感性結核と耐性結核の有病率(感性結核=Rs(y), 耐性結核=Rr(y))がわかる。排菌患者から感染を受ける者の数は、感性菌では年間5人とし、耐性菌では5人かける一定の比(X)であると仮定する。年間5人という数字は、塗抹陽性菌では年間10-13人の感染をおこす¹⁰⁾ことと、培養陽性結核患者のうち、塗抹陽性の割合は5割程度ということから想定した。y年におけるx年に生まれた人の未感染者の人口をPu(y, (y-x)), y年における未感染者の人口総数をPu(y) (= $\sum xPu(y, (y-x))$) とすると、その年齢層の人で感性菌の感染を受けた人数はRs(y) \times 5 \times (Pu(y, (y-x))/Pu(y)) となる。その年齢層でその年に耐性菌の感染を受けた人数はRs(y) \times 5 \times (Pu(y, (y-x))/Pu(y)) \times X となる。感性菌、耐性菌それぞれの感染を受けた人数は、毎年各年齢層で経時的に加算される(感性菌の場合 Ir(x) = $\sum yRs(y) \times 5 \times Pu(y, (y-x))/Pu(y)$)。

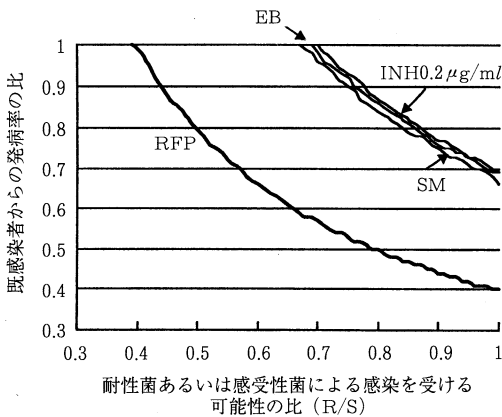


図4 韓国の有病率調査から推計した最も可能性の高い感染性と発病率の組合せ

表2 耐性症例の背景情報

| | |
|-----|--|
| 性別 | 男性287名(78%), 女性80名(22%) |
| 出身国 | 日本345名(94%), 中国残留日本人孤児3名 韓国10名, その他9名 |
| 年齢 | 10歳代:7名, 20歳代:35名, 30歳代:68名 40歳代:94名, 50歳代:89名, 60歳代:52名 70歳以上:22名 |
| 合併症 | 糖尿病37名(11%), 肺癌6名(2%), 他の癌9名(2%) |

未治療耐性菌による罹患率は、その時点での菌陽性結核菌を体内に有する者の割合と発病率の積であるが、体内に耐性菌と感性菌を持つものの割合は上記で計算され、発病率については仮定により、耐性菌と感性菌で一定の比(Y)をとるものとする。感性菌の発病率については、感染後5年以内に5%、その後は毎年0.08%とした。このX, Yの2つの未知の定数について、韓国の実態調査の値から、最小二乗法により可能性の高い数値を計算した。

〔結果〕

INH 0.2 μg/ml 耐性菌については、感染性の比が1で一定とするならば、発病率の比は0.7となった。同様にして、RFP 50 μg/ml については、0.4, SM 20 μg/ml と EB 2.5 μg/ml についても0.7となった。X と Y が可変とした場合、図4のごとく、積をほぼ一定とする組合せが、最もあり得る数値として計算された。

〔議論〕

今回の検討から、耐性菌が感染、発病を起こしにくい

ことがあるにせよ、その割合は、感受性菌と大きな差はないものと示唆される。韓国と台湾の有病率実態調査の結果を別の数学的モデルを使って分析した Schulzer によると、結核の新たな発病には内因性再燃について、慢性排菌患者の影響が大きいことが示されている¹¹⁾。これらの結果から、慢性の多剤耐性患者を多く抱えている結核病院での院内感染対策の重要性が示されている。

3. INH・RFP 両剤耐性菌の長期予後

INH・RFP 両剤耐性患者については、その治療の困難性が議論となるが、日本における長期予後についての検討は、加藤らによる慢性排菌患者の長期予後の検討¹²⁾のみである。その結果では5年以内に約半数が死亡している。対象症例は慢性排菌であり INH, RFP 耐性が多いと思われるが、信頼できる耐性検査の結果は不明である。韓国における first line regimen と second line regimen の治療で菌陰性化しなかった INH, RFP 耐性症例の予後の検討¹³⁾では7年以内に40%弱が死亡しているが、日本ではこのような検討は行われていないため、INH・RFP 両剤耐性症例の予後を検討する必要があると思われる。

〔対象〕

1975年1月より96年12月までに複十字病院で診療を受け、その細菌検査室の薬剤感受性試験で INH 0.1 μg/ml および RFP 50 μg/ml 耐性(完全耐性と不完全耐性で対照の培養のグレードが +++ で薬を含む培地での培養のグレードが ++ のものも含む)とされた全症例403例中1年以上治療経過をおえた367例。

〔追跡状況〕

83例で10年以内に死亡が確認されていた。284例の死亡が確認されていない症例中、39例は調査時点で耐性となつて5年以内であり、耐性となつて5年以上の284例-39例=245例中161例(66%)で5年以上追跡され、耐性となつて10年以内を除く204例中89例(43%)で10年以上追跡されていた。

症例の背景は表2のとおりで、男性に多く、耐性となつた年齢は40-50歳代に多かった。初回治療例は50例、再治療例は50例で、残る267例は治療中に耐性化したと思われる症例であった。ただし、この267例については、耐性化をおこした治療の開始時に INH/RFP いずれかに感性であったことを確認しているものもあるが、確認されていないものもある。

〔結果〕

1. INH・RFP 両剤耐性となつてからあるいは複十字病院を受診してから、1年以内に排菌停止したものの割合は、367例中174例(47%)に見られた。未治療群での菌陰性化は50例中32例(64%)、再治療群で50例中26

表3 1年以内に菌陰性化した者の割合

| | | 全患者数 367 | 陰性化した者 174 | 陰性化割合 47% | C.I.(p=0.05) (42- 54%) |
|-----------------|---------|-------------|---------------|--------------|---------------------------|
| 年代 | 70年代 | 159 | 52 | 33% | (25- 41%) |
| | 80年代 | 139 | 80 | 58 | (49- 70) |
| | 90年代 | 69 | 42 | 61 | (48- 81) |
| 耐性化課程 | 未治療 | 50 | 32 | 64 | (49- 91) |
| | 再治療 | 50 | 26 | 52 | (37- 73) |
| | 治療失敗 | 267 | 116 | 43 | (37- 51) |
| 年齢 | 10歳代 | 7 | 6 | 86 | (42-100) |
| | 20歳代 | 35 | 19 | 54 | (37- 81) |
| | 30歳代 | 68 | 34 | 50 | (38- 67) |
| | 40歳代 | 94 | 44 | 47 | (36- 60) |
| | 50歳代 | 89 | 40 | 45 | (34- 58) |
| | 60歳代 | 52 | 22 | 42 | (29- 60) |
| | 70歳代 | 18 | 6 | 33 | (13- 64) |
| | 80歳代 | 4 | 3 | 75 | (19-100) |
| 性 | 女 | 80 | 39 | 49 | (37- 64) |
| | 男 | 286 | 135 | 47 | (41- 54) |
| 塗抹 | 陰性 | 50 | 27 | 54 | (39- 75) |
| | 陽性 | 314 | 145 | 46 | (41- 53) |
| X線所見 | I+ II 3 | 125 | 43 | 34 | (26- 44) |
| | II 1-2 | 197 | 101 | 51 | (44- 61) |
| | III | 43 | 29 | 67 | (51-100) |
| INH5 μ g/ml | 感受性 | 218 | 104 | 48 | (41- 56) |
| | 耐性 | 149 | 70 | 47 | (39- 57) |
| SM | 感受性 | 178 | 93 | 52 | (45- 62) |
| | 耐性 | 188 | 80 | 43 | (35- 51) |
| EB | 感受性 | 172 | 92 | 53 | (46- 64) |
| | 耐性 | 194 | 81 | 42 | (35- 50) |

表4 多変量解析による1年以内に菌陰性化した割合に関与する因子

| 因子 | β | S.E. | p | 補正した odds 比 | 下限 | 上限 |
|--------|---------|-------|-------|----------------|-------|-------|
| 年齢 | 0.018 | 0.008 | 0.049 | 1.018 | 1.003 | 1.034 |
| 治療した年代 | -0.066 | 0.015 | 0.000 | 0.936 | 0.909 | 0.964 |
| X線所見 | -0.711 | 0.181 | 0.001 | 0.491 | 0.345 | 0.700 |
| EB耐性 | 0.530 | 0.226 | 0.011 | 1.699 | 1.092 | 2.643 |

例(52%)であった。表3のごとくINH 5 μ g/ml耐性と0.1 μ g/ml耐性かつ5 μ g/ml感受性の者とは差はなく、またSM耐性と感受性とも有意差が認められなかったが、EB耐性では194例中81例(42%)と有意に感受性菌(53%)よりも低かった。表4のごとくlogistic regressionを行ったところ、独立した因子とし

て、耐性化した年代が進むにつれて陰性化率が高い、X線所見で軽症例で陰性化率が高い、EB耐性例で陰性化率が低い、若年者で陰性化率が高いことが示された。

2. 長期予後

10年後の状況をlife table analysisで分析したところ、全症例では50%菌陰性化、13%排菌陽性、37%死亡

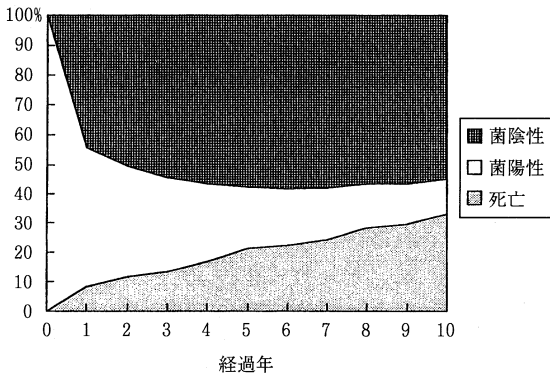


図5 HR両剤耐性全症例の予後 (n=373, life table法)

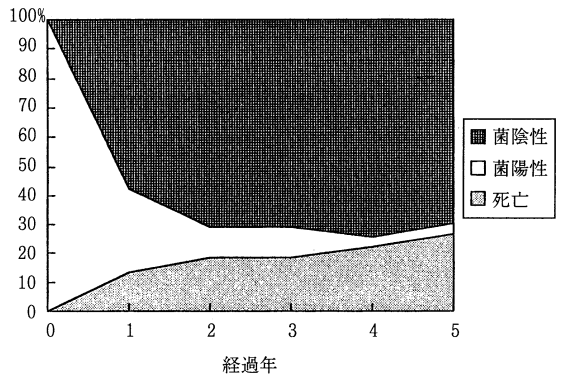


図6 HR両剤耐性初回治療症例の予後 (n=52, life table法)

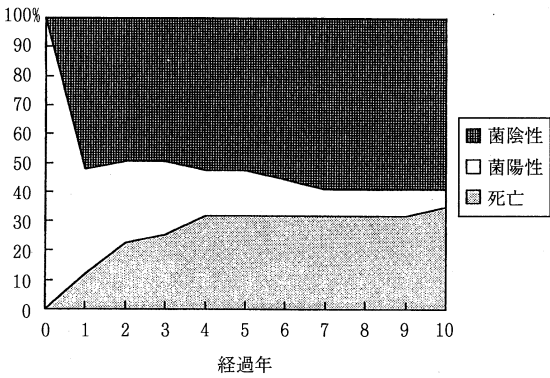


図7 HR両剤耐性再治療症例の予後 (n=51, life table法)

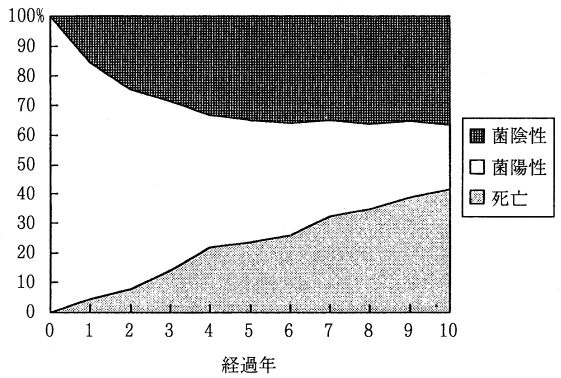


図8 HR両剤耐性全症例の予後 (n=201, life table法) 1年以内に菌陰性化しなかった者

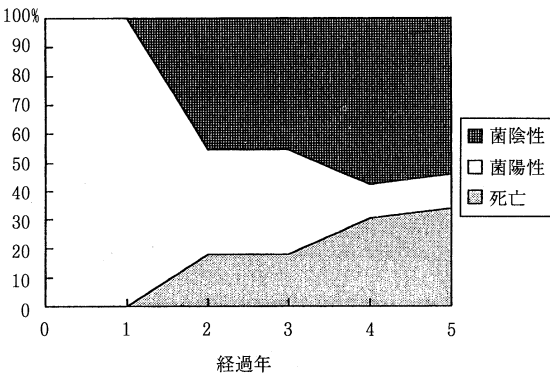


図9 HR両剤耐性初回治療症例の予後 (n=19, life table法) 1年以内に菌陰性化しなかった者

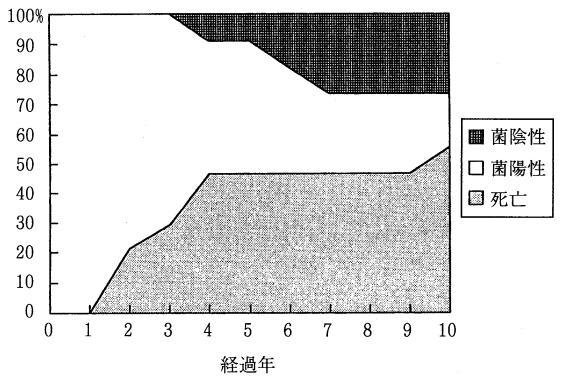


図10 HR両剤耐性再治療症例の予後 (n=24, life table法) 1年以内に菌陰性化しなかった者

表5 INH/RFP耐性結核の5-10年後の予後

| | 5年後の予後 | | | 10年後の予後 | | |
|------------------|--------|-------|-------|---------|-------|-------|
| | 死亡 | 菌陰性 | 菌陽性 | 死亡 | 菌陰性 | 菌陽性 |
| 全症例 | 21.6% | 57.1% | 21.3% | 36.7% | 50.2% | 13.2% |
| 初回治療 | 26.7 | 69.8 | 3.5 | | | |
| 再治療 | 31.6 | 55.8 | 12.6 | 34.7 | 58.9 | 6.3 |
| 治療失敗後 | 19.7 | 56.6 | 23.8 | 34.0 | 53.3 | 12.7 |
| 塗抹陽性 | 19.7 | 56.6 | 23.8 | 36.9 | 52.3 | 10.8 |
| 塗抹陰性 | 20.8 | 62.3 | 16.9 | 23.2 | 68.1 | 8.7 |
| I, II3 | 34.9 | 40.9 | 24.2 | 56.8 | 31.9 | 11.3 |
| II1-2 | 14.4 | 67.6 | 18.0 | 23.2 | 66.6 | 10.1 |
| III | 19.6 | 67.2 | 13.2 | 19.6 | 70.5 | 9.9 |
| H5 μ g/ml 耐性 | 21.6 | 57.1 | 21.3 | 36.7 | 50.2 | 13.2 |
| H5 μ g/ml 感性 | 22.4 | 59.1 | 18.4 | 33.5 | 58.1 | 8.4 |
| EB耐性 | 22.9 | 57.0 | 20.1 | 31.2 | 56.0 | 12.8 |
| EB感性 | 21.4 | 59.4 | 19.2 | 40.6 | 52.1 | 7.3 |

していた(図5)。初回治療症例の5年後は70%菌陰性化, 4%排菌陽性, 27%死亡(図6), 再治療例の10年後は, 59%菌陰性化, 6%排菌陽性, 35%死亡であった(図7)。1年後菌陽性例では, 37%菌陰性化, 22%排菌陽性, 41%死亡しており(図8), 1年後に菌陽性の初回治療例では5年後には, 54%菌陰性化, 12%排菌陽性, 34%死亡(図9), 1年後に菌陽性の再治療例の10年後は, 17%菌陰性化, 27%排菌陽性, 56%が死亡していた(図10)。10年以内の死亡率は, 表5のごとくINH 5 μ g/ml 耐性では37%で感受性例34%とほとんど差がなく, IおよびII3型では57%と高い比率を示した。10年以内の死亡83例のうち67例は菌陽性状態での死亡, 16例は菌陰性化後の死亡で, 菌陽性状態での死亡67例中, 50例は結核死であった。

〔考察〕

1年以内に菌陰性化しなかった場合, その後の予後は, 厳しい状況がうかがえた。

まとめ

わが国においては多剤耐性結核症は幸いなことに1992年まで増加傾向は見られていないが, 耐性菌患者が存在すると, その者からの感染, さらには感染した者からの発病がおこる頻度は感受性菌と大差がないものと思われる。しかし, ひとたび, 耐性菌患者となった場合, 1年以内に菌陰性化しなかった症例での予後は良くない。そのため, 多剤耐性結核患者の入院施設での院内感染対策および, 多剤耐性でない患者の獲得耐性防止対策の重要性が示された。

文 献

- 1) 尾形英雄, 他: 家内工場で発生した多剤耐性結核の集団感染. 結核. 1997; 72: 329.
- 2) 青木正和: 結核の院内感染103(結核予防会)
- 3) 結核療法研究協議会: 肺結核患者の入院時薬剤耐性に関する研究. 結核. 1991; 66: 367-373.
- 4) Hirano K, Kazumi Y, Abe C, et al.: Resistance to antituberculosis drugs in Japan. Tubercle and Lung Disease. 1996; 77: 130-135 (1992年調査)
- 5) 結核療法研究協議会: (1977-1987年調査), 結核の統計 1990.
- 6) 齊藤みどり: 慢性排菌患者の感染性に関する疫学的研究. 結核. 1984; 59: 542-544.
- 7) 徳田 均: INH, RFP 耐性菌の感染性. 結核. 1991; 66: 699-705.
- 8) Ministry of Health and Welfare: Report on the 7th tuberculosis prevalence survey in Korea, 1995.
- 9) Kim SJ, YP Hong: Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Korea. Tubercle and Lung Disease. 1992; 73: 219-224.
- 10) Styblo K: Recent advances in Epidemiological Research in Tuberculosis, Advance Tuberc Research. 1980; 20: 1-63.
- 11) Schulzer, M: An Analysis of Pulmonary Tuberculosis Data in Taiwan and Korea. In-

- ternational J of Epidemiology. 1987; 16: 584-589.
- 12) 加藤万之輔, 柿原秀敏: 愛知県における慢性排菌例の検討. 結核. 1992; 67: 331-346.
 - 13) Lew WJ: Fate of intractable multi drug-resistant tuberculosis cases under national tuberculosis programme in Korea (未発表).
 - 14) 結核療法研究協議会: 肺結核患者の入院時における結核菌薬剤耐性に関する研究. 日本医事新報. 1960. 9. 24. ; 1900: 3-10.
 - 15) 結核療法研究協議会: 肺結核患者の入院時における結核菌薬剤耐性に関する研究. 日本医事新報. 1962. 3. 31. ; 1979: 3-10.
 - 16) 結核療法研究協議会: 肺結核患者の入院時における結核菌薬剤耐性に関する研究. 日本医事新報. 1963. 11. 26. ; 2064: 9-26.
 - 17) 結核療法研究協議会: 肺結核患者の入院時における結核菌薬剤耐性. 日本医事新報. 1967. 5. 20. ; 2247: 49-57.
 - 18) 結核療法研究協議会: 肺結核患者の入院時における結核菌薬剤耐性. 日本医事新報. 1969. 6. 14. ; 2355: 3-8.

第73回総会シンポジウム

I. 多剤耐性結核

4. 多剤耐性結核の治療と予後

小河原 光正・坂谷 光則

国立療養所近畿中央病院内科

The 73rd Annual Meeting Symposium

I. MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS

4. TREATMENT AND PROGNOSIS OF MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS

Mitsumasa OGAWARA* and Mitsunori SAKATANI

We studied the clinical characteristics, treatment and prognosis of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis patients retrospectively. In this study, multidrug-resistant is defined as both resistant to $0.1\mu\text{g/ml}$ of INH and $50\mu\text{g/ml}$ of RFP at least. From 1990 to 1997, out of 1841 culture positive pulmonary tuberculosis patients, 76 patients (4%) proved to be multidrug-resistant (53 males, 23 females, age 18-84, 40 originally treated cases and 36 relapse cases). Most of cases revealed resistance to other drugs in addition to INH and RFP.

The combination of anti-tuberculous drugs were complicated and changed repeatedly. The incidences of administration of drugs were as follows; TH 62%, EB 58%, PZA 58%, KM 33%, PAS 33%, SM 29%, CS 20%, EVM 14%, CPM 3%. New quinolones, for example OFLX/LVFX, CPFEX and SPFX, were also used frequently (62%). Eight percent of patients were operated.

Bacteriologically effective drugs that meant culture negative were TH (14%), PZA (12%), KM (12%), EB (12%), SM (5%), new quinolones (16%). 67% of originally treated cases and 43% of relapse cases became culture negative. Many cases were treated for a long period. 19% of originally treated cases and 33% of relapse cases were treated more than three years. 11% of patients were died of tuberculosis. Major prognostic factors were diabetes mellitus (17%), malignancies (10%), non-adherence (9%) and other complications.

Because of no absolutely effective treatment, we have to choose a treatment according to each patient. Development of new treatment is crucial.

別刷り請求先:

小河原 光正

国立療養所近畿中央病院内科

〒591-8555 大阪府堺市長曾根町1180

* From the Department of Internal Medicine, National Kinki-Central Hospital for Chest Diseases, Nagasone-cho 1180, Sakai-shi, Osaka 591-8555 Japan.

(Received 11 Sep. 1998)

Key words : Multidrug-resistant tuberculosis, Pulmonary tuberculosis, Treatment, Chemotherapy, Prognosis

キーワード : 多剤耐性結核, 肺結核, 治療, 化学療法, 予後

はじめに

結核に対する化学療法は、RFP・INHを中心とした多剤併用療法の実施により治癒成績の向上、再発の減少に成功し、さらに最近のPZAを含めた短期化学療法の導入へと着実な進歩を遂げてきた¹⁾。しかし、薬剤耐性、ことに多剤耐性結核は難治療症例が多く、永続排菌となり長年にわたる入院や入退院の反復を要する症例も多く、医学的のみならず社会的にも問題である^{2)~4)}。近年では米国でのHIV感染者での多剤耐性結核の集団感染の報告がなされ、さらに問題となってきた⁵⁾。

今回、INH・RFP耐性を含む多剤耐性結核症例の背景と臨床像をとらえ、使用された治療薬とその効果、経過、予後および予後に影響した因子についてretrospectiveに検討することにより課題を明らかにして、多剤耐性結核に対する今後の治療法と対処について考えていきたい。

対象と方法

少なくともINH 0.1 μ g/ml, RFP 50 μ g/mlと同時に完全耐性を示したものを今回は多剤耐性と定義した。

1990-97年の間に当院に入院した喀痰培養陽性の肺結核患者1,841例中、多剤耐性症例は76例(4%)に認められた。各症例の観察期間は4カ月-12年であった。

成 績

多剤耐性結核患者の背景について、性別は男性53例、女性23例、年齢は18-84歳(中央値57歳)であった。治療歴初回(初回感染中に耐性化したものも含む)40例(53%)、再発36例(47%)であった(表1)。

薬剤耐性のパターンは、INH・RFPの2剤のみが15

表1 多剤耐性症例の背景

| | | |
|--------------|-------|-------------------|
| 性別 | 男性/女性 | 53/23 |
| 年齢 | | 18-84歳 (中央値57) |
| 治療歴 | | |
| 初回(継続治療中を含む) | | 40(53%) |
| 再発 | | 36(47%) |

例、3剤耐性でINH・RFPの他SM:13例、EB:6例、KM:2例、CPM:1例、4剤耐性はINH・RFPの他SM・EB:13例、SM・KM:2例、SM・PAS:3例、EB・TH:1例であった(表2)。5剤耐性が7例、6剤耐性が6例、8剤耐性が3例、9剤耐性が2例、10剤耐性は1例とINH・RFP以外にも多数の薬剤に耐性を示したものが多かった。

INH、RFP以外の抗結核薬の投与された頻度は全経過を通じて、THが全症例の62%に投与されていた(表3)。EBは58%、PZA 58%、KM 33%、PAS 33%、SM 29%、CS 20%、EVM 14%、CPM 3%であった。

抗結核薬以外の治療としては、ニューキノロン薬のいずれかまたは時期をかえて複数が62%の症例に投与されていた(表4)。その内訳は、OFLX/LVFX 42%、CPFX 21%、SPFX 12%、TFLX 3%、LFLX 2%であった。その他、ミノサイクリン(MINO)が9%、クラリスロマイシン(CAM)が4%に投与されていた。IL-2, DJ-7041(ムロクタシン)がそれぞれ1%に投与されていた。手術は6例(8%)に行われたのみであった。

排菌陰性化、排菌量減少などの効果が認められ、有効と考えられた薬剤の組合せとしては、PZA, PZA+EB,

表2 薬剤耐性のパターン

| | |
|-----------------|-----|
| INH・RFPの2剤のみ: | 15例 |
| 3剤耐性 | |
| INH・RFP・SM : | 13例 |
| EB : | 6 |
| KM : | 2 |
| CPM : | 1 |
| 4剤耐性 | |
| INH・RFP・SM・EB : | 13例 |
| SM・KM : | 2 |
| SM・PAS : | 3 |
| EB・TH : | 1 |
| 5剤耐性 : | 7例 |
| 6剤耐性 : | 6 |
| 8剤耐性 : | 3 |
| 9剤耐性 : | 2 |
| 10剤耐性 : | 1 |

表3 INH, RFP以外の抗結核薬の投与された頻度

| | |
|-----|-----|
| TH | 62% |
| EB | 58 |
| PZA | 58 |
| KM | 33 |
| PAS | 33 |
| SM | 29 |
| CS | 20 |
| EVM | 14 |
| CPM | 3 |

表4 抗結核薬以外の治療

| | |
|------------------|-----|
| ニューキノロン: | 62% |
| OFLX/LVFX | 42% |
| CPFX | 21 |
| SPFX | 12 |
| TFLX | 3 |
| LFLX | 2 |
| MINO | 9% |
| CAM | 4 |
| IL-2 | 1 |
| DJ-7041 (ムロクタシン) | 1 |
| 手術 | 8% |

PZA+SM, PZA+KM, PZA+PAS, PZA+CS, PZA+TH+OFLX/LVFX, SM, KM, SM+TH, KM+CS, KM+TH, KM+TH+CS, KM+CS+PAS, KM+TH+LVFX, KM+CS+OFLX, EVM+PAS, EVM+TH, CPM+CS+TH, EB, EB+TH, TH, TH+PAS+LVFX, PASなどを含むものであった。排菌陰性化に有効と考えられた薬剤の組合せとしては、THを含むものが14%、PZAを含むもの、KMを含むもの、EBを含むものがそれぞれ12%、SMを含むものが5%、ニューキノロンを含むものが16%であった(表5)。

排菌の経過について、排菌陰性化は初回治療例67%、再発例43%であった(表6)。治療が有効と考えられた症例での治療期間(死亡、転医等の打ち切りを含む)は、初回治療例で99-2,113日(中央値558日)、再発例で47-4,456日(中央値591日)と中央値では差を認めなかったが、3年以上に及ぶ症例は初回治療例19%、再発例33%と再発例で長期治療を要する症例が多かった。

予後について、結核による死亡は8例(11%)に認め

表5 排菌陰性化に有効と考えられた薬剤の組合せ

| | |
|-------------|-----|
| THを含む: | 14% |
| PZAを含む: | 12 |
| KMを含む: | 12 |
| EBを含む: | 12 |
| SMを含む: | 5 |
| ニューキノロンを含む: | 16 |

表6 排菌の経過

| | 排菌陰性化 | 有効例での治療期間(中央値) | 3年以上治療 |
|-------|-------|--------------------|--------|
| 初回治療例 | 67% | 99-2113日 (558日) | 19% |
| 再発例 | 43% | 47-4456日 (591日) | 33% |

表7 予後

| | |
|-------------|---------|
| 結核による死亡: | 8例(11%) |
| 初回入院から死亡まで: | 3カ月-10年 |

られた。初回入院から死亡までの期間は3カ月-10年であった(表7)。

経過、予後に影響を及ぼしたと考えられる因子としては、糖尿病合併が17%、悪性腫瘍合併またはその手術後が10%、治療の自己中断/事故退院が9%、肝疾患、結核性膿胸が5%、塵肺が3%、脳梗塞が2%、ステロイド投与、免疫抑制薬投与、腎不全、慢性閉塞性肺疾患(COPD)がそれぞれ1%であった(表8)。

考 察

多剤耐性は、肺結核患者排菌者の4%に認められた。これは一般に比べ高率であると考えられるが⁶⁾、当院は結核専門施設であるため、近隣の病院で治療を開始したが、耐性と判明した、治療に難渋した、服薬コンプライアンスが悪いなどの理由により当院に転院となった症例が多いため、多剤耐性率が相対的に高いことが考えられ、また、近畿地区では高いことが報告されていることから地域性も考えられた⁷⁾。初回治療例が53%と多いのは、初回治療中に耐性を獲得したものを含むためである。

INH・RFPのみ耐性の症例は少なく、3剤以上10剤

表8 経過、予後に影響を及ぼしたと考えられる因子

| | |
|----------------|-------|
| 糖尿病合併 | : 17% |
| 悪性腫瘍合併またはその手術後 | : 10 |
| 治療の自己中断/事故退院 | : 9 |
| 肝疾患 | : 5 |
| 結核性膿胸 | : 5 |
| 塵肺 | : 3 |
| 脳梗塞 | : 2 |
| ステロイド投与 | : 1 |
| 免疫抑制薬投与 | : 1 |
| 腎不全 | : 1 |
| 慢性閉塞性肺疾患(COPD) | : 1 |

にまでいたる多数の薬剤に耐性を示す例が多かったことが、薬剤の選択の幅をさらに狭くして、治療をますます困難にしていた。

INH, RFP 以外の抗結核薬としては TH が最も多く投与されていた。EB, PZA も半数以上に投与されていた。抗結核薬以外では、抗菌薬であるニューキノロンが62%と高頻度に投与されていた。ニューキノロンの中では OFLX/LVFX が最も多く使用され、次いで CFPX, SPFX が用いられていた。排菌陰性化に有効であったと考えられた薬剤としては、TH, PZA, KM, EB, SM, ニューキノロンを含むものであった。しかし、ニューキノロンの効果も16%と低く、追加する意味はあるが、効果には限界があると考えられた。また、どのニューキノロンが臨床的に優れているかは明らかでなかった。抗結核薬の中では TH が最も効果が高かった。PZA も TH に次いで KM, EB と同等の効果が認められ、薬剤感受性は調べることができないものの、追加を推奨される薬剤と考えられた。

手術は8%のみと少なかったが、理由としては、抗結核薬のみでも排菌陰性化まで持っていける症例がかなり存在すること、陈旧性病変を有していて呼吸機能上困難な症例が多いこと、両側性あるいは広範囲に病変を有する症例が多いことなどが考えられた。

初回治療例で67%、再発例で43%に排菌陰性化が得られたが、有効例での治療期間は長期に及び、3年以上の治療を初回治療例で19%、再発例で33%に要した。

死亡は11%に認められたが、現在重症の症例や、来院中断した症例の中にもその後死亡が疑われる症例もあり、予後はさらに悪い可能性がある。

経過・予後に影響を及ぼしたと考えられる因子としては糖尿病合併が最も高く(20%)、悪性腫瘍その他の合併症も認められ、これまでの初回治療例⁸⁾や持続排菌例⁹⁾での報告と共通する要因が多かった。また、治療

表9 当院の多剤耐性結核に対する治療方針

1. 感受性検査に基づき、感受性薬剤を投与(多剤)
2. ニューキノロン, ミノサイクリンの追加
3. 手術適応:
 - 一葉に限局
 - 呼吸機能
 - 全身状態
 - 社会的適応(労働年齢)
4. 原則は入院治療(社会的配慮)
5. 補助療法(栄養, 排痰)

の自己中断・事故退院も大きな要因の一つであった。耐性を生じないために初期の治療を確実に受けるよう、また、耐性が認められた症例に対しては、長期の治療が必要であることを主治医は十分に説明・指導しているが、社会的・経済的背景も相まって理解が不足した例も見受けられた。看護部門とのさらなる協力、薬剤師による服薬指導、保健所との密な連携なども必要であろう¹⁰⁾。また、一部の症例では海外で行われているような directly observed therapy (DOT) の導入が検討されても良いかと考えられる¹¹⁾。

当院の多剤耐性結核に対する治療方針を表9に示した。化学療法は感受性検査に基づき、感受性薬剤を多剤併用で投与し、ニューキノロン, ミノサイクリンなどを追加する。手術適応は、病巣が一葉に限局して、呼吸機能上手術可能であり、全身状態がよく、労働年齢であるなどの社会的適応を有する症例を対象としている。しかし、化学療法に限界があることから、手術適応は拡大して検討することも必要であろう^{12) 13)}。原則は入院治療としているが、長期にわたる例が多いため、社会的配慮も必要である。また、当院では栄養補給、排痰指導などの補助療法にも力を入れている。

結 論

多剤耐性結核では長期に排菌が持続する症例が多く、永続排菌や死亡に至る症例を認める一方、排菌陰性化した症例も認めた。

長い経過の中でさまざまな多剤併用が行われていた。PZA, アミノグリコシド, TH, EB, ニューキノロン等を含む治療が有効と考えられた症例があった。

決定的な治療方法はなく、今後の新たな治療法の開発が必要である。

謝 辞

以上の研究は、国立療養所近畿中央病院内科 原英記先生、同病院検査科細菌室 富田元久技師、木下幸保技

師の協力を得たので、ここに深謝いたします。

文 献

- 1) 青柳昭雄：結核化学療法の過去・現在・将来（基礎、臨床を含めて）。結核。1998；73：459-470。
- 2) Goble M, Iseman MD, Madsen LA, et al. : Treatment of 171 patients with pulmonary tuberculosis resistant to isoniazid and rifampin. *N Engl J Med.* 1993；328：527-532.
- 3) Iseman MD : Treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *N Engl J Med.* 1993；329：784-791.
- 4) 益田典幸：INH・RFP 両剤耐性例の臨床的検討。結核。1991；66：694-696。
- 5) Edlin BR, Tokars JI, Grieco MH, et al. : An outbreak of multidrug-resistant tuberculosis among hospitalized patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med.* 1992；326：1514-1521.
- 6) Moore M, Onorato IM, McCray E, et al. : Trends in drug-resistant tuberculosis in the United States, 1993-1996. *JAMA.* 1997；278：833-837.
- 7) 池田宣昭：INH・RFP 両剤耐性例の臨床的観察。結核。1991；66：690-694。
- 8) 北原義也, 池田昭仁, 加治木章, 他：初回治療肺結核症例における各種難治化要因の検討。結核。1994；69：503-511。
- 9) 土屋俊晶, 近藤有好, 坂谷光則：持続排菌患者の集学的研究。持続排菌患者の実態調査成績。結核。1996；71：31-36。
- 10) Pablos-Mendez A, Knirsch CA, Bar RG, et al. : Nonadherence in tuberculosis treatment : Predictors and consequences in New York City. *Am J Med.* 1997；102：164-170。
- 11) Chaulk CP, Moore-Rice K, Rizzo R, et al. : Eleven years of community-based directly observed therapy for tuberculosis. *JAMA.* 1995；274：945-951。
- 12) Freixinet J : Surgical indications for treatment of pulmonary tuberculosis. *World J Surg.* 1997；21：475-479。
- 13) 中島由槻：肺抗酸菌症の外科療法。耐性肺結核の外科療法。結核。1997；72：25-34。

第73回総会シンポジウム

I. 多剤耐性結核

5. HIV 感染と多剤耐性結核

藤田 明

東京都立府中病院呼吸器科

The 73rd Annual Meeting Symposium

I. MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS

5. HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS INFECTION AND
MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS

Akira FUJITA*

Outbreaks of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) among human immunodeficiency virus (HIV)-infected persons reported in the United States were very serious and the risks were increased by the delay of diagnosis, rapid progression from infection to active disease, inadequate therapy and poor tuberculosis (TB) control. Prevalence of drug-resistant TB among HIV-infected patients in Japan was studied. The results of drug susceptibility were collected through the nationwide working group for a survey of HIV-infected TB. Data of susceptibility for 39 cases were obtained. The isolates of two cases were resistant to isoniazid and rifampicin (including clinical failure of response), although no outbreak of MDR-TB was found in Japan. Case study of a patient who developed MDR-TB revealed that drug resistance might be selected by insufficient anti-TB therapy. The rate of resistance to any of the anti-TB drugs in HIV-infected patients seemed to be high, although strictly evaluation was difficult due to no standardization for drug susceptibility testing. Of 9 cases with resistance to any of the anti-TB drugs, 8 had extrapulmonary TB including 5 cases of disseminated TB. In contrast thirteen of 30 cases without drug resistance had extrapulmonary TB. Since it has been reported that HIV infection is related to increased rates of drug resistance of TB bacilli, treatment with four-drug regimen should be started and sufficient courses of therapy are needed in HIV-infected TB patients.

Key words : Multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB), Human immunodeficiency virus (HIV) Infection, Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), Extrapulmonary tuberculosis

キーワードズ : 多剤耐性結核, HIV 感染症, 後天性免疫不全症候群 (エイズ), 肺外結核

別刷り請求先:

藤田 明

東京都立府中病院呼吸器科

〒183-8524 東京都府中市武蔵台2-9-2

* From the Tokyo Metropolitan Fuchu Hospital, 2-9-2, Musashidai, Fuchu-shi, Tokyo 183-8524 Japan.

(Received 11 Sep. 1998)

表3 薬剤耐性の有無と肺外結核の関係

| 耐性 | 例数 | 肺外結核 | |
|------|----|------|---------|
| | | なし | あり(播種性) |
| 1剤以上 | 9 | 1 | 8*(5) |
| なし | 30 | 17 | 13(1) |

* p<0.05(耐性なしと比較して)
HIV感染結核症例集計(厚生省研究班)

た。この2例では、INH、RFPのうちいずれか1剤に不完全耐性と記載されていたが、臨床的には薬剤が無効であり、多剤耐性結核と判断された。少なくとも1薬剤以上に耐性を認めた9例の国籍は、日本人6例、外国人3例であった。「耐性なし」と「少なくとも1薬剤以上に耐性を認めた例」との間では、年齢、CD4陽性細胞数に有意な差が認められなかった(表2)。薬剤耐性の有無と肺外結核の関係では、少なくとも1薬剤以上に耐性を認めた9例中8例が肺外結核を認め、そのうち、播種型が5例で、「耐性なし」の症例と比較して、肺外結核を認めた症例の割合が多かった(表3)。

2. 都立府中病院に入院した症例13例の検討結果

不完全耐性も含めた耐性パターンを表4に示した。治療開始時点で、INH、RFP、SM、EBの4剤とも感受性であったのは8例、不完全耐性を含めて、少なくとも1剤に耐性であった例は4例であった。前者のうち、治療開始後に耐性菌が出現した2例中1例(INH不完全、RFP完全、SM不完全、EB不完全)は、臨床的に薬剤が無効であり、多剤耐性結核とされた例である。他の1例は、治療開始後において耐性菌(INH不完全、RFP不完全)が認められたが、耐性の程度は軽く、HRSによる治療で菌陰性化が得られた。

自験13例中の菌消失が認められた12例の予後であるが、死亡は7例で約半数を占め、うち5例は結核以外のエイズ合併症により死亡し、結核治療開始後の生存期間は3~13カ月であった。生存例は5例で、経過観察期間は4~14カ月であった。

症例検討:

(T.M.) 36歳男性、日本人、同性間感染。CD4陽性リンパ球数 5/mm³。1993年2月、サイトメガロウイルス網膜炎発病を契機にHIV抗体陽性と判明した。咳嗽著明な喀痰塗抹陽性結核患者(次提示症例S.Y.)と7日間、患者間には上部空間を一部残した仕切りのある部屋で同室していた。1993年5月、発熱と右肺に浸潤影が出現し、検痰にてガフキー10号と判明し、当院に紹介入院となった。入院後、当時の主治医は、肝機能障害(GOT値、GPT値軽度上昇、ALP値が正常の2~4

表4 自験HIV感染結核13例における薬剤耐性パターン

| 薬剤耐性パターン | 例数 |
|--------------------------|----|
| 治療開始時INH、RFP、SM、EB感受性 | 8 |
| 治療開始時少なくとも1剤に耐性 | 4 |
| INH完全、SM不完全 | 1 |
| SM完全、EB不完全 | 1 |
| INH不完全、EB不完全 | 1 |
| INH不完全 | 1 |
| 治療開始後耐性出現 | 2 |
| INH不完全、RFP完全、SM不完全、EB不完全 | 1 |
| INH不完全、RFP不完全(→HRSで菌陰性化) | 1 |
| 非検討 | 1 |

薬剤濃度(μg/ml): INH、0.1・PFP、50・SM、20・EB、2.5
不完全耐性も含めた耐性パターンを示す。

倍の上昇)、脾炎による腹痛などのため、抗結核薬を減量、一時中止した。また、入院当初から断続的に水様性下痢が続いた。腸結核の有無、サイトメガロウイルス感染の有無、などは確認されなかった。感受性検査では、治療開始1カ月目に、INH、RFPに耐性が出現し、その後他の抗結核薬にも耐性化した。経過では、9月には胸部X写真上右肺の陰影が拡がり、11月には右鎖骨上窩リンパ節が鶏卵大に腫脹、リンパ節吸引物からガフキー10号の菌が検出された。HIV脳症の合併もあり、抗結核薬の変更などは行われず、右上葉無気肺を呈するに至り、喀痰喀出困難、呼吸不全にて死亡した(図1)。

(S.Y.) 52歳男性、日本人、異性間感染。CD4陽性リンパ球数 7/mm³。1992年4月粟粒結核(胃液、尿、便より菌検出、薬剤感受性は不明)にて某病院で6HREにて治療を受けた。1992年12月他院入院、粟粒結核、肺門リンパ節腫大を認めた。喀痰塗抹陰性、結核菌培養陽性(INH完全耐性、RFP不完全耐性)であった。1993年1月、右腸腰筋冷膿瘍ドレインよりの検体塗抹陰性。1993年2月、喀痰塗抹陽性(ガフキー9号)となり、この時期に患者T.M.と同室していた。1993年3月死亡した。

上記2症例については、症例S.Y.から症例T.M.への感染も疑われたが、症例T.M.からの検出菌は、治療開始時には症例S.Y.とは異なり感性菌であり、その後耐性を獲得したと考えられた。古い症例のため、残念ながらRFLP解析は行われていない。

3. HIV感染者における多剤耐性結核対策

以上の検討結果を基にして、とくに多剤耐性結核という観点からHIV感染結核の対策について図2に示した。

感染者を集中的に入院させている病棟や、結核病棟に HIV 感染者を入院させた場合の院内結核感染防止が重要である。

考 察

今回の厚生省研究班集計の検討は、あくまで調査票の記載結果に基づくものであり、また感受性検査結果が記載されておらず検討できなかった症例も多く、さらに各施設間の感受性検査方法に相違があるなど、対象の選択としては必ずしも厳密ではない。しかし、HIV 感染結核における薬剤耐性例を拾い上げるという趣旨からあえて検討を行ったものである。1 剤以上に耐性が認められた例は、治療開始後の成績である 2 例を除外した 37 例のうち 7 例で、一般結核患者の未治療耐性の頻度 (5%) よりも高い傾向であった。

薬剤耐性の有無と肺外結核の関係では、多剤耐性結核では肺外結核を認める頻度が高いといわれているが⁶⁾、今回の検討でも、1 剤以上に耐性の菌が検出された患者では、肺外結核を認める例が多い傾向であった。

症例 T.M. では、治療開始 1 カ月目に、INH, RFP 両者に不完全耐性となり、その後他の薬剤にも耐性を獲得したことには注目すべきであろう。これは、不完全な治療、消化管からの抗結核薬の吸収障害などの因子が関与していると考えられた。HIV 感染結核患者における抗結核薬の血中濃度の低下には、D-キシロースの吸収障害、下痢や薬剤の吸収障害と関連しているという報告もある⁷⁾。また、症例 S.Y. では、前医における薬剤感受性検査の成績が得られていないが、菌陽性の粟粒結核でありながら HRE による治療を 6 カ月で終了したことが耐性菌の出現に影響したのかもしれない。

1990年に、とくに HIV 感染に焦点をあてた院内結核感染予防のガイドラインが米国疾病対策予防センター (CDC) から出されたにもかかわらず、1990~93年にかけてニューヨーク市を中心に多剤耐性結核の集団発生が報告された¹⁾³⁾。その後の調査で、多剤耐性結核の少なくとも約 3 割が、毒力の強い W 株またはその関連株によるものであることが明らかになった⁸⁾。W 株は、不十分な治療や治療中断により耐性が獲得された高度多剤耐性菌で、発育も速く、毒力も強いと言われている。その変異株がニューヨーク市を中心として他の米国都市にも広がったことが報告された⁹⁾。

ニューヨーク市における多剤耐性結核 267 例について RFLP 解析が行われたところ、うち 186 例は疫学的関係が見出され、その 87% が 4 つの病院に集中していたことが判明した。この多剤耐性菌株による患者の 86% は HIV 感染者であり、他の結核菌株による患者のうち HIV 陽性者が 37% であるのに対して、高率であった⁸⁾。

また、集団発生があった病院の入院患者についての調査では、18 例中 14 例は結核診断前 6 カ月内に入院歴があり、14 例中 13 例は同時期に感染性結核患者と同じ病棟に入院していた。接触から診断までの期間は 1~3.5 月で、接触の期間は数日から数週間であった。INH 耐性、かつ SM 耐性結核と診断された患者は、その後の新発生患者 8 例を加えると、問題となった病棟に入院していたエイズ患者全体の 6.1% にも及んだ。この病院では、結核またはその疑いがあれば個室に隔離していたが、病室の換気基準が守られていなかったため、次々に多剤耐性結核が感染したことが判明した³⁾。

その後、米国ではこの教訓を生かし、とくに多剤耐性結核の蔓延の舞台となったニューヨーク市では、直接監視下治療 (Directly Observed Treatment)、院内結核感染防止の徹底などによる結核対策が進み、1997年の結核患者数は、92年の 3,811 人¹⁰⁾ から 1,730 人に減少し、とくに多剤耐性結核は、441 人から 53 人までに減少した。また、結核患者の中で HIV 感染者が占める率も 1997年は 92年の 34% から 25% に減少したが、これは、HIV 感染症の治療の進歩により免疫状態が比較的保たれるようになったことも関係しているかもしれない。

しかしながら、HIV 感染者の間で、耐性結核菌の問題が解決したわけではないことは、以下のようなことから首肯されよう。

CDC による結核薬剤耐性菌の検出状況調査 (1993~96年) では、米国内出生の HIV 陽性者では耐性の頻度が高く、例えば、INH, RFP 耐性の患者は、HIV 陽性者の 6.4%、陰性者の 1.4% で、また RFP 単独耐性の患者は HIV 陽性者の 2.6% に認められた。一方、米国外出生者においては HIV 感染の有無による薬剤耐性の頻度差は少ないが、HIV 感染未検の症例が多いことを考慮する必要がある¹¹⁾。なお、米国では 1994 年以降もエイズ患者における薬剤耐性結核の院内集団発生が報告されている¹²⁾。

効果的な結核対策が行われているサンフランシスコにおいて、初回抗結核薬に感受性であったにも関わらず、その後 INH, RFP, EB いずれかに耐性を認めるに至った結核患者は、1990~94年では 1985~89年よりも増加しているという。薬剤耐性獲得の危険因子としては、case control study の結果から、エイズ登録および消化器有症状があげられ、また抗 HIV 薬 (zidovudine: AZT) が INH 耐性を誘導するのではないかとということもいわれている¹³⁾。

Gordin らによれば、HIV 感染は、過去の治療歴、地域差 (ニューヨーク都市圏と他都市)、性別および人種差とは独立した薬剤耐性結核の危険因子であるという¹⁴⁾。Nolan らは RFP 単独耐性が獲得された HIV

感染結核3例を報告している¹⁵⁾。3例は異なる RFLP パターンを示し、また新たな再感染ではないことも確認されている。彼らは、INHの吸収障害があると仮定すれば、理論的には RFP 単独療法となる結果 RFP 耐性が獲得される可能性と、マクロファージに感染している HIV が、マクロファージ内の結核菌遺伝子の変異を招来する可能性を推測している。薬剤感受性結核の治療中の耐性発現としては稀な RFP 単独耐性が、HIV 関連の多剤耐性結核出現の重要なステップである可能性を提起している点は注目に値する。

結 論

1. 厚生省研究班調査で集積された HIV 感染結核症例のうち感受性検査結果が記載されていた39例中、2例が INH・RFP 耐性（必ずしも完全耐性ではなかったが臨床的には無効）であり、1例は不完全または不十分な治療による耐性獲得であると思われた。多剤耐性結核の集団発生は確認されなかった。

2. 各施設により感受性検査の方法に差があるため正確な評価は困難であるが、HIV 感染結核患者における薬剤耐性の出現頻度は非 HIV 感染者と比べ比較的高いと思われた。1剤以上に耐性を認めた患者では、耐性のない患者と比べて肺外結核を認めた例が多かった。

3. HIV 感染が薬剤耐性の増加に関連しているとも報告されており、また日本においても HIV 感染者の間に多剤耐性結核の集団発生が起こらないとは言えず、標準法の4抗結核剤による治療を開始し、十分な期間治療を行い、耐性菌の出現を防ぐ必要がある。

謝 辞

本シンポジウムの演題発表に際して、症例の調査にご協力いただいた方々、および資料を提供していただいた方々に深謝致します。以下順不同、敬称略。

青木 眞（国立国際医療センターエイズ治療研究開発センター、厚生省エイズと日和見感染症に関する臨床研究班）、森 亨（結核研究所、厚生省エイズと日和見感染症に関する臨床研究班「日本における HIV 感染抗酸菌症の実態」分担研究）、川辺芳子、岸 不盡彌、古賀宏延、斉藤武文、坂谷光則、重藤えり子、豊田恵美子、豊田丈夫、原 通廣、田野正夫、藤野忠彦、山岸文雄、吉山 崇、和田雅子（以上同研究協力者）、味沢 篤（東京都立駒込病院感染症科）、渡辺 彰（東北大学加齢医学研究所）、Marisa Moore（CDC, Div. of TB Elimination）、Janette Yarwood（New York City Dept. of Health, Bureau of TB Control）。

文 献

- 1) Nosocomial transmission of multidrug-resistant tuberculosis among HIV-infected persons—Florida and New York, 1988–1991. *MMWR*. 1991; 40: 585–591.
- 2) Jarvis WR: Nosocomial transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. 9th Forum in Microbiology. *Res Microbiol*. 1993; 144: 117–122.
- 3) Edlin BR, Tokars JI, Grieco MH, et al.: An outbreak of multidrug-resistant tuberculosis among hospitalized patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med*. 1992; 326: 1514–1521.
- 4) 安岡 彰, 立川夏夫, 菊池 嘉, 他: HIV に合併する日和見感染症の動向—HAART 導入による影響—。厚生省「HIV 感染症に関する臨床研究: 平成9年度研究報告書」, 1998, 50–53.
- 5) 森 亨, 和田雅子, 川辺芳子, 他: 日本における HIV 感染結核の実態. *結核*. 1997; 12: 649–657.
- 6) Fischl MA, Daikos GL, Uttamchandani RB, et al.: Clinical presentation and outcome of patients with HIV infection and tuberculosis caused by multiple-drug-resistant bacilli. *Ann Intern Med*. 1992; 117: 184–190.
- 7) Sahai J, Gallicano K, Swick L, et al.: Reduced plasma concentrations of antituberculosis drugs in patients with HIV infection. *Ann Intern Med*. 1997; 127: 289–293.
- 8) Frieden TR, Sherman LF, Maw KL, et al.: A multi-institutional outbreak of highly drug-resistant tuberculosis. *Epidemiology and clinical outcomes*. *JAMA*. 1996; 276: 1229–1235.
- 9) Bifani PJ, Plikaytis BB, Kapur V, et al.: Origin and interstate spread of a New York City multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clone family. *JAMA*. 1996; 275: 452–457.
- 10) Bureau of Tuberculosis Control New York City Dept. of Health.: Information summary 1996.
- 11) Moore M, Onorato IM, McCray E, et al.: Trends in drug-resistant tuberculosis in the United States, 1993–1996. *JAMA*. 1997; 278: 833–837.

- 12) Kenyon TA, Ridzon R, Luskin-Hawk R, et al. : A nosocomial outbreak of multidrug-resistant tuberculosis. *Ann Intern Med.* 1997 ; 127 : 32-36.
- 13) Bradford WZ, Martin JN, Reingold AL, et al. : The changing epidemiology of acquired drug-resistant tuberculosis in San Francisco, USA. *Lancet.* 1996 ; 348 : 928-931.
- 14) Gordin FM, Nelson ET, Matts JP, et al. : The impact of human immunodeficiency virus infection on drug-resistant tuberculosis. *Am J Respir Care Med.* 1996 ; 154 : 1478-1483.
- 15) Nolan CM, Williams DL, Cave MD, et al. : Evolution of rifampin resistance in human immunodeficiency virus-associated tuberculosis. *Am J Respir Care Med.* 1995 ; 152 : 1067-1071.

第73回総会シンポジウム

I. 多剤耐性結核

追加発言：初回多剤耐性結核の現状

露 口 一 成

京都大学医学部附属病院感染症科

The 73rd Annual Meeting Symposium

I. MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS

Additional Comment : PRIMARY MULTIDRUG-RESISTANT
TUBERCULOSIS—DIAGNOSIS AND TREATMENT

Kazunari TSUYUGUCHI*

Primary drug resistance is defined as the presence of resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* in a patient with no history of prior anti-tuberculosis chemotherapy. In Japan, a recent study shows that the prevalence of primary resistance has been stable for two decades and that primary multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) is rare, which suggests the effectiveness of tuberculosis control.

We presented four cases of primary MDR-TB that we had experienced from 1984 to 1997, and discussed an issue about diagnosis and treatment of primary MDR-TB. Of the four patients, two young men received surgical resection, which has resulted in a favorable outcome. Of the other two patients, one responded to long-term chemotherapy with ethambutol, ofloxacin and enviomycin. There have been no recurrence so far in the three cases. The rest case died due to progression of tuberculosis. Two of the four patients had been in contact with relatives who had died of MDR-TB.

In conclusion, all the tuberculosis patients should be suspected to be primary MDR-TB when they had a history of a contact with a tuberculosis patient in whom chemotherapy had not been successful, and once patients are diagnosed as MDR-TB, surgical intervention should be considered as an adjunctive treatment. To prevent the emergence of primary MDR-TB, it is important to treat MDR-TB patients appropriately and to implement the infection control program.

Key words : Multidrug-resistant tuberculosis, Primary resistance, Surgical treatment

キーワードズ : 多剤耐性結核, 初回耐性、外科的治療

別刷り請求先：
露口 一成
京都大学医学部附属病院感染症科
〒606-8397 京都市左京区聖護院川原町53

* From the Department of Infection and Inflammation, Graduate School of Medicine, and Department of Internal Medicine, University Hospital, Kyoto University, 53 Kawaharacho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8397 Japan.
(Received 11 Sep. 1998)

はじめに

初回耐性結核とは、以前に抗結核剤による治療を受けたことのないヒトに発症した薬剤耐性菌による結核と定義される。初回耐性結核は、不適切な化学療法、およびそれにより生じた耐性菌に対する感染予防対策の不備という2つの要因に影響を受けて生じると考えられ、初回耐性結核の頻度は、その国あるいは地域の結核対策の有効性を考えるうえでよい指標となる。わが国では現在のところ初回耐性頻度の上昇傾向はみられておらず、またここでの主題であるINH, RFPを含む2剤以上に耐性を示す初回多剤耐性結核についても、INH, RFP両剤に対する初回耐性頻度が7%にもはなっていない。

初回多剤耐性結核では、感受性菌の場合に比べて化学療法による治療成功率が低くなるのは当然であり、外科的治療も含めて個別に治療方針を考慮せざるを得ない。本論文では、当院および関係施設において経験した初回多剤耐性結核症例を呈示し、その発症に関与する背景、診断、治療における問題点について考察を加えた。

対 象

1984年1月1日から97年12月31日までに京都大学胸部疾患研究所附属病院第一内科・呼吸器感染症科（現・京都大学医学部附属病院感染症科）に入院した初回治療結核患者186例のうち、初回多剤耐性結核症例と考えられたのは3例であった（症例1～3）。症例4は、国立療養所千石荘病院の症例である。なお、1%小川斜面培地を用いた普通法による薬剤感受性検査にてINH 1 γ およびRFP 50 γ に不完全耐性あるいは完全耐性を示したものを薬剤耐性とし、INHについては0.1 γ で完全耐性を示したものも含めた。

症 例

症例1. 28歳、男性。父親が多剤耐性結核で1989年に死亡している。1993年5月より近医にて肺結核症としてINH, RFP, SM, EBの投与を受けるも改善せず、分離菌が多剤耐性結核菌と判明したため1993年11月当院へ紹介された。薬剤感受性検査では、RFP, SM, KMには全濃度で完全耐性、INHには1 γ で不完全耐性、

Table Results of Drug-Susceptibility Tests of Initially Isolated *M. tuberculosis* Strains

| Drug(μ g/ml) | | Case 1 | Case 2 | Case 3 | Case 4 |
|-------------------|-----|--------|--------|--------|--------|
| SM | 20 | 4+ | 3+ | 3+ | 4+ |
| | 200 | 4+ | 3+ | 3+ | - |
| INH | 0.1 | 4+ | 3+ | 3+ | 4+ |
| | 1 | 2+ | 3+ | - | 3+ |
| | 5 | - | 3+ | - | - |
| RFP | 10 | 4+ | 3+ | 3+ | 4+ |
| | 25 | 4+ | 3+ | 3+ | 4+ |
| | 50 | 4+ | 3+ | 3+ | 4+ |
| EB | 2.5 | 4+ | 3+ | 2+ | 4+ |
| | 5 | 2+ | - | - | 4+ |
| | 10 | - | - | - | 3+ |
| TH | 25 | 2+ | - | - | 3+ |
| | 50 | - | - | - | 2+ |
| KM | 25 | 4+ | - | - | 4+ |
| | 100 | 4+ | - | - | 4+ |
| EVM | 25 | - | - | - | - |
| | 100 | - | - | - | - |
| CS | 20 | - | + | - | 3+ |
| | 40 | - | - | - | - |
| PAS | 1 | - | 3+ | - | + |
| | 10 | - | 3+ | - | - |
| Control | | 4+ | 3+ | 3+ | 4+ |

0.1 γ で完全耐性, EBには2.5 γ で完全耐性, 5 γ で不完全耐性であった (Table)。当初右肺上中下葉にわたって陰影が存在し, 上葉には空洞も伴っていたが, INH, EB, EVM, OFLX, TH, CSによる多剤併用療法により改善し, 中葉の陰影はほぼ消失し, 上葉の空洞の縮小を認めたため外科療法の適応と考え, 1994年5月30日右上葉切除術+右B6部分切除術を施行した。術後もそのまま6剤による化学療法を1年間施行し, その後はEVM, OFLX, CSを中止して3剤での化学療法をさらに1年間継続し終了とした。以後の経過は順調で再排菌は認めていない。

症例 2. 20歳, 男性。叔母が多剤耐性結核で1991年に死亡している。1994年11月右肺上葉の径2cmの結節影を指摘され, 排菌は証明されなかったが肺結核としてINH, RFPを6カ月投与される。その6カ月後に, 喀痰増加, 右肺上葉に巨大空洞の形成を認め, その際に初めて結核菌を検出した。薬剤感受性検査の結果, INH, RFP, SMには全濃度で完全耐性と判明した (Table)。画像上は病変は右上葉に限局していたため, 1996年5月14日手術を施行した。手術中, 中葉にも結節を認めたため, 右上葉切除術に加え, 中葉部分切除術も追加した。その後EB, KM, OFLX, THによる化学療法を継続し, 排菌陰性のまま順調に経過している。なお本症例は治療開始から1年後に初めて排菌を認めており定義上は厳密には初回多剤耐性結核とはいえないが, 死亡した叔母から検出された菌と耐性パターンが類似しており, 叔母の耐性菌による感染が疑われたため, 初回多剤耐性結核に準ずる症例として含めた。

症例 3. 46歳, 男性。感染源を推定できるような病歴は親族, 知人等に特に認めなかった。健診で右肺下葉の孤立結節影を指摘され, 肺癌の疑いにて1993年8月25日当院入院。気管支鏡下擦過細胞診用ブラシ洗浄液の塗抹で抗酸菌を検出し, 化学療法開始するも, INH, RFP, THは肝障害, KMは薬疹のため使用できなかった。その後, 検出菌がINH 0.1 γ , SM全濃度, RFP全濃度で完全耐性の結核菌と判明し (Table), EB, OFLX, EVMによる化学療法を施行する。限局性の病変でもあり, 手術を強く勧めたが本人が拒否したため, そのまま化学療法を1996年8月まで合計3年間継続した。1998年7月現在, 再排菌は認めていない。

症例 4. 49歳, 男性。叔母が肺結核 (詳細は不明)。1991年4月頃より発熱, 湿性咳嗽を生じ, 7月, 右上葉の空洞性結節を指摘され, Gaffky 5号を認めたため入院の上, 肺結核としてINH, RFP, EB, SMの4剤併用を開始した。いったん自覚症状は改善し, 排菌も減少したが, 12月になって再増悪し, 全肺野に粟粒陰影を認め, 呼吸不全を呈した。この時点で検出菌がINH

1 γ , RFP 50 γ , EB 5 γ , SM 20 γ , KM 100 γ に完全耐性であることが判明し (Table), TH, OFLX, PAS, PZAに変更した。再び排菌量は減少し, 呼吸不全も改善するが, 以前よりあった肺臓の仮性嚢胞の増大のため1992年5月26日手術施行, その頃より糖尿病出現し, コントロール不良の状態が続く。1992年10月頃より胸部陰影の増悪とともに, 再排菌を認めるようになる。その後は, 同じ化学療法を続けざるを得ず, 排菌持続とともに, 陰影も徐々に増悪し, 1995年12月呼吸不全にて死亡した。

考 察

結核療法研究協議会 (療研) の調査²⁾³⁾によれば, わが国での初回耐性頻度は, SMが4%前後, INH, RFP, EBがいずれも1%前後であり, 1977年から92年の16年間ではほとんど変化していない。この中で, 1992年の報告によれば, INH, RFP両剤に対する初回耐性頻度は0.1%とされているが, これは, INH 1 γ , RFP 50 γ 完全耐性を基準としているので, 不完全耐性をも含めると, 実際の耐性頻度はさらに高いと思われ, ここに呈示したような症例も散見される。したがって, 初回治療患者においても, 家族歴や職場の状況など結核の接触歴については常に詳細な病歴聴取を行い, 耐性菌である可能性を念頭において治療にあたるべきである。

病歴より耐性菌感染の可能性が考えられる例では, 塗抹陰性, 非空洞例においてもINH, RFP 2剤による治療は避け, PZA, EB, SMなどを加えた併用療法を選択し, 同時に, 感染源と考えられる患者の菌の感受性検査結果についての情報を得よう努力することが重要である。

INH, RFPを含む多剤耐性結核と判明した場合 (これは未治療例に限ったことではないが), 従来より, 化学療法のみでは失敗に終わる可能性が高いため, 外科療法の追加が望ましいとされている²⁾⁴⁾⁵⁾。この場合, 化学療法により画像所見や排菌量の改善を認め, かつ感受性薬が残っているうちに, タイミングを逃さず手術に踏み切ることが重要とされている。症例1では化学療法にて病巣の縮小および排菌量の減少が得られ, 切除可能となったこと, 症例2では右上葉に限局した巨大空洞が存在し化学療法にてもわずかに縮小したのみであったことが外科的療法を選択する契機となった。いずれも若年であったことも手術を積極的に勧めた要因であった。症例3では, 本人の拒否のためやむを得ず化学療法のみにて経過観察を続けているが, 現在のところは幸いにも経過良好である。

これまでの報告によれば, 化学療法のみでも, INH, RFP両剤耐性例に対する排菌陰性化率は54~96%^{5)~7)}

と、かなりの症例で陰性化が得られるとされているが、長期的な予後についてはなお不明な点もあり、症例4のように、手術に踏み切る機会も得られず死に至った例を考えると、可能な限り外科的療法の適応を積極的に考慮する必要があると考えられた。

最後に、本シンポジウムでは詳しく触れなかったが、初回多剤耐性結核を考えると、患者の治療戦略とともに、菌の人から人への感染防止対策が重要である。米国では HIV の増加に伴い多剤耐性結核の院内感染が問題となっており、CDC などが予防対策ガイドラインを発表している⁸⁾。わが国においても、若年層における既感染率の低下、今後予想される HIV 患者の増加を考えると、多剤耐性菌排菌者からの感染防止対策をゆるがせにはできない。そのことが、初回多剤耐性結核の発生を抑制することにつながるであろう。

謝 辞

貴重な症例を提供していただいた西神戸医療センター呼吸器科の藤山理世先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Frieden TR, Sterling T, Pablos-Mendez A, et al.: The emergence of drug-resistant tuberculosis in New York City. *N Engl J Med.* 1993; 328: 521-526.
- 2) 尾形英雄: 再治療・薬剤耐性結核. 「結核医療の基準とその解説」, 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課監修, 財団法人結核予防会, 東京, 1996, 92-102.
- 3) Hirano K, Kazumi Y, Abe C, et al.: Resistance to antituberculosis drugs in Japan. *Tubercle Lung Dis.* 1996; 77: 130-135.
- 4) 久世文幸: (医学と医療の最前線) 多剤耐性結核菌. *日内会誌.* 1997; 86: 319-323.
- 5) 益田典幸: INH・RFP 両剤耐性例の臨床的検討. *結核.* 1991; 66: 694-696.
- 6) Goble M, Iseman MD, Madsen LA, et al.: Treatment of 171 patients with pulmonary tuberculosis resistant to isoniazid and rifampin. *N Engl J Med.* 1993; 328: 527-532.
- 7) Telzak EE, Sepkowitz K, Alpert P, et al.: Multidrug-resistant tuberculosis in patients without HIV infection. *N Engl J Med.* 1995; 333: 907-911.
- 8) Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for preventing the transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in health-care facilities. *MMWR.* 1994; 43 (RR-13): 1-132.