

## 第77回総会シンポジウム

## 結核免疫学の動向と課題

座長 <sup>1</sup>光山 正雄 <sup>2</sup>赤川 清子

キーワード：結核免疫，TH1，サイトカイン，ワクチン

## このシンポジウムの狙い

結核は免疫学的疾患であるといっても過言ではない。遅延型過敏反応の成立，肉芽腫性炎症，空洞形成のいずれにもマクロファージやTH1細胞が深く関与している。BCGワクチンは確かにPPD特異的な免疫応答を誘導するが，それがどこまで防御免疫に役立つかについては必ずしも明確ではなく，CTLの関与についてもコンセンサスは得られていない。結核における病態形成と宿主防御には，サイトカインを中心としたT細胞応答のどのような発現のバランスがからんでいるのであろうか？ このシンポジウムでは，結核に関わる免疫学的研究が現在どのような地点にあり，何が明らかで今後何が解明されなければならないかを明確にすることを目的とし，現在のわが国においてそれぞれ中心的立場で研究を推進している方々に分担テーマに関連した新しい知見の紹介を頂いた。

## 1. 結核菌菌体成分に対する炎症および免疫応答

小林和夫 (大阪市大・医)

生物活性を示す結核菌菌体成分として脂質，糖脂質や蛋白質が知られている。結核菌ゲノム解析から脂質や脂肪酸代謝に関連する酵素は約250種存在し，大腸菌では約50種であることを考慮すると，脂質/糖脂質は結核菌に特徴的である。そこで，結核菌/抗酸菌に特徴的な細胞壁脂質成分が惹起する宿主炎症・免疫応答の分子機序を明らかにする目的で，細胞壁由来糖脂質 (trehalose dimycolate: TDMや sulfolipid: SL) を実験動物に投与し，宿主炎症・免疫応答 (遅延型足蹠腫脹反応，肉芽腫炎症，

血管新生や機能分子：サイトカイン/ケモカイン) を解析した。

TDMはマウスに遅延型足蹠腫脹反応を惹起し，かつ，免疫群において非免疫群に比し，増強していた。無胸腺マウスにおける足蹠腫脹反応は免疫群と非免疫群間で差異を認めなかった。TDM静脈内投与は肉芽腫炎症を誘導したが，免疫群は非免疫群に比し，顕著であった。他方，無胸腺マウスでは免疫機序による肉芽腫炎症の増強を認めなかった。病変構成細胞として，免疫群でCD4陽性細胞が増加していた。病変部サイトカイン解析では早期に単球走化性ケモカインおよび炎症惹起性サイトカイン，その後，1型ヘルパーT (Th1) /細胞性免疫誘導性サイトカイン (interleukin-12: IL-12や interferon- $\gamma$ : IFN- $\gamma$ ) 蛋白発現を認めたが，いずれのサイトカイン発現も免疫群は非免疫群に比し，顕著であった。しかし，Th2サイトカイン (IL-4) は両群共に発現せず，実際，液性 (Th2) 免疫応答の指標である抗TDM抗体を産生しなかった。すなわち，結核菌細胞壁由来糖脂質TDMは炎症および細胞性 (Th1) 免疫応答を選択的に誘導する。TDMは血管新生因子 (IL-8や血管内皮増殖因子) を発現させ，その結果，肉芽腫炎症周囲血管新生を惹起した。家兎TDM誘導肉芽腫は類上皮細胞や多核巨細胞を多数含み，ヒト結核病変に類似し，かつ，免疫担当細胞 (胸腺や脾) にアポトーシスを誘導した。他方，SLは肉芽腫や血管新生をほとんど誘導せず，SLの炎症惹起性は軽度であった。

結核菌由来糖脂質，特に，TDMは非特異的炎症応答，加えて，特異性および記憶を特徴とするTh1細胞性免疫応答も惹起すること，さらに，T細胞依存性抗原である。すなわち，結核性肉芽腫炎症は異物性および過敏性機序

<sup>1</sup>京都大学大学院医学研究科微生物感染症学，<sup>2</sup>国立感染症研究所細胞免疫部

連絡先：光山正雄，京都大学大学院医学研究科微生物感染症学，〒606-8501 京都府京都市左京区吉田近衛町 (E-mail: mituyama@mb.med.kyoto-u.ac.jp)  
(Received 3 Oct. 2002)

の関与した混合性病変である。TDMは、肉芽腫炎症に加えて、血管新生やアポトーシスも誘導し、結核菌一宿主関係における多機能分子である。TDMが抗結核免疫の主要な機能分子であるTh1関連サイトカイン: IL-12やIFN- $\gamma$ を誘導したことは、TDMが防御抗原の側面も有し、ワクチンなど免疫介入療法の候補になる可能性を示している。結核菌由来糖脂質の医学応用には、その構造-活性連関を解明し、機能的に抗菌防御と病変形成誘導活性を分離することが必要である。

## 2. 結核感染防御免疫におけるサイトカインの役割

菅原 勇 (結核研)

結核菌感染肺組織から単核細胞を得、経時的に出現してくる細胞をフローサイトメータで同定すると、CD4、CD8陽性細胞、NK細胞、顆粒球、肺胞マクロファージが様々な割合で現れる。結核菌で刺激されたこれらの細胞はサイトカインを分泌し、慢性特異性炎症である結核の病像を複雑にしている。結核の初期病変にサイトカインがどのように関与しているかを明らかにするために、マウス結核モデルを用いた実験を行い、以下の知見が得られた。

(1) 結核の発病にはIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ が重要である。IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ をそれぞれ欠損したマウスに毒性の強い結核菌(黒野株)で吸入感染を施行したところ、結核菌誘導肉芽腫が誘導されずに多発性壊死病変が誘導された。灰白色の小結節でヒトの粟粒結核に対応すると考えられる。これらの病変からRNAを抽出しIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 以外の主要なサイトカイン mRNA発現を調べても、発現レベルに野生マウスと有意差はなかったためIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 単独欠損で非常に重篤な結核病変を引き起こすことが明らかになった。IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ が肺胞マクロファージを刺激し、一酸化窒素(NO)を産生させて結核菌を殺すと考えられる。事実、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 欠損マウス由来肺胞マクロファージを単離して結核菌を加えてもNOがほとんど産生されないことが証明できた。このように、結核菌感染におけるTNF- $\alpha$ の重要性についてTNF- $\alpha$ 欠損マウスを用いて初めて明らかにされた。

(2) IL-1、IL-18も結核菌感染防御に一定の防御的役割を演じている。IL-1、IL-18は活性化マクロファージより産生されるサイトカインである。これらの欠損マウスに結核菌感染を誘導させても壊死病変は誘発されず、より大きな肉芽腫が認められた。培養上清中のTNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ レベルも正常範囲内で、病変組織でもTNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  mRNA発現が野生マウスと比べて正常に保たれていた。従って、IL-1、IL-18欠損マウスで重篤な結核が誘導できないのは、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ レベルが正常だから

らと考えられる。IL-18欠損マウスではIL-12が正常に産生されており、このこともIL-18欠損マウスで結核が重篤化しない原因と考えられた。

(3) IFN- $\gamma$ 欠損マウスに少量のBCGを吸入感染させると初期空洞結核が誘導でき、ヒト結核に類似する。通常のマウスを用いて結核を誘導すると肉芽腫はできるが中心性壊死を欠いている。空洞性結核も誘導できないという弱点があった。このマウス結核研究における難点を克服すべく、IFN- $\gamma$ 欠損マウスに10,000 cfuの少量BCGを感染させて経過観察したところ、中心性壊死を伴う肉芽腫が作製できた。膠原線維に囲まれた初期結核空洞をも認めた。繁殖性炎の段階にある肉芽腫に、ヒト結核で認められるLanghans型多核巨細胞も認められた。多核巨細胞が形成される機序は不明である。IFN- $\gamma$ 欠損マウスに結核菌を感染させたときに認められたが、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-18欠損マウスに結核菌を感染させたとき、多核細胞は認められなかった。多核巨細胞形成にはIFN- $\gamma$ の低下が関係することは確かである。このように、IFN- $\gamma$ 欠損マウスを用いればヒト結核と類似した病変を誘導することができた。

## 3. 結核感染とTH1応答: 基礎実験成績から臨床への展開

川上和義 (琉球大・医)

ツベルクリン反応を代表とする結核免疫の主体が細胞性免疫であることは周知の事実である。また、MosmannらによるTh1-Th2パラダイムの発見以来、細胞性免疫の分子基盤がTh1サイトカインであることもコンセンサスの得られているところであろう。マウスと異なりヒトの結核防御におけるIFNの役割が混沌としていた時期も以前にはあったが、近年になって、IFN- $\gamma$ 受容体遺伝子に変異を起しIFN- $\gamma$ がうまく作用しない症例が見出され、このような患者では抗酸菌感染に対する感受性が極めて先進していることが明らかにされた。このことからIFN- $\gamma$ は、マウスのみならずヒトにおいても抗酸菌感染防御の中心的な役割を担うサイトカインであることが認識された。同様な現象は、IL-12受容体異常症の症例でも報告されている。

最近10年間に3つのIFN- $\gamma$ 誘導性サイトカイン、IL-12、IL-18、そしてIL-23が発見された。IL-12はTh1細胞の分化誘導において必須なサイトカインである。IL-18はそれ自体Th1細胞分化を誘導しないが、IL-2の作用を増強することで働くと考えられている。しかし、IL-18がTh2サイトカインの産生にも関与するとの報告もみられるようになり、その作用はもう少し複雑なようである。IL-23はIL-12とp40サブユニットを共有して

り、両者間で生物活性の類似性が予測されているが詳細は今後の解析を待ちたい。また、骨や腎臓の分野で研究されてきたオステオポンチン (OPN) が IL-12 の産生誘導能を有するとの報告がなされ注目されている。OPN 遺伝子欠損 (KO) マウスを用いた検討では BCG やリステリア感染の悪化が観察されている。

われわれは遺伝子欠損マウスを用いて結核感染防御における各種 Th1 関連サイトカインの役割を解析している。IFN- $\gamma$  誘導サイトカインの中で、IL-12p40, IL-18 遺伝子を単独 (12p40KO, 18KO) または同時に欠損 (DKO) したマウスを用いて結核感染に対する感受性を比較したところ、野生型 (WT) < 18KO << 12p40KO < DKO の順であった。このことから、IL-12 が最も重要であり、IL-18 の役割は IL-12 に比べると限定して考えざるを得ない。しかし、IFN- $\gamma$  産生および Th1 細胞分化が WT マウスに比べ 18KO で明らかに低下していること、IL-18 トランスジェニックマウスでは感染防御能が亢進していることから IL-18 を無視して考えることはできない。ここで、12p40KO マウスは IL-12 のみならず IL-23 も産生しないため、IL-23 がどの程度関与してくるのかは今後の検討課題となる。BCG およびリステリアで報告のあった OPN-KO マウスでは、われわれは今のところ結核感染の悪化を観察できていない。

結核症例では IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-18 の産生が亢進していることが知られている。われわれの検討では、治療反応群と難治化群との比較で、後者において IFN- $\gamma$  産生が低下していた。また、血漿 OPN 濃度あるいは IFN- $\gamma$  によって産生誘導される ELR-CXC ケモカイン IP-10 の濃度は健常群に比べ肺結核患者において有意に上昇しており、その値は病変の拡がりによく相関していた。さらに、IP-10 は化学療法によって有意な低下を示した。これらの結果は、ヒトにおいても Th1 関連サイトカインが結核の病態に深く関わっていることを強く示唆するものである。

基礎研究から得られた成果が臨床の場に盛んに取り入れられようとしている。IFN- $\gamma$  を用いたアジュバント療法が非結核性抗酸菌症や難治性結核症例で試みられ始めており有効とする報告もみられる。昨年には、IL-12 がヒトの結核治療に有効であったとする報告がなされた。今後、Th1 関連サイトカインが結核治療に応用される機会も増えてくるものと予想される。そのためにも安全な投与方法がより一層模索されなければならない。

#### 4. 結核菌 DNA による免疫賦活の機序と応用

山本三郎 (国立感染症)

カルメットとゲランがウシ型強毒結核菌から 13 年間

に及ぶ長期培養を行って弱毒化した BCG ワクチンは、結核に対する唯一のワクチンとして 80 年近くにわたり使用されている。この BCG 生菌を癌の免疫療法に用いる試みが 60 年代後半から世界的に行われたが、その結果、膀胱癌の治療剤として実用化された。一方、BCG 菌体から抗腫瘍活性を持つ水溶性画分を得ようとの研究の中から、核酸画分 (MY-1) が見出され、さらに核酸のうち CpG モチーフを持つオリゴ DNA が活性の中心であることが解明されてきた。一方、動物や植物 DNA は免疫活性がなく、また CpG モチーフもメチル化の頻度が高いことから、細菌 DNA あるいは非メチル化 CpG-DNA が免疫増強活性を持つ DNA として広く認知されることとなった。たとえば 5'-AACGTT-3' のような免疫増強性配列を遺伝子上流に組み込んだプラスミドを投与すると、有効配列が分子内アジュバントとして Th1 免疫応答の増強と Th2 応答の抑制をもたらすことから、喘息や花粉症などでは IgE の減少、IFN- $\gamma$  の誘導、IgG2a 産生の増加が報告されている。また免疫増強性配列を含んだミコバクテリア抗原プラスミドでモルモットを免疫すると有毒結核菌噴霧感染に対し臓器内菌数の減少、モルモット IFN- $\gamma$  や TNF- $\alpha$  産生誘導等の感染抵抗性の増強がみられた。免疫増強性 CpG-DNA がどのように細胞へ結合し、取り込まれ、エンドソームへ移行し、サイトカイン産生誘導をもたらすか、詳細なメカニズムはいまだに明らかではないが、オリゴ DNA をリポフェクションによって細胞に取り込ませると、IFN  $\alpha/\beta$  の産生を著しく増加させること、細胞上の Mac-1 分子やスカベンジャーレセプターへの結合は非活性なオリゴヌクレオチドを共存させると阻害されることより、細胞への結合と取り込みに塩基特異性はないことが示唆される。また取り込まれた免疫増強性 DNA は NF- $\kappa$  B の活性化を起こしてサイトカイン mRNA の転写が開始されるが、クロロキンなどのエンドソーム阻害剤は、免疫増強性 DNA による NF- $\kappa$  B 活性化を完全に抑制することが見出されている。一方、いくつかの微生物関連分子パターン (PAMPs) が Toll Like Receptor (TLR) によって認識されることが明らかとなり、CpG-DNA は TLR9 のリガンドである可能性が示されている。このように免疫増強性 DNA の作用機構解明に向け精力的な研究が進められていることから、今後、臨床医学へのさらに多くの応用が期待されている。

#### 5. 新しい抗結核ワクチン開発の現状

岡田全司 (近畿中央病院)

1998 年、米国 CDC は結核に対する政府・学術機関・企業が一体となって新世代のワクチン開発の必要性を強

く主張する発表をした。また、ACETは国民の健康に対する大敵である結核撲滅のためには、有効なワクチンが必要であることを示した。しかしながら、BCGに代わる結核ワクチンは欧米でも臨床応用には至っていない。われわれはBCGよりも強力な新しいサブユニットワクチン、DNAワクチンやリコンビナントBCGワクチンの開発に成功した。新しい抗結核ワクチン開発の現状は、以下のようにまとめることができる。

#### (1) 結核ワクチンの種類

サブユニットワクチン、DNAワクチン、リコンビナントBCGワクチン(弱毒化結核菌を含む)に大別される。DNAワクチンのベクターとして、gene gun, plasmid, adenovirus vector, HVJ-liposome, 改良型HVJエンベロープベクターも計画中。ワクチンとして $\alpha$ 抗原 [Antigen 85 B], ESAT-6, 種々のサイトカイン ( $\gamma$ -IFN—多剤耐性結核患者に症例報告あり), HSP65, 38kd, 19kd lipoprotein, Mtb-8.8,-9.9,-32,-39,MDP1等, サブユニット-, DNA-, rBCG-ワクチンの形で多くの報告が主にマウスの結核感染の系でなされている。マウスではBCGワクチンをはるかに凌駕する新しい結核ワクチンはきわめて少ない。われわれはHSP65DNA+IL-12DNA治療にてBCGワクチンの100倍強力なワクチンの開発に成功した。

#### (2) サブユニットワクチン

Corixa研究所Dr. Reedらは72f fusion蛋白 (Mtb39とMtb32のfusion蛋白)のサブユニットワクチンがカニクイザルのレベルでBCGよりもはるかに強力な予防ワクチン効果を示すことを明らかにした。ヒトの*in vitro*系でも72fを用いて免疫応答が増強し、ヒトへの臨床応用が最も近い結核ワクチンの開発に成功した。種々の結核蛋白geneのクローニングに成功し、サブユニットワクチンで*in vitro*刺激することにより多剤耐性結核患者の

T細胞免疫能の増強がみられている。

#### (3) DNAワクチン

HVJ-liposomeをベクターに用いた場合Hsp65DNA単独でBCGよりも有効であることをマウスの系で明らかにした。IL-12 DNA+Hsp65 DNAのワクチンは相乗効果を示し、gene gun投与によりBCGよりも強力な結核予防ワクチンであることを明らかにした。アデノウイルスベクターに導入したIL-6関連遺伝子(IL-6 gene+IL-6レセプター gene+gp130 gene)および $\gamma$ -IFN DNAもBCGよりも強力な治療・予防ワクチン効果を示した。これらの効果はキラーT細胞の分化誘導を増強することによって発揮されることが示された。

#### (4) リコンビナントBCGワクチン

BA51 (Ag85A+Ag85B+MPB51)リコンビナントBCGはBCGよりも強力なワクチンであることを気道感染の系で明らかにした。また、IL-2 rBCG, IL-6 rBCG,  $\gamma$ -IFN rBCG, HSP65 rBCGの作製に成功した。

#### (5) 新しいヒト生体内抗結核免疫解析モデル SCID-PBL/hu (ヒト結核ワクチン解析モデル)の作製

世界に先駆けて開発したSCID-PBL/huマウスの系で、ESAT-6ペプチドによる免疫でESAT-6特異的なヒトキラーT誘導を示す、生体内ヒト免疫解析モデルを開発することができた。

(6) 最も有力なものとして、Mtb72f fusion蛋白サブユニットワクチン、われわれのHVJ-liposome/HSP65DNA+IL-12DNA (カニクイザルで解析計画), 85B-ESAT-6 fusion蛋白が上げられる。臨床応用ワクチン候補の筆頭としてMtb72fサブユニットワクチンがあげられ、1年以内に臨床応用 phase I studyが計画されている。さらに、われわれはMtb72f DNAをBCGまたはHVJ-liposomeに組み込み、きわめて強力なワクチン開発を目指している。

## The 77th Annual Meeting Symposium

## UP-TO-DATE UNDERSTANDING OF TUBERCULOSIS IMMUNITY

Chairpersons: <sup>1</sup>Masao MITSUYAMA and <sup>2</sup>Kiyoko AKAGAWA

**Abstract** This symposium was organized to provide the up-to-date knowledge on tuberculosis immunity, especially on the understanding of cytokines or Th1 cells involved in pathophysiology/protective immunity and vaccine development.

Dr. Kazuo Kobayashi (Osaka City Univ.) reported their findings on the immune response to bioactive lipid component from *M. tuberculosis*, trehalose-dimycolate (TDM) and sulfolipid (SL) in mice. Their unique and novel finding was that TDM is capable of inducing T-dependent immune response in euthymic mice. The specific immune response in TDM-immune mice was consisting of CD4<sup>+</sup> cell response and expression of chemokines, inflammatory cytokines and then TH1-related cytokines. In contrast, SL did not show such an activity. TDM may be one of the protective antigens and may modulate the specific immune response of the host.

Dr. Isamu Sugawara's group (JATA) has examined the involvement of various cytokines in the host response to aerosolic infection with virulent strain of *M. tuberculosis* by using cytokine-knockout mice. The single deletion of IFN- $\gamma$  or TNF  $\alpha$  resulted in a severe lesion of multiple necrosis without granuloma, and cytokine mRNA level other than knocked out cytokine was normal, suggesting that IFN- $\gamma$  and TNF  $\alpha$  are principally important cytokines. In knockout mice for IL-12 or IL-18, necrotic lesion was not induced after infection and the pathological change was not so significant as in IFN- $\gamma$  / TNF  $\alpha$  knockout mice. By using IFN- $\gamma$  knockout mice, it became possible to generate a granulomatous lesion with central necrosis and cavity resembling the lesion in humans. These mouse model appeared to be useful in the analysis of pathophysiology of human tuberculosis.

Dr. Kazuyoshi Kawakami (Ryukyu Univ.) reported the importance of TH1 cytokines in anti-tuberculous immunity. By using IL-12, IL-18 knockout mice or double knockout mice, it was shown that IL-12 exhibits more important role than IL-18 in the protection. A possible contribution of IL-23 was also suggested. In most of the clinical cases of tuberculosis, the production of IL-12, IL-18 and IFN- $\gamma$  is increased, however, the group of relatively lower cytokine production did not respond well to the treatment. In addition, the plasma level of one of the chemokines, IP-10, was shown to be an indicator for the severity of the disease. Thus, some cytokines

appear to be employable for the novel treatment in the near future.

Dr. Saburo Yamamoto (NIH) summarized the recent advance in the understanding of biological function of CpG motifs. Immunostimulatory DNA is effective in the modulation of TH1/TH2 polarity and the enhancement of protective immunity to *M. tuberculosis* in animals. CpG motif (immunostimulatory DNA) appears to exert its activity by signaling cascade via TLR9 resulting in NF- $\kappa$ B activation and cytokine gene expression. Analysis of basic mechanism of action by CpG motif should pave the way to the clinical application in the future.

Dr. Masaji Okada (Kinki Chuo Hospital) reported the current situation in the development of novel vaccines against tuberculosis. They have extensively constructed and examined the efficacy of various types of vaccines including subunit, DNA and recombinant BCG vaccines. Various vector systems have been tested for DNA vaccine. As immunizing antigens, a-Ag, ESAT-6, HSP65, 38kD-lipoprotein and so on have been employed. A large body of experimental data are accumulating for final evaluation, and among them, it is noteworthy to mention that HSP65DNA+IL-12DNA was 100 times more effective than conventional BCG in animal model. Among subunit vaccines, Mtb72f vaccine appears to be one of the promising candidates. In addition to the trial with various candidates, they have established a new mouse model, SCID/human PBL. This model animal has been employed for the development of vaccine effective for the induction of ESAT-6-specific human T cells.

**Key words:** Anti-tuberculous immunity, TH1, Cytokine, Vaccine

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Kyoto University Graduate School of Medicine, <sup>2</sup>Department of Immunology, National Institute of Infectious Diseases

Correspondence to: Masao Mitsuyama, Department of Microbiology, Kyoto University Graduate School of Medicine, Yoshida-Konoecho, Sakyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto 606-8501 Japan. (E-mail: mituyama@mb.med.kyoto-u.ac.jp)

## 第77回総会シンポジウム

## 結核治療の成功のために

座長 <sup>1</sup>桜山 豊夫 <sup>2</sup>山下 武子

キーワード：院内 DOTS, ふれあい DOTS, コホート観察簿, コホート検討会, 費用対効果

## はじめに

結核対策とは結核患者の治療を成功させ、結核患者をなくすことにある。治療失敗や脱落中断を防止し、多剤耐性をつくらない工夫が必要である。しかし、わが国の治療成績は平成3年～8年(6年間)の平均治療成功率が79.9%と低く、WHO目標の85%に達していない。しかも地域格差はますます増大し、結核患者の高齢化による死亡率の増加は治療成功率低下に大きく影響している。前記調査で、0～69歳の治療成功率は84.3%、死亡率6.1%に比し、70歳以上の治療成功率は69.8%と低く、死亡率は23.5%と高い。また、結核患者の30.2%は70歳以上であり、高齢化はますます増加の傾向にある。

一方、大都市では中断率の増加が治療成功率の低下に影響を及ぼしている。平成8年の治療成功率を県別で見ると最高86.7%、最低54.4%と格差が大きい。治療失敗率では最高13.6%、最低1.3%、脱落中断率は最高10.6%、最低0%と10倍の地域格差が見られる。

このような現状の中で、本シンポジウムでは「結核治療の成功のために」地域の特色を生かした効率のよい、しかも質の高い活動報告と費用対効果などの討論がなされた。

1. 院内 DOTS の実際については、斎藤ゆき子看護師(財団法人結核予防会複十字病院)が複十字病院入院中の結核患者全員に「院内 DOTS」を実施、その評価について報告した。院内 DOTS を受けた患者55人(DOTS群)と受けていない患者61人(未DOTS群)について服薬状況についてアンケート調査を行ったところ、「入院中に薬を飲み忘れた」は、未DOTS群は20%、DOTS群は0%であった。退院後「飲み忘れた」はDOT群0%に比し、

未DOTS群は45%もあった。結核についての知識度もDOTS群のほうが良かった。「退院後DOTSなしで最後まで薬を飲みきれないと思わない」が13%見られ、退院後の患者へのDOTSの必要性を示唆している。

2. 「ふれあいDOTS」の実際について、有馬和代保健師(大阪市保健所)が紹介した。大阪市の結核罹患率は平成12年95(人口10万対)で全国平均31の3倍も高い。そこで「大阪市結核対策基本指針」を策定し、住所不定者と肺結核喀痰塗抹陽性患者を対象とした「あいりんDOTS・ふれあいDOTS」および「コホート検討会」を最重要戦略として結核患者の治療成功の推進を図っている。233名の患者に面接で195名(83.7%)の同意が取れ、ふれあいDOTSを実施した。同意率は医療機関によって差があり、保健所と連携が取れている病院では、同意率が93%と高い。行政が主体的に実施することにより保健師の活動は活発化し、院内DOTSを実施する医療機関も増えつつある。他の自治体への影響が出てきた。

3. コホート観察簿を使った患者管理について、永田容子保健師(板橋区保健所)がコホート観察簿を使って患者管理を評価した。平成12年板橋区新登録肺結核喀痰塗抹陽性初回治療患者59名の治療成功率は、治癒21名(35.6%)、完了20名(33.9%)、その他5名(8.5%)、中断1名(1.7%)、死亡10名(16.9%)であった。喀痰検査結果の確認が十分できていない。保健師の患者本人面接率も初回88.1%が、2カ月目は45.5%と半減し、月の経過とともに面接がおろそかになっていることがわかった。一方、コホート観察簿を活用した平成13年には中断は見られなかった。面接率も5カ月目でも48.3%と改善が見られた。各センターの結核担当保健師が集まり、患者支援策の検討会を月1回開催、コホート観察簿を持

<sup>1</sup>東京都八王子保健所, <sup>2</sup>結核予防会結核研究所連絡先：桜山豊夫, 東京都八王子保健所, 〒192-0083 東京都八王子市旭町13-18  
(Received 11 Nov. 2002)

ち寄り、記入漏れのチェック、服薬支援困難な事例にはお互いに助言をし、支援のポイントや工夫などの共有化を図っている。さらにコホート観察簿に服薬支援のポイントを加え、初回面接時、各月ごとに要点を明確にし服薬手帳を活用するなど均等化して質の高い患者支援を試みている。

4. 白井千香医師(神戸市保健所)は、行政は治療の徹底と治療成績の判定を行い結核対策を評価する必要があると述べた。神戸市の目標を治療成功率85%・中断と失敗合わせて5%未満・本人面接2週以内90%・菌所見の把握(培養・同定・感受性)100%・接触者健診100%に設定し、「コホート検討会」を積極的に実施した。治療成績の改善について、平成3～8年の中断率と失敗率は11%であったが、平成12年には4%に減少し改善が見られたと報告した。

今後の課題として、①発生动向調査上のコホート観察との連動、②服薬支援の強化(DOTS)、③記録の効率化、④医療機関への標準治療の徹底、⑤患者支援における関係機関の連携、⑥結核診査協議会の機能強化、⑦医療機関との連携、などについてさらに改善を要すると強調された。

5. 追加発言①で、木村もりよ医師(結核研究所)がわが国におけるDOTSの費用対効果分析を大阪市住所不定者を1モデル集団として解析し、1993年より1995年までに登録された、あいりん地区の塗抹陽性新登録患者529名を非DOTS群とし、2000年に登録された大阪市の住所不定者(DOTS実施)で、塗抹陽性新登録患者209名をDOTS群として、費用対効果分析を行った。結果、非DOTS群の治療失敗中断率は25.7%に比し、DOTS群は

4.8%と低下している。費用対効果を見ると、非DOTS群は2305万円/QALY/人で、DOTS群は113万7000円/QALY/人と、DOTS群がはるかに費用対効果が良い。効果については、非DOTS群が0.84(QALY)で、DOTS群が0.93(QALY)とDOTS群が優れているが、2者の費用対効果比の差は主に経費の差からきている。つまりDOTSを導入することによって1人あたり年額90万円、209人全体で約1億8810万円の経費を節約することができたといえる。一方DOTSの費用が1人約240万円を超えると費用対効果はなくなる。

しかしこの結果をもたらしたのは、大阪市の取り組みである住所不定者に対するDOTS事業が病院と保健所、福祉の密なる連携のもとに患者の住居確保などの働きがあったからであり、その意義は大きい。今後わが国の結核対策はDOTSを徹底し、DOTSによって節約された費用を社会下層構造の改善に寄与させるべきである、との発表は印象深いものがあった。

6. 追加発言②は、黒須功医師(国立療養所兵庫中央病院)から、当院での院内DOTS実施について報告があり、患者間での不平等をなくし、「DOTSは標準治療である」ことを強調し直接服薬することを確認することに患者全員の理解を得ることが重要であると発表があった。また、入院早期より患者との信頼関係を作る必要があり、看護師は患者との信頼を深める努力が必要である。また、患者情報を提供し保健師、看護師、福祉との連携が必要。保健師・看護師連絡会やDOTSカンファレンス、コホート検討会など定期的な会を持つことがDOTS成功の鍵と思われる、と院内DOTSの重要性について述べられた。

### The 77th Annual Meeting Symposium

## TOWARDS SUCCESS OF TUBERCULOSIS TREATMENT

Chairpersons: <sup>1</sup>Toyoo SAKURAYAMA and <sup>2</sup>Takeko YAMASHITA

**Abstract** The most important aim of tuberculosis control is to increase treatment success rates. Therefore, it is necessary to prevent unfavourable outcomes and multi-drug resistant tuberculosis to achieve the goal. Our national average figure of tuberculosis success rates between 1991 and 1996 has been 79.9 percent, which did not reach the WHO recommended success rate of 85 percent. The geographical discrepancy became bigger by years and the high death rate among the elderly owes very much the low success rates. There are two major factors that contribute the relatively low success rates in Japan. One factor is age and another is high incidence rate in urban area. Our previous study showed that 30.2 percent of

the total tuberculosis patients were over 70 of age with the higher death rate and lower success rate than those younger than 70. High default rates in urban area have greatly contributed to the low success rates. There was huge difference of highest success rate and lowest one, 86.7 and 53.4 percent, respectively.

Lively discussion towards tuberculosis elimination was done in this symposium. The major topics were unique regional activities and cost-effective analysis of DOTS in urban setting.

1. Hospital DOTS was presented by Ms. Yukiko Saito,

RN. She shared the experience of her DOTS practice and evaluation method of hospital DOTS in the Fukuji hospital. Their questionnaire results showed that DOTS group had lower percentage of imperfect pill taking and indicated the importance of hospital DOTS for the smooth transition to outpatient DOTS.

2. Ms. Kazuyo Arima, RN presented her health center DOTS strategy (Fureai DOTS) in Osaka city. Osaka city has the highest tuberculosis incidence rate that is equivalent to that of Nepal due to the high incidence among street persons. Tuberculosis control has been the city's rolling cry. The components of Osaka tuberculosis control are; (1) indiscriminate DOTS for street people and smear positive patients (Airin DOTS and Fureai DOTS) and (2) the patients follow up meeting (Cohort Kaigi). The number of health care providers who adopted DOTS has been increasing because of their active campaign of DOTS. This also stimulates the motivation of public health nurse to involve tuberculosis control.

3. The patient management using follow up chart (Cohort Kansatsubo) was presented by Ms. Yoko Nagata, RN in Itabashi Ward Health Center. The results of follow-up observation in 2000 revealed low success rate (72.3 percent), high proportion of bacteriological non-confirmation, and low public health nurse involvement rate. These figures ameliorated in accordance with the introduction of their unique follow-up method. The better outcome may be because of better collaboration among public health nurses according to Ms. Nagata. Their next ambition is to establish the standardized care for tuberculosis patients throughout the Itabashi ward.

4. The endeavour of Kobe city was presented by Dr. Chika Shirai, MD. Kobe city set up their goals by conducting follow up meeting (Cohort Kentoukai) ; 85 percent of success rate, less than 5 percent of default and failure, 90 percent of patients with the public health nurse encounter, 100 percent in bacteriological confirmation and indiscriminate contact investigation. The default/failure rates reduced from 11 to 4 percent. She also emphasized on the prospective plan, e.g., combination of their cohort based follow up chart and tuberculosis surveillance system, DOTS, reporting and recording system up date, expansion of standardized tuberculosis treatment, collaboration with other organization for patients follow-up, and

integration of tuberculosis diagnosis committee.

5. The cost-effectiveness analysis of Japanese DOTS among homeless persons in Osaka city was presented by Dr. Moriyoshi Kimura, MD in the Research Institute of Tuberculosis. The results showed that DOTS was more cost-effective than non DOTS mainly due to low default rate and short hospitalization. However, the success of DOTS is not simply because of implementation of DOTS strategy but the person to person relationship between public health nurses and tuberculosis patients is the most important issue. In other words, DOTS would be highly cost-effective only if public health nurse involvement existed. This presentation also suggests that DOTS in slum area may reduce the burdens of poverty that is an important factor of tuberculosis.

6. Final presenter, Dr. Isao Kurosu, MD, shared his experience in his hospital. He emphasized the importance of DOTS implementation as the standardized treatment. The most important point for the DOTS introduction is that each patient understands that DOTS equalizes patients opportunities and confirms their pill taking, according to him. His presentation was concluded with that the collaboration with other health personnel such as nurses and public health nurses should be the key for the success of hospital DOTS.

In summary, DOTS is an important and highly cost-effective strategy for tuberculosis control in Japan. The establishment of human relationship between patients and health care providers is the key issue. Doctors should collaborate with other health personnel to make the Japanese DOTS successful.

**Key words:** Hospital DOTS, Outpatient DOTS, Cohort chart, Cohort meeting, Cost-effective analysis

<sup>1</sup> Director, Hachioji Public Health Center, <sup>2</sup> Head, Department of Program Support, Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association

Correspondence to: Toyoo Sakurayama, Director, Hachioji Public Health Center, 13-18, Asahicho, Hachioji-shi, Tokyo 192-0083 Japan.



# 抗酸菌検査の精度管理 (1)

市販培地の発育試験成績について

平成14年10月

日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会

## はじめに

先の薬剤耐性検査検討委員会(委員長 斎藤 肇)による結核菌薬剤感受性検査法の改訂に引き続く、前抗酸菌検査法検討委員会(委員長 阿部千代治)による新結核菌検査指針2000の上梓から、はや2年が経過したが、わが国の臨床施設への新検査指針の普及には目覚ましいものがある。例えば、わが国の培地メーカーでは、ほとんどの薬剤感受性試験用培地が、新結核菌検査指針に則り比率法のそれに置き換えられてきている。ところで、抗酸菌検査の精度の善し悪しは患者の治療および管理に直接影響すること、他方、検査の精度は検査技師の熟練度、検査に用いる培地や試薬、検査材料により左右されることは周知の事実であり、今回は前委員会からの申し送り事項に従い、新結核菌検査指針に則った抗酸菌検査法の精度管理試験を進めることとし、その第一歩として、わが国の市販卵培地の発育試験を複数の施設で行い、得られた成績の比較検討を試みることにした。

本報告書は、今回の発育試験で得られた成績について、平成14年4月15日開催の抗酸菌検査法検討委員会および4月17日開催の培地メーカー3社からのオブザーバー3名(いずれも結核病学会会員)を含む抗酸菌検査法検討委員会小委員会での協議内容を基に作成したものである。

## 材料および方法

### 1. 供試菌株

結核予防会結核研究所より送付された *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra 株(ATCC25177株), *M. kansasii* ATCC 12478 株, *M. scrofulaceum* ATCC19981 株, *M. intracellulare* ATCC13950 株および *M. fortuitum* ATCC6841 株の標準5菌株を用いた。

### 2. 供試培地

3培地メーカーから提供された以下の5種の卵培地、すなわち、2%小川培地-極東(極東製薬工業)、2%小

川培地-極東(S)(極東製薬工業)、極東2%ビット培地(極東製薬工業)、工藤PD培地「ニッセイ」(日本BCG製造)および2%小川PS培地「ニッセイ」(日水製薬)の各同一ロットの培地が実験参加者に配付された。ところで、今回の試験に用いた培地は、既にメーカー側で無菌試験を済ませたものであるが、輸送中でのトラブルによる汚染の可能性を考慮し、NCCLSの「製造ロットの1~3%の培地を無菌試験に用いる」とする勧告を参考にして、1検体について各2本ずつの培地を無菌試験用に供試した。なお、今回供試のいずれの培地にも雑菌汚染は認められなかった。

### 3. 接種菌浮遊液の調製

白金耳で小川培地培養菌(4週以内)の数コロニー分をかき取り、0.05%Tween 80加 Middlebrook 7H9液体培地(5ml)を分注したスクリーキャップ付中試験管に接種した。この際、ガラスビーズは使用せずに、菌塊を試験管壁でこすりつぶしながらOD<sub>540</sub>が0.03~0.05程度となるように分散させることにより供試菌を接種した。そして、遅発育菌は36±1℃で5~10日間、迅速発育菌は36±1℃で2~3日間保ち、McFarland No. 0.5程度になるまで培養した。培養終了後、ボルテックスミキサーで攪拌後、30分間放置し大きな菌塊が沈むのをまって、上部の菌浮遊液を別の試験管に移し、McFarland No. 0.5(OD<sub>540</sub>=0.1)の濁度に調整した。これを接種菌原液として、冷滅菌蒸留水で1:100(10<sup>-2</sup>), 1:1,000(10<sup>-3</sup>), 1:10,000(10<sup>-4</sup>)に希釈し、これらを接種用菌液として用いた。

### 4. 供試卵培地への菌液の接種

各メーカーの卵培地を1試験菌株ごとに計6本用意し、上記の接種用菌液(10<sup>-2</sup>~10<sup>-4</sup>希釈)を各々2本ずつの培地に接種した。菌接種に際しては、予め試験管を逆さにし凝固水をアルコール綿で受けて除いた培地に、各希釈菌液の0.1mlずつを接種後、培地全面に広げキャップを少し緩めて、斜面台に並べ36±1℃で培養

表1 集落初発所要日数を指標とした場合の供試5種卵培地の発育支持能の優劣についての各施設ごとの比較

検査施設	発育支持能*				
	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. kansasii</i>	<i>M. scrofulaceum</i>	<i>M. intracellulare</i>	<i>M. fortuitum</i>
I**	E>A=B>D=C***	E>A=B>C=D	E>D>A=B=C	E>A=B=D>C	A=B=C=D=E
II	E>A=B=D=C	判定不能	E>A=B=C=D	E>A=B=D>C	A=B=C=D=E
III	E>A>B=D>C	E>A=B=C=D	E>A=B=C=D	判定不能	A=B=C=D=E
IV	E>A=B=D=C	E>A=B=C=D	E>A=D>B=C	E>D>A=B>C	A=B=C=D=E
V	E>A=B=D=C	E=D>C>A=B	A=B=C=D=E	E>A=B=C=D	A=B=C=D=E
VI	E>A=B=D>C	E>A=B=C=D	E>B=D>A>C	判定不能	A=B=C=D=E
VII	E>A=B=D=C	B=D>E>A>C	E>A=B=D>C	E>D>B>A>C	A=B=C=D=E
VIII	E>A=B>D>C	A=B=C=D=E	B>A=D=E>C	B=E>D>A>C	A=B=C=D=E

\* 集落初発所要日数を指標とした場合の各培地の発育支持能。集落検出までの所要日数が少ない培地ほど供試抗酸菌に対する発育支持能が高いものと看做される。

\*\* I～VIIIは今回の発育試験に参加した施設を匿名化した番号である。

\*\*\*A, B, C, D, Eは今回供試した卵培地を匿名化した番号である。

した。培養2～3日後に培地表面が乾いた時点でキャップを締め、試験管立てに立てて、さらに培養を続けた。

#### 5. 培養結果の観察および記録

*M. fortuitum*は培養開始翌日より毎日、また*M. tuberculosis*以下4種の遅発育菌は隔日観察を行い、集落が肉眼で観察されるまでに要した日数(集落初発所要日数)を求めた。なお、観察日が土曜、日曜にかかる場合は月曜日に観察し、その時点で初めて集落形成がみられた場合には、集落初発日は月曜日とみなした。さらに今回の検討では、培養2週目または3週目(迅速菌は1週目)における集落の数と大きさの観察・記録をも併せ行った。

#### 結果および考察

##### 1. 発育試験の成績

###### (1) 集落検出までの所要日数

表1は、今回供試したA～Eの5種類の市販卵培地(培地の番号は匿名化してある)に供試5菌株を接種した場合の、集落初発所要日数を指標としての各卵培地の発育支持能の優劣について比較した成績を、参加施設ごとにまとめたものである(参加施設の番号も匿名化してある)。なお、この表には200個未満の集落数がみられた希釈系列での成績を示した。その結果、供試菌種によって成績は若干異なるものの、全体としてはE培地での集落形成が最も早く、C培地では他の培地に比べて集落形成がやや遅れる傾向が認められた。しかしながら、培地間での集落初発日数の差は多い場合でも高々2～3日にすぎず、さらに集落検出の最も速やかなE培地にしても、この培地での発育菌を用いて菌種の同定や薬剤感受性試験を行うためには、結局は他の培地と同程度の更な

る培養期間が必要であるので、集落発育の検出期間が短いことがすなわち抗酸菌検査において特に有利であるものとは看做し難い。従って、集落初発所要日数を指標としてみた場合には、全体的には、各培地間での供試抗酸菌の発育支持能には大きな優劣の差はみられないものと結論付けられよう。なお、迅速発育菌である*M. fortuitum*の集落初発所要日数には、今回供試した5種の培地間での差は全くみられなかった。

###### (2) 発育集落数

詳細な成績は省くが、今回供試した5種の卵培地での発育集落数については、いずれの施設の成績でも、各培地間には特に大きな差は認められなかった。ところで今回の発育試験では、全施設において同一のプロトコールに準拠して接種菌を調製したにもかかわらず、各施設間で*M. kansasii*と*M. intracellulare*の発育集落数に大きな差がみられた。例えば*M. kansasii*については8施設中2施設(施設IIとVII)、また*M. intracellulare*については8施設中2施設(施設IIIとVI)の報告した集落数は、他施設のそれに比べて1/20～1/100程度と極めて少ないものであった。これらの施設では、何らかの原因で接種菌の発育が不良な状況が招来されたのであろうが、興味深いことに*M. intracellulare*の成績についてみると、施設III、VIのいずれにあっても、培地Dを用いた場合では他の4種の培地を用いた場合に比べて10倍以上の集落が検出されている。いずれにしても、今回供試した卵培地間の抗酸菌発育支持能の優劣パターンは、菌種によりかなり変動するものようである。これに関連して、*M. intracellulare*には良好な発育支持能を示した培地Dは、結核菌に対しては特に優れた発育支持能を示してはならず(表1)、菌種と培地との組み合わせには何らかの相性があるのかも知れない。これらの点については今後さらな

表2 供試5種卵培地上に発育した集落の大きさの比較

検査施設	集落の大きさ				
	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. kansasii</i>	<i>M. scrofulaceum</i>	<i>M. intracellulare</i>	<i>M. fortuitum</i>
I	A>E>B>D>C	A>E>C>B=D	D>E>A>B=C	B=D>A>E>C	E>D>A>C>B
III	E>A=D>B>C	E>A=C>B=D	A=B=C=D=E	D>A=B=C=E	A=B=C=D=E
VIII	A=B=E>D>C	E>A=B=D>C	A=B=D>E>C	B>D>A>E>C	A=B=C=D=E

る検討が必要となろう。

### (3) 発育集落の大きさ

発育集落の大きさは、培地に発育した集落数により大きく左右されるので比較は容易ではないが、表2には培地間で比較した成績を報告した3施設(施設I, III, VIII)の結果を示した。表より明らかなごとく、各施設ごとの評価はかなり異なっており、一定の結論を得ることはできなかった。しかしながら、*M. tuberculosis*や*M. intracellulare*などの菌種については、C培地上での発育集落が他の培地でのそれに比べてやや小さい傾向が認められている。

## 2. その他の特記事項

今回の発育試験を実施した各委員より寄せられた意見および特記事項、ならびにそれらに対する培地メーカー側からの回答は以下のとおりである。

### (1) 試験管のサイズ

試験管のサイズについては、供試卵培地間で若干の差があり、培地BとDは培地AおよびEよりわずか(1mm以下)であるが太い。

### (2) 試験管のキャップ

キャップがきつすぎるものと逆に少し緩めものがある。培地CとDはきつすぎるのに対し、培地AとEは緩めである。これは試験管の太さに関連しているのかも知れない。緩めのキャップを使用した場合、保存中に凝固水の蒸発が起りやすく、一方、あまりにもきつすぎるキャップの場合は作業効率が著しく低下するので好ましくないが、培養中の安全性などの面も考慮すると、ややきつめのキャップの方が良いのではないかと考えられる。

### (3) 培地の外観

供試卵培地間で培地の斜面の長さにかかなりの差がみられた。培地CとDは他の3培地と比べ斜面の長さが短かった。

### (4) 凝固水の量

今回供試のいずれの培地とも良好であったが、今回供試した卵培地はすべて培地メーカーから試験用に分与されたものであり、それなりに良い条件のものが配付され

た可能性は否定できない。例えば、市販ルートで入手したのものには往々にして凝固水の少ないもの、あるいは全くないものがある。この凝固水の問題については、培地メーカー側より、メーカーによっては培地を寝かせて箱詰めして発送することがあり、この場合は凝固水は乾燥してなくなっている訳ではなく、培地中にしみ込んだか、あるいは培地と試験管のガラス面との間に溜まっているものと考えられるとの回答があった。しかし、この回答に関連して、キャップの緩めの試験管の培地では、それを立てた状態で入手された場合にあっても、このようなことがまま見られるとの意見が寄せられている。

### (5) 培地の硬さ

昨今の卵培地は昔のものに比べて柔らかくなっており、白金耳を用いての植菌時に傷がつきやすい。この点については、培地メーカーより、培地の凝固法(多段式、熱風式)により凝固の条件が異なるし、また、発育支持能が最良になるように凝固の温度管理をすると、どうしても培地は少し柔らかくなってしまふ傾向があるとの回答を得ている。

### (6) 培地のpH

今回の発育試験に参加した委員より、1社の培地はpHの記載があるが(pH 6.5)、他の2社の培地にはそうした記載がなく、マラカイトグリーンの色調からみてやや低めなような感じがするとの意見があった。これに対して、培地メーカーからは、①マラカイトグリーンは試験薬メーカーにより色調が違うので、pHの違いを直接反映するものではない、②培地のpHは従前の検査指針の記載に若干問題があったので、表記していないメーカーもある、③メーカーとしては、pHは凝固前の培地について測定しており、常にpH 6.5~6.8に調整している、との回答があった。なお、この回答に対しては、凝固後の凝固水についてのpH測定も必要なのではないかとの委員の意見が寄せられている。

### (7) 培地の卵成分の季節変動

発育試験に参加した委員より、夏場には卵成分が冬場に比べて大きく変化しており、問題があるのではないかと疑問が呈されたが、この点については、培地メーカーより、①確かに夏場は卵が水っぽくなりpHが0.2ほど

低下するが、発育支持能が目に見えて低下するようなことはない、また、②培地成分については、バッチごとに製品管理を行っているが、その成績が出るころには実際には出荷し終わっていることが多い、との回答があった。

### 結 論

今回実施した市販卵培地の発育試験の結果、以下の結論が得られた。

- 1) 今回の試験に用いた5種の卵培地は、いずれも凝固水が十分に残っており、保存状態は良好であった。
- 2) 新鮮臨床分離株を用いた場合にはある程度の差が出る可能性も否定できないが、少なくとも標準株を用いたかぎりでは、発育日数、集落の大きさ、発育した集落数の点からみて、各培地間の抗酸菌発育支持能には特に大

きな優劣の差はみられなかった。

以上の成績から考えて、現在わが国で市販されている卵培地については、いずれの培地を使用しても遜色ない培養結果が得られるものと思われる。

### 謝 辞

今回の精度管理試験は一部日本結核病学会よりの資金援助を受けて実施されたものであり、また供試卵培地はすべて極東製薬工業株式会社、日本BCG製造株式会社、日水製薬株式会社のご好意により分与を受けたものであります。ここに謝意を表します。

追記：詳細なデータの開示をご希望の方は委員長までご連絡下さい。

### 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会

委員長 ○富岡 治明

副委員長 ○阿部千代治

委員 飯沼 由嗣 ○小栗 豊子 鎌田 有珠 古賀 宏延  
 小林 和夫 ○斎藤 肇 竹山 博泰 長沢 光章  
 ○長谷川直樹 ○樋口 武史 本田 芳宏 ○山崎 利雄  
 ○和田 光一 (○は実験担当代表者)