

じ、日本式の結核菌情報システムの構築は可能であると考えている。

文 献

- 1) Hermans PWM, van Soolingen, D Dale, et al. Insertion element IS 986 from *Mycobacterium tuberculosis* : a useful tool for diagnosis and epidemiology of tuberculosis. J Clin Microbiol 1990 ; 28 : 2051 8.
- 2) Index Tuberculosis 2001 2002. The Netherlands. KNCV Tuberculosis Foundation, 2004.
- 3) Review of the Netherlands Tuberculosis Control Programme, 2003. KNCV Tuberculosis Foundation, 2003.
- 4) CSB Lambregts van Weezenbeek , MMGG Sebek, et al. Tuberculosis contact investigation and DNA fingerprint surveillance in The Netherlands : 6 years' experience with nation wide cluster feedback and cluster monitoring. Int J Tuberc Lung Dis 2003 ; 7 (12) : 463 70.
- 5) MW Borgdorff, NJD Nagelkerke, et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* Depending on the Age and Sex of Source Cases. Am J Epidemiology 2001 ; 154 (10) : 934 43.

結核菌 DNA 指紋法を用いた結核対策改善事業成績

(1996 年 4 月 ~ 2004 年 5 月の概略)

結核予防会結核研究所 大角晃弘・高橋光良・内村和広・森 亨
沖縄県福祉保健部健康増進課 新垣さと子・仲宗根正

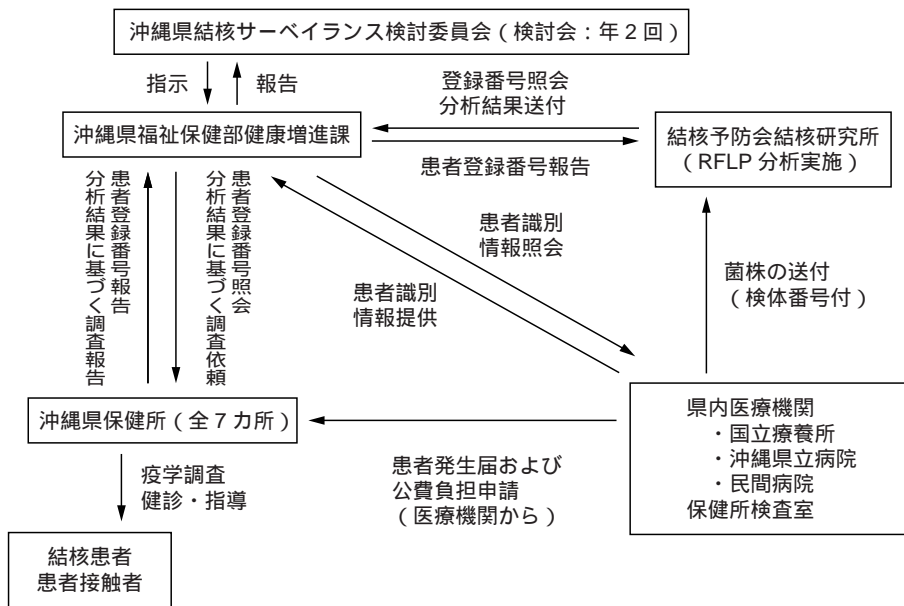
本稿は、2004年7月23日に結核予防会結核研究所で開催された第1回結核地域分子疫学研究会において、筆者が一般演題の一つとして発表した内容をまとめたものである。

本事業は、沖縄県の結核患者管理で実施されている接触者疫学調査や、結核発生動向調査事業(サーベイランス)の質的向上のために、標準的結核菌 DNA 指紋法 (IS 6110 RFLP 法) を応用することの有用性について検討することを目的として、96年から実施されている。ここでは、本事業開始後2004年5月までに得られた主な知見について概説する(本事業の運営状況、96年4月から97年9月までに得られた知見等については、文献¹参照)。

沖縄県では結核予防会結核研究所と協力して、96年4月以降、沖縄県内で新たに登録された結核患者から分離培養された結核菌に標準法に基づく IS 6110 RFLP 分析²を実施している。2人以上の患者から得られた結核菌 DNA 指紋型が一致していることが判明した場合、それらの患者が登録されている保健所で、通常実施されている接触者疫学調査内容とその一環として実施した再調査内容について検討し、患者間の疫学的な関連の有無・程度に関して分析・検討を行った(検体の送付患者情報等の受け渡しなどについては図1参照)。

沖縄県で結核患者を診断している主な病院と、県保健所検査室で分離培養された結核菌を、結核研究所に送付して IS 6110 RFLP 分

図1 沖縄県の結核菌 DNA 指紋法を用いた地域結核患者管理向上事業の仕組み



注：患者識別情報とは氏名，性，生年月日，居住地等，患者発生届け出に用いる情報に限定

析を実施した。沖縄県と保健所は、この分析の結果に基づいて疫学調査を実施した。本事業の成績に関しては、沖縄県結核サーベイランス検討委員会によって総合的に検討された。期間中に菌陽性患者として登録された患者のうち、約7割の患者から得られた結核菌株が結核研究所に送付された。

96年4月以降2004年5月までに行われた沖縄県における結核菌 DNA の IS 6110 RFLP 分析の結果は、次のとおりであった。この間に登録された結核菌陽性結核患者は1,645人（97年以前のこの数には非結核性抗酸菌陽性例を含む）であり、そのうち70%の1,152人（1,152/1,645）について IS 6110 RFLP 分析を実施した。なおこの数は、2004年5月現在の検査済み者の実人数であり、登録対象外（県外登録者や新登録者以外の例など）が少数含まれているが、同一人物が複数回検査された分は除外されている。同様に結核研究所に菌が送付されていても非結核性抗酸菌であると確認されたもの

なども除外されている。延べ検査件数は1,305件に達した。保健所、年次、性、年齢階級別にみた分析件数は表1、表2のとおりである。

IS 6110 RFLP 法によるバンド型が全く一致した2株以上の菌株の群（クラスター：IS 6110 RFLP 法によるバンドのコピー数が5本以下の場合には、スポリゴタイプング³⁾による分析を行った）は、合計78個であった。IS 6110 RFLP で分析された1,152人中、延べ419人（36%）がなんらかのクラスターに属していた。仮に各クラスターの1人がそのクラスター内の他の構成員に対する直接あるいは間接の感染源になったと仮定すると、30%[(419-78)/1,152]が最近の感染によって発病したことになる。ただし以前から知られている幾つかの大きなクラスターのように、構成員患者間の菌の伝播が疫学的に説明できないようなクラスターもあること、また検査室内交差汚染を始めクラスターそのもの、あるいはクラスターの一部の患者には疫学的な関連がないようなケースが有りうるこ

表1 保健所・年次別にみた被検査者数

	北 部	石 川	コ ザ	中 央	南 部	宮 古	八重山	他・不明	総 計
1996年	8	27	46	33	30	6	14	0	164
97	6	26	22	20	30	11	15	0	130
98	13	22	30	35	26	6	7	6	145
99	15	20	36	41	32	6	8	4	162
2000	19	25	24	42	13	13	5	1	142
01	10	17	39	38	26	10	8	2	150
02	9	0	34	36	24	6	4	0	113
03	8	0	26	40	21	5	9	1	110
04	4	0	9	13	8	0	0	2	36
総 数	92	137	266	298	210	63	70	16	1,152

表2 性・年齢階級別にみた分析件数(実人数)・クラスター形成件数再掲

	実 人 数			クラスター形成件数 ^{*1}			クラスター 形 成 率 ^{*2}
	男	女	総 計	男	女	総 数	
0～19歳	4	7	11	2	4	6	55%
20～29	37	35	72	15	17	32	44
30～39	63	32	95	16	12	28	30
40～49	131	36	167	55	13	68	41
50～59	123	41	164	51	13	64	39
60～69	169	52	221	61	21	82	37
70～79	149	68	217	57	28	85	39
80～	122	83	205	27	27	54	26
総 数	798	354	1,152	284	135	419	36
クラスター形成率 ^{*2}				0.36	0.38		

*1 同一人物が複数回検査し、別のクラスターを形成する場合(1件)を含む

*2 感染源も含む

と、逆に同一菌株から発生した患者からの菌が、菌の変異のためクラスターを形成しないこともありうることなどに留意する必要がある。このことは後でみるように、クラスター形成率が年齢とはっきりと相関していないことにも現れている。

表2は、性・年齢階級別のクラスター形成の頻度を示している。0～19歳、20～29歳でクラスター形成率はそれぞれ55%、44%で全体の

それ(36%)より高いが、統計学的有意に達しない。また性別によるクラスター形成率には、明らかな差はなかった。

表3は、他の幾つかの要因についてクラスター形成の頻度をみたものである。結核治療の既往の有無別には、有意の差はみられない。「既往あり」中33%でクラスター形成がみられるということは、外来性再感染発病の存在をほのめかすものとも考えられるが、クラスター

表3 幾つかの要因とクラスター形成

	総数*	クラスター形成件数	クラスター形成率
総数	1,153	419	36%
性別			
男	799	284	36
女	354	135	38
年齢階級			
0～19歳	11	6	55
20～29	72	32	44
30～39	95	28	30
40～49	167	68	41
50～59	164	64	39
60～69	222	82	37
70～79	217	85	39
80～	205	54	26
結核の既往（既往歴不明26件を除く）			
既往なし	1,036	374	37
既往あり	91	30	33
検体採取年次			
1996年	164	68	42
97	130	48	37
98	146	59	40
99	162	64	40
2000	142	47	33
01	150	56	37
02	113	20	18
03	110	45	41
04	36	12	33
登録保健所			
北部	92	26	28
石川	137	49	36
コザ	266	92	35
中央	298	105	35
南部	211	85	40
宮古	63	22	35
八重山	70	31	44
不明	16	9	57

* 同一人物が複数回検査し、別のクラスターを形成する場合（1件）を含む

形成が必ずしも最近の感染を意味しないということについて注意深い検討を要する。

検体採取年次とクラスター形成率については、年次ごとに多少の変動が認められるが明らかな傾向は認めない。保健所別では北部保健所が最も低く（28%）、石川保健所（36%）、南部保健所（40%）、八重山保健所（44%）が比較的高い傾向がある。

図2は、クラスターの大きさ（構成員数）の分布をみたものである。構成員2人のクラスターが最も多く（25個）、クラスター構成員数が大きくなるとともに頻度は徐々に減っている。最大は構成員27人のクラスター011で、続いて21人のクラスター006、18人のクラスター005で、いずれも一見疫学的にはすべての感染伝播関連を説明できないクラスターである。クラスター番号006や同011は、以前から大きかったものに、さらに新たに構成員が加わってますます大きくなった。これらの患者は地域別にみても、多くの保健所にまたがっており、疫学的な関連は明らかではなかった（表4）。

いずれかのクラスターを形成した419例のうち、初回疫学調査および結核菌DNA指紋法の結果に基づいて実施された再疫学調査によって疫学的関連が明らかとなった例は25人で、クラスター内の疫学的関連判明率は6%（25/419）であった。クラスター内で疫学的関連が明らかとなった例の主な内訳を以下に示す。

1. 初回疫学調査で強く疑われていた結核菌伝播経路がRFLP分析結果によって明らかとされた例としては、夫婦間の感染が明らかとされた事例、親子間の感染が明らかとされた事例、1本鎖が異なるが、姉と弟とで同一の結核菌株であることが考えられた事例等があった。
2. クラスター003では、通常行われる初回疫学調査では判明していなかった結核菌の伝播経路が、RFLP分析結果に基づく再疫学調査

図2 クラスターの大きさ分布

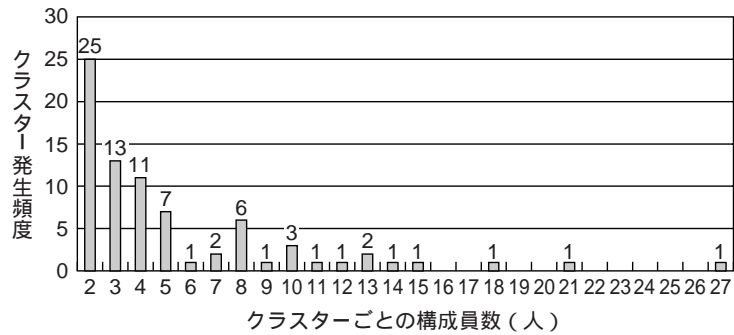


表4 クラスター番号および構成員数

クラスター番号	構成員数	クラスター番号	構成員数	クラスター番号	構成員数
001	8	021 b	7	070	4
002	9	022	8	071	2
003	13	023	3	074	4
004	13	024	12	076	3
005	18	025	2	078	4
006	21	026	10	079	4
007	8	028	2	080	4
008	5	029	3	081	2
008 a	2	034	3	088	2
009	3	036	5	089	5
011	27	036 a	4	093	2
011 a	5	037	11	098	2
012	3	038	2	099	4
013	2	039	4	099 a	3
015	5	040	5	100	3
016	10	045	2	103	2
018	7	046	8	104	3
018 ?	14	047	4	105	2
018 ? ad	2	048	2	108	2
018 A	6	049	8	109	3
018 B	2	050	2	110	2
019	15	056	4	111	2
020	10	058	2	113	2
020 d	2	059	3	114	2
021	4	067	3	合 計	419
021 a	3	068	2		

図3 クラスタ-003において推定された結核菌伝播経路

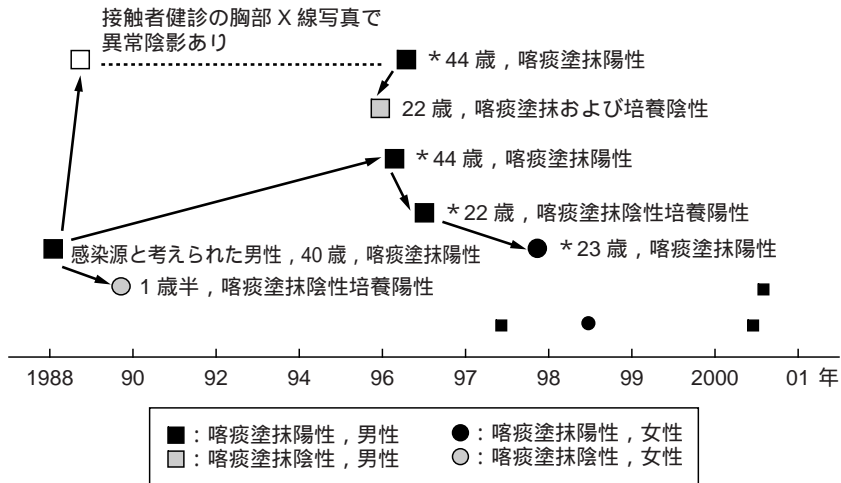
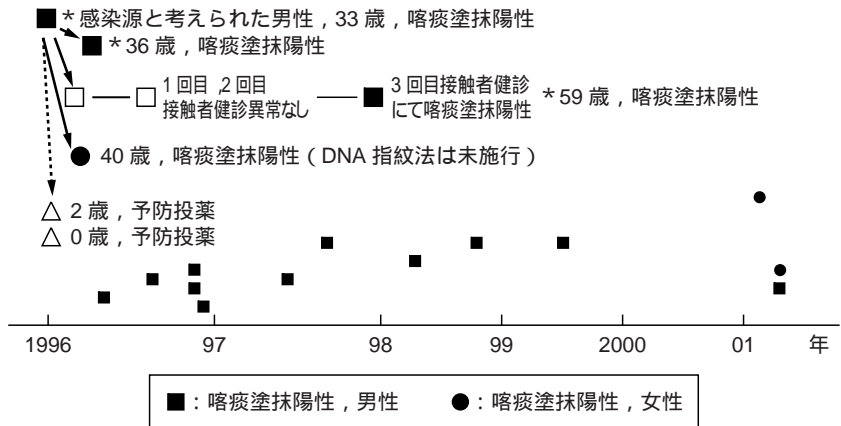


図4 クラスタ-005で推定された結核菌伝播経路



によって、感染源からの伝播経路が推定された事例を含んでいた(図3で*が付いている患者が、RFLP分析の結果同じクラスターに所属していることが判明したもの)。

3. クラスタ-005は、八重山における地域内流行型結核菌の存在が強く疑われるRFLP型である。このクラスターに所属するすべての患者は、石垣市在住か過去に八重山に滞在していたことがある人であった。患者間において接触歴の判明している場合もあるが(図

4で*がついている患者が、RFLP分析の結果同じクラスターに所属していることが判明したもの)、多くの場合は疫学的な関連は不明であった。このクラスターの年齢分布は、70歳で過去結核既往歴のある老人から10歳の小児まで広い範囲に及んでいた。

4. 接触者疫学調査等によってある患者間の感染が疑われたが、RFLP分析の結果クラスターが別であったために、患者間での感染は否定的と考えられた事例があった。同時期に

同じ職場から複数の結核患者が登録されたために職場における接触による感染が疑われたが、RFLP 分析結果によって否定された事例や、あるクラスターを形成している複数の結核患者と同じ病院に入院中であった患者が、RFLP 分析結果によって他のクラスターに属していることが判明したために、接触者疫学調査によって疑われていた結核菌伝播経路が否定された事例が認められた。

5. 院内感染に関連する例としては、精神科病棟内における院内感染事例や、気管支鏡の操作または管理に関連する感染が、RFLP 分析結果によって強く疑われた事例が認められた。

沖縄県における本事業により期待される結果としては、次のようなことが考えられる。

1) 結核菌 DNA 分析結果を地域の結核対策活動に用いることが、保健所保健師による疫学調査内容や接触者健診対象者範囲の設定を評価し改善されること、2) 地域における結核患者管理改善のための基本的な情報として、地域や病院等の施設内における結核菌伝播状況や共通感染源の存在を明らかにすること、3) 沖縄県

における結核疫学状況が記述されて、結核対策活動改善のための基礎資料となること(例えば、患者がクラスターに含まれるための危険因子、八重山にみられるような地域内流行型結核菌の分布状況等)などである。

文 献

- 1) 沖縄県結核サーベイランス検討委員会．沖縄県の結核患者管理における結核菌遺伝子型同定の有用性．日本公衛誌 2003；50：339-48．
- 2) Van Embden JDA, Cave MD, Crawford JT, et al. Strain Identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA Fingerprinting : Recommendations for a Standard Methodology. J of Clin Microbiol 1993；31：406-9.
- 3) Goyal M, Saunders NA, Van Embden JDA, et al. Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* Isolates by Spoligotyping and IS 6110 Restriction Fragment Length Polymorphism. J of Clin Microbiol 1997；35：647-51．