

オランダの結核菌情報システムについて

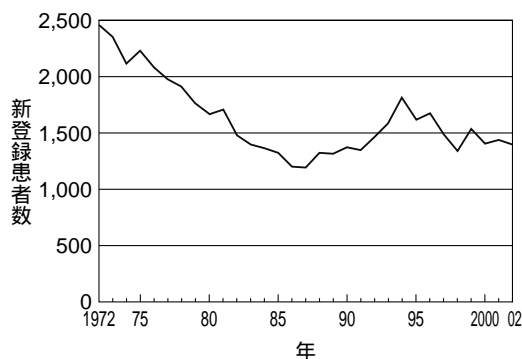
結核予防会結核研究所研究部 内村和広

はじめに

1990年にオランダ国立公衆衛生環境研究所(RIVM)のHermansら¹⁾が、結核菌由来IS6110をプローブとした制限酵素断片長多型分析(RFLP分析)が結核菌の疫学や診断のための手段に利用できることを報告して以来、オランダは米国と並ぶ結核菌分子疫学の先進国として、研究分野のみならず結核対策への応用としても世界の先端を進み続けている。これを可能としているのは、オランダ結核予防財団(KNCV)、RIVMそして各地方自治体の保健センターを中心として組織された分子疫学ネットワークとその背後を支える結核菌情報システムである。

本稿では筆者が2004年の1月から3カ月間オランダKNCVに共同研究として滞在したおりに収集した情報を基に、オランダの結核菌情報システムと結核菌分子疫学の結核対策への応用を概説し、オランダでの分子疫学研究のトピックの一つを紹介する。

図1 オランダにおける結核新登録患者数の推移(1972~2002年)



オランダの結核疫学状況

オランダの国土面積は約4万平方キロでわが国の九州とほぼ同じであり、人口は約1,600万人である。人口構成は約80%がゲルマン系オランダ人で、その他にはインドネシア、トルコ、スリナム、モロッコなどからの移民が多い。

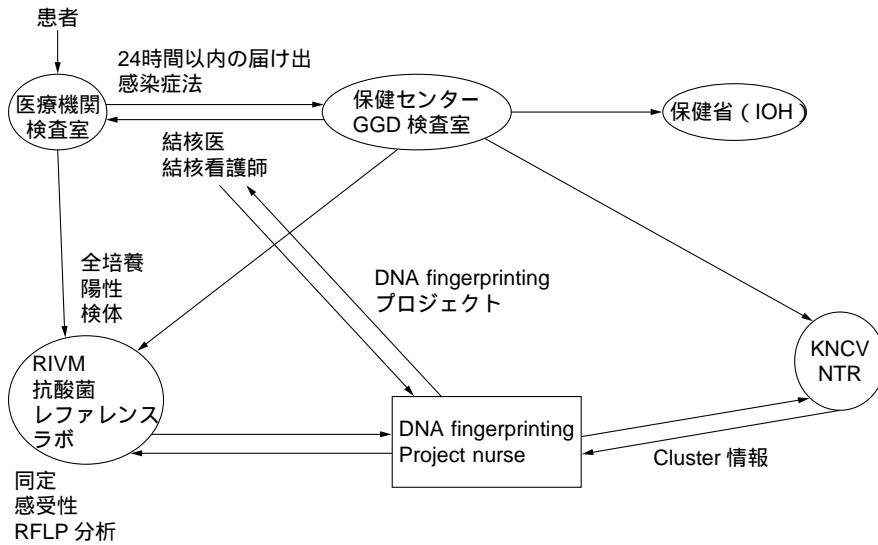
結核罹患率は87年までは順調な減少を遂げ、人口10万人対率で8.2まで減少したが、88年以降は他の先進国と同じく外国生まれの患者の増加が主な原因となり増加に転じ94年には罹患率11.4に達した。その後移民入国者への結核特別プログラムの実施を始めとする対策を講じ再び減少傾向を取り戻したが、近年は罹患率9程度で推移している(図1)。最新の2002年結核統計による新登録患者数は1,401人で、罹患率は8.7、そのうち外国生まれの患者は62%を占めている²⁾。

結核菌情報システムの中心的役割を果たす三つの組織

1. 各地方自治体の保健センター(GGD)

実際の結核患者の診断・治療・管理は、オランダ国内の40自治体にそれぞれあるGGDがその役割を担う。結核対策活動は結核医、結核保健師そして技師によるTB Unitと呼ばれるチームで行われる。オランダ国内で結核医は30人、結核保健師は60人配置されている。結核の診断・治療はもとより患者治療支援、ハイリスクグループへの健診、接触者健診を行っている。また、各地方自治体の検査施設におい

図2 オランダにおける結核菌情報システムの流れ



て、患者検体の塗抹培養検査を行っている。

2. オランダ結核予防財団 (KNCV)

国内結核対策のみならず、途上国への協力支援活動、各国と共同した研究活動も活発に行っており、世界の結核対策のイニシアチブをとっている。

国内結核対策の面では、国家結核対策プログラムの技術アドバイザーとして政府に対し結核対策の意見答申や勧告を行っており、国家結核対策の中心的役割を担っている。さらに大きな任務として、オランダの結核サーベイランスを行っている。結核サーベイランスは、新発生患者の登録およびその後の治療成績を含めた発生動向サーベイランス、薬剤耐性結核サーベイランス、そして結核菌 DNA 指紋法サーベイランスが行われている。また発生動向サーベイランスのデータは全国結核患者登録 National Tuberculosis Register (NTR) として KNCV にて運用管理されている。

3. オランダ国立公衆衛生環境研究所 (RIVM)

公衆衛生および環境に関する研究・検査を行

う国立の施設である。活動内容は基礎部門から疫学部門など多岐にわたり、またオランダ国内のみならず西ヨーロッパでの関連分野での中心的役割を成しており、総職員数も 2,000 人を超える巨大機関である。

ここ RIVM 内に van Soolingen 博士を長とする抗酸菌レファレンスラボがあり、オランダ国内で発生した結核患者で培養陽性者のすべての培養検体を送られ、結核菌同定検査、薬剤耐性検査そして RFLP 分析を始めとする結核菌タイピングが行われている。またヨーロッパ各国の抗酸菌ラボとの共同によるヨーロッパ結核菌分子疫学ネットワークを組織しており、主に多剤耐性結核菌に焦点を当てた広域結核菌データベースの構築を進めている。

結核菌情報システム

結核菌情報システムの流れは大きく三つの部分に分かれ、それらが相互にリンクされ一つの結核菌情報システムを成している (図2)。

1. 結核患者登録情報

オランダでは、感染症法に基づいて結核患者を診断した医師は、24時間以内に各地方自治体のGGDに患者の届け出をしなければならない。各GGDは中央の保健省へ定期的に患者報告を行うが、感染症法の規定ではこれらごく基本的な6項目のみに限られており結核対策へのフィードバックに耐えるものではない。そこで、これまでのオランダ国内での結核対策における歴史的背景もありKNCVが主体となって結核患者発生動向サーベイランスを行い、各GGDは結核患者登録票を記入した後KNCVに定期的に送付を行う。したがってこれはGGDとKNCV間のボランティアベースの登録システムであるが、報告状況は極めて良く感染症法による保健省への報告数とKNCVへの報告数との差は年間で数件以内に収まっている。登録票は診断時報告票と登録から約1年後に送付する治療成績を含めた患者追跡票から成っている。各GGDから送付された登録票は、電子ファイル化された後KNCVの研究部門にある結核サーベイランス担当によりNTRとして管理される。NTRは集計分析が行われた後、毎年「Tuberculosis Index」として報告書が作成されGGDを始めとする結核対策・研究関連機関に送付される。

2. 結核菌データベース

オランダ国内で抗酸菌検査を行っている検査施設の正確な数は不明であるが、報告によると³44~46の施設で年間平均1,700検体(100未満から10,000検体の施設まで)の検査を行っている。各検査施設で培養陽性となった検体のすべてはRIVMの抗酸菌レファレンスラボに送られ同定・感受性試験が行われる。

93年よりRIVM抗酸菌レファレンスラボにおいて、オランダ国内培養陽性結核患者の全分離株に対するIS 6110をプローブとしたRFLP分析の実施とRFLPパターンのデータベース

化が開始された。また97年からはRFLP分析の結果、バンド数が5本未満の分離株に対してはPGRSを行っている。RIVMの結核菌データベースに登録されているのは、菌情報と元の送付施設等簡単な背景情報のみであり患者個人情報には含まれていない。RIVMスタッフへのインタビューによると、菌到着から同定・感受性試験そしてRFLP分析結果のデータベース化まで約1カ月とのことであった。結核菌データベースはRIVMのサーバ上でApplied Math社のBioNumerics(同社GelComparの上位版)によって構築されており、オランダ国内のみならずヨーロッパ結核菌分子疫学ネットワークの中央データベースとなっている。

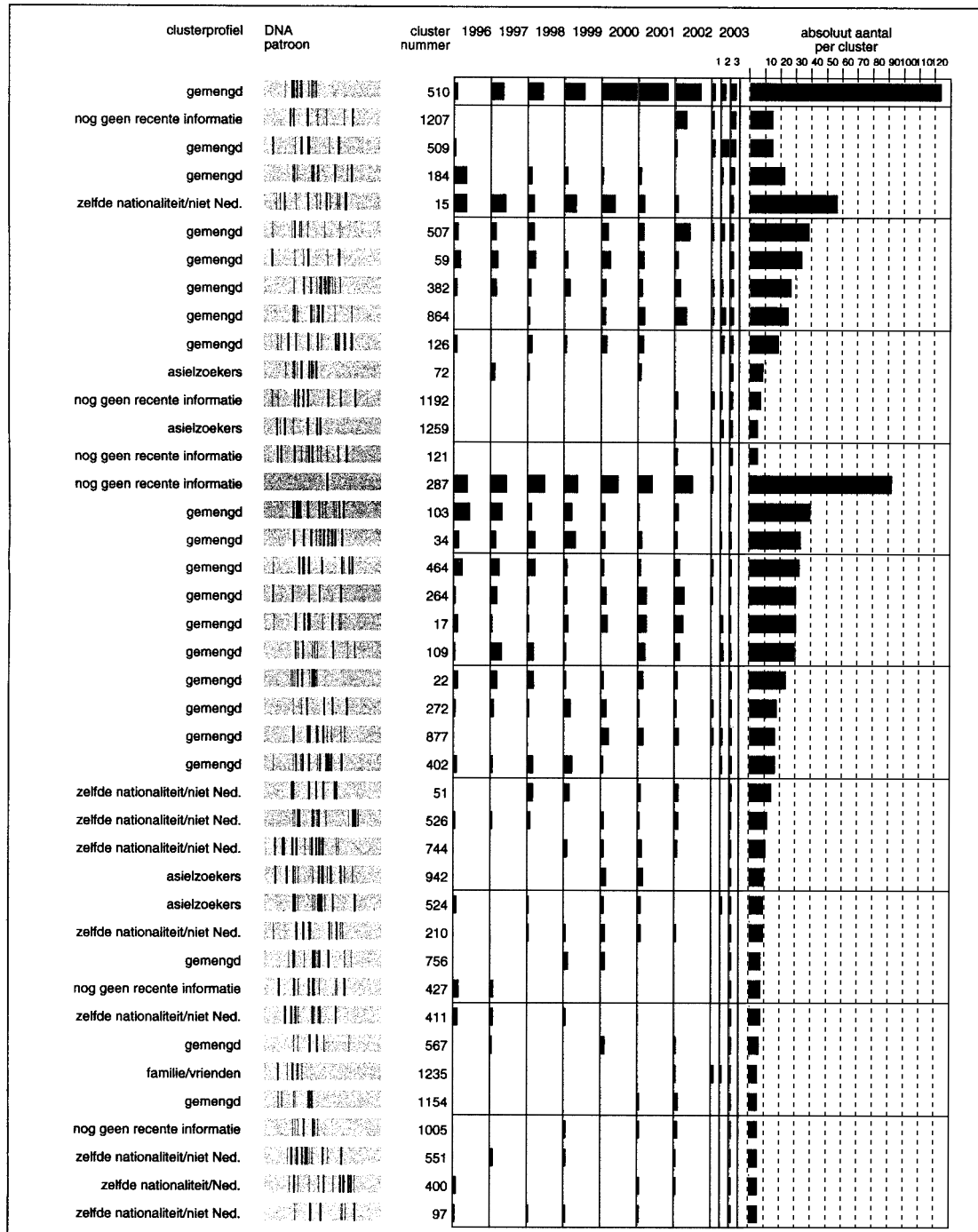
3. 結核菌DNA指紋法

サーベイランスプロジェクト

RFLP分析による同一結核菌株による感染者群の同定結果(クラスター分析)の結核対策現場へのフィードバック(クラスターフィードバック)と評価を目的として、95年国家結核菌DNA指紋法サーベイランスプロジェクトが開始された。これはクラスターが判明した患者に対し、疫学的関連の有無を調査分析するものである。プロジェクトには専任のプロジェクトナース(PN)が任命され(KNCV国内部門のMs. Sebek)、PNはKNCVのNTRとRIVMの結核菌データベースとの照合を行う。個人情報保護のためこの照合を行うのはPNに限られており保健センター等からの照合はできない。照合の結果クラスター判明患者については、他の同クラスター患者の情報とともに患者登録地区の保健センター所属の結核保健師に情報を伝達する。情報を受けた保健師は各患者について再調査を行う。再調査の方法は標準化されており、その結果からクラスター内の患者間について疫学的関連の有無を「確認」、「推定」、「未確認」の3段階で判定する。調査結果は再びPNに戻され分析・報告が行われる。国内約60人

図3 結核菌流行状況四半期報

Tuberculose: surveillance van actieve transmissie in Nederland 1996-2003
DNA fingerprint clusters met groei in 3^e kwartaal 2003 en totale cluster grootte ≥ 5



Bron: DNA surveillance project

図4 Concerted Action on the Molecular Epidemiology of Tuberculosis (CAonTB) のウェブサイト



図5 ウェブ上での結核菌データベースの照合



の結核保健師はPNを中心として密なネットワークを形成しており、四半期に一度プロジェクトミーティングが行われている。

以上を要約すると、KNCVの患者データとRIVMの結核菌データをDNA指紋法サーベイランスプロジェクトにより相互連結して一つのシステムを構成しているということになる。

結核菌情報システムと分子疫学の成果と応用

結核患者登録から菌検体検査とRFLP分析

図6 年齢階級別 Transmission index の推定結果

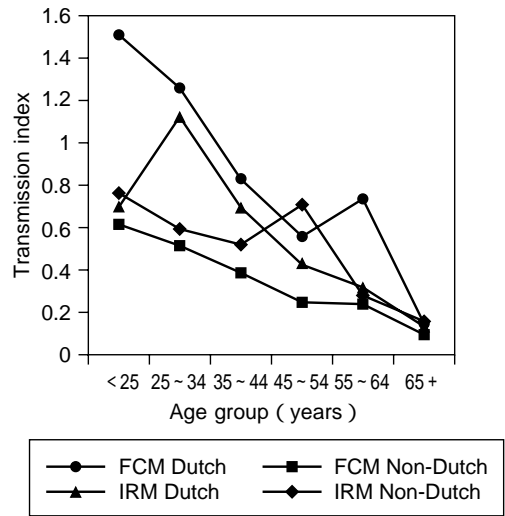
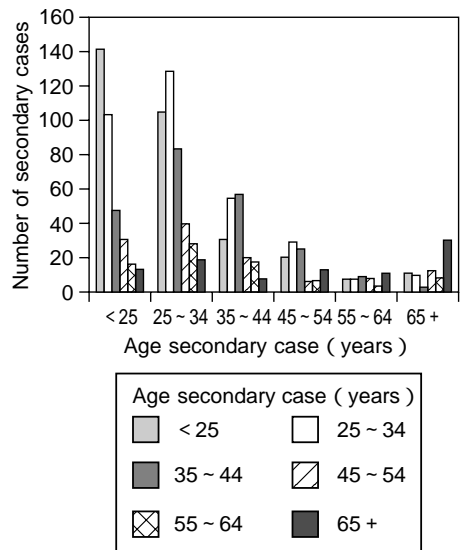


図7 年齢階級感染源別二次患者数



を始めとする結核菌遺伝子タイピングとデータベース化という一連のシステムの成果としては、前述の結核菌DNA指紋法サーベイランスプロジェクトによるクラスターフィードバックがまず挙げられる。従来の接触者健診では見落とされていた疫学的関連が新たにRFLP分析結果により判明し、そこからさらなる接触者対策が行われる。実際にどれくらいの「隠れた疫

学的関連」が判明したかについては、Lambregts van Weezenbeekら⁴⁾によるとクラスターフィードバック前に疫学的関連未判明者1,744人中「確認」が193人、「推定」が347人と併せて31%に対して新たな疫学的関連が判明している。一方、接触者健診などで判明した関連のうちRFLP分析では5%に関連なしの結果となった。

また患者情報とRFLP分析が相互連結されることでクラスターを形成する患者の背景要因分析が可能となった。KNCVとRIVMは共同で結核菌DNA指紋法サーベイランスプロジェクトを組織し、結核菌の「流行状況」をモニタリングしている。図3はプロジェクトが発表する結核菌流行状況四半期報で、右から順に累積のクラスター患者数、期別患者数、クラスター番号、RFLPパターン画像、そしてクラスター患者の主な背景となっている。患者背景は主にオランダ生まれか外国生まれ、同一居住地域、家族/親しい知人、亡命希望者か、などが記入されている。図中の一番上にあるクラスターがオランダ国内で最大のもので累積患者数が120人を超えるクラスターであり、オランダ生まれと外国生まれの両者が含まれるが主に違法薬物使用患者が多数を占める。

RIVMではオランダ国内のみではなくヨーロッパ広域にわたる結核菌データベースの構築と分子疫学ネットワークの組織作りを進めている。これは「Concerted Action on the Molecular Epidemiology of Tuberculosis (CAonTB)」として進められており(図4)、例えばデータベース構築に関しては、ヨーロッパ参加国の各抗酸菌ラボ間をインターネットにより結んだ分散型データベース構築とヨーロッパ共通のクラスター番号の設定を行っている。またインターネットを使って結核菌データベースへの照合をウェブベースで行うシステムも作製中である(図5)。

分子疫学の研究的応用も広く行われている

が、その一つであるKNCVの研究部門長Borgdorff教授の研究を紹介する⁵⁾。教授はRFLP分析の結果からクラスターを形成した患者に対しクラスター内の感染源患者の推定を数学モデルを用いて行い、どのような背景をもつ患者がより他の患者へと感染を引き起こしているかを特に年齢階級別や出生国別に調べた。図6は年齢階級別の引き起こしやすさ(Transmission Index)を推定した結果で、若年層で高く高齢になるにつれ低くなっていく傾向をみることが出来る。また図7は感染源の年齢階級とそこから引き起こされた被感染者の年齢階級別数である。44歳までの階級では同じ年齢階級間で、45~54歳では若年層への感染が起こっていることが示されている。

まとめ

オランダの結核菌情報システムは、その質、規模ともに世界の先端を進むものである。3カ月間のオランダ滞在中で実感したことは、それらを支えているのは研究成果に裏打ちされた技術的バックボーンとともに、効率的に役割分担された組織作りであり、それら組織を有機的につなげ運用していく有能なコーディネーターの存在、さらにコーディネーターを中心として現場を結ぶ人的ネットワークであるということである。

技術的な面においてもさらに改良前進している。オランダ結核患者発生動向サーベイランスは数年後にウェブ上から登録を行う新システムに移行予定である。またCAonTBはRFLPに続く新たな結核菌遺伝子タイピングの方法の開発と標準化に向けて着々と進めている。

わが国の状況を考えると、新発生結核患者数にしてもオランダの状況との差は大きく、すぐにオランダのようなシステムの構築を行うことは難しい点が多くあると考えられるが、良き手本としてKNCVやRIVMとの共同研究を通

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