

優先的プロジェクト(3) : 「結核分子疫学研究プロジェクト」

臨床・疫学部 主任研究員
大角 晃弘

結核の分子疫学研究分野は、結核研究所が推進してきた得意分野の1つであるが、本年度から新しい研究プロジェクトとして再編成されている。部や科を横断する研究体制の枠組みや方向性はまだ確立途上であるため、これまでの成果や今後の課題を私見も入れて概観したい。

世界における結核分子疫学研究の現状と動き

①結核菌DNA指紋型分析法の開発と標準化

1990年代半ばまでにIS6110-RFLP分析法 (Restriction Fragment Length Polymorphism, 以後RFLP分析法) が結核菌DNA指紋型分析標準法として確立したが、検査実施のために必要な結核菌量が多いこと、検査にかなりの手間と時間を要すること、複数の検査室間で結果を比較検討することが容易でないこと等の欠点を持っていた。スポリゴタイピングやVNTR (Variable Numbers of Tandem Repeats)分析法は、RFLP分析法の欠点を補う方法として1990年代終わりから普及してきている。ただし、東アジア諸国では北京株が高頻度で検出されるため、これらの検査の推奨されている方法での菌株鑑別力は低い。慢性排菌結核患者から得られる結核菌を継続して収集してRFLP分析法を行い、RFLPバンド型が変化する経時的頻度について検討されているが、VNTR法における各座位の経時的安定性については、まだ十分に検討されていない。

②特定人口集団内の結核菌DNA指紋型分布

欧米等において、ある地域内または全国で分離培養される結核菌を収集し、そのDNA指紋型を分析することにより、地域内における結核菌株の特定やその伝播状況、結核菌株の多様性等を検討したり、結核菌株クラスター形成と関連するリスクファクターについて検討されている。さらに、結核菌の進化過程を推定するための結核菌系統樹分析にも用いられている。

③結核菌DNA指紋型データベースの構築

ある国内 (または地域) や複数の国々において収集された結核菌株を対象としてDNA型分析を行い、その分析結果情報と患者の疫学情報とをデータベースとして蓄積して、必要な情報の検索を行うことが可能となってきている。米国の“National TB Genotyping and Surveillance Network”, 欧

州の“European Genotype / Epidemiological Database”や“SpolDB”等が代表的なものである。日本においては、全国や各都道府県全体を対象とする広域の結核菌DNA指紋型データベースは未構築であり、複数の地方自治体レベルでのデータベース構築が進められている。

④結核患者登録時接触者健診への応用

結核菌DNA指紋型分析は、開発当初から、接触が疑われた結核患者同士の結核菌伝播状況を推定することに用いられている。また分析結果を用いて、登録時疫学調査内容の評価を行うと共に、疫学調査によって得られた情報によって結核菌株クラスターについての評価も行われている。

⑤再燃結核と再感染結核頻度、特定結核菌株の特性

初回登録時と再登録時に得られた結核菌DNA指紋型が異なる場合は別の菌株による再感染、それらが同じ場合は同じ菌株による再燃として、ある地域における再燃と再感染の頻度について検討されている。また、東アジア地域に広く伝播している北京株等について、その菌株の感染性、病原性、薬剤耐性化等についての関連について検討されている。

⑥細菌検査室内汚染の有無

結核菌培養検査結果や薬剤感受性試験結果と患者の臨床経過とが乖離している場合に、細菌検査室内での汚染により、他検体の検査結果が報告された可能性についてDNA指紋型分析により検討されている。

結核研究所が行ってきた結核分子疫学研究

①結核菌DNA指紋型分析実施体制

1990年代初めから、結核研究所内でRFLP分析法が実施可能となり、その後スポリゴタイピングやVNTR分析法等が順次導入されてきた。同時に、地方衛生研究所等の研究者を対象とする研修も実施され、国内各地で結核菌DNA指紋型分析が実施可能となった。近年は、日本におけるVNTR分析の標準

的方法や、培養された結核菌からVNTR分析結果が自動で得られるシステムの開発が検討されている。

②沖縄県結核菌DNA分析による地域結核管理改善プロジェクト

1996年以降約10年間にわたり、沖縄県における結核菌伝播状況を推定することと結核菌DNA指紋型分析を県内の結核患者管理に応用することの有用性が検討された。

③細菌検査室内汚染に関する検討

複十字病院で検査室内汚染が疑われた結核菌のDNA指紋型分析結果と臨床情報との検討を行い、汚染が発生した事実の確認とその再発予防法について検討がなされた。

④日・中・韓結核研究フォーラム

日本、中国、韓国の3カ国における結核研究所の研究フォーラムの一環として、VNTR分析法標準化の試行と東アジア地域における結核菌系統樹の検討が行われている。

⑤首都圏における住民ベース結核分子疫学調査

2002年以降、都市部における結核菌伝播状況を記述することと、登録時接触者健診等の結核患者管理に利用するため、新宿区と川崎市とに登録された結核患者から分離培養される結核菌を収集し、RFLP分析を実施している。

今後約3年間の研究の方向

①結核分子疫学調査の拡大

結核患者数の減少に伴い、より効率的な結核対策に資するため、現在新宿区と川崎市を対象として実施されている住民ベース結核分子疫学調査事業を拡大し、首都圏広域での結核菌DNA指紋型データベースを構築し、更に関西地区その他の地域における同データベースとの情報を共有する全国結核菌DNA指紋型データベースの構築が目指されている。

更に多くの保健所で結核菌DNA指紋型情報を活用した結核対策を実施するためには、保健所等における結核分子疫学情報を活用した結核対策事業ガイドラインの作成が必要である。

②VNTR分析結果を結核対策に応用することの有用性についての検討

現在RFLP分析結果を用いた結核分子疫学調査事業において、VNTR分析結果を用いる方法に変更した場合の、結核対策改善のための有用性について、その問題点を含めて検討する必要がある。また、VNTR分析によるM株の定義を明確化し、

首都圏における有力結核菌株のモニタリングも併せて実施検討する必要がある。

③標準的VNTR分析法の開発と普及

結核研究所により提唱されている12カ所または15カ所の結核菌DNA上の座位を分析ターゲットとするVNTR分析法（JATA12または15）について、i)感染が疑われる事例から得られた結核菌、ii)住民（病院）ベース結核分子疫学調査関連で得られた結核菌、iii)その他（結核菌系統樹による結核菌進化検討等）の場合での評価を実施する必要がある。また、標準的VNTR分析法に関する精度保証メカニズムを早急に確立すると共に、VNTR分析法についての研修を関係機関の協力を得て推進し、全国に普及すべきである。更に、より容易で、精度が高く、安価で、全国の臨床検査室等で実施可能な次世代結核菌DNA型鑑別法が開発されることが期待される。

④結核分子疫学分野における国内・外研究機関との共同研究推進

国内・外研究機関との、結核分子疫学分野における共同研究を更に推進し、フィリピンその他の東アジア諸国の研究機関を視野に入れた枠組みを展開することも考慮すべきである。また、SpolTBのような結核菌DNA指紋型情報バンク国際プロジェクトに日本代表研究機関として参入し、関係研究機関との共同研究を推進していくことも積極的に検討すべきである。更に、複十字病院との共同研究実施を積極的に検討すべきである。そのためには、結核研究所と複十字病院とで共同研究実施のための枠組みを確立し、「複十字病院結核菌株保存事業」を再開して、結核菌株の保存と患者情報の収集・管理を行う必要がある。

終わりに

上記の課題に対し研究内容をさらに検討して、今後の3年間の優先的、効果的課題を明確にしていく必要がある。そのためには適切な人員配置と予算確保も必要である。本プロジェクトは、関連研究機関や保健医療機関との連携を強化しつつ、国内・外で結核分子疫学分野における研究推進の牽引役を担わねばならない。結核研究所では、本プロジェクトにより結核分子疫学分野における知見が更に蓄積され、より効率的な結核対策実施のための貴重な情報が提供できるよう目指しているところである。