



Title	最近の結核のはなし
Author(s)	田丸, 亜貴
Citation	makoto. 2010, 150, p. 2-9
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/85723
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

最近の結核のはなし

大阪府立公衆衛生研究所
感染症部 細菌課

主任研究員 田 丸 亜 貴

はじめに

結核は結核菌群(*Mycobacterium tuberculosis complex*)が起こす感染症で、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」(感染症予防法)では2類感染症に分類されています。結核菌は全身のいたるところに病変を作る可能性があります。全体の90%以上が肺に病変をつくる肺結核です。肺結核が進むと痰の中に結核菌が排出されるようになり、咳や会話などで痰の飛沫が飛び散り、周囲の人がその飛沫を吸い込むことで感染が広がります。

結核はHIV、マラリアとともに世界三大感染症と言われています。世界では人口の三分の一が結核に感染しており、毎年920万人の新たな患者発生があり、170万人が結核で死亡しています。世界で結核の発生が多い22カ国の結核高負担国のうち、11カ国がアジア、9カ国がアフリカで、これらの国での結核発生が世界全体の8割を占めます。日本は結核

高負担国ではありませんが、WHOの定義では結核中蔓延国にあたります。現在でも、毎年、約2万5千人の結核患者が発生し、2千人以上が結核で死亡しています。「亡国病」とよばれていた昭和20年頃ほどではありませんが、結核は現在でも日本最大の細菌感染症なのです。

1. 日本の結核の現状

a) 日本の結核発生状況

患者が結核と診断されると直ちに保健所に届け出がされます。保健所は、登録者の年齢・性別・発見までの期間、菌検査の結果などの情報を結核登録者情報調査システムに入力し、国がこれらの情報を収集し月ごと、年ごとに集計します。このような集計結果を解析することにより、現在の日本の結核の現状や問題点が明らかになります。

2008年の日本の結核罹患率(人口10万人あたりの結核患者数)は19.4で、前年の19.8から減少しています。しかしながら、結核低蔓延国の定義である罹患率10以下にはまだまだ達していません。日本の結核発生には地域格差があり、表1に示すように、日本の結核罹患率の高い地域は全て大都市で、都市部での結核発生集中が問題となっています。最も罹患率の高い大阪市(50.6)と最も低い長野県(10.2)での罹患率の差は約5倍もあります。

表1. 2008年の罹患率の高い5地域、低い5地域

高い地域		低い地域	
大阪市	50.6	長野県	10.2
名古屋市	31.5	札幌市	11.0
堺市	28.9	山梨県	11.3
東京都23区	28.6	宮城県	11.4
神戸市	27.2	秋田県	11.6

表2. 全国、東京、大阪での結核状況

	新規患者数	60歳未満の患者(%)	塗沫陽性患者(%)	長期発見の遅れ*1
全国	24,760	36.2	39.6	11.4%
東京都	3,228	48.3	38.7	8.0%
大阪府*2	2,885	39.3	43.1	17.1%

*1: 症状があらわれてから診断されるまでが3カ月以上

*2: 政令指定都市含む

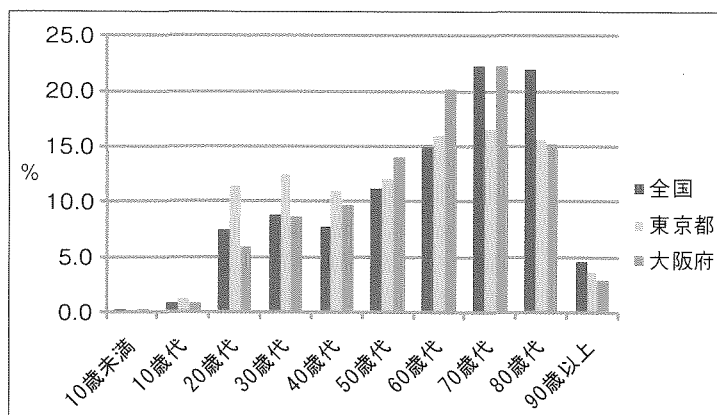


図 1. 2008年の結核患者年齢分布

b) 都市部での結核問題

都市部での結核発生集中の原因は、それぞれの都市において異なる可能性があります。

東京都と大阪府は両地域の人口を併せると全国の約17%になる二大都市ですが、結核患者数の合計も全国の約4分の1を占め、結核発生においても二大都市となっています。しかし、結核状況は両都市で異なります(表2)。

東京都では60歳未満の結核患者が多いのが特徴です。結核患者年齢分布(図1)をみると、全国、東京都、大阪府ともに70歳代にピークがあり、30歳代に2番目のピークがありますが、東京都では70歳代のピークが低く、30歳代のピークが高くなっており、二峰性に近い年齢分布になっています。このことから、東京都では、結核に対する認識が薄い若い年代に対する結核対策が重要となります。一方、大阪府では周囲への感染源となりうる塗沫陽性患者が多いうえ、「発見の遅れ」(症状が現れてから結核と診断されるまでの期間)が3カ月以上の長期にわたる事例が多いです。大阪府の年齢分布は20～30歳代と70歳以上は全国と同様ですが、40～60歳代の働き盛りを中心とした年齢層での結核患者発生が目立ちます。大阪では職場を中心とした結核患者の早期発見をめざした結核対策が重要です。

都市部では、社会的弱者の結核の多さも問題となっています。社会的弱者とは路上生活者、生活保護受給者などの生活困窮者、外国人移住者、単身高齢者など社会的不利益を持つ人たちを指します。全国の結核患者のう

ち4割以上が社会的弱者で、都市部では生活困窮者と外国人移住者が結核患者の約四分の一を占めていると報告されています。都市部の結核対策には感染症としての対策だけでなく、社会的弱者への社会的取り組みも必要です。

2. 薬剤耐性結核の問題

a) 多剤耐性結核とは

現在の結核の標準的な治療は、抗結核薬のうち2～4剤を使った6ヵ月間の多剤併用療法です。標準療法に使用される抗結核薬のうち、リファンピシン(RFP)とイソニアジド(INH)がもっとも強い抗結核作用を持っていますが、これら二剤に耐性を持つ結核菌を多剤耐性結核菌と呼びます。多剤耐性結核に罹ると化学治療による治癒が非常に困難になります。日本の結核全体の結核治癒率は8割以上ですが、多剤耐性結核では外科療法した例も含めても治癒率は50%程度です。また、多剤耐性結核菌のうち、その治療に用いられるニューキノロン系抗生剤(フルオロキノロン、レボフロキサシンなど)の1種類以上と、注射可能な抗結核薬(カナマイシン、アミカシン、カプレオマイシン)のうち1種類以上に耐性のある菌を超多剤耐性結核菌と呼びます。超多剤耐性結核は化学療法が事実上不可能となってしまいます。

b) 多剤耐性結核の発生状況

多剤耐性結核の発生率の世界平均値は初回治療例で1.1%、既治療例で7.0%と報告されています。日本での発生率は世界の平均値を比べて初回治療例では低いですが、既治療例では高いです(表3)。日本の超多剤耐性結核の発生率は初回治療例で0.2%、再治療例で2.9%と低いですが、多剤耐性結核のうち超多剤耐性結核が占める割合は、初回治療例で31.3%、再治療例で30.8%と他の国と比べて非常に高くなっています(表4)。当研究所で多剤耐性結核菌74株について調査したところ、そのうち36株(48.6%)が超多剤耐性結核で、他の38株の中でもRFPとINHの2剤だけに耐

表3. 日本での主要抗結核薬に対する耐性出現率

	初回治療	再治療
イソニアジド	2.8%	18.9%
リファンピシン	1.0%	11.0%
エタンブトール	0.9%	8.4%
ストレプトマイシン	7.0%	14.4%
多剤耐性	0.7%	9.8%
超多剤耐性	0.2%	2.9%

結核療法研究協議会2002年調査による

性の株は8株(10.8%)しかなく、30株は他の薬剤にも耐性を持っていたことがわかりました。このように、日本の多剤耐性結核については、発生率はそれほど高くはないけれども高度に耐性化していることが問題です。

結核菌の薬剤耐性は染色体遺伝子の突然変異により一定の率で発生します。結核を一剤だけで治療すると、その薬剤に耐性の菌が増殖してしまいます。続けて他の薬剤を一剤だけ使って治療すると、さらに多くの薬剤に耐性な菌が発生してしまいます。したがって、単剤治療などの不適切な化学療法、結核菌の薬剤感受性を無視した化学療法、投薬中断などが薬剤耐性結核菌発生の原因となります。再治療例の多剤耐性結核はこのようにして発生したものです。表3の再治療例での多剤耐性発生率(9.8%)は結核療法研究協議会の2002年の調査の結果で、前回の1997年の調査結果の19.7%より大きく減少しています。この減少は、結核標準治療法の徹底や服薬支援などの結核対策の効果の表れと考えられます。

再治療例の多剤耐性発生率が減少する一方、初回治療例の発生率は1997年が0.8%でしたので横ばい状態です。初回治療例の多剤耐性結

核は、多剤耐性結核や超多剤耐性結核の患者とどこかで接触し感染した結果発生します。かつて、多剤耐性結核は薬剤感受性結核菌より増殖力が弱く、ヒトからヒトへ感染しないと思われていました。しかし、近年では結核菌遺伝子型別により感染源を科学的に証明することができるようになったため、多剤耐性結核菌や超多剤耐性結核も感染することが証明されています。日本では、ある結核療養所で1人の患者から5名に多剤耐性結核菌が感染した事例が報告されています。また、当研究所で調査した事例のなかにも多剤耐性結核による家族内集団感染が見られました。初回治療例の多剤耐性と超多剤耐性の発生率は割合としては低いように思われますが、日本の結核患者発生数から考えると毎年170人以上の多剤耐性結核患者と50人近い超多剤耐性結核患者が発生していることになります。多剤耐性結核や超多剤耐性結核の増加を防ぐために、薬剤耐性のサーベイランス調査や遺伝子型別による広域での感染源調査など新たな対策による監視や感染拡大の防止が必要です。

現在、既存の抗結核薬とは異なる薬剤作用部位を持つ新規抗結核薬が複数開発されつつあり、臨床試験段階に入っている薬剤もあります。また、既存の抗生剤のうちこれまで結核治療薬として承認されていない薬剤による耐性結核治療の試みもなされています。将来には超多剤耐性結核にも有効な化学療法が可能になるかもしれません。

3. 結核の診断、検査

結核発見の方法は、自覚症状により医療機関を受診するケースが6割と最も多いですが、職場や学校などの定期検診や結核患者が発生

表4. 世界の多剤耐性結核、超多剤耐性結核の頻度(2000-2004)

地 域	総検査菌株数	多剤耐性結核*	超多剤耐性結核**
先進国	2,499	821 (32.8)	53 (6.5)
中央、南アメリカ	985	543 (55)	32 (5.9)
東ヨーロッパ、西アジア	1,153	406 (35)	55 (13.5)
アフリカ、東地中海	665	156 (23)	1 (0.6)
アジア	391	274 (70)	4 (1.5)

*: () 内は総検査菌株数に対する%

** : () 内は多剤耐性結核に対する超多剤耐性結核の%

MMWR. 55.301-305, 2006より

した際の接触者検診でも1割以上が発見されています。検診による結核患者発見は非常に重要で、小児結核の50%以上は接触者検診で、20～49歳の1/5～1/4は職場定期検診で発見されます。

結核が疑われるケースでは、自覚症状や接触歴の有無、画像診断、血清診断、菌検査などにより結核の確定診断が行われます。画像診断（胸部レントゲン検査、CT、MRIなど）は結核発見、診断において重要ですが、結核の確定診断には菌検査による結核菌検出が必須です。菌検査では塗抹検査、培養検査、結核菌の同定が診断のために必要な検査で、適切な治療のために薬剤感受性検査も必須です。

a) 塗抹検査

菌検査の中で最も迅速かつ簡便なうえ、喀痰中の結核菌の存在やその量を検査できるので患者管理や接触者対策にも必要な検査です。検査材料は主に喀痰ですが、喀痰が得られない場合には気管支洗浄液などを用います。肺外結核を疑われる場合には生検組織、膿、体腔液などを用います。喀痰を用いる場合は唾液や鼻汁ではなく膿性部分が含まれる良質の喀痰を用いることが検査感度をあげるために重要です。喀痰は蛋白分解酵素セミアルカリプロテアーゼによる溶解均等化とN-アセチル-L-システイン・水酸化ナトリウム法による汚染除去などの前処理を行い、遠心分離にて集菌して塗抹検査に供します。染色方法はチール・ネルゼン法と蛍光法が用いられています。塗抹検査は重要な検査ですが、塗抹検査陽性＝結核ではありません。塗抹検査では喀痰中に結核菌以外の抗酸菌やその他の抗酸性を有する細菌が存在する場合にも陽性になります。塗抹陽性の検体は核酸増幅による結核菌の同定を行う必要があります。また、塗抹陽性になるのは喀痰中の菌量が約7000個/ml以上の場合で、それ以下の菌量では培養検査の結果を待つ必要があります。

b) 培養検査

培養検査は結核菌検査の中でもっとも感度が高く、分離された菌はその後の薬剤感受性検査や遺伝子型別にも用いられるため重要な検査です。しかし、判定に長期間かかるのが難点で培養陰性の判定までには8週間かかります。結核菌の培養には、液体培地

あるMGIT、7H9、固形培地である小川培地、7H11等が用いられます。液体培地は固形培地に比べ検出までの日数が短く検出感度が高いですが、非結核性抗酸菌やその他の細菌との混合感染を見逃す可能性があります。また、液体培地と小川培地の併用は液体培地単独よりも検出感度が上がると報告されています。そのため、培養検査には液体培地と固形培地の併用が推奨されます。

c) 結核菌同定検査

非結核性抗酸菌のなかには結核と同様の肺病変をおこす菌があります。結核とは異なり通常はヒトからヒトへの感染はおこさないため届け出の必要はありません。また、結核とは異なる化学療法が必要です。そのため、塗抹検査、培養検査で検出された菌は結核か非結核性抗酸菌かを同定する必要があります。

現在用いられている同定方法は、結核菌に特異的な遺伝子を増幅して検出する核酸増幅法、培養で検出された菌について結核菌特異的菌体外分泌蛋白MPB64を検出する免疫クロマトグラフィー法があります。核酸増幅法には現在、リアルタイムPCRを用いたキットが販売されています。それに加えて、DNA抽出が簡便で必要機器の安価なLAMP法による結核菌検出キットも近いうちに販売されます。

核酸増幅法は6～8時間で結核の同定が可能ですので塗抹陽性患者の結核確定診断に有用です。しかし、死菌でも陽性に出ることがあるので、治療中の菌陰性化の判定に用いるには注意が必要です。また、核酸「増幅」という名称から非常に感度が高いとおもわれがちですが、感度は塗抹検査と同程度で培養検査には劣ります。したがって、塗抹陰性・核酸増幅法陰性の場合は培養検査の結果を待つ必要があります。免疫クロマトグラフィー法は培養で発育してきた菌体が必要ですが、15分で同定可能で検査に特別な機器や設備はいりません。液体培地での培養検査と組み合わせることにより早期の結核確定診断に有用な検査です。

d) 薬剤感受性検査

多剤耐性・超多剤耐性結核の発生防止や治療長期化による患者負担を軽減するため、薬剤感受性試験結果に基づいた正しい化学療法

が必須です。結核菌の薬剤感受性試験方法には、小川培地を用いた比率法（小川培地比率法）、MGIT液体培地を用いた方法（MGIT 960 AST、液体培地を用いた微量液体希釈法（プロスミックMTB I））があります。

小川培地比率法は日本での結核菌薬剤感受性試験の標準法でRFP、INH、ストレプトマイシン（SM）、カナマイシン（KM）、エタンブトール（EB）、エンビオマイシン（EVM）、エチオナミド（TH）、サイクロセリン（CS）、パラアミノサリチル酸（PAS）の9薬剤に対する感受性を検査できるうえ、薬剤含有培地に発育した菌のコロニー性状を確認できるので雑菌や非結核性抗酸菌の混入による感受性誤判定を防ぐことができます。しかし、判定までに3～4週間必要で日常検査法としては不向きです。

MGIT 960 ASTは自動検出器を使用するため4～13日という短時間で感受性判定が可能ですが、対象薬剤はINH、RFP、SM、EB、ピラジナミド（PZA）の5薬剤です。

プロスミックMTB Iは最小発育阻止濃度を測定する方法で、判定までは7～10日、対象薬剤はINH、RFP、SM、KM、EB、レボフロキサシン（LVFX）、スパフロキサシン（SPFX）、シプロフロキサシン（CPFX）の8薬剤です。MGIT 960 ASTとプロスミックMTB Iは液体培地を用いていますので、雑菌や非結核性抗酸菌の混入による誤判定には注意が必要です。特に液体培地で培養検査をした場合、結核菌の同定で陽性となっても非結核性抗酸菌が混ざっていることがあります。非結核性抗酸菌の多くは抗結核薬に耐性を示すので、このような培養陽性検体をそのまま使うと正しい薬剤感受性結果が得られません。液体培地による薬剤感受性試験を行うときは、固形培地への菌液接種を同時に行い発育コロニーの観察を行うか、パラニトロ安息香酸（PNB）培地（結核菌群は発育陰性）への菌液接種により非結核性抗酸菌が混入していないことを確認することが望まれます。

小川培地比率法と液体培地による感受性試験法の結果はよく一致すると報告されていますが、小川培地比率法でINH感受性と判定された株の2.9%はMGIT 960 ASTではINH耐性と判定され、それらはINH耐性に関与する

遺伝子変異を持つ株であったという報告があります。小川培地INHは潜在性結核の治療薬として用いられるため、INH耐性検出は確実に行う必要があります。INH耐性検出には液体培地による感受性試験を実施する方がよいのかもしれません。

e) 結核感染の診断

結核の場合、感染者のうち発症してしまうのは約1割です。感染者がINHを半年間服薬すると発症を予防することができます。予防効果は50～80%で、効果は一生続くといわれています。感染症予防法では、結核は発症していませんが感染している状態を「潜在性結核症」と呼び、INHによる予防投薬は「潜在性結核の治療」として公費で行われます。結核の感染は排菌陽性患者に接触すると起こりますが、排菌の程度、接触の長さ、接触があったときの環境などにより感染するかどうかが決まります。そのため、結核患者が発見されると、接触者に対して保健所が検診を行い、胸部エックス線写真による発症者の発見および感染者の発見を行っています。

結核感染の診断法にはツベルクリン反応とクォンティフェロン[®]（QFT）があります。ツベルクリン反応はこれまで長い間結核感染診断に用いられてきた方法で、結核菌の培養液をろ過・加熱精製した液を皮内に注射し、48時間後での注射部位の発赤や硬結の程度で感染を診断します。しかし、日本では生後6カ月未満でのBCG接種が義務付けられているため、BCGに対する免疫により陽性反応を示すことのあるツベルクリン反応では結核感染を正確に診断することができませんでした。

QFTはBCG接種の影響を受けない特異性の高い結核感染診断法で、結核菌特異抗原・陰性コントロール・陽性コントロールをそれぞれ採血した全血に添加して培養し、結核特異抗原添加血液と陰性コントロール添加血液で産生されるインターフェロン γ 量の差から結核感染を診断します。これまでは結核特異抗体としてESAT-6とCFP-10を用いたQFT TB-2Gが使われていましたが、次世代のQFT TBゴールドも診断試薬として認可され販売されています。QFT TBゴールドは結核特異抗体にTB7.7を加えた3種類を使っており、QFT-2Gより感度が高くなっています。

また、結核特異抗体、陰性コントロール、陽性コントロールはあらかじめ専用採血管に添加してあるため、採血から血液培養開始の手順が簡単になっています。

結核感染後、QFTが陽性になるまでの期間はツベルクリン反応と同様に8～10週間と考えられており、「結核接触者検診の手引き」でもQFT検査は結核患者との最終接触から8週間以上経過した後に実施するよう書かれています。ツベルクリン反応と異なり、QFT検査は2回実施しても前回の影響をうけることはありません。接触歴等で感染が強く疑われるのにQFT検査が陰性のケースでは8週間以上空けて再検査の方がよいでしょう。

QFTの感度は100%ではありません。結核研究所が実施した調査ではQFT TB-2GとQFT TBゴールドの感度はそれぞれ81.4%と92.6%報告されています。ですからQFT検査が陰性でも感染していないとはかぎりません。QFT検査が陰性であった接触者にも今後結核を発症する可能性があることを説明し、経過観察などを行う必要があります。

4. 結核菌の遺伝子型別

学校や職場など種々の集団だけでなく、サウナやネットカフェなどの不特定多数が集まる場での結核集団感染がたびたび報道されています。結核集団感染は「1人の感染源が2家族以上にまたがり20人以上に感染させた場合を言う。ただし発症者1人は感染者6人とみなして感染者数を数える」と定義され、定義をみたす事例は国に報告することになっています。

「1人の感染源からの感染」を証明するには、結核菌の遺伝子型別が必要です。結核菌の遺伝子型別は1990年代のはじめから発展し、現在では結核集団発生の感染源調査だけでなく、地域内で分離される結核菌の網羅的な遺伝子型別による隠れた集団感染の発見など結核感染拡大防止の重要なツールとなっています。また、結核遺伝子型別結果の集積により、他の結核菌よりも感染力や薬剤耐性化傾向の強い結核菌の系統を推測することができるようになっています。

a) Restriction fragment length polymorphism (RFLP) 分析

結核菌の遺伝子型別法として、1990年代半

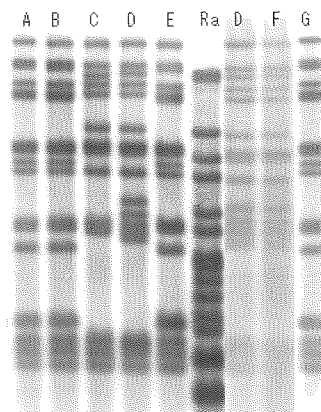


図2. RFLP分析法による結核集団発生の感染源調査
A～G：結核患者由来株
Ra：結核菌標準菌株H37Ra

ばから世界的に用いられた方法です。RFLP分析法は結核菌染色体遺伝子に特異的に存在する挿入配列IS6110の数と位置を図2に示すようなバンドパターン（RFLPパターン）として見えるようにした方法で、バンドの数がIS6110の数、位置の違いが菌株によるIS6110挿入部位の違いを示します。

図2はRFLP分析法による結核感染源調査の有用性を示す事例で、初発事例はA、その接触者調査でAの家族であるB、Aの友人であるEとG、Eの親戚のD、Dの友人FとCの合計7名の患者が発見されました。RFLP分析法で患者由来結核菌の遺伝子型を調べたところ、7株は3種類のRFLPパターンに分けられました（A, B, E, GとD, Fがそれぞれ一致、Cはまったく異なるパターン）。このことから、集団感染に思われた7名の結核患者発生には感染源が3類あったことが明らかになりました。図には示していませんが、初発患者発生から9年後にAの友人Hが発症し、H由来株のRFLPパターンはAらと一致しました。

結核は感染後2年以内に発症することがほとんどですが、感染後数年経って発症することもあります。RFLPパターンは安定性が高く2～3年でバンドの数や位置が1本変化する程度なので、感染後長期間経った場合でも感染源調査に使えます。RFLP分析法により結核集団感染の感染源の科学的根拠をもった特定が可能となり、患者の接触歴を証明しにくい事例での結核集団感染の確定や結核再感

表 5. VNTR 型別による結核感染源調査の例

事例	菌株	M4	M10	M16	M23	M26	M27	M31	M39	M40	E.A	E.C	E.F	V424	V1955	V2401	V3690	V4156	V2074	V2372	V3155	Q3336	Q1895	Q11a	Q11b	Q26	Q4120	発生
1	I	2	3	3	5	7	3	5	3	3	4	4	3	4	4	4	3	3	3	4	4	7	4	5	5	8	8	職場内
	J	2	3	3	5	7	3	5	3	3	4	4	3	4	4	4	3	3	3	4	4	7	4	5	5	8	8	
2	K	2	3	3	5	7	3	5	3	3	4	4	3a	4	4	4	4	3	3	4	4	7	4	8	5	8	10	施設内
	L	2	3	3	5	7	2	5	3	4	4	4	3	4	3	2	3	4	3	4	4	7	4	8	8	10	13	
	M	2	1	3	6	7	3	5	3	4	4	4	3	4	3	4	2	5	2	5	4	7	4	9	6	8	12	
3	N	2	3	3	5	7	3	5	3	2	1	4	3	4	3	4	3	5	4	2	4	4	7	8	7	10	8	家族
	O	2	3	3	5	7	3	5	3	2	1	4	3	4	3	4	3	5	4	2	4	4	7	10	7	10	8	
4	P	2	3	3	5	7	3	5	3	3	4	4	3	4	5	4	3	5	4	2	5	4	7	5	7	10	6	家族
	Q	2	3	3	5	7	3	5	3	3	4	4	3	4	5	4	3	5	4	2	4	4	7	5	7	10	6	

事例 1 は VNTR 型が一致しているので同一感染源由来、事例 2 は一致しないので集団感染ではない
事例 3, 4 は挿入数変化の激しい多型配列部位のうち 1 か所だけの相違なので同一感染源由来と考える

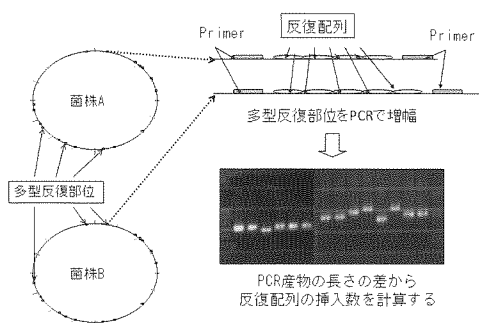


図 3. VNTR 型別法

染による発症の証明がなされました。

結核感染源調査の重要な検査となった RFLP 分析法ですが、検査に必要な量の結核菌を得るための培養時間や検査時間が長期にわたるため、結核診断から RFLP 分析結果が判るまでに 1～3 ヶ月かかること、結果が画像なので複数の施設間での結果の比較が困難であること、RFLP パターンのバンド数が 1～6 本の結核菌株ではパターンの一致による同一菌株の証明がしにくいこと、など実用上の限界がありました。

b) Variable number of tandem repeats

(反復配列多型法：VNTR 型別)

VNTR 型別は、迅速で比較の容易さにすぐれるため、近年 RFLP 分析法に替わって用いられるようになった結核菌遺伝子型別法です。

結核菌染色体遺伝子上には、50～100 塩基対の短い配列（反復配列）が複数繋がった反復配列部位が多数あり、そのなかには菌株ごとに反復数が異なる部位（多型反復部位）があります。多型反復部位を PCR で増幅すると、PCR 産物の長さは反復数によって異なり

ますので、電気泳動によりその長さを測定し反復数を計算します（図 3）。それを反復配列部位の順に並べたもの（表 5）を VNTR 型やアリルプロファイルとよびます（ここでは VNTR 型とします）。

VNTR 型別は PCR を用いた方法ですので、検査に必要な菌量は極わずかで塗沫陽性喀痰、液体培地に発育した菌、死菌なども材料として用いることができます。また、VNTR 型は数列で示されますので、多数の菌株の遺伝子型の比較は市販の表計算ソフトやデータベースソフトで容易に行えます。

VNTR 型別を結核感染源調査に用いるには十分な解析能が必要ですが、解析能が高すぎると集団感染を見逃す恐れがあります。VNTR 型別の最適な多型反復部位の組み合わせは種々の論文で報告されています。

RFLP 分析での結果から大阪府で分離される結核菌株は遺伝的類似が高いことがわかっていましたので、当研究所では現在は表 5 に示す 26 箇所の多型反復部位を用いて VNTR 型別を実施しています。この方法で RFLP パターンの異なる株は異なる VNTR 型を示すこと、類似性の高い RFLP パターンを示す結核菌株は患者接触歴に比較的一致した群に細分できることを確認しています。

VNTR 型別の安定性については明らかではありませんが、当研究所で患者接触歴と RFLP 分析から集団感染と同定された多くの事例について VNTR 型別したところ、ほとんどの事例では表 5 の事例 1 のように VNTR 型も完全に一致しましたが、12.5 % で 26 箇所の多型配列のう

ち1箇所に入数差の差がみられました(表5、事例3、4)。集団感染事例で挿入数差の見たのは、挿入数変化が激しい多型配列部位でした。RFLPパターンの異なる菌株では表5の事例2のように複数箇所での挿入数の相違が見られました。このことから、接触歴が明らかなケースでは、挿入数変化の激しい多型配列部位のうち1箇所で挿入数が異なっている同一感染源由来とみなしています。

c) VNTR 型別の結核対策に対する有用性

VNTR型別はPCRを用いますので結果を迅速に得ることができます。VNTR型別のこの迅速性は結核対策に大きなメリットをもたらしました。大阪府では結核感染源調査時には検体搬入後1～3日でVNTR型別を実施し、結果を保健所に報告しています。保健所では集団発生が集団感染なのか否かを迅速に判断でき、遺伝子型別結果を接触者健診実施の是非や健診範囲決定の材料に使えるようになりました。また、初発患者が薬剤耐性結核である場合には、VNTR型別結果が続発患者および潜在性結核患者の治療薬選択に役立つようにもなりました。このようにVNTR型別を用いることにより、結核感染源調査は単なる確認検査でなく感染拡大防止に繋がる有用な手段となりました。

2008年改定の「結核接触者検診の手引き」では、「結核菌検査情報(薬剤感受性や遺伝子指紋型)が積極的に収集されている地域において、疫学的に関連付けられる同一菌株による患者の多発が疑われる場合」には集団感染対策を検討する必要があると指示されています。当研究所ではVNTR型別の結果をデータベース化しており、新たに型別した結果は直ちに過去のVNTR型と照合し、VNTR型の一致した菌株が発見されれば管轄保健所に報告して、患者接触歴の調査をお願いしています。

しかし、VNTR型が一致する患者の発生時が半年～数年隔たっている場合が多く、患者登録票のデータによる接触歴の確認はほとんどできていません。登録時の聞き取りデータを増やして行動調査を強化することや再聞き取り調査実施など、感染源特定に繋がる積極的疫学調査の整備が望まれます。

d) VNTR 型別のさらなる活用のために

近年、結核菌を遺伝子の特徴から大きく分

類する遺伝系統分類についての研究が進み、日本で分離される結核菌の約70%が北京型と呼ばれる結核菌株であることが判りました。北京型結核菌株をさらにいくつかの群に分類した研究では、遺伝的な特徴により、日本の若年結核患者から高率に分類される群、多剤耐性結核から高率に分類される群など、疫学的特徴があることが報告されています。

このように結核菌の遺伝的特徴と疫学的特徴を併せて調査していくことで、将来には、遺伝子型からその菌の危険性を予測し、その危険性に基づいた治療や結核対策ができるのではないかと期待されています。

遺伝的特徴と疫学的特徴の調査のためには、地域で分離されたすべての結核菌をVNTR型別し、年齢・居住地域など患者情報、薬剤感受性などの菌情報と併せて調査研究する結核菌遺伝子型サーベイランスシステムが必要です。結核菌遺伝子型別に最も重要なことは菌株の確保と保管です。サーベイランスシステムと菌株確保のいずれにも、保健所、医療機関、行政、研究所など関係機関の連携と予算が必要です。結核の積極的疫学には2007年の感染症法の改正により法的根拠もあたえられていることから、地域での結核菌遺伝子型サーベイランスシステムの事業化が望まれます。

自治体をまたいだ集団発生事例におけるデータの共有や全国レベルでの結核遺伝子型データベース構築もVNTR型別ではRFLP分析に比べて容易です。その実現のために、VNTR型別法の標準化、精度管理の検討に関して、引き続き研究を進めることが重要です。

おわりに

この数年間で、結核感染診断へのQFTの導入や、新しい結核遺伝子型別VNTR法による結核菌分子疫学など、結核対策を進める上で有用な技術的進歩がみられました。保健所、病院での服薬支援などの対策も進んでおり、現在のところ、日本の結核は少しずつですが減少し続けています。しかし、都市部では罹患率が高く、結核への対策がゆるめば1997年のように結核増加に転じてしまいます。結核は日本最大の細菌「感染症」であることを忘れずに対策を続けなければいけません。