

## 抗酸菌感染症の分子疫学

桑原克弘 斎藤琢磨 渡辺 靖 土屋俊晶

**要旨** 肺結核症では、結核菌の遺伝子多型マーカーを用いた RFLP 分析が広く疫学調査に応用されている。菌株の異同を判別することで集団感染や小規模感染の広がりを把握することが可能で定期外健康診断の範囲を決定する判断要因となる。とくに当院で経験した老人施設と基幹総合病院での集団感染では RFLP 分析がその全体像の把握に大きな力を発揮した。さらに全国レベルでの感染菌株のクラスター分析などの大規模調査にも有用であると考えられる。

また非結核性抗酸菌症は感染経路を含めた疫学的分析がほとんど行われておらず感染様式は不明な点が多い。私たちは最も頻度の高い *M. avium* 症の分子疫学的研究も行い報告してきた。その結果、家族内感染がないこと、多クローン性の再感染・重感染がまれではないこと、臨床病型によって多クローン性感染の頻度が異なり、中葉舌区型に多いことが示された。非結核性抗酸菌症の病態把握にも分子疫学的手法は有用である。

(キーワード：抗酸菌症，結核，集団感染，分子疫学，RFLP 分析，多クローン性感染)

## Molecular Epidemiology of Mycobacterium Infections

Katsuhiko Kuwabara, Takuma Saito and Toshiaki Tsuchiya

## はじめに

結核症では各種の疫学分析をするうえで同一の菌株による感染かどうかを判定することはきわめて重要な情報になる。近年の遺伝学的研究の進歩により遺伝子分析による菌株の異同の判別が可能になっており、集団感染・小規模感染事例の判定や地域集積性の検討といった疫学的な分析が広く行われている。当院でも *IS6110* を用いた制限酵素断片長多型 (restriction fragment length polymorphism: RFLP) 分析を行い日常的な診療に役立てている。実際の臨床の場での自験例を提示してその有用性を示したい。

また増加傾向にある非結核性抗酸菌、とくに *Mycobacterium avium-intracellulare* complex: MAC 症の分子疫学分析も可能となってきている。病因論的に結核と大きく異なる重感染・再感染の重要性を示唆する知見を得られたのであわせて解説する。

*IS6110*を用いた結核菌の RFLP 分析法

*IS6110* は結核菌染色体上にランダムに存在する挿入断片でこの配列の一部をプローブとしてサザンハイブリダイゼーション法を行うとバーコード状に結核菌固有の遺伝子パターン (遺伝子フィンガープリント) が判別される。手順としてはすでに標準化されており、1) 結核菌からの DNA 抽出、2) 制限酵素による切断と電気泳動、3) プローブラベルとサザンハイブリダイゼーション、4) 非アイソトープによる検出となる。フィルム上でバーコード状のパターンを比較して異同を判定する。

## 肺結核における RFLP 分析の実際

RFLP 分析はとくに集団感染において患者由来の菌株が同一菌株かどうか判定する有力なツールとして使われている。集団感染以外にも小規模感染において同一菌かどうかの判定や、院内・施設内発症時に院内感染かそれぞれ別の偶発の発症かの判定によく使われ、検診範囲の

国立病院機構 西新潟中央病院 呼吸器科

別刷請求先：桑原克弘 国立病院機構 西新潟中央病院 呼吸器科

新潟市真砂 1-14-1

(平成17年8月30日受付)

(平成18年1月20日受理)

決定の大きな基準となる。さらに薬剤感受性が予測と異なるといった予想外の検査結果がでた場合に検査室内での菌株の他検体への混入かどうかの確認などに使われることもある。また全国的規模での感染菌株によるクラスター形成の確認などの大規模な比較には spoligotyping といった手法とあわせて検討されることが多い。

新潟県における集団感染例での RFLP 分析の実際

実際に私たちが行った新潟県での疫学分析の中でとくに2件の注目を浴びた集団感染事例があった。その両者で RFLP 分析が集団感染の状況把握に大きく役立ったため以下にその詳細を記載する

(1) 特別養護老人ホームでの高齢者の集団感染

従来から高齢者結核はほとんどが陳旧性結核からの内因性再燃で外来性再感染は少なく集団感染はおこしえないという考えが広く信じられていた。しかし老人ホームでの大規模集団感染でこの考えを覆すきっかけとなる事例となった。1995年に82歳の発端者がくり返す肺炎の精査を行った結果、多量排菌の肺結核と診断された。その後、相次いで7例の肺結核患者が発見され、さらに接触者検診を継続したところ1995年末までに16例の入居者の発症が確認され治療を行った。一時終息したかにみえたが1996-1997年までにさらに発病者は増加し介護職員を含む計27例の発病をみた(図1)。これらの発病者の19例から得られた菌株に対し RFLP 分析(結核予防会結核研究所による)を行い、18例で同一菌と証明された<sup>1)</sup>。この結果から高齢者でも大規模な集団感染がおこりえること、結核の既往が明らかな例や陳旧性病巣を持つ例でも再感染をおこすことが示された。結核の既往がある例では結核免疫が成立し容易には再感染はおきないというのがいままでの発想であったが、高齢化により糖尿病・

悪性腫瘍・低栄養といった免疫抑制状態になる例が少ないことを考えれば当然の結果であった。しかし従来の手法では同一菌であることの証明が困難であったが、本事例では RFLP 分析で高齢者の外来性再感染が正確に証明された。また集団感染が2年以上にわたり継続したこともその後の集団感染対策を考えるうえで大きな参考になった。

(2) 基幹総合病院の悪性腫瘍病棟での集団感染

この事例の発端者は悪性縦隔腫瘍で首都圏の病院より出身地の新潟に紹介されている。すでに末期状態であったが精査で肺結核の合併が診断され、入院から13日目に転院している。その間に同室者から複数の結核発症があり、多くは悪性腫瘍合併者であったため発端者を含め4例の死亡を認めた。その中にはわずか1日の同室者もあり癌の化学療法などで免疫不全者の多い病棟で結核が発生するとき極めて危険であることが示された。その後、同一病棟の患者以外に医師やその医師の受け持ち患者の結核発症も認められた。これらの例に対し RFLP 分析を行い医師は集団感染であるが受け持ち患者は無関係の別の菌由来、おそらく内因性再燃であることが示された。さらに当初無関係と思われていた別の病棟担当看護師の感染菌も集団感染菌と同一であり、後の聞き取りで親族が短期間集団感染病棟に入院し、見舞いに行ったこと、同じく見舞いに来た看護師の兄弟が感染していることが明らかになり集団感染例と認定された(図2)。このように感染の範囲を決定するためにきわめて有用なツールになることが示された。この事例では免疫抑制状態では容易に感染・発病するという側面と短時間の面会等のわずかな接触で健常者にも広範囲に感染が拡大しやすい「ハイパー結核菌」とでも呼ぶべき菌株であることが示唆され、集団感染では菌と宿主の両者を検討する必要が

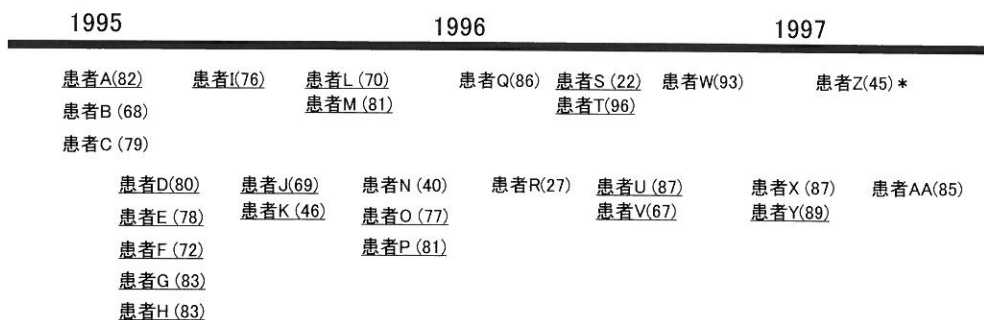
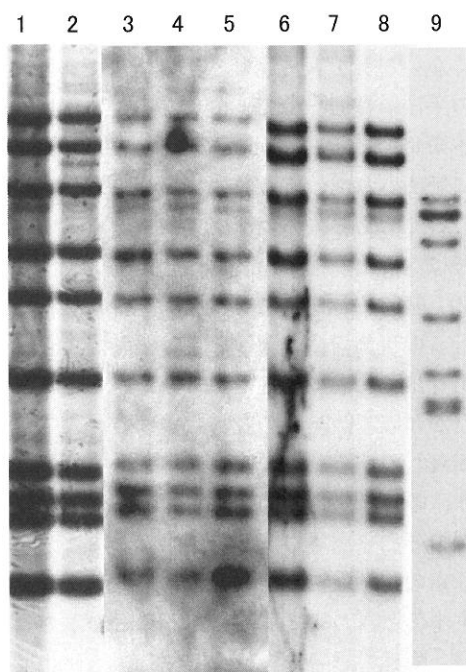


図1 特別養護老人ホームにおける集団感染

下線: RFLP分析で同一パターン  
 \*: RFLP分析で異なるパターン  
 (): 年齢



- 症例 1 : 44歳, 男性 悪性縦隔腫瘍  
 症例 2 : 51歳, 男性 肺癌  
 症例 3 : 72歳, 男性 肺癌  
 症例 4 : 75歳, 男性 多発性骨髄腫  
 症例 5 : 67歳, 男性 肺癌  
 症例 6 : 57歳, 男性 肺炎  
 症例 7 : 35歳, 女性 看護師  
 症例 8 : 36歳, 女性 医師  
 症例 9 : 76歳, 男性 症例 8 と接触あり

図 2 悪性腫瘍病棟での集団感染症例の RFLP 分析

あると考えられる。高度先進医療を行っている基幹病院での集団感染の危険性を改めて認識させられた事例であった。

これらの大規模集団感染以外にも高齢者施設での複数の発病で菌の異同を確認する依頼も多く、同一菌感染の比率も高く、RFLP 分析を行うことで接触者検診の幅を広げるかどうか決定する重要な要素になっている。

### MAC 症における分子疫学

結核菌と同様な手法で一部の非結核性抗酸菌症の RFLP 分析も可能となっている。とくに *M. avium* のみが持つ挿入断片 *IS1245* を用いた RFLP 法で同様に疫学分析が可能である。結核と異なり通常 MAC 症ではヒト-ヒト感染はないとされ集団感染はないと考えられている。多くは家庭の水回りや土壌、家畜などの環境から感染を受けると考えられているがその詳細は明らかではない。そこで臨床分離株を用いて家族内発病例やいくつかの臨床病型に分類してその感染様式を検討し報告してきたのでまとめて記載したい。

### *M. avium* 症の家族内発症例での検討

当院で経験した 3 家族 9 例からの分離菌株はそれぞれ異なり、従来考えられていたようにヒト-ヒト感染が一般的ではないことが示された<sup>2)</sup>。その中の 1 家族例では 85 歳の男性と 79 歳の妻の家族内発症例であったが異なる

菌株であることが確認された。加えてこの 2 例が非結核性抗酸菌と判明する前に同居していた 3 人の孫にあたる児童が胃液による結核検診を行われた。興味深いことに 3 例とも *M. avium* が培養され、すべて異なる菌株であった (図 3)。後に孫 3 名は発病していないことが確認され、口腔内や気道へのコロナイズと考えられるが、この家族では高度な *M. avium* の曝露を受けていることが考えられた。循環風呂などのとくに抗酸菌が繁殖しやすい環境要因はなかったが、ある種の家庭内環境では日常的に菌の曝露を受けている可能性が示された。

### *M. avium* 肺感染症での臨床病型別検討

これまでの研究で MAC 症では一部の症例で多クローン性感染である例が存在することが知られている。基本的に結核では単一の菌株が増殖して発症する単クローン性感染であることと比較すると大きな相違である。さらに MAC 症は臨床的に均一な疾患でなくいくつかの病型に分けられ、その病型で再感染・重感染の頻度が異なることを報告してきた<sup>3)</sup>。私たちは *M. avium* 症を肺結核類似型、中葉舌区型 (いわゆる nodular bronchiectasis 型)、結核後遺症にともなう気管支拡張症型 (以下結核後遺症型) の 3 病型に分類して検討した。肺結核類似型は結核のように主として上肺野に空洞性病変を認める病型で基礎疾患を持つ例に多い。中葉舌区型は中高年の基礎疾患を持たない女性に多い病型で緩徐に進行し、治療に抵抗

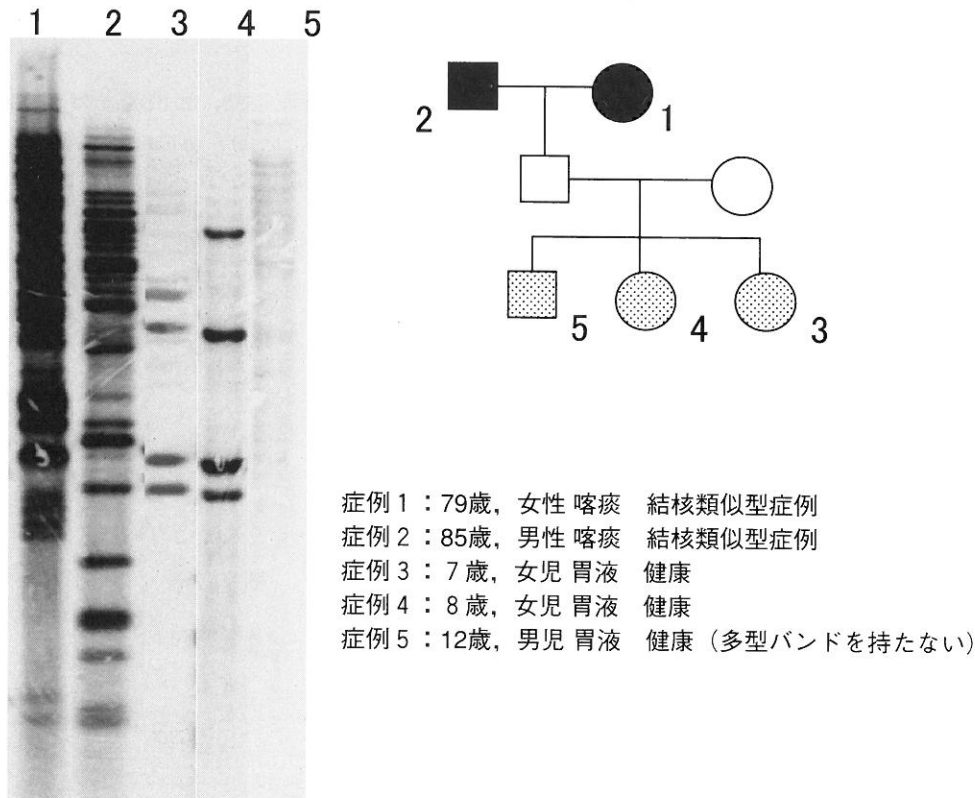


図3 夫婦の MAC 症例とその家族から得られた *M. avium* の RFLP 分析

表1 *M. avium* 症の臨床病型多クローン感染の頻度

病型	例数	性別	病変の主座	多クローン性感染例
結核類似型	3	女性 3	上葉	1 (33%)
中葉舌区型	4	女性 4	中葉, 舌区	3 <sup>a</sup> (75%)
結核後遺症型	5	男性 2, 女性 3	上葉	2 <sup>b</sup> (40%)

a : 3 例中 2 例は同時多クローンでありかつ経時的にクローンの交代も認めた b : 2 例とも 1 年以上の経過でクローンの交代を認めた

性という特徴を持つ。結核後遺症型は上肺野の陳旧性結核陰影のある部位に MAC が定着して発病する病型で経過の長い症例が多い。以上の 3 病型で検討すると表 1 のように肺結核類似型では単クローン性感染が多く、中葉舌区型では同時多クローン性感染や経時的にクローンが変化する例が多く認められ重感染・再感染の頻度が高いことが示された。結核後遺症型では一部多クローン性感染を認めたものの長期の経過の中で単クローンに収束しており、単クローンの長期持続感染例が多いことが想像される。

このように近年増加傾向にあるとされる中葉舌区型を中心とした MAC 症では多クローンによる重感染・再感染がまれではないことが推察される。病因論的に結核と

大きく異なり、病態によっては治療後の再排菌・増悪が単なる再発ではなく重感染・再感染でおきていることも考える必要がある。また治療上も薬剤感受性の変化などについて多クローン性感染の可能性を考えた対応が必要となる。

#### まとめ

結核症では RFLP 分析による疫学分析が可能となっており、実際の臨床現場での集団感染範囲の決定や全国レベルでのクラスター分析が広く行われて有用性が広く認められている。さらに非結核性抗酸菌症では病因論的アプローチに用いて新しい知見が得られており治療法への応用などのさらなる発展が期待される。

文 献

- 1) 近藤有好, 桶谷典弘, 桑原克弘ほか: 老健施設における結核の外来性再感染と思われる集団発生について. 結核 77: 401-408, 2002
- 2) 桑原克弘, 渡辺靖, 和田光一ほか: 肺 *Mycobacterium avium* 症の家族内発症例に対する IS1245 をプローブとした分子疫学的検討. 結核 79: 519-523, 2004
- 3) 桑原克弘, 渡辺靖, 和田光一ほか: IS1245 を用いた肺 *Mycobacterium avium* 症の臨床病型と多クローン性感染の関連についての分子疫学的検討. 結核 79: 39-46, 2004