

の病院を訪問した。訪問時には面接を行い、入院前の生活状況・入院中の不満・入院後の生活希望について情報収集を行った。以下に7例（Case6～12）の患者の詳細を示す。

【結果】

Case6 ; Fさん : 咳・痰がひどくなり、友人の勧めで社会医療センターを受診。その後、肺結核と診断され入院。入院直後は病院食が口に合わず、さらには歯がほとんどなかったこともあり、食事があまりすすまなかったようである。しかし、入院をしてしばらく経つと病院食にも慣れてきて、さらには入れ歯を作ることができたために、食事がすすむようになってきた。入院以前はインスタントラーメンを常食にしていたそうである。これは歯がほとんどなかったことと、収入源が特掃以外にほとんどなかったからだという。収入に乏しかったために、アオカン（野宿）又はシェルターで寝泊りすることが多かった。現金が入ったときにはドヤ（簡易宿泊所）に泊まったという。Fさんは「今の年齢になると、現場の仕事がほとんどない。逆に自分が現場の監督であれば自分使わない」と話し、退院後も収入源がほとんどないことを自覚していた。「退院後は福祉にかかりたい」と話していたために、「治療をまじめに継続していれば、福祉の手続きもスムーズに進む」と説明し、治療の継続を激励した。Fさんも「それじゃあ、もうちょっとがんばってみるわ」と治療継続の意思を示してくれた。又、Fさんは友人から医療機関を紹介されるまで、あいりん地域の医療機関や福祉資源についてよく分からなかったのも、「もしも知っていたのであれば自分で受診したかも・・・」と話していた。

Case7 ; Gさん : 10年前に糖尿病と診断されたことがあり、1～2年前から社会医療センターで糖尿病の治療を続けているうちに、咳がひどくなり呼吸困難を生じ、背中に痛みを伴ってきたことから胸部レントゲン検査をすることになり、肺結核が見つかり、入院に至る。1～2年前は65kgほどあった体重が、肺結核と診断された時には約50kgになっていたが、これは糖尿病によるものであるとGさんは考えていたようである。入院中、この方は抗結核薬によるものと考えられる身体症状に悩んだ。さらには病院食も口に合わず、45kgまで体重が落ちたという。しかしその後は身体症状も改善、病院食にも慣れてきて65kgまで体重が戻った。本人は「これ以上太ったらあかんなあ」とうれしそうに話していた。退院後の生活については、「もうそろそろ、わしも引退かなあ」と話しつつも、今までにやってきた鳶の仕事が続けたいと話す。しかしながら、「退院直後は体力的には厳しいやろうから、特掃にしばらく就労して様子を見て、体力を蓄えてからやりたい」と話す。よって、**特掃の切り替えを気にしていた（この方は3月が入院期間であった）。私は、NPO側と話し、入院継続のために病院において切り替えができるように配慮していただくことができたので、NPOより切り替えの手続き用紙に必要な用紙を預かり、病院訪問の際に手続きの代行を行ったところ非常に喜ばれた。そして、治療に専念するように促した。

**特掃の切り替え : 特掃の登録は1年間という期限がある。よって次年度も登録を希望する者は切り替え（更新）を行うために手続きを行う必要がある。この手続きは毎年3月に行われる。

Case8 ; Hさん : CR車健診にて要医療と診断され、入院に至った例である。当時はレント

ゲンの写真を見せられて説明を受けたが、あまり納得がいかなかったという。入院前には、入院生活に不安も感じていたという。しかしながら、入院後は食事はきちんと出るし、スタッフも親切にしてくれるので、「入院生活は天国だ」と話す。入院前はアオカンで主に生活。シェルターを利用したことはほとんどないそうである。退院後の生活については、特掃を続けたいと主張。今後の特掃にもとめることは、人数枠と回数の拡大と話す。Hさんは退院まで1ヶ月を切っていたこともあり、残りの治療継続にも意欲的であった。

Case9 ; Iさん : 咳・痰がひどかったためにCR車健診を受診した例である。CR車健診時に要医療と診断されて「病院に入院する必要がある」と言われたときは、「もう二度と戻れないのではないかと心配したという。しかしながら、入院をして抗結核薬による治療が始まってからは、異常な身体症状もあらわれず症状が改善したために、「入院をしてよかった」と話す。食事に関しては「自分の好きな物が出たときはおいしく食べられて、自分の嫌いな物が出たときはあまりおいしく食事ができなかったから、全体として食事はまあまあ」と話す。唯一のIさんの不満は、外出をしたいということであった。そこで、菌検査の結果しだいで外出許可が下りることを丁寧に説明し、治療の継続を促した。又、退院後は特掃の仕事をしたいと話したので、特掃の切り替えを代行したところ、とてもIさんは喜んだ。Iさんはこのことが最近とても気になっていたようであり、切り替えをするために病院を出ることも考えていたようである。面談の最後には、「外出の許可が出るようにならばいいわ」と話してくれた。

Case10 ; Jさん : 痰がひどく社会医療センターを受診し、後に肺結核症として入院に至った例である。入院前は現金があるときはドヤへ、ないときにはシェルターを利用していたそうである。仕事としては日雇いの仕事と特掃に行っていた。しかし、日雇いに関しては顔見知りの現場では雇ってもらえたが、その他の現場では雇ってもらえず、年をとるにつれ日雇いの仕事の回数は減っていったという。よって、最近では特掃が貴重な定期的な収入源であったという。最近、特掃の切り替えが気になっていたために今回の更新代行を喜んでいて、Jさんの結核に対する自覚は高く、「菌が出なくなっているけどまだ菌が肺の中に眠っているから薬を飲み続ける必要がある」と話していた。

Case11 ; Kさん : 持病である痔の治療のために社会医療センターに通院中、胸部レントゲンを撮り、肺結核が疑われ入院に至る。当時、自覚症状はなく、肺結核といわれたことに驚いたようである。入院時の生活はまあまあと話す。特掃に登録していたが、大阪市外へ仕事に行くことが多かったという。退院後にしたいことは、痔の治療継続と特掃と話す。退院後の体力では今までのような大阪市外への仕事は困難であることをKさんは自覚していて、「退院後しばらくは特掃だけが唯一のつなぎ」と話す。よって、更新代行をすると、非常に喜び「これで治療に専念できる」と話していた。特掃でしばらく就労した後は、これまでやってきた仕事に戻りたいという。

Case12 ; Lさん : 咳症状がひどくなり、病院を受診した際に、肺結核を疑われ入院に至る。入院前は現金があればドヤ、ないときにはアオカンをしていたそうである。シェルターの利用はなかったようである。Lさんは「もう65才を超えているし、働けない」と話を

し、退院後は福祉を受けることを希望しているようであった。そこで、治療をまじめに継続していれば、福祉の手続きもスムーズに進むことを繰り返し説明し、まずは入院治療を継続することを促した。

【考察】

2006年に特掃従事者において肺結核患者と診断されたCase（CR車健診で発見されたCaseのみならず、CR車健診以外で発見されたCaseについても）が入院している病院を訪問し、面談を行うことで治療継続を支援した。

治療の継続支援においては、個人個人に合わせた傾聴を重視した。なぜならば、彼らは許可が出るまでは病院を外出することが許されず、非常に暇でストレスのかかる環境下にあるからである。さらには、そこに薬の副作用や退院後の生活等の不安が重なってくると無断外出・酒・入院患者同士のトラブルにつながり、最終的に自己退院・強制退院への道をたどる。ゆえに、病院訪問の際に面談を行い、積極的傾聴を行うことは治療継続の面で大きな役割を果たしていると考えられる。さらに、治療継続支援のために彼らの心の不安を取り除くように努めた。その1つの例が、特掃の切り替えである。特掃に登録している者は収入に乏しく、主たる収入源が特掃であるという方が多い。よって彼らにとって特掃とは命をつなぐ貴重な場所であり、次年度への更新とは、命の掛け橋のようなものである。昨年はこの時期に切り替えを目的とした自己退院が起こったために、今年は事前にNPO側と協議し、そういった自己退院が起こらないようにしようということで合意した。そして私が更新を病院において代行するという方法を導入することができた。これは入院患者に非常に喜ばれ、個人的には大成功であったと思っている。彼らがこれにより治療を継続し、治療を最後まで終了してくれることを望むばかりである（2006年に発見されたCaseの多くが10月下旬～12月末にかけて発見されたために、この報告書を作成している時期にはほとんどの患者が入院している状態である。したがって、入院継続支援により治療を継続し、その後治療を終了した者の実数は、2007年度の学会、又は会議等で報告させていただく予定である）。

今回、例として記載した7例の患者であるが、これら7例中、5例はCR車健診以外で発見されたCaseであった。これらの5人に「どのようにして肺結核症が発見されたのか」について情報収集を行ったところ、5人中4人（80%）が咳・痰の症状がひどくなって自ら医療機関を受診、又は他疾患で通院中にその症状を訴えたということであった。そして、彼らに共通していたことは「自覚症状がないときも定期的に健診を受診して、病気を早期に発見し、早期に治療する。そして早期発見・早期治療をすれば症状の回復も早い」ということを十分に理解していないということであった。したがって、今後は全ての特掃従事者に早期発見・早期治療のために定期的な健診を受診する重要性を普及していく必要があると考えられる。そこで、NPO釜ヶ崎において、NPOのスタッフ、有志の医療従事者とともに健康班を立ち上げ、「健康だより」という健康と病気に関する新聞を作り、従事者全員に配布することとした。この「健康だより」は2ヶ月に1回のペースで発行し、初回は2007年4月号として、2007年度の登録者全員に配布し情報を普及する予定である。

【まとめ】

2006年度は、特掃における結核有病率・罹患率の減少を目的として健康教育、結核健診

・医療機関受診支援、治療継続支援を行った。

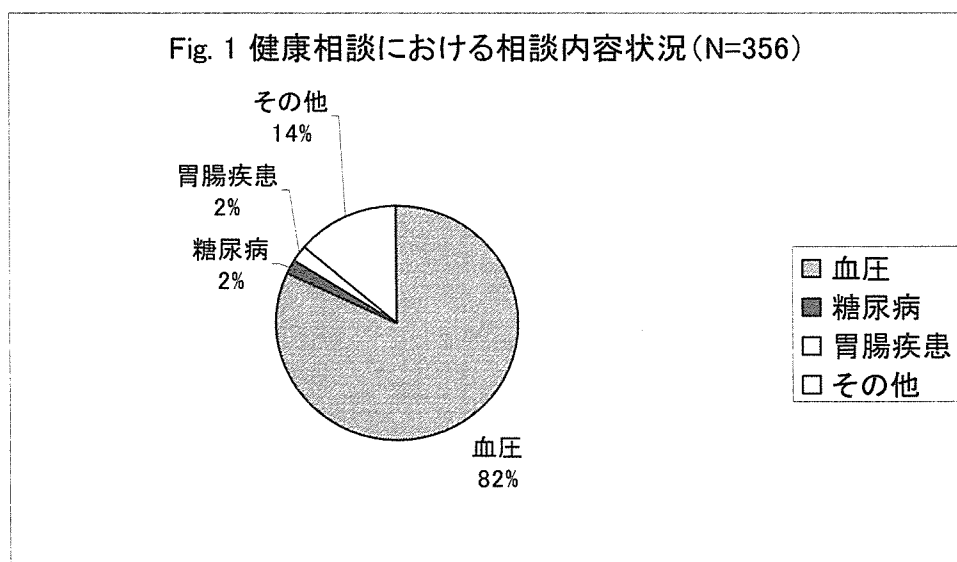
健康教育として、平日の特掃従事者を対象とした健康相談・教育による健康意識の向上を行った。この活動によって、多くのホームレス者が健康に興味を持つようになっていった。

結核健診・医療機関受診支援として、大阪市保健所のCR車健診を支援し多くの受診者を確保し早期発見につなげることができた。この健診時に発見されたが入院を拒否した者や、後に要医療となった者を医療につなぐことができた。これは行政とNPOの協力がなければ実現不可能であった。したがって、結核健診を有効に行うためには、行政とNPO連携が必要不可欠であると考えられた。

治療継続支援として、入院中の結核患者を訪問して、面接を行った。その際に患者の不満・不安を傾聴し、その不満・不安に対する解決策を助言し、ストレスを和らげるよう務めた。さらには、特掃の切り替えをNPOに代わって代行することにより治療に専念できるよう支援した。

【提言】

結核健診受診者数の向上対策として、健康教育の強化が必要である。さらには、特掃における集団感染を最小限にするために、特掃登録時における結核健診受診の義務化を行うべきである。そのためには行政とNPOが、結核有病率・罹患率の減少を共通目標として、協力していくことが必要不可欠である。又、2006年度、大阪市保健所はあいりん地域におけるCR車健診の年間受診者総数の目標を8000人としていたが、2006年4月～12月の期間では約3300人というのが現状である。8000人を達成するためには、2つのステップが必要であると考えている。1つ目のステップは、特掃における健診の義務化である。二つ目はシェルター、及びあいりん地域内のサポートイブハウス等の集団施設における健診の義務化である。この二つのステップにより8000人の受診者を達成することが現実のものとなり、特掃のみならず、あいりん地域の結核有病率・罹患率の減少に大きな前進をもたらさるう。



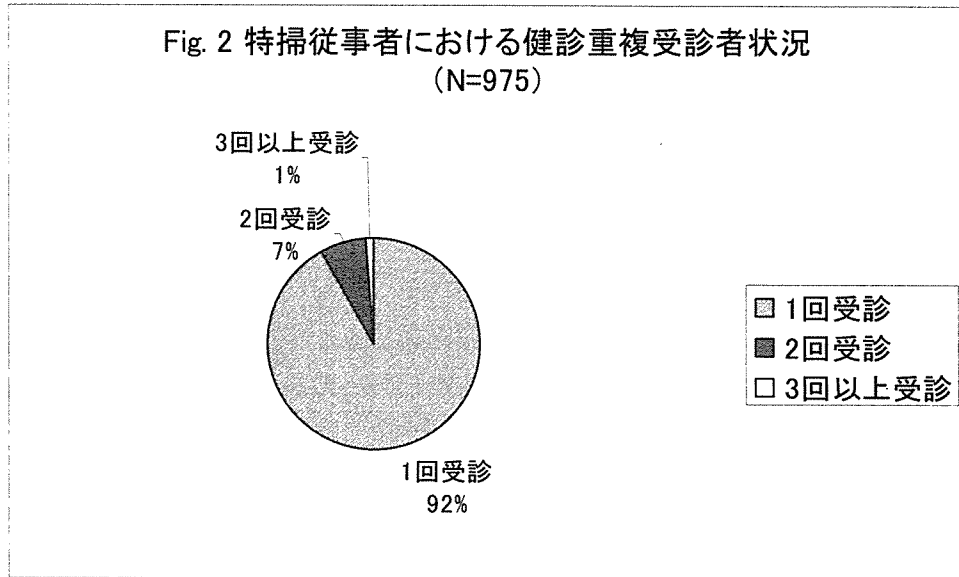


Table. 1 肺結核症で治療につながった特掃従事者における患者状況
(2006年4月1日～12月31日)

| 発見手段 | 総患者数 | 菌陽性者数 (%) | 塗抹陽性者数 (%) | 培養陽性者数 (%) |
|---------|------|-----------|------------|------------|
| CR車健診 | 10 | 5 (50) | 2 (20) | 3 (30) |
| CR車健診以外 | 8 | 8 (100) | 5 (63) | 3 (38) |

添付資料3 RFLP/VNTRの活用について

3.1 VNTR法の標準化とデータ比較について

大阪市立環境科学研究所微生物保健課 長谷 篤、和田崇之
大阪府立公衆衛生研究所細菌課 田丸亜季
神戸市環境保健研究所 岩本朋忠

1. 目的

RFLP法による結核菌株の分子疫学的解析は国内でも広く実施されるようになってきているが、調査機関間でのデータ比較が困難であるという重大な欠点を持つため、複数の自治体にまたがる集団感染事例などの場合には菌株を収集し再度RFLP解析を実施することが多い。現在、(財)結核研究所を中心にRFLP法にかわるデータ比較が可能なVNTR法の標準化が検討されている。

本研究では近畿地区地方衛生研究所における結核菌情報ネットワーク構築を目的とし、MIRU12-VNTRのプロトコール作成とデータ比較を行なった。

2. 研究方法

(1) MIRU12-VNTRのプロトコールとマーカーの作成

12種類のMIRUの繰返し数を調べるMIRU12-VNTRの標準プロトコールとアガロース電気泳動で泳動するときのマーカーを作成した。

(2) MIRU12-VNTRのデータ比較

神戸市、大阪府、大阪市における最近のMIRU12-VNTRデータを集め比較した。

3. 研究結果

(1) MIRU12-VNTRのプロトコールとマーカーの作成

MIRU12-VNTRのプロトコールとマーカーは最小限の設備と人員で実施できるように可能な限り簡素化したものを作成した。また、複数の遺伝子増幅装置および電気泳動装置で結果の再現性が得られることも確認した。マーカーは各locusでこれまでに3地研で見られた繰返し数を判定できるものを作成した。プロトコール、12locus用のプライマーセット、コントロール結核菌DNA (MIRU12-VNTR:223325173533)、マーカーをセットにし、近畿地区では兵庫県、滋賀県、京都府の衛生研究所、他地域では愛媛県と仙台市に送付した。

(2) MIRU12-VNTRのデータ比較

3地研のデータ比較結果を表1に示した。クラスターMC25、MC24、MC22、MC27は3地研ともに大クラスターを形成しており、特にMC25はいずれの地研においても最大クラスターであった。しかしながら、これらのクラスターの中でMC25、MC24についてはRFLP法やlocusを増やしたVNTR法では更に細分別されることから、これらのクラスターに含まれる菌株は同一クローン由来可能性は低い。一方、MC7などRFLP法などでもあまり細分別されないクラスターの存在もあり、同一クローン由来であることが考えられる。また、大阪市では集団事例でのMIRU12-VNTRとRFLPのデータが

100%一致していることから、集団事例におけるMIRU12-VNTRの有用性は高いと考えている。ただし、MC25やMC24などのクラスターパターンが検出された場合はRFLPあるいはlocusを増やしたVNTR法を実施し確認しなければならない。RFLP法では困難であったデータ比較がVNTR法では可能であることが明らかになり、感染源調査に非常に有用であることがわかった。

表1 3地研におけるMIRU12-VNTRデータ比較

| 大阪市 | | 大阪府 | | 神戸市 | |
|--------|-----|-------|-----|-------|-----|
| クラスター | 菌株数 | クラスター | 菌株数 | クラスター | 菌株数 |
| MC25*1 | 73 | MC25 | 23 | MC25 | 34 |
| MC16 | 17 | MC24 | 12 | MC24 | 24 |
| MC22 | 13 | MC27 | 5 | MC27 | 8 |
| MC24 | 13 | - *2 | 4 | MC22 | 6 |
| MC19 | 11 | - | 4 | MC15 | 6 |
| MC27 | 11 | MC20 | 4 | - | 5 |
| MC7 | 8 | MC22 | 3 | - | 5 |
| MC8 | 8 | MC2 | 3 | MC6 | 5 |
| MC12 | 8 | MC8 | 3 | - | 4 |
| MC14 | 5 | - | 3 | - | 4 |
| MC15 | 5 | - | 2 | MC11 | 4 |

* 1 : MCは大阪市内で見られたクラスター

* 2 : - は大阪市内を含む他地研では見られなかったクラスター

3.2 大阪市におけるホームレス患者由来結核菌のRFLP解析

大阪市立環境科学研究所微生物保健課 長谷 篤、和田崇之
大阪市保健所 下内 昭

1. 目的

市内のホームレス患者における結核のまん延状況と感染源及び感染経路を菌株レベルで
解明し、大阪市におけるより効果的な結核対策に寄与することを目的とする。

2. 研究方法

2002-2003年に市内医療機関でホームレス患者より分離された結核菌227株について薬
剤耐性とRFLP解析を実施した。

3. 研究結果

(1) 薬剤耐性

227菌株中27菌株が薬剤耐性であった。その中で、2剤耐性（イソニアジド：INH、リ
ファンピシン：RFP）は1株、3剤耐性（INH、RFP、エタンブトール：EB）は1株、4剤
耐性（ストレプトマイシン：SM、INH、RFP、EB）は4株あった。（表1）

表1 使用菌株の薬剤耐性

| 薬剤耐性（菌株数） | 合計菌株数 |
|----------------------------|-------|
| SM（11）、INH（5）、RFP（2）、EB（3） | 21 |
| INH/RFP（1） | 1 |
| INH/RFP/EB（1） | 1 |
| SM/INH/RFP/EB（4） | 4 |
| 計 | 27 |

INH：イソニアジド、RFP：リファンピシン、EB：エタンブトール、
SM：ストレプトマイシン

(2) RFLP解析

IS6110を用いたRFLP解析によるクラスター解析を行なった。バンド数は1本から17
本まであり、227株中7株はバンド数が5本以下であったので220株についてクラス
ター解析を行なった。（表2）

表2 クラスター解析結果

| 菌株数 | クラスター形成株数（%） | クラスターサイズ：クラ スター数 |
|--------------|--------------|--------------------------|
| 薬剤感受性株（193株） | 49（25.4） | 2：13、3：8、4：1、5： 1 |
| 薬剤耐性株（27株） | 12（44.4） | 2：3、3：2 |
| 全株（220株） | 75（34.5） | 2：16、3：9、4：1、5： 1、7：1 |

220株中クラスターを形成した株は75株で、クラスター形成率は34.5%であった。また、抗結核剤耐性株27株および感受性株193株のクラスター形成率はそれぞれ44.4%、25.4%であった。薬剤感受性株に比べて耐性株でのクラスター形成率が高く、耐性株による新しい感染の広がりの可能性が示唆された。全株でのクラスターサイズは7株（1クラスター）が最も大きく、ついで5株（1クラスター）、4株（1クラスター）、3株（9クラスター）、2株（13クラスター）であった。いずれのクラスターサイズにおいても、一部のクラスターでは薬剤耐性株と感受性株でクラスターを形成していた。

ホームレス患者の治療中断例は少なくなく、薬剤耐性株のまん延状況には注意を要する。今後クラスター形成が見られた菌株の患者情報から患者接触状況を精査し、感染経路の解明を進めて行く予定である。

3.3 2002-2004年における大阪市内の行旅結核患者の分子疫学的解析

大阪市立環境科学研究所 微生物保健課 和田 崇之

【目的】

大阪市における結核の罹患率は、全国平均と比較して極めて高い（約3倍）。とりわけ行旅者では、人口約3万人に対して年間数百人の感染者が今なお報告されており、結核まん延の様相を呈している。本研究では、大阪市内の行旅患者より分離された結核菌の遺伝型別を解析することによって、結核菌の伝播およびまん延の背景を明らかにすることを目的とした。

【方法】

供試した菌株は、2002-04年に行旅患者から分離された結核菌279株である（表1）。各菌株よりゲノムDNAを抽出し、VNTR法（繰り返し配列数多型解析法）を用いて遺伝型別を同定した。

表1 02-04年における行旅結核患者数および供試した菌株数

| 年次 | 新規登録患者数 | 罹患率* | 菌陽性肺結核患者数 | 解析数(%) |
|------|---------|-------|-----------|----------------|
| 2002 | 644 | 956.7 | 156 | 74 (47.4%) |
| 2003 | 461 | 870.0 | 150 | 99 (66.0%) |
| 2004 | 416 | 750.0 | 122 | 106 (86.9%) |

* 行旅人口を3万人とした時の10万人あたりの罹患率。

VNTR部位は、分解能の高いQUB領域を含めた16部位（表2）であり、その解像度はRFLP法（制限酵素断片多型解析法）と等価であることは過去の解析によって確認されている。

表2 本解析で用いたVNTR解析領域（16箇所）

| 分類 | 解析領域 | 特徴 |
|------------------------|---|--------------|
| MIRU 12 (classical) | MIRU- 02, 04, 10, 16, 20, 23, 24, 26, 27, 31, 39, 40 | 日本において解像度が低い |
| 多変領域群 (additional) | QUB- 11a, 11b, 3232 VNTR- 4156 | 極めて分解能が高い |

【結果】

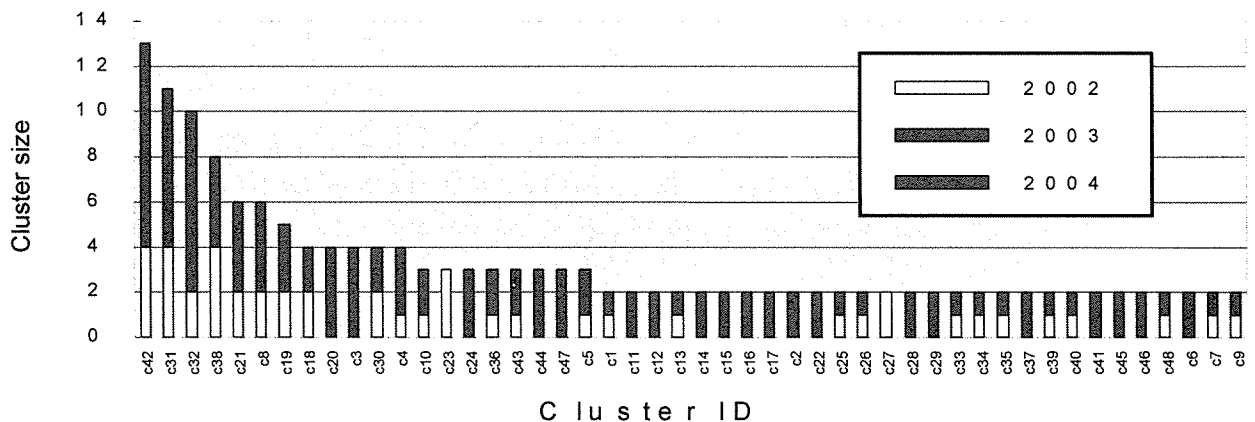
全279株によって形成されるクラスター（同一の遺伝型別で攻勢される株群）は48であり、それらを形成する株は159株（57.0%）であった。年度別にクラスター解析を行うと、クラスター形成率は徐々に低下していた（表3）。

表3 各年度別クラスター形成率

| | 菌株数 | クラスター率 (%) | 最大クラスター株数 |
|-------|-----|-------------|-----------|
| total | 279 | 159 (57.0%) | 13 |
| 2002 | 74 | 32 (43.2%) | 4 |
| 2003 | 99 | 39 (39.4%) | 5 |
| 2004 | 106 | 37 (34.9%) | 5 |

最大クラスターは13株 (4.7%) によって構成されており、行旅患者間で高度にまん延している遺伝型は認められなかった。39クラスター (39/48、81.3%) が異なる分離年の菌株から構成されており、結核菌の伝播が長期間に渡って生じていることが示唆された (図1)。

図1 全株 (2002-2004) によるクラスター解析と年度分布



【考察】

クラスター形成率は、結核菌の伝播による感染を概算する数値である。行旅患者由来菌の約6割がクラスターを形成するという結果は、大阪市における行旅患者群において結核菌の伝播が高頻度に生じていることを意味する。また、多くのクラスターが異なる年に分離された菌によって形成されていることが示され、排菌患者の発見および治療が現状においても不十分である可能性が懸念される。一方で、クラスター形成率は経時的に減衰している。この結果は結核まん延状態の改善を反映していると考えられるが、他地域からの結核患者が多数流入している可能性もあり、今後引き続き解析を行う必要がある。

遺伝型別解析法としてVNTR法を導入したことにより、他地域との連携や一般患者群との比較、長期間に渡る型別解析などの信頼性が向上するであろう。

3.4 大阪府における結核集団発生事例のVNTR型別

大阪府立公衆衛生研究所 感染症部細菌課 田丸亜貴

【目的】

前年度は、大阪府南部地域の結核地域分子疫学をIS6110-RFLP分析とVNTR型別により実施し、MIRU12+ETR4+QUB4の20lociを用いたVNTR型別法（20-locus VNTR）が、IS6110-RFLP分析より詳細で患者疫学情報に一致した遺伝子型別結果を示した。今年度は、前年度解析に用いたVNTR挿入部位から、挿入数の変化に乏しいETR-B, Cを除いた18-locus VNTR型別を用いて、結核集団発生事例の遺伝子型別を実施し、IS6110-RFLP分析による結果と比較し、18-locus VNTRの結核感染源調査に対する有用性を検討した。

【方法】

大阪府内で発生した結核集団発生由来株の72事例206株を被験菌株とした。IS6110-RFLP分析はvan Soolingenらの方法、18-locus VNTR型および追加locus分の各VNTR挿入部位増幅のためのprimerはMazars、Frothingham、Kremerら、Supplyらの論文をもとに設定した。

【結果】

IS6110-RFLP分析でパターンが同一であった53組151株のうち47組140株は18-locus VNTR型も完全に一致した。初発患者発生ー続発患者発生までの経過年数が3年の3事例、5年の2事例、8年の3事例でもRFLPパターンとVNTR型別の結果が一致していた。一方、不一致の6事例11株（7.2%、表の49ー53事例）は、QUB11b、3232、4120で挿入数の変化がみられた。VNTR型の変化は、5事例4株で挿入部位1箇所挿入数1-6、1事例1株ではQUB11bと4120の2箇所挿入数4と5であった。残る1事例1株では初発患者由来株の挿入数と同じPCR産物と挿入数1違いのPCR産物が同程度の量増幅されており、挿入数の変化が起こる課程であったと考えられた。

IS6110-RFLP分析と18-locus VNTR型の不一致例全株と一致例のうち16事例88株（計22事例99株）を、VNTR26、424、1955、2401、3690、4156の追加6-locusを加えて解析したところ、追加6-locusでも4事例4株（4.0%）でRFLPパターンとの不一致が見られた（表）。追加6-locusの変化は、1事例でVNTR26とVNTR2401の2箇所に挿入数1と2、その他3事例ではそれぞれVNTR26、VNTR424、VNTR4156の1箇所に挿入数1-7であった。QUB部位または追加6-locusで変化の見られた株は初発患者発生から1年以内に発生したもの3株、2年以内発生したもの3株、5年後に発生したもの1株、8年後に発生したもの1株で、8年後に発生した株では同年に発生した他の患者由来株ではVNTR型の変化は認められなかった。

IS6110-RFLP分析でパターンが異なった19事例55株の18-locus VNTR型はそれぞれ異なったVNTR型を示し、RFLPパターンとの不一致はみられなかった。これらのVNTR型の違いはQUB部位だけでなく、MIRU12lociやETR2lociにも認められ、複数の挿入部位で相違がみられた。

【考察・まとめ】

結核集団感染事例でIS6110-RFLPパターンが一致した事例で、18-locus VNTR型別では7.2%、追加6-locusを用いた場合で4.0%の不一致例がみられた。これらはVNTR挿入数の変化によって起こった相違と考えられる。VNTR挿入数の変化は、8年でも変化が見られない株もあれば、1年以内に変化が起こっている株もあり、さらに8年後に変化した株と変化しなかった株が存在した事例（表. 事例43）もあることから、単に初発患者発生からの経過年数では予測不能である。RFLPパターン的一致する株のVNTR型の相違は、QUBあるいはVNTR lociのうち1-2lociだけであったが、RFLPパターンが異なる株でのVNTR型は、MIRU 12lociやETR 2lociの挿入数にも相違がみられ、相違のみられる挿入部位数も多い。このことから、結核集団発生事例の感染源調査にVNTR型別を用いる場合、MIRU 12lociとETR 2lociで複数の挿入部位に挿入数の相違があった場合は異なる株と判断可能と考えられる。MIRU 12lociとETR 2lociが一致するが追加lociで1-2lociの相違がある事例についてはIS6110-RFLP分析で確認が必要である。

結核集団感染事例のVNTR型別では、数%のIS6110-RFLPとの不一致例が見られたが、VNTR型別の迅速性、比較のしやすさという利点を考慮すると、感染源調査へのVNTR型別の導入が望ましい。今後、RFLPパターンとの一致度の高いVNTR型別法を検討する予定である。

表. IS6110-RFLP分析とVNTR型別の不一致例

| | 菌株 | Q11a | Q11b | Q3232 | Q4120 | V26 | V424 | V1955 | V2401 | V3690 | V4156 | RFLP | 発生年 | Link |
|----|-----------|------|------|-------|--------|-----|------|-------|-------|-------|-------|------------|------|------|
| 49 | TSK1 | 8 | 7 | 11 | 9 | 2 | 3 | 3 | 2 | 3 | 5 | TS1 | 2005 | 病院 |
| | TSK2 | 8 | 7 | 12 | 9 | | 3 | 3 | | 3 | 5 | TS1 | 2005 | |
| 50 | 寝061127-1 | 8 | 9 | 13 | 4 | 8 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 寝060127-1 | 2001 | 家族 |
| | 寝061127-2 | 8 | 5 | 13 | 9 | 8 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 寝061127-1 | 2006 | |
| 51 | 枚060306-1 | 8 | 5 | 17 | 9 | 8 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 枚方060306-1 | 2004 | 家族 |
| | 枚060306-2 | 8 | 5 | 21 | 9 | 8 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 枚方060306-1 | 2004 | |
| 52 | 03-HS-23 | 9 | 7 | 11 | 17 | 8 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 03-HS-23 | 2003 | 職場 |
| | 03-HS-22 | 9 | 7 | 9 | 17 | | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 03-HS-23a | 2003 | |
| 53 | KM1 | 8 | 6 | 14 | 17 | 8 | 4 | 3 | 4 | 3 | 6 | KM1 | 1998 | 学校 |
| | KM6 | 8 | 6 | 20 | 17 | 8 | 4 | 3 | 4 | 3 | 6 | KM1 | 1999 | |
| | KM2 | 8 | 6 | 14 | 17, 16 | 8 | 4 | 3 | 4 | 3 | 5 | KM1 | 1999 | |
| 43 | S1 | 9 | 9 | 15 | 12 | 8 | 4 | 3 | 4 | 3 | 5 | S1 | 1998 | 病院 |
| | S2 | 9 | 9 | 15 | 12 | 8 | 4 | 3 | 4 | 3 | 5 | S1 | 1998 | |
| | S3 | 9 | 9 | 15 | 12 | 8 | 4 | 3 | 4 | 3 | 5 | S1 | 1998 | |
| | S4 | 9 | 9 | 15 | 12 | 8 | 4 | 3 | 4 | 3 | 5 | S1 | 2001 | |
| | S5 | 9 | 9 | 15 | 12 | 8 | | 3 | 4 | 3 | 5 | S1 | 2006 | |
| | S6 | 9 | 9 | 15 | 12 | 8 | 4 | 3 | 4 | 3 | 5 | S1 | 2006 | |
| 14 | 04-HS-21 | 12 | 3 | 8 | 17 | 9 | 4 | 0 | 2 | 3 | 3 | 04-HS-21 | 2004 | 家族 |
| | 04-HS-22 | 12 | 3 | 8 | 17 | 9 | 4 | 0 | 2 | 3 | 3 | 04-HS-21 | 2004 | |
| | 茨木 05HS06 | 12 | 3 | 8 | 17 | 9 | 4 | 0 | 2 | 3 | | 04-HS-21 | 2005 | |

3.5 神戸市におけるVNTR Databaseの構築と活用

神戸市環境保健研究所 岩本 朋忠

神戸市保健所 藤山 理世、田中 賀子、河上 靖登

結核菌地域分子疫学サーベイランスにより、対象地域において存在する結核菌株情報の網羅的な理解が可能となる。神戸市において平成15年度から取り組んできたVNTR Database構築の現状とその活用例をまとめた。

神戸市VNTR Database構築

解析対象VNTR locus: 新国際標準である15-locusに加えて本邦分離株の大多数を占める北京型株の分離に有効な4 locus (11a、3232、3336、3820、4120)を用いた20-locusを解析対象とした。

対象菌株: 神戸市内在住者新規結核登録患者株。平成15年度より2医療機関(西神戸医療センター、NHO兵庫中央病院)の協力のもと、菌株収集を行っている。

Database情報: 患者登録番号、年齢、性別、居住区、VNTR data

解析菌株数: 18年12月時点で561株のVNTR Dataを収載している。17年度株の一部は現在解析中。

VNTR Databaseから得られたクラスター形成株の精査

クラスター形成株の年齢別内訳を表1にまとめた。若年齢層ほどクラスター形成株数の比率が高く、結核菌伝播への関与が大きいことが分かる。クラスターに属する菌株数(クラスターサイズ)の分布を調べた(表2)。全菌株を対象としたクラスター(A)から過去2年間出現のない株によるクラスターを除いた分布(B)さらに50歳以下の患者を含まないクラスターを除いた分布(C)から、構成年齢層が比較的若く近年そのクラスターサイズが増大傾向にあるクラスターが抽出された。これら、過去数年にわたりクラスターサイズが増大してきたものは、現在、その伝播活動がアクティブであることが予想される。今回、これらのうちクラスターサイズ5以上のものを特に要注意集団として、expanding cluster(EC)と名づけた。現在のところ8クラスターがECに属している。ECごとに居住区あるいは年齢層にある程度のかたまりがみとめられ、1例については、遊技場を感染場所として特定しえた。結核菌地域分子疫学サーベイランスから得られる情報をより効率的に利用するためには、クラスターの重要度ランク付けが今後の課題と思われる。人的資源の限られた中で、結核対策に結びつく未知の感染経路の特定を目指すうえで、今回提示したexpanding clusterのような概念が今後重要になるものと考えられる。

集団感染疑い事例でのVNTR Database利用例

- (1) 初発患者23歳男性。2年前から神戸市在住。1999年K市集団感染事例時に定期外健診経験あり。予防内服せず。同僚15名中QFT陽性9名、疑陽性1名。7年前のK市集団感染時分離株が結核研究所レファレンスセンターに保存されており、初発患者株と保存株のRFLPパターンが一致した。初発患者は7年前の集団感染時に感染し、今回、発病した

と考えられる。この例でのVNTR Databaseから得られる知見は次のとおりである。VNTR Databaseから、同一パターンの存在は認められず、初発患者の神戸市以外での感染（K市での感染）を支持する。また、同菌株による市内まん延を現在までのところ否定するものである。

- (2) 某大学において学生2名、職員1名が同時期に発病。3株のRFLP / VNTRいずれもパターンは不一致であり、同時多発例と考えられる。VNTR Databaseから、学生1名（神戸市在住）のパターンが16年度、17年度解析株各1株と一致した。この学生の学外での感染を示唆するものであるとともに、今回の事例が、同時多発例であることを裏付けるものでもある。

表1. クラスター形成株内訳

| | All (%) | > 65歳 (%) | ≤65歳 (%) | ≤45歳 (%) | ≤30歳 (%) |
|-----------|------------|------------|------------|-----------|----------|
| 対象株数 | 549 | 286 | 263 | 105 | 40 |
| クラスター形成株数 | 167 (30.4) | 64 (22.4) | 103 (39.2) | 49 (46.7) | 20 (50) |
| 非クラスター株数 | 382 (69.6) | 222 (77.6) | 160 (60.8) | 56 (53.3) | 20 (50) |

表2. クラスターサイズの分布

| | A | B | C |
|----------|--------|---------------|--------------|
| | クラスター数 | 過去2年間出現ないもの除く | Bのうち50歳以下を含む |
| クラスターサイズ | | | |
| 2 | 24 | 18 | 8 |
| 3 | 9 | 8 | 4 |
| 4 | 6 | 5 | 4 |
| 5 | 2 | 1 | 1 |
| 6 | 2 | 2 | 2 |
| 7 | 4 | 4 | 4 |
| 10 | 1 | 1 | 1 |

まとめ

VNTR Databaseを構築し地域内の結核菌遺伝子型別情報を把握することで、これまではVNTRパターンが一致した場合のみ情報として有用であったが、一致しなかった場合（ユニークパターン）の解釈にも上述の集団感染疑い2例で示したように、意味を持たせることが可能となる。今後、広域でのデータベース化が実現することで、さらに、その情報量も増し、未知感染経路の発見など結核対策への貢献度も増すものと思われる。

3.6 堺市における結核菌株のRFLP、VNTR解析

堺市保健所医療対策課 藤井 史敏、柴田 仙子、松本恵美子

【目的】

堺市は1999年より結核菌遺伝子分析検査RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) およびVNTR (Variable Numbers of Tandem Repeats) を行っており、これらの結果より、感染経路および発生状況について検討した。

【対象】

1999年1月～2003年6月に市内のK病院で喀痰培養陽性であった市内在住新規登録肺結核患者537例のうち、RFLPとVNTRによる複数一致例103例 (22パターン) を対象とした。

【方法】

聞き取りやビジブル調査などで疫学的な情報を再検索した。

【結果】

● 性別、年齢別割合 (図1)

・性別：男性68名、女性35名

年齢別：29才以下19名、30才以上40歳未満14名、40才以上50歳未満14名、50才以上60歳未満22名、60才以上70歳未満24名、70才以上10名であった。

● 感染経路 (図2)

家族関係 (同居、別居を含む) が6名 (3パターン)、同じ職場が6名 (3パターン)、上記以外の接触が判明したのが12名 (4パターン)、その他は感染経路の有無が不明であった。

2名がRFLP A00k42、VNTR34の型で、同じサークル (ママさんバレー) が共通であったことが判明 (図2;ア) し、3名がRFLP E01k10、VNTR5の型で、行きつけの飲食店が共通であったことが判明 (図2;イ) し、5名がRFLP I00k6、VNTR29の型で、駅前の行きつけの店3ヶ所が共通であったことが判明 (図2;ウ) し、2名がRFLP P00k65、VNTR22の型で、行きつけの飲食店が共通であったことが判明 (図2;エ) した。詳細については図3～5を参照。

【考察】

遺伝子検査により同一菌由来と考えられる新たな症例の検知が可能となり、疫学調査により共通点が判明したため、遺伝子検査と疫学調査は有用であると思われた。また、共通点が判明できなかった症例については、時間経過に伴い調査不能であった情報や市外での結核の情報不足などの要因が関与した可能性が考えられた。

【結論】

今後は結核患者訪問時にはさらに詳細に聞き取り、遺伝子検査と疫学調査の症例数を積み重ねて検討する必要があると考えられる。また、遺伝子検査の結果の還元は迅速に実施

する必要があり、さらに周辺自治体を含め広域的に統一連携した方法で研究調査を行い情報を共有することが、感染経路の究明に役立つと思われる。

図1：性別、年齢別割合

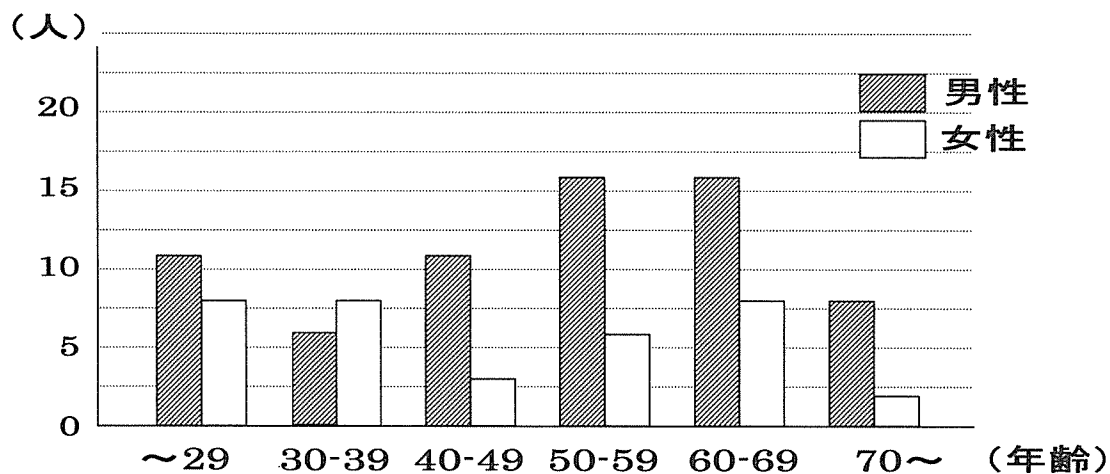
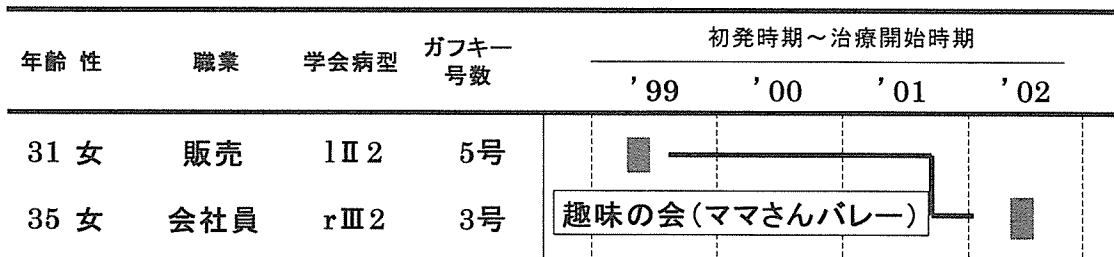


図2：複数一致例103例の疫学調査結果

| | RFLP | VNTR | 一致症例数 | |
|-----|---------|------|-------|----------------------|
| | 00k36 | 01b | 2 | |
| | 01k61 | 42 | 8 | ➡ 2例が同じ職場 |
| (ア) | A00k42 | 34 | 18 | ➡ 2例が同じサークル(ママさんバレー) |
| | | 37 | 3 | ➡ 2例が同一家族 |
| | | 38 | 2 | |
| | | 39 | 3 | |
| | | 08a | 4 | |
| | | 08c | 2 | |
| | | 12a | 9 | |
| | B00k003 | 01a | 2 | |
| | C01k49 | 28 | 4 | |
| | D00k5 | 20 | 3 | |
| | | 21 | 2 | |
| (イ) | E01k10 | 5 | 7 | ➡ 3例が同じ飲食店 |
| | F00k14 | 31 | 7 | |
| | | 31a | 4 | |
| (ウ) | I00k6 | 29 | 5 | ➡ 5例が同じ飲食店 |
| | | 29a | 3 | |
| | J00k73 | 32 | 6 | |
| | | 41 | 2 | |
| | K00k100 | 33 | 2 | ➡ 2例が同じ職場 |
| (エ) | P00k65 | 22 | 5 | ➡ 2例が同一家族、2例が同じ飲食店 |

図3：家族・職場以外の共通点が判明した症例の疫学調査結果

(ア) RFLP A00k42 VNTR 34 の18例中2例



(イ) RFLP E01k10 VNTR 5 の7例中3例

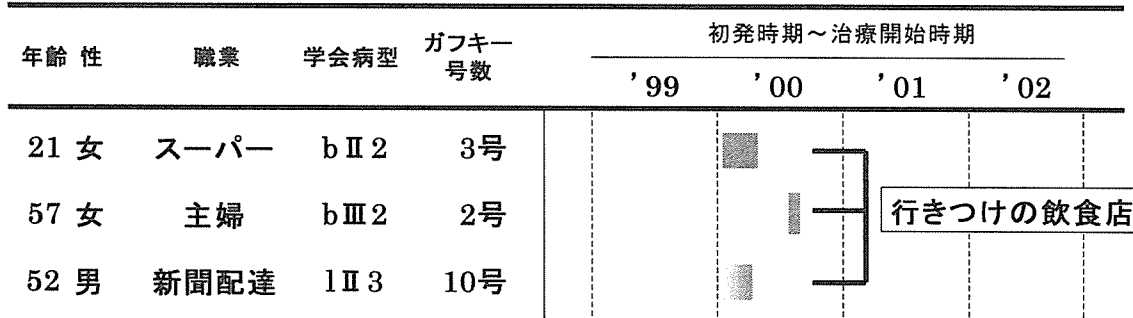
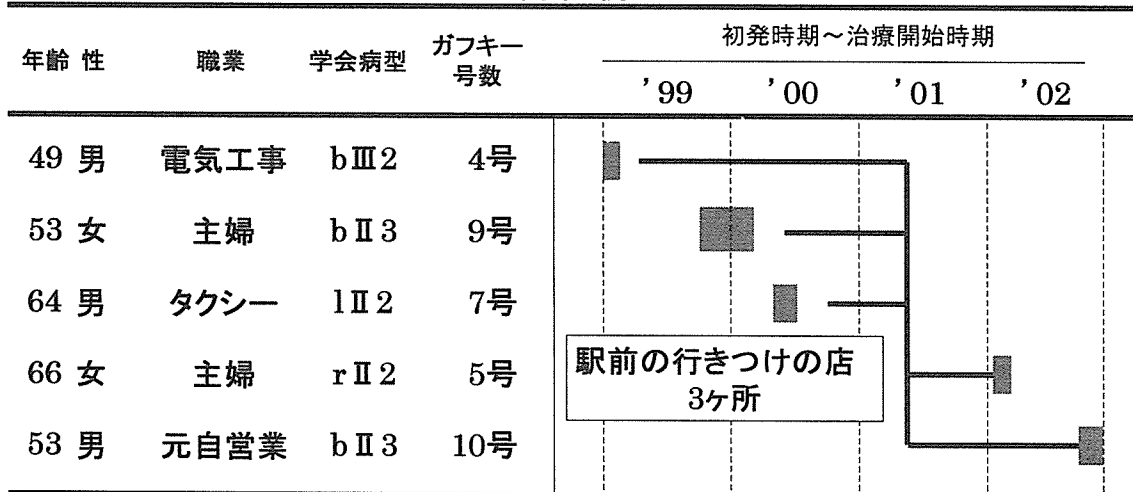


図4：

(ウ) RFLP I00k6 VNTR 29 の5例中5例



(エ) RFLP P00k65 VNTR 22 の5例中2例

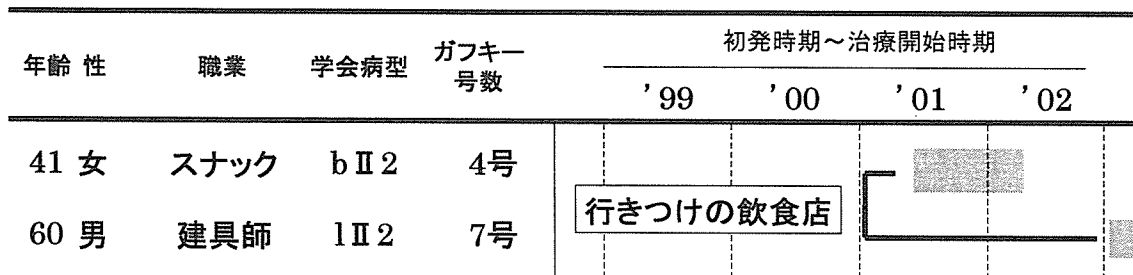
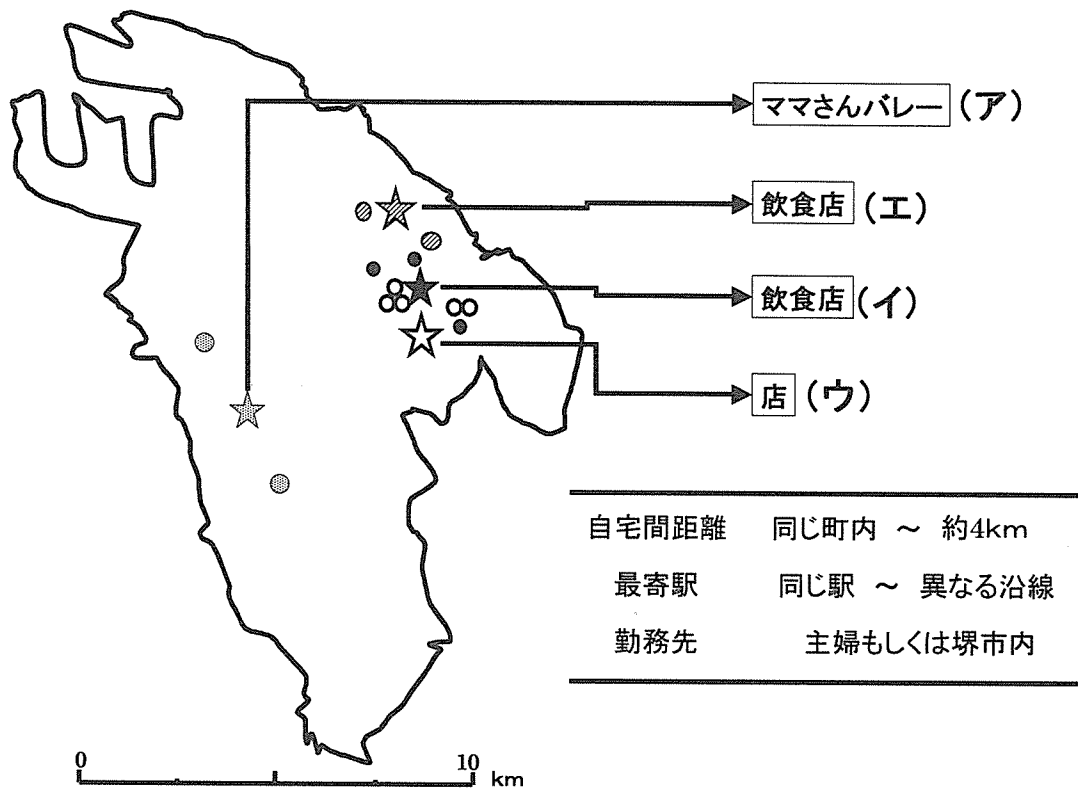


図5 :



大阪における多剤耐性結核菌の分子疫学解析

大阪府立呼吸器・アレルギー医療センターにおけるXDR-TBの解析
大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター 臨床研究部 松本智成

多剤耐性肺結核は、薬剤感受性結核菌に比べ適切な治療法が無いばかりではなく治療費が高く、さらに入院日数も長い。また、治療終了後も社会復帰が難しく、患者本人だけではなく社会的にも経済的損失が大きい。従って、現時点では治療法よりもいかに感染を防ぐかという公衆衛生学的手法に依存することの大きい疾患である。多剤耐性結核は不適切な治療にて作らない事が大前提の一つであるが、四剤による標準化学療法への提唱ならびに啓蒙にて新たな耐性化は減少している。それよりも今後は多剤耐性結核そのものの感染による初回多剤耐性結核が問題になってくると予想される。不適切な加療による多剤耐性結核菌は耐性度も低い事が多く、まだ加療が成功する可能性があるが、初回多剤耐性金は、多剤耐性結核と判明した時点で耐性度が高く使用出来る薬剤がほとんどない場合が多い。さらに中国、ロシア、東ヨーロッパ、東南アジアにおける多剤耐性結核の広がりや国際化を考慮すると多剤耐性結核菌の外国株の国内流入も予想され、今後ますます増えてくると判断する。今後多剤耐性結核感染ならびにその発病サーベイランスが今まで以上に増して要求されると考える。

近年、超耐性結核(eXtensively Drug Resistance-Tuberculosis: XDR-TB)が報告され世界的に問題になって来ている。XDR-TBとは、当初はINH、RFP耐性以外に、主要な2次抗結核薬6グループ(aminoglycosides、polypeptides、fluoroquinolones、thioamides、cycloserine、and para-aminosalicylic acid)のうち少なくとも3グループが耐性のMDR-TBと定義され(1)。最近になってINH、RFP耐性以外に、Fluroquinolone耐性と注射薬であるcapreomycin、kanamycin、amikacinのうち一つ耐性を満たす耐性結核菌と定義された(2)。

【目的】

現在日本においてXDR-TBの疫学資料は無く、大阪におけるXDR-TBの多剤耐性結核中の割合を検討する為に、当院受診加療歴があり、現在菌株が残っている多剤耐性肺結核患者172名のうちのXDR-Tbの頻度を新、旧の定義で検討する。また当院で臨床経過が明らかな多剤耐性結核患者菌株のVNTR解析を行ないクラスター形成数を検討する。

【方法】

小川法にてINHは0.2(・g/ml)以上を耐性と判断。他の薬剤はRFP 40、SM 10、EB 2.5、KM 20、E VM 20、TH 20、CS 30、PAS 0.5(・g/ml)以上を耐性としfluoroquinolonesは、液体培地にて2(・g/ml)以上を耐性とした。さらにAminoglycosidesおよびfluoroquinolonesは、グループ内の一剤でも耐性であれば耐性とした。測定されていない薬剤は便宜上感受性とした。また薬剤感受性が経時的に変化する場合、一度でも耐性と判断されたら耐性とした。

16VNTRは、下記の16領域を対象とした。ETR-A、B、C、D、E、F (D=MIRU4、E=MIRU31)、MIRU-2、10、16、20、23、24、26、27、39、40。ETR、MIRU領域からなる16VNTRは西森等が発表した条件で行った[動物衛生研究所報告書、109、pp25-32、2003]。

【結果】

65名が新XDR-TBの基準をみたし、172名中89名(51.7%)が旧XDR-TBの基準をみたした。当院受診多剤耐性結核患者167名において16グループがクラスター形成を行っていた。一つのクラスターにおいて治療失敗例でMDR化がsecondary MDR1名、他はprimary MDRとする(実際は全てがPrimary MDRの例も