

総説 4 ハンセン病

症例 3



症例 3 : TT の臀部の臨床像

周辺が堤防状に隆起した環状紅斑。皮疹に一致して知覚障害・発汗障害・脱毛を認める。

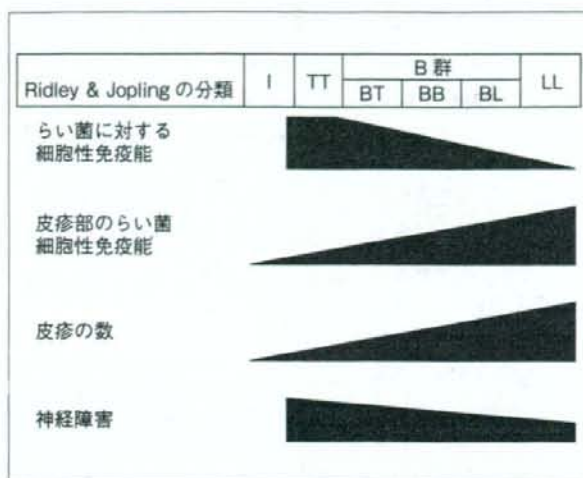
症例 4



症例 4 : BB の背部の臨床像

内側・外側ともに境界明瞭な環状紅斑を認める。

総説 4 ハンセン病



ハンセン病の病像

症例の解説

ハンセン病はかつて「らい」と呼ばれていたが、今日では「らい菌」などの学術用語や「世界らい会議」などの歴史用語以外は「らい」という言葉を使わないことになっている。ハンセン病は抗酸菌の一種であるらい菌、*Mycobacterium leprae* が幼小児期に経鼻的にヒトの体内に侵入し、数年から数十年の長い潜伏期を経て発症する慢性感染症で、主として皮膚と末梢神経（眼症状を含む）を侵す。しかしらい菌の感染力はきわめて弱く、ヒトの体内に侵入しても発症することは稀である。また、仮に発症しても今日では早期発見・早期治療により完治する疾患である。

ハンセン病の病型分類としては今日では Ridley-Jopling 分類が広く受け入れられている。らい菌に対する細胞性免疫がほとんど機能していない病型が LL で、よく機能している病型が TT、その中間の B 群は LL と TT の要素をどの程度もっているかにより BL、BB、BT の 3 つに分類される。

ハンセン病はまず I（未定型群）として発症し、TT、BT、BB、BL、LL の各病型へ移行し、LL と B 群の各病型間、TT と B 群の各病型間での移行はあるが、LL から TT、あるいは TT から LL への移行はない。らい菌に対する個体の細胞性免疫能の違いによりこのような多彩な臨床像を呈するのであるが、その原因はいま

だ解明されていない。LL-TT 間での移行がない理由と同様、今後この原因が解明されればハンセン病の病態解明だけでなく、免疫学的にも大きな進歩をもたらすものと期待される。

上図は Ridley-Jopling 分類を視覚的に表現したシエマである。らい菌に対する細胞性免疫能が低下するにつれ、皮疹部のらい菌と皮疹の数が多くなり、神経障害の程度は軽くなる。

次に各病型の皮疹の特徴について述べる。ハンセン病は通常、1～数個の皮疹を伴った I（未定型群）として発症する。I でそのまま自然治癒する例も多いと考えられている。症例 1 のような低色素斑が小児の臀部や顔面に出現することが多い。低色素斑ではなく落屑性紅斑として発症することもある。いずれにしても皮疹に一致して知覚と発汗の障害、落屑を認めることが多い。この段階で診断し治療すれば 100% 後遺症を残さずに治癒する。発見が遅れ、神経炎が生じ、重い後遺症が残らないように十分注意が必要である。

ハンセン病というと同症例 2 のような LL の顔面の発疹を思い浮かべる方も多いかと思う。顔面に小結節が多発しており、びまん性の腫脹のためワックスをかけたように光沢を帯びるのが特徴である。さらに症状が進行するといわゆる獅子様顔貌となる。ハンセン病がいきなり獅子様顔貌で発症すると考える方もみかけるが、とんでもない誤解である。神経症状は末梢神経に侵入したらい菌

に対する排除機構が働かないので、TTやBTなどに比べて相対的に軽いが、らい菌の侵入そのものによっても神経障害がおこるため、知覚異常や発汗障害が生じる。LLの皮疹は広範囲、対称性に多数生じるのが特徴である。

次に左図に示すハンセン病の病型スペクトラム上でLLと対極をなすTTの皮疹について述べる。TTでは少数の皮疹が孤立性、非対称性に分布する。皮疹に一致して知覚障害・発汗障害・脱毛が認められる。症例3は症状が進行したTTの臀部の皮疹である。中央部は正常皮膚の高さであるが、周辺が堤防状に隆起して環状になっている。体部白癬によくみられるようないわゆる中心治癒傾向であり、らい菌に対して細胞性免疫が機能している証拠でもある。らい菌の侵入そのものによる末梢神経の障害だけでなく、神経に侵入したらい菌に対して排除機構が働くので、神経炎が生じ、治療を怠ると鷲手、垂足などの重篤な末梢神経障害が生じる。

B群の皮疹の鑑別はむずかしい。なぜならば個体の免疫状態により、皮疹の数、分布、形態がLLに近いものからTTに近いものまで多様であることによる。症例4はBBの背部の皮疹であるが、内側・外側ともに境界明瞭な環状紅斑はBBの特徴である。BTの場合はTTと同じく中心治癒傾向のある環状紅斑を認めることが多いが、TTと比べて皮疹は小さめで、皮疹に一致する脱毛、神経障害はTTより軽度である。BLの場合は左右ほぼ対称性に多発する隆起性環状紅斑が目立った特徴である。

ハンセン病の治療

治療法として、1981年以来WHOによって推奨され、開発途上国を中心に広く行われてきたMDT (multi-drug therapy)を紹介しておく。

I, TT, BTの一部(少菌型)で皮疹1個の場合はリファンピシン(600 mg)、オフロキサシン(400 mg)、ミノサイクリン(100 mg)を1回のみ服用する。皮疹2個以上の少菌型の場合はリファンピシン(600 mg/月)、DDS(100 mg/日)を6カ月間、多菌型の場合は、この2剤にクロファジミン(300 mg/日)を月1回、他は50 mg/日)を加え、12カ月間内服して終了とする。なお、日本ではMDTを修飾したより長期間の治療を推奨している。

Key words

ハンセン病、らい菌、皮疹、細胞性免疫

永岡 譲 Nagaoka, Yuzuru

国立療養所多磨全生園皮膚科
〒189-8550 東村山市青葉町4-1-1

石井 則久 Ishii, Norihisa

国立感染症研究所ハンセン病研究センター生体防部
〒189-0002 東村山市青葉町4-2-1

EL-17-3 ハンセン病：基礎から臨床まで

ハンセン病の現況

石井 則久

「ハンセン病」という名前での医療的対応が必要である人々は、①ハンセン病療養所入所者、②ハンセン病療養所退所ないし過去に入所歴無く一般社会に生活している人々、③新規患者、の3グループに分けることができる(図1)。

ハンセン病療養所入所者は全国の13の療養所と2つの私立の施設に約3,000人いるが、ほとんど全ての入所者はハンセン病は治癒している。長年にわたる療養所生活、高齢、重度の後遺症、家族との離別などで、療養所生活を続けている。彼らについての皮膚科的な対応は、後遺症の治療やケア、皮膚科一般診療、ハンセン病再発の定期的チェックなどである。これらについては療養所内で診療が行われており、一般のクリニックや病院、大学病院での診療機会はほとんど無い。

一般社会で暮らす回復者の正確な数字は不明であるが、1,500~2,000人いと推定されている。彼らの多くが「ハンセン病」の既往歴を秘している(表1)。過去の不幸な歴史や偏見・差別の繰り返し、家族の悲劇を

経験しており、彼らの今後の人生を、今までのように秘していることが賢明な選択と考えているのかも知れない。しかし、彼らの多くはDDSの単剤治療のみであったため、ハンセン病の再発の可能性がつきまとう。再発の心配、神経痛など、ハンセン病に関連する心配事を相談できるのはハンセン病療養所であり、遠隔地であっても通院している。しかし、一般医療機関で再発のチェックや、足底潰瘍などの後遺症の治療やケア、一般診療を行うべきで、皮膚科医が前面にたって対応すべきである。そのためには皮膚科医はハンセン病の社会的背景も理解して、ソーシャルワーカーなどと協力して、回復者が安心して診療へ参加できる環境を整えるべきである。

新規患者は年間約6名であり、診療は皮膚科外来で行われており、検査・診断・治療などで不明点はハンセン病研究センターで対応している。途上国からの外国人が皮膚科外来受診時には、ハンセン病を鑑別することは周知されている。しかし、高齢の日本人で診断が難しい場合、治療に反応しない場合などにハンセン病を鑑別することも忘れてはならない(表2)。

日本でも一部の人々にハンセン病に対する偏見・差別がある。新規患者及びハンセン病回復者を診療するに当たっては、過去のハンセン病の歴史を考慮に入れ、無用な心配をさせないようにして頂きたい。また、最終診断を患者に説明する場合は、十分に時間をかけた説明をお願いしたい。保険病名を記載する場合、事業

ハンセン病医療

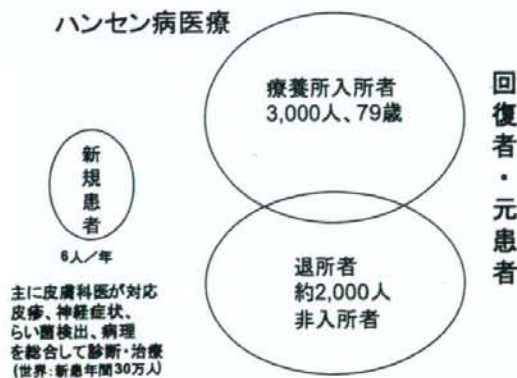


図1 ハンセン病医療の対象

表1 回復者(退所者)の医療への考え

1. クリニック、病院、大学病院受診歴がほとんど無い
2. ハンセン病に関係する病気は療養所での診療を希望する
3. 多くの回復者が「ハンセン病」の既往歴を言わない、他人に知られることを嫌う
4. 既往歴(ハンセン病)を主治医に言い出せない
5. 主治医と厚い信頼関係を持つことを切望している
6. カルテ病名、種々書類記載、診療待ち時間、他科併診、入院に強い不安
7. 皮膚の病気がハンセン病を皮膚科医が診療する、という認識が薄い

国立感染症研究所ハンセン病研究センター生体防衛部
著者連絡先：(〒189-0002) 東村山市青葉町4-2-1
国立感染症研究所ハンセン病研究センター

石井 則久

表2 ハンセン病の診療

1. 新患の殆どは皮膚科外来で診療
2. 途上国からの外国人受診時はハンセン病を鑑別
3. 日本人高齢者で治療しにくい皮膚病の場合はハンセン病を鑑別
4. 診断に迷う、治療に難渋する皮膚病の場合はハンセン病を鑑別
5. 検査は神経(肥厚、触覚低下、痛覚低下、温度覚低下、手足の運動障害、など)、皮膚スミア検査、病理検査
6. ハンセン病研究センターでも検査可能(Tel:042-391-8211, e-mail:norishii@nih.go.jp)
7. 患者への説明は慎重に(病名記載なども)
8. 主治医は診断後も診療、治療を継続

所や市町村に病名や投与薬剤が周知されるので、患者にも説明をお願いしたい。患者が病名記載に拒否を示す場合、「抗酸菌感染症」、「多発性単神経炎」などの病名

も考慮して頂きたい。ハンセン病(回復者も含めて)を一般医療機関で普通に診療できる環境整備が望まれる。

II. 皮膚非結核性抗酸菌症

抗酸菌の中で結核菌とハンセン病(らい菌)以外の非定型抗酸菌症をいう。

病態と診断

本邦では最も多いのが *M. marinum* で、熱帯魚の飼育で魚に接することによって接種される。そのほか外傷によって *M. fortuitum*, *M. chelonae*, 24時間循環風呂では *M. avium* などが原因菌となる。皮膚病変は結節・肉芽腫を形成し、びらん・潰瘍を伴うことが多い。診断には生検で肉芽腫の証明、組織片の培養で菌を証明する。*M. marinum* は低温(20-30°C)で培養する。培養コロニーでDNA-DNA hybridization法、PCR法などで菌の同定をする。

治療方針

数種類の薬剤で多剤併用をするが、菌種によって感受性が異なる。抗結核薬が無効な例が多く、テトラサイクリン系、マクロライド系、ニューキノロン系などを用いる。

【R 処方例】 *M. marinum* の場合下記のいずれか、または併用する

ミノマイシンカプセル(100mg) 2カプセル 分2

クラリス錠(200mg) 2錠 分2

【R 処方例】 *M. avium* の場合下記のいずれか、または併用する

リファジンカプセル(150mg) 3カプセル 分1
朝食前空腹時

エプトール錠(250mg) 3錠 分1

クラリス錠(200mg) 2錠 分2

内服薬は各々3か月間継続する。非結核性抗酸菌症には保険適用薬剤がない。*M. marinum* 感染では温熱療法を併用する。使い捨てカイロなどを、1日6-8時間圧抵する。小さな病変は外科的切除も有効である。

ハンセン病

Hansen's Disease, Leprosy

石井則久 国立感染症研究所ハンセン病研究センター・生体防御部部長(東京)

病態と診断

ハンセン病はらい菌による慢性抗酸菌感染症で、主な病変は皮膚と末梢神経である。診断は、①知覚低下を伴う皮疹、②神経麻痺・肥厚・運動障害、③らい菌検出、④病理組織所見の4項目を総合して行う。

生体のらい菌に対する特異的免疫能の差によって病像が異なるが、治療には皮膚スミア検査でらい菌を検出できる多菌型(multibacillary: MB, LL型やBL型, BB型, 一部のBT型)と、らい菌を検出しにくい少菌型(paucibacillary: PB, TT型やI群, BT型の一部など)に分類するのが簡単である。

治療方針

神経障害などの後遺症を残さず、耐性菌を作らないために早期診断、早期治療を心がける。ハンセン病は治癒する病気であるが、治療終了後も皮疹の再燃、らい反応、神経障害などのフォローのため数期間は定期的に通院させることも重要である。

治療はWHOの推奨する多剤併用療法(MDT: multidrug therapy)を原則に治療する。日本ハンセン病学会は治療指針を作成し公開している。

A. 多菌型(MB)

【R 処方例】 下記1)-3)を併用する。可能な限り4)を追加する

1) リファジンカプセル(150mg) 4カプセル 分1
朝食前 月1回(1年間)

2) レクチゾール錠(25mg) 4錠 分2 朝・夕食後 毎日(1年間)

3) ランプレンカプセル(50mg) 1カプセル 分1
朝食後 毎日(1年間)

4) タリピッド錠(100mg) 4-6錠 分2-3 食後 毎日(1年間)

1年後、症状や皮膚スミア検査によって治療の見直しを行う。日本においては臨床症状の鎮静化、皮膚スミア検査の陰性化を治療終了の目標とする。

B. 少菌型(PB)

【R 処方例】 下記の1)と2)を併用する。可能な限り3)を追加する

1) リファジンカプセル(150mg) 4カプセル 分1
朝食前 月1回(6か月間)

2) レクチゾール錠(25mg) 4錠 分2 朝・夕食後 毎日(6か月間)

3) ランプレンカプセル(50mg) 1カプセル 分1
朝食後 毎日(6か月間)

C. らい反応

【R 処方例】 上記AないしBの処方継続しながら下記の1)と2)(らい性結節性紅斑の場合のみ)を併用する

1) プレドニン錠(5mg) 4-10錠 分1-3 食後 毎日(症状によって増減、健胃薬を併用)

2) ランプレンカプセル(50mg) 1カプセル 分1
朝食後 毎日

■患者説明のポイント

- ・ハンセン病は単なる感染症であり、特別視することではないことを説明する。
- ・確実に内服することで後遺症なく治癒する病気であることを十分説明する。
- ・ランプレンは色素沈着を起こすことを説明する。
- ・治療中に皮疹や全身状態が悪化する場合は速やかに主治医に連絡する（らい反応の疑い）。

■看護・介護のポイント

- ・いまだハンセン病に対する偏見が完全に払拭されていない現状を認識し、啓発に努める。

白癬，皮膚糸状菌症

Tinea, Dermatophytosis

望月 隆 金沢医科大学教授・環境皮膚科学

病態と診断

白癬はケラチンを栄養源にできる真菌（皮膚糸状菌）による角質，爪，毛髪感染症である。皮疹は，①真菌の感染，②真菌に対する宿主（患者）の免疫反応，炎症反応，③搔破，感染，外用剤の刺激による二次的な変化，が種々の程度に複合して生じる。このうち②，③は原因が真菌でなくとも生じるので，その皮疹における真菌の有無の検討は抗真菌薬による治療に先立って決定的に重要である。診断は病巣の辺縁の鱗屑や水疱があれば水疱蓋，爪の白濁や容易に抜去できた病毛などから KOH 直接鏡検法，真菌培養法などの真菌検査で菌が検出されると確定する。湿疹様病変や角化症から真菌検査で菌が検出され，皮膚真菌症の診断に至る例がある。一方，巷間「水虫」「たむし」と称する状態は，真菌の有無にかかわらず単に掌蹠の病変，あるいは体表の環状の病変を指す場合が多く，皮膚科を受診した「水虫」患者の3分の1に菌がみつからなかったとの報告がある。真菌検査，特に KOH 直接鏡検法は重要で，習熟しておく必要がある。培養では菌種が感染経路の推測に重要で，また培養結果をみせることは患者指導に有用であるので励行したい。最近流行している *Trichophyton tonsurans* 感染症では，頭部白癬の診断や健康保菌者の検出にヘアブラシ培養法が有効である。これは滅菌ヘアブラシで頭を擦り，その先を平板培地に押し付けて培養する方法である。

治療法

外用抗真菌薬は多くの例に使用できるが，爪白癬や角質増殖型の手・足白癬は外用のみでは治癒は困難で，趾間にびらんのある足白癬，頭部白癬ではむ

しろ増悪することがある。外用剤は病巣より広く外用する。内服抗真菌薬（グリセオフルビン，テルビナフィン，イトラコナゾール）はケルスス禿瘡などの炎症を伴った白癬，頭部白癬，爪白癬，角質増殖型の手・足白癬，広範囲の体部白癬が適応である。肝障害のある患者には使用しない。治療開始前と開始後1か月，2か月で肝機能，末梢血液像を調べる。イトラコナゾールは併用薬剤の血中動態を変えするため，併用薬に注意する。

A. 足白癬（角質増殖型，びらんのある例を除く），体部・股部白癬

【R】処方例）下記のいずれかを用いる

- 1) ラミシールクリーム 1日1回 塗布
- 2) ゼフナートクリーム 1日1回 塗布
- 3) ニゾラールクリーム 1日1回 塗布
- 4) アスタットクリーム 1日1回 塗布
- 5) メンタックスクリーム 1日1回 塗布

症状が改善した後も，週2回程度3か月にわたり外用する。

B. 角質増殖型手・足白癬，爪白癬

【R】処方例）

- 1) ラミシール錠（125 mg）1錠 分1 食後 手・足白癬ならば2-3か月，爪ならば4-6か月連日内服
 - 1) で効果が十分でない場合2) を用いる。
- 2) イトリゾールカプセル（50 mg）4-8カプセル 分2 食後 1週間続け3週間休薬，このクールを3回

爪では基部から改善がみられれば，全体が生えかわるまで内服させる必要はない。内服終了後は外用させる。爪は白濁を削り取り，外用剤を併用すると改善が早い。

C. 頭部白癬（ケルスス禿瘡，Black Dot 型とも）

【R】処方例）下記のいずれかを用いる

- 1) ラミシール錠（125 mg）1錠 分1 食後 6週間連日内服
- 2) グリセチンV錠（125 mg）4錠 分2 食後 8週間連日内服
- 3) イトリゾールカプセル（50 mg）4-8カプセル 分2 食後 1週間連日内服

近年格闘技競技者の間に流行している *T. tonsurans* 感染症ではヘアブラシ培養法で同じグループ内の健康保菌者を検出し，同様に内服させて除菌をはかる。

D. 難治例

以下の例は皮膚科専門医に紹介すべき状態と考えられる。

1. 趾間にびらんのある例 細菌の二次感染，接触

今日の治療指針

| | | | |
|-----------|--------|-------------|----|
| Volume 1 | 1959年版 | 1959年 6月20日 | 発行 |
| Volume 2 | 1960年版 | 1960年 4月 1日 | 発行 |
| Volume 3 | 1961年版 | 1961年 5月10日 | 発行 |
| Volume 4 | 1962年版 | 1962年 5月30日 | 発行 |
| Volume 5 | 1963年版 | 1963年 7月 1日 | 発行 |
| Volume 6 | 1964年版 | 1964年 7月 1日 | 発行 |
| Volume 7 | 1965年版 | 1965年 7月20日 | 発行 |
| Volume 8 | 1966年版 | 1966年 6月10日 | 発行 |
| Volume 9 | 1967年版 | 1967年 6月15日 | 発行 |
| Volume 10 | 1968年版 | 1968年 5月 1日 | 発行 |
| Volume 11 | 1969年版 | 1969年 5月 1日 | 発行 |
| Volume 12 | 1970年版 | 1970年 5月 1日 | 発行 |
| Volume 13 | 1971年版 | 1971年 5月15日 | 発行 |
| Volume 14 | 1972年版 | 1972年 5月 1日 | 発行 |
| Volume 15 | 1973年版 | 1973年 5月 1日 | 発行 |
| Volume 16 | 1974年版 | 1974年 5月 1日 | 発行 |
| Volume 17 | 1975年版 | 1975年 5月 1日 | 発行 |
| Volume 18 | 1976年版 | 1976年 5月 1日 | 発行 |
| Volume 19 | 1977年版 | 1977年 4月15日 | 発行 |
| Volume 20 | 1978年版 | 1978年 1月25日 | 発行 |
| Volume 21 | 1979年版 | 1979年 1月25日 | 発行 |
| Volume 22 | 1980年版 | 1980年 3月 1日 | 発行 |
| Volume 23 | 1981年版 | 1981年 5月15日 | 発行 |
| Volume 24 | 1982年版 | 1982年 3月25日 | 発行 |
| Volume 25 | 1983年版 | 1983年 3月15日 | 発行 |
| Volume 26 | 1984年版 | 1984年 3月15日 | 発行 |
| Volume 27 | 1985年版 | 1985年 2月15日 | 発行 |
| Volume 28 | 1986年版 | 1986年 2月15日 | 発行 |
| Volume 29 | 1987年版 | 1987年 2月15日 | 発行 |
| Volume 30 | 1988年版 | 1988年 2月15日 | 発行 |
| Volume 31 | 1989年版 | 1989年 2月15日 | 発行 |
| Volume 32 | 1990年版 | 1990年 2月15日 | 発行 |
| Volume 33 | 1991年版 | 1991年 2月15日 | 発行 |
| Volume 34 | 1992年版 | 1992年 2月15日 | 発行 |
| Volume 35 | 1993年版 | 1993年 2月15日 | 発行 |
| Volume 36 | 1994年版 | 1994年 2月15日 | 発行 |
| Volume 37 | 1995年版 | 1995年 2月15日 | 発行 |
| Volume 38 | 1996年版 | 1996年 1月 1日 | 発行 |
| Volume 39 | 1997年版 | 1997年 1月 1日 | 発行 |
| Volume 40 | 1998年版 | 1998年 1月 1日 | 発行 |
| Volume 41 | 1999年版 | 1999年 1月 1日 | 発行 |
| Volume 42 | 2000年版 | 2000年 1月 1日 | 発行 |
| Volume 43 | 2001年版 | 2001年 1月 1日 | 発行 |
| Volume 44 | 2002年版 | 2002年 1月 1日 | 発行 |
| Volume 45 | 2003年版 | 2003年 1月 1日 | 発行 |
| Volume 46 | 2004年版 | 2004年 1月 1日 | 発行 |
| Volume 47 | 2005年版 | 2005年 1月 1日 | 発行 |

今日の治療指針 2006年版 (Volume 48)

2006年 1月 1日発行 第1刷©

総編集 やまぐち てつ きたはらみつお よくいづみ 山口 徹・北原光夫・福井次矢

発行者 株式会社 医学書院

代表取締役 金原 優

〒113-8719 東京都文京区本郷 5-24-3

電話 03-3817-5600 (社内案内)

印刷・製本 三美印刷

本書の複製権・翻訳権・上映権・譲渡権・公衆送信権 (送信可能化権を含む) は医学書院が保有します。

ISBN 4-260-00100-0 Y19000

JCLS < (株)日本著作出版権管理システム委託出版物 >

本書の無断複写は著作権法上での例外を除き禁じられています。

複写される場合は、そのつど事前に(株)日本著作出版権管理システム

(電話 03-3817-5670, FAX 03-3815-8199)の許諾を得てください。

32

ハンセン病 Hansen's disease

1. ハンセン病

■定義：ハンセン病 Hansen's disease (leprosy) は抗酸菌の一種であるらい菌 *Mycobacterium leprae* による慢性感染症で、主な病変は皮膚と末梢神経である。らい菌に対する個々人の細胞性免疫能の違いによって病像に差がみられる。治療が遅れると、治癒後も後遺症（手足の変形等）を残すことがある。有効な治療薬のなかった時代には病状が進み、重症化し、住民から疎外され、宗教上も差別され、法律でも隔離などの対策がとられた。さらに、日本では有効な治療剤の出現後も1996年まで「らい予防法」が存在し、偏見・差別の長い歴史が続いた。

同義語として「らい」、「癩」などが用いられてきたが、現在は偏見・差別を助長するとして、らい菌やらい反応等の学術用語以外は使用しない。

■病因・病態：ハンセン病の原因菌であるらい菌の培養には成功していない。しかし、らい菌の遺伝子はすべて解読されたので、基礎的研究の進展が期待されている。

らい菌の増殖は遅く（世代時間：12～13日）、至適発育温度は31°C前後であり、毒力はきわめて弱いと考えられている。したがって、皮膚症状が主で、病状の変化は緩徐である。また、らい菌の膜表面にあるフェノール性糖脂質（phenolic glycolipid-I：PGL-I）と末梢神経のシュワン Schwann 細胞表面のラミニン2との親和性が高いため、末梢神経の障害が起こる。

発症に大きく関与する感染の機会は、免疫能が完全でない乳幼児期に大量、頻回にらい菌を吸入すること（呼吸器感染）と言われている。発症に影響を与える因子としては、個々人のらい菌に対する特異的な細胞性免疫能のほか、公衆衛生の程度、経済状態、栄養状態などの環境・社会的因子が論じられている。したがって、感染から発症ま

では長期間を要し、発症せずに一生を終えることも多い。

【メモ】 Hansen 病の感染力：Hansen 病では感染力、発症頻度、菌陰性化、臨床的治癒などの評価が必要である。感染力は弱くないが、発症頻度はきわめて低く、経済状態などに左右され、貧困が発症頻度を高める。らい菌感受性遺伝子の研究も行われている。らい菌は Schwann 細胞からなかなか排除されないが、一定の治療と経過観察をすれば臨床的治癒としてよく、再発もきわめてまれである。

■疫学：日本人新規患者数は毎年数人程度で、高齢者がほとんどである。大部分の患者は幼小児期に感染し、免疫能等の低下した老年期に発症すると考えられる。一方、在日外国人の新規患者は毎年8人程度であり、Hansen 病患者の多い南米、アジアの国々の出身者が多い。

なお、世界の新規患者はアジア、アフリカ、南米などの発展途上国を中心に、年間約40万人が登録されている。

【メモ】 国際協力：日本での新規 Hansen 病患者は終焉を迎えている。しかし、世界では発展途上国を中心に年間約40万人の新規患者が登録されている。日本で培った知識・技能を発展途上国で活用する時期に入った。

■臨床症状：知覚障害を伴う皮疹、治りにくい皮疹、末梢神経障害などの主訴で皮膚科や、神経内科に受診し、主治医が日常見かけない皮疹、はつきりしない症状などで、疑診、診断名不明のもとに病院・大学の皮膚科へ紹介されることが多い。

診療では出生地（国）、小児期生活歴、家族歴などを聞く。自覚症のない皮疹、知覚障害（無自覚の外傷や火傷）、神経肥厚などから Hansen 病を鑑別に入れ検査を行う。診療や検査、入院などでは通常の感染予防の対応で十分である。生体内のらい菌の数、皮疹の性状や数、知覚障害、神経肥厚、運動障害、病理組織所見などで患者間に多様性がみられるが、これはらい菌に対する生体の免疫能の差であり、病型として分類される（図1）。発症初期のI群、その後らい菌に対し免疫能が高いTT型、全く反応しないLL型、それらの中間のB群（BT型、BB型、BL型）に分類さ

図1 ハンセン病の病型

| WHO分類 | 少菌型 (paucibacillary : PB) | 多菌型 (multibacillary : MB) |
|------------------|-------------------------------------|------------------------------|
| Ridley-Jopling分類 | (I) TT | BT B BB BL LL |
| 皮膚スミア検査 | 陰性 | 陽性 |
| らい菌 | 少数/発見し難い | 多数 |
| 皮疹の数 | 少数 | 多数 |
| 皮疹の分布 | 左右非対称性 | 左右対称性 |
| 皮疹の性状 | 斑(環状斑), 境界明瞭 | 紅斑(環状斑), 丘疹, 結節 |
| 皮疹の表面 | 乾燥性, 無毛 | 光沢, 平滑 |
| 皮疹部の知覚障害 | 高度(触覚, 痛覚, 温度覚) | 軽度/正常 |
| 主たる診断根拠 | 皮疹部の知覚異常 | 皮膚スミアでのらい菌の証明 |
| 感染性 | なし | 感染源になり得る |
| らい反応 | | 境界反応 ENL |
| 免疫状態 | | |
| 局所サイトカイン | らい菌特異的細胞性免疫 | 抗体 |
| | type 1 サイトカイン IL-2, IFN γ | type 2 サイトカイン IL-4, IL-10 |
| 病理所見 | マクロファージ活性化, 殺菌活性 | 泡沫細胞 |
| | 類上皮細胞肉芽腫 | |

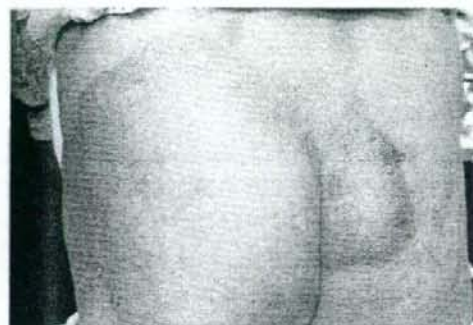


図2 ハンセン病 TT 型 (PB)

臀部から背部にかけて中心治癒傾向のみられる紅斑。外側の境界明瞭。皮疹部の知覚は障害されている。



図3 ハンセン病 (LL 型)

多数の結節が顔面や耳朶に認められる。表面紅色で、光沢がある。眉毛の脱毛も認める。

れる (Ridley-Jopling 分類)。また, TT 型などは検査でらい菌を検出しにくいので, 少菌型 (paucibacillary : PB), LL 型などはらい菌を検出できるので多菌型 (multibacillary : MB) とも分類される。最近, 皮疹が1つのみの場合には PB の中から独立して SLPB (single lesion of PB) に分類されている。この PB と MB, SLPB の分類は治療法の選択にも応用され, WHO 分類として知られている。

Hansen 病の皮疹は痒みのない紅斑, 白斑, 丘疹, 結節, 環状斑など様々であり, Hansen 病に特異な皮疹はない。皮疹は四肢や顔面に好発するが, 他部位にも認められる。皮疹にほぼ一致して知覚 (触覚, 痛覚, 温度覚) の鈍麻や麻痺を認める。また, 末梢神経の肥厚や四肢を中心とした運

動障害を認めることもある。外国人の場合には, 皮膚色, 表現の違い, 会話能力の問題などから, 症状がわかりにくいこともある。

初期病状 (I 群) は軽度の知覚低下や過敏を伴う白斑や淡紅色斑であるが, 見逃されやすく, その後は自然治癒する場合が多い。時に進行することがある。TT 型では1ないし数個の皮疹で, 乾燥傾向があり, 辺縁やや隆起した境界明瞭な紅斑や環状斑として認められることが多い (図2)。皮疹部の知覚障害, 発汗障害などを認める。LL 型では皮疹は左右対称性に多彩で, 多数の紅斑,



図4 ハンセン病BL型 (MB)
左右対称性に中心治癒傾向を認める紅斑や環状紅斑を多数認める。



図5 らい性結節性紅斑 (ENL)
LL型 (MB) 患者に認めた。有痛性で、発熱も認める。



図6 神経肥厚
肥厚し硬い索状の大耳神経を認める。

黄褐色から淡紅色の丘疹から結節，板状の結節や硬結などが全身に出現する (図3)。神経の障害は徐々に生じる。B群はTT型とLL型の中間の病像を示す (図4)。

■らい反応：らい反応とは Hansen 病の経過中に生じる急性の免疫学的な炎症である。1型反応 (境界反応) と2型反応 (らい性結節性紅斑 erythema nodosum leprosum: ENL) がある。らい菌の菌体成分が抗原になって免疫反応を起こすと考えられている。治療中に出現することが多いが、治療前後にも出現することがある。

1型反応 (境界反応) はB群の患者に見られることが多い。らい菌の菌体成分に対して細胞性免疫が作動することで、らい菌ないし菌体成分の存在する部位に炎症を起こす。元の皮疹部の発赤や腫脹，四肢の浮腫，末梢神経の障害 (疼痛，運動障害等)，失明などを起こす。

2型反応 (ENL) はらい菌の菌体成分抗原に対する抗体と補体に関与する免疫複合体によって生じる (図5)。LL型，時にBL型の患者に起こる。治療開始数ヵ月後に生じることが多いが、治療前後に起こることもある。圧痛を伴う結節性紅斑が四肢や体幹に生じ，末梢神経炎や眼症状をきたし，発熱や全身倦怠感などを伴う。検査では白血球増多や免疫グロブリンの増加などを認める。

■検査・病理組織所見：検査では，神経学的な検討，らい菌の検出，病理組織学的検討が必要である。

(1) 神経学的検査：皮疹部とその周辺の神経学的検査 (触覚，痛覚，温度覚) を行う。表在神経の肥厚，運動障害等も検査する (図6, 7)。

(2) らい菌検出の検査：らい菌は現在まで培養に成功していない。以下の検査を可能なかぎり複数施行する。

(a) 皮膚スミア検査：らい菌は皮膚 (真皮) に多く存在するので，皮疹部などをメスを刺し，組織液を採取する。組織液をスライドガラスにこすりつけ，抗酸菌染色し，鏡検する (図8)。

✕毛 皮膚スミア検査：皮疹部の皮膚を強くつまみ上げ (血液の混入を避ける)，円刃刀を皮膚面に直角に，真皮深層まで刺す。90度回してメスに組織液が十分に付着するようにして，メスをはね上げて抜く。メスの刃面に付着した組織液をスライドガラスに塗りつける。

(b) 病理組織特殊染色：病理組織を抗酸菌染色する。



図7 後遺症

発見・診断が遅れたための尺骨神経、正中神経の運動障害（指を開閉できず）。知覚（触覚、痛覚、温度覚）も障害されて、火傷がみられる。



図9 ハンセン病TT型の病理組織
巨細胞を混じる類上皮細胞肉芽腫。

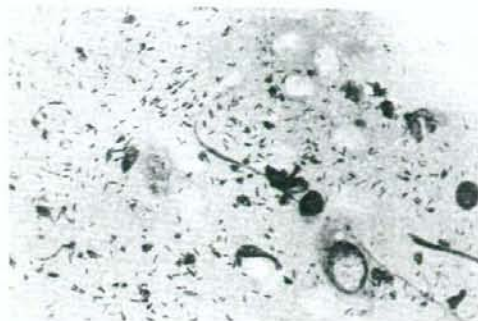


図8 らい菌の皮膚スミア検査標本
抗酸菌染色（Ziehl-Neelsen染色）し、1,000倍（油浸）で鏡検。らい菌の集塊（globi）もみられる。

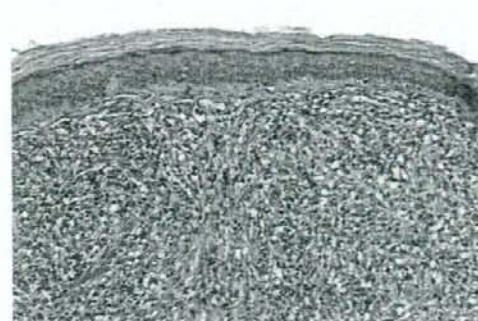


図10 ハンセン病LL型の病理組織
真皮最上層に正常層を残す。真皮には泡沫細胞（らい菌を貪食したマクロファージ）を混じる肉芽腫が形成されている。

×モ らい菌の染色性：同じ抗酸菌である結核菌に比べ、抗酸性、抗アルコール性が弱い。皮膚スミア検査ではZiehl-Neelsen染色が用いられる。脱色は1%塩酸アルコールで数秒間行えばよい。病理組織作製時には、脱パラフィン操作はオイルとキシレンを用いるFite法を用いる。

(c) PCR検査：皮膚組織などかららい菌特異的なDNAを証明する。

(3) 病理検査：皮膚の生検では、肉芽腫や泡沫細胞、浸潤細胞などを観察する。TT型（PB）などでは類上皮細胞肉芽腫がみられ（図9）、巨細胞も認められる。神経への細胞浸潤も認める。一方、LL型（MB）などでは組織球性肉芽腫がみられ、組織球の泡沫状変化や空胞化も認め（図10）、らい菌を多数観察することができる。

(4) その他の検査：汗腺の障害が認められるので、発汗テストを行う。らい菌膜表面にある特異的抗原（PGL-I）に対する血清中の抗体検査がある。MBで陽性、PBで陰性の傾向があるが、特異性に問題を残している。レプロミンテストの

試験液は現在供給されていない。

■診断・鑑別診断：日本では、①皮疹（自覚症なし）、②神経（知覚障害、肥厚、運動障害）、③らい菌検出、④病理組織検査の4項目を総合して診断する（図11）。Hansen病と診断した場合、PB（SLPBも含む、皮膚スミア検査陰性か、皮疹が1~5個）か、MB（皮膚スミア検査陽性か、皮疹が6個以上）かを判断する。Ridley-Jopling分類も行う。なお、発展途上国では、WHOは簡便な診断法（PB, MB, SLPB）を提示している（図11）。

鑑別診断は皮膚症状、神経症状から下記のように種々ある。重要なことは、通常の皮疹と異なる場合はHansen病を鑑別に含めることである。

(1) 皮膚症状から：乾癬、白癬、蕁風、単純性疣贅疹、脂漏性皮膚炎、尋常性白斑、サルコイドーシス、環状肉芽腫、環状紅斑、結節性紅斑、梅毒、皮膚結核、皮膚非結核性抗酸菌症、皮膚リーシュマニア症、リンパ腫など。

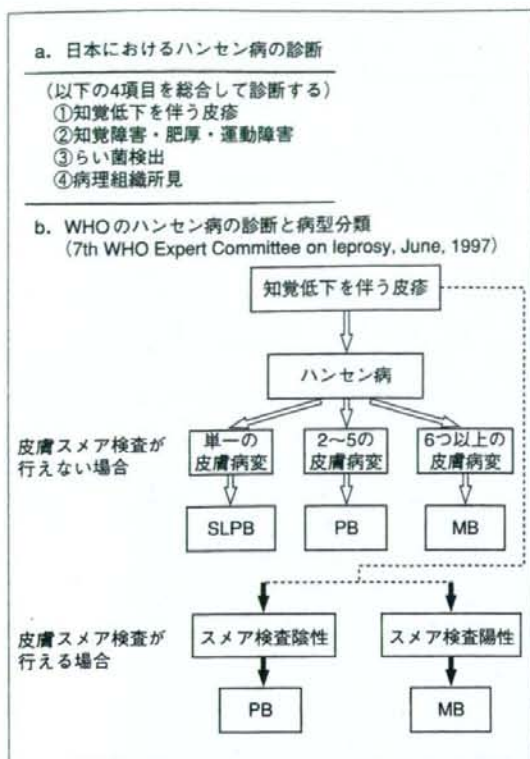


図11 ハンセン病の診断とWHOの病型分類

a. 日本の場合, b. WHOの場合.

表1 ハンセン病の治療(WHO/MDTを基本とし, 日本の実状に合わせてある)

| | | PB (少菌型) | MB (多菌型) |
|----------------|-----|------------------------------|--|
| 成人 | 毎日 | DDS 100 mg (分2, 食直後) | DDS 100 mg (分2, 食直後) CLF 50 mg* (分1, 食直後) |
| | 月1回 | RFP 600 mg(朝食前) | RFP 600 mg(朝食前) CLF 300 mg (分3, 食直後) |
| 小児 (10~14歳) | 毎日 | DDS 50 mg (分1, 食直後) | DDS 50 mg (分1, 食直後) CLF 50 mg** (分1, 食直後) |
| | 月1回 | RFP 450 mg(朝食前) | RFP 450 mg(朝食前) CLF 150 mg (分3, 食直後) |
| 治療期間 | | 6ヵ月間 遅れても9ヵ月以内に 服用し終わる | 12ヵ月間 遅れても18ヵ月以内に 服用し終わる |

・皮膚が1個のみの患者 (SLPB) には日本ではPBとして治療を行っている。

・MBにおいては12ヵ月では不十分との意見があり, 日本では臨床症状および皮膚スミア検査を勧奨してさらに継続するかを判断する。

*: CLF 300 mg を飲む日は飲まない, **: CLF 150 mg を飲む日は飲まない。

CLF: クロファジミン, DDS: ジアフェニルスルホン, RFP: リファンピシン。

(2) 神経症状から: 糖尿病性ニューロパチー, 末梢神経炎, 多発性単神経炎など。

■治療・経過・予後: I群やTT型は自然治癒もあるが, 他の病型では皮疹の悪化, 末梢神経症状(知覚神経, 運動神経)の悪化から, 後遺症を残す場合がある。

治療の基本は, 神経症状(神経炎, らい反応, 後遺症など)を起こさず, らい菌を生体から排除する(皮膚スミアテストで菌の陰性化)ことである。

治療はWHOの推奨する多剤併用療法 multi-drug therapy (MDT) を基本に行う(表1)。すなわち, 月1回のリファンピシン (RFP: 殺菌作用) と毎日のジアフェニルスルホン (DDS: 静菌作用), さらにMBではクロファジミン (CLF: 静菌作用) を毎日内服する。PBでは6ヵ月間, MBでは12ヵ月間内服する。なお, MBでは12ヵ月内服での菌陰性化は困難な例もあるので, 日本ではMDTを一部修飾して内服剤を追加, 治療期間を延長するなどしている。重要なことは, 耐性菌出現防止のため確実に内服することである。フルオロキノロン, ミノサイクリン (MINO), クラリスロマイシン (CAM) などもらい菌に対して有効である。

MDTを終了すれば治癒とする。しかし, 治療終了後にもらい反応や神経障害, 後遺症などの経過観察を行う。

らい反応や神経炎に対してはステロイド内服を行う。ENLにはサリドマイドが著効する。

(1) 生活指導の要点: 早期診断, 早期治療を心がけ, 後遺症を残さないようにすることが重要である。

(2) 後遺症: 有効な抗Hansen病剤がなかった時代には, 四肢や顔面などに变形などが起こった(図7)。現在は早期診断と殺菌力の強い薬での治療が行われており, 後遺症を残すことはまれである。Hansen病は普通の細菌感染症で, 感染力は弱くないが, 発病はきわめてまれである。早期に診断・治療し, 神経障害を残さないように努める。しかし, いまだ一部に病気に対する偏見があるため, 患者に病名を告げるときには家族, 職場などを含めて十二分な説明を要する。

【メモ】 後遺症を残さないために: 末梢神経の炎症を抑えることが必要で, 現在はプレドニゾロンの内服が第1選択になる。らい反応のみならず, 神経炎のときにも内服を

ることの後遺症予防が可能である。

2. ハンセン病と社会

Hansen 病はらい菌による単なる細菌感染症である。しかし、有効な抗 Hansen 病剤がなかった時代には、皮膚と末梢神経に病変をつくり、とりわけ顔面、手足に皮疹および末梢神経障害（痛覚脱失、変形、運動障害）を形成した。そのため、外見上の問題と手足の不自由による就労の困難など、さらに宗教上の問題などから、世界的に偏見・差別の対象となった。日本においては明治時代になって救済から隔離に進む、「癩予防ニ関スル件」、「癩予防法」、さらに Hansen 病に有効な治療剤が開発されていた 1953 年には「らい予防法」が制定された（表 2）。医学的進歩とかけ離れた、人権を無視した法律は 1996 年まで存続した。医療関係者は単に眼前の患者の治療や、医学の進歩を追究するのみならず、病気に関連する法律や社会的状況などにも常に眼を開いていることが必要である。法律によって Hansen 病療養所に強制的に入所させられた患者、Hansen 病故に職業、家庭、故郷を追われた患者や家族。医療関係者が社会にも眼を開いていれば、彼らの「普通に生きる」権利を奪うことがなかったことを深く考えることが必要である。

現在、13 の国立、2 の私立の Hansen 病療養所に約 3,200 人（平均年齢 78 歳）が入所している。入所者は Hansen 病は治癒している（元患者、回復者）が、偏見・差別と過去の隔離政策によって家族と縁が切れ、後遺症や高齢、要介護などから、社会復帰できずに在園している人が多い。「らい予防法」に替わって、「らい予防法の廃止に関する法律」に基づいて、各療養所は入所者の療養や介護を行っている。

2001 年（平成 13 年）の熊本地方裁判所におけ

表 2 ハンセン病関連年表

| 西暦年(元号) | 事 項 |
|------------|------------------------------|
| 1873(M 6) | ハンセンがらい菌を発見 |
| 1889(M 22) | テストウィード神父、日本初のハンセン病療養所開設 |
| 1907(M 40) | 「癩予防ニ関スル件」(法律第 11 号) 制定 |
| 1909(M 42) | 全国 5 ヶ所に公立療養所 |
| 1917(T 6) | 患者懲戒・検束ニ関スル施行細則 |
| 1931(S 6) | 「癩予防法」制定 |
| 1947(S 22) | 日本でプロミン治療開始 |
| 1953(S 28) | 「らい予防法」制定 |
| 1996(H 8) | 「らい予防法の廃止に関する法律」制定 |
| 2001(H 13) | 「らい予防法」違憲国家賠償請求事件(熊本地裁)で原告勝訴 |
| 2001(H 13) | 内閣総理大臣談話発表、控訴せず |

る、「らい予防法」違憲国家賠償請求事件判決後、国は長年にわたる Hansen 病隔離政策や、患者・元患者の人権侵害、偏見・差別の助長、Hansen 病政策の被害者に多大な苦痛と苦難を与えてきたことに対して反省し、名誉回復や福祉増進、啓発事業に努めることを誓った。

又千 Hansen 病回復者の一般医療機関受診：今後、Hansen 病回復者の一般医療機関受診機会が増加する。過去の偏見・差別の歴史から、彼らは既往歴（Hansen 病）について言い出しにくい場合がある。彼らの心情を汲んで治療をお願いしたい。

(石井則久)

文献

- Hastings RC ed: Leprosy, Churchill Livingstone, Edinburgh, 1994
- 石井則久, 中嶋 弘, 長尾榮治, 尾崎元昭: ハンセン病診断・治療指針 (厚生省 監修), 藤楓協会, 東京, 1997
- 石橋康正, 昆 幸市, 中嶋 弘 (監修), 石井則久, 尾崎元昭 (編): Hansen 病の外来診療, メジカルセンス, 東京, 1997
- 斎藤 肇, 長尾榮治, 牧野正直, 村上國男 (編): ハンセン病医学, 東海大学出版会, 東京, 1997
- 後藤正道, 石田 裕, 儀同政一, 長尾榮治, 並里まさ子, 石井則久, 尾崎元昭: ハンセン病治療指針, 日ハンセン病会誌 69: 157-177, 2000
- Cole ST et al: Massive gene decay in the leprosy bacillus. Nature 409: 1007-1011, 2001
- 熊野公子: らい反応について, 日ハンセン病会誌 71: 3-29, 2002
- http://www.who.int/lep/ (WHO のハンセン病欄)

検印省略

皮膚科学 定価(本体9,500円+税)

2006年3月27日 第1版第1刷発行

| | | | | |
|----|---|---|--|---|
| 編者 | かた 片 つち 土 はし 橋 ふる 古 わた 渡 | やま 山 だ 田 もと 本 え 江 なべ 辺 | いち 一 てつ 哲 ます 増 しん 晋 | ろう 朗 や 也 たかし 隆 たか 隆 いち 一 |
|----|---|---|--|---|

発行者 浅井宏祐

発行所 株式会社 文光堂

113-0033 東京都文京区本郷7-2-7
電話 (03)3813-5478(営業)
(03)3813-9591(編集)

©片山一朗, 土田哲也, 橋本 隆, 古江増隆, 渡辺晋一, 2006

Printed in Japan

[印刷] 真興社

乱丁・落丁の際はお取り替えいたします。

ISBN 4-8306-3448-0

・本書の複製権・上映権・譲渡権・公衆送信権(送信可能化権を含む)は株式会社文光堂が保有します。

・JCLS<(株)日本著作出版権管理システム委託出版物>

本書の無断複製は著作権法上での例外を除き禁じられています。複製される場合は、そのつど事前に、(株)日本著作出版権管理システム(電話 03-3817-5670, FAX 03-3815-8199, e-mail:info@jcls.co.jp)の許諾を得てください。

ハンセン病アトラス

診断のための指針

CD-ROM for
Mac & Windows



責任編集

小野友道・尾崎元昭・石井則久

編集委員

日本ハンセン病学会：尾崎元昭・石井則久・後藤正道・野上玲子
日本皮膚科学会：小野友道・岡本祐之・古川福美・江藤隆史

制作

日本ハンセン病学会
日本皮膚科学会



金原出版

Genotypic analysis of *Mycobacterium leprae* isolates from Japan and other Asian countries reveals a global transmission pattern of leprosy

Masanori Matsuoka¹, Rocio Ivette Lopez Roa², Teky Budiawan³, Kyaw Kyaw⁴ & Gue-Tae Chae⁵

¹Leprosy Research Center, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan; ²Immunology and Dermatology Research Center, CUCS, University of Guadalajara/Dermatologic Institute of Jalisco, Jalisco, Mexico; ³Leprosy-TB Program, Provincial Health Service, North Sulawesi, Indonesia; ⁴Central Special Skin Clinic, Yangon General Hospital, Yangon, Myanmar; and ⁵Institute of Hansen's Disease, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Correspondence: Masanori Matsuoka, Leprosy Research Center, National Institute of Infectious Diseases, 4-2-1, Aobacho, Higashimurayama-shi, 189-0002, Tokyo, Japan. Tel.: +81 42 391 8211; fax: +81 42 394 9092; e-mail: matsuoka@nih.go.jp

Received 3 April 2006; revised 29 May 2006; accepted 6 June 2006.
First published online June 2006.

doi:10.1111/j.1574-6968.2006.00346.x

Editor: Masao Mitsuyama

Keywords

leprosy; *Mycobacterium leprae*; genotyping; SNPs; VNTRs.

Introduction

Leprosy is a chronic disease caused by infection with *Mycobacterium leprae*. One difficulty in studying the mode of transmission of leprosy is the small amount of variation in bacterial genomic DNA. No genotyping tool was available until two variable number tandem repeats (VNTRs) were detected in 2000 (Matsuoka *et al.*, 2000; Shin *et al.*, 2000), followed by the discovery of short tandem repeats (STRs), also with the potential for genotyping (Grothouse *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005). STRs with polymorphisms used for community-based epidemiological analysis showed the existence of variable strains in areas with a high prevalence of leprosy (Matsuoka *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005). In addition, VNTRs in the *rpoT* gene, with a small range of divergence of three copies of 6 base pair (bp) tandem repeats to four copies of 6 bp tandem repeats (three-copy type, four-copy type), proved valuable for the analysis of the global transmission of leprosy (Matsuoka *et al.*, 2005). One prominent finding was the predominance of the four-copy type in eastern Asian countries such as Korea and mainland Japan (Matsuoka *et al.*, 2000). Genotyping by single-nucleo-

Abstract

The genotype of single-nucleotide polymorphism type 3, CTC, at positions 14676, 164275, and 2935685, along with four copies of 6 bp repeats in the *rpoT* gene, was predominant for isolates originating in the Japanese mainland. Type 1, CGA, type 2, CTA, and type 3 were detected from Korea, Indonesia, and Myanmar. No isolates with four copies of 6 bp were detected from Myanmar, Okinawa, and Japanese Brazilian patients. Type 4, TTC, with three copies of 6 bp, was detected only from Japanese Brazilians. The results indicate that infection occurred in Brazil and the disease developed later in Japan.

tide polymorphisms (SNPs) was also discovered to be useful for analysis of the global spread of leprosy (Monat *et al.*, 2005). The purpose of this study was to compare SNPs, along with VNTR genotypes in the *rpoT* gene of *M. leprae* isolates from Asian countries, in order to understand the transmission of *M. leprae* in this region.

Materials and methods

Source of *M. leprae* and preparation of template DNA

A total of 155 *M. leprae* isolates were submitted for analysis of SNPs and VNTRs. Samples in Japan consisted of three groups: 35 samples from the mainland, 11 samples from Okinawa, the islands at the southern end of Japan, and nine samples from Japanese Brazilian patients. The sex and age of the Japanese Brazilian patients were as follows: male, 17 years; male, 23; male, 28; male, 31; male, 32; male, 32; male, 33; female, 53; and male, 59. The 31-year-old male arrived in Japan 6 months before developing symptoms, which was 12 months before diagnosis. The 59-year-old male lived in

Japan for 5 years before manifesting symptoms 6 months before diagnosis. The histories of the other patients are unknown, but it is supposed that they also grew up in Brazil, similar to the two described cases, and came to Japan on work visas. Other samples included 36 samples from Korea, 29 samples from Myanmar, and 35 samples from Indonesia. Bacterial samples from Indonesia and Myanmar, and for some of the Japanese samples and all of the Japanese Brazilian samples, were obtained as slit-skin smear specimens. Samples on the blade were soaked in 70% ethanol and kept at room temperature until DNA templates were prepared according to methods described previously (Matsuoka *et al.*, 2005). All of the Korean samples were from biopsies, and the extracted DNA from each sample was sent to Japan, where a DNA template was prepared as described previously (Matsuoka *et al.*, 2000). *Mycobacterium leprae* isolates were prepared from 29 of the Japanese samples, maintained by serial passage in nude mice, and DNA templates were prepared using the protocol described above for the biopsy samples. In the strains maintained by serial passage in nude mice, the stability of SNPs and the copy numbers of the six-base tandem repeats in the *rpoT* gene were determined by examining five of the isolates. The passage levels examined ranged from biopsy to the 12th *in vivo* passage.

SNP genotype analysis

Nucleotides at positions 14676, 164275, and 2935685 in *M. leprae* genomic DNA, in which SNPs were found (Cole *et al.*, 2001; Monat *et al.*, 2005), were determined by direct PCR/DNA sequencing. PCR was carried out using the G PreMix in the FailSafe PCR System (EPICENTRE, Madison, WI) in a 50 µL volume of reaction mixture. The primers used for PCR were as follows: forward primer for 14676, 5'-TGAACA GTCTCGTAACCGTG-3'; reverse primer for 14676, 5'-TGA ATAAAGTGGTAATAAAC-3'; forward primer for 164275, 5'-GCGGCTTCATGGCTCGTAC-3'; reverse primer for 164275, 5'-GTCGGGGGTAGTAGTCTTCC-3'; forward primer for 2935685, 5'-TGGTGTCCGGTCTCCATCCAG-3'; reverse primer for 2935685, 5'-CACCTGATAACCTCCG AC-3'. PCR fragments were purified and sequenced according to the same protocol as described elsewhere (Matsuoka *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005).

rpoT genotyping by PCR and electrophoresis

Copy numbers of 6 bp tandem repeats in the *rpoT* gene were identified by the agarose gel electrophoresis method described previously (Matsuoka *et al.*, 2000, 2005). Primers A (5'-ATGCCGAACCGGACCTCGACGTTGA-3') and B (5'-TCGTCTCGAGGTCGTCGAGA) (GenBank Accession No. AB019194) were used for amplification of the target region containing the 91 or 97 bp fragment with either three copies of the six-base tandem repeats or four copies of the six-base

tandem repeats. PCR products were separated in a 4% Meta Phore agarose gel (FMC Bioproducts, Rockland, ME). The results were also confirmed by sequencing (Matsuoka *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005).

Ethical approval

Informed consent was obtained from all subjects, and the study was approved by the institutional ethics committee of the National Institute of Infectious Diseases, Japan. Bacterial samples were collected after informed consent was obtained.

Results

Distribution of variant SNP *M. leprae* genotypes

The SNP variants detected were the same genotypes as identified previously (Monat *et al.*, 2005): SNP type 1, CGA; SNP type 2, CTA; SNP type 3, CTC; SNP type 4, TTC; at positions 14676, 164275, and 2935685 (Table 1). SNP type 1 was predominant in Myanmar and SNP type 3 was predominant in mainland Japan. Of the 11 isolates from Okinawa prefecture, four were SNP type 1; however, there were no SNP type 1 isolates detected in mainland Japan. In addition, type 4 was detected only in Japanese Brazilian patients.

Geographic distribution of *M. leprae* with different *rpoT* genotypes

PCR products from the *rpoT* gene with 91 or 97 bp were identified from the three-copy type or the four-copy type, respectively (Fig. 1), similar to previous results (Matsuoka *et al.*, 2000, 2005). Sequencing of products revealed three copies or four copies of a 6 bp nucleotide sequence, GACATC. No four-copy type was detected in samples from Okinawa, Myanmar, or from Japanese Brazilian patients (Table 1). *Mycobacterium leprae* containing the four-copy type was overwhelmingly predominant in mainland Japan and Korea.

Stability of SNP and *rpoT* genotypes after serial passage in nude mice

Both SNPs and copy numbers of the 6 bp tandem repeats in the *rpoT* gene were maintained stably without any changes during passage of the five strains examined, as shown in Table 2.

Discussion

Mycobacterium leprae isolates with genotypes containing three copies of 6 bp tandem repeats (three-copy type) or four copies of 6 bp tandem repeats (four-copy type) in the *rpoT* gene have been shown in previous studies to have a

Table 1. Frequency of each single-nucleotide polymorphism (SNP) and *rpoT* *Mycobacterium leprae* genotype in Asian countries

| Origin | SNPs | | | | <i>rpoT</i> type | |
|--------------------|--------------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|------------------|-----------|
| | Type 1* | Type 2† | Type 3‡ | Type 4§ | 3 copy¶ | 4 copy |
| Japan Mainland | | 2 (C3:0,C4:2) | 33 (C3:2,C4:31) | | 2 | 33 |
| Japan Okinawa | 4** (C3:4,C4:0)†† | | 7 (C3:7,C4:0) | | 11 | |
| Japanese Brazilian | | | 7 (C3:7,C4:0) | 2 (C3:2,C4:0) | 9 | |
| Korea | 15 (C3:4,C4:11) | 4 (C3:0,C4:4) | 17 (C3:0,C4:17) | | 4 | 32 |
| Indonesia | 12 (C3:10,C4:2) | 7 (C3:6,C4:1) | 16 (C3:14,C4:2) | | 30 | 5 |
| Myanmar | 26 (C3:26,C4:0) | 1 (C3:1,C4:10) | 2 (C3:2,C4:0) | | 29 | |

*CGA at positions 14676, 164275, and 2935685.

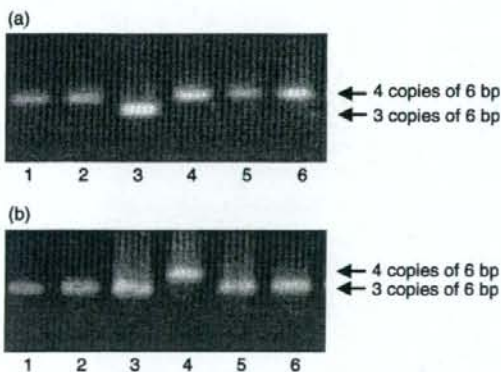
†CTA at positions 14676, 164275, and 2935685.

‡CTC at positions 14676, 164275, and 2935685.

§TTC at positions 14676, 164275, and 2935685.

¶Three copies of 6 bp tandem repeats in the *rpoT* gene.||Four copies of 6 bp tandem repeats in the *rpoT* gene.

**Bold type numbers are number of isolates with specific genotype.

††C3 and C4 are *rpoT*, three-copy or four-copy genotypes, respectively. Numbers represent numbers of isolates of each SNP type.**Fig. 1.** Electrophoresis of 91 or 97 bp PCR products from three copies of 6 bp tandem repeats or four copies of 6 bp tandem repeats in the *rpoT* gene: (a) samples from patients in mainland Japan; (b) samples from patients in Myanmar. Lane 3: 91 bp control for three copies; lane 4: 97 bp control for four copies.

localized geographic distribution (Matsuoka *et al.*, 2000, 2005). One of the prominent findings was predominance of the four-copy type in the eastern Asian countries of Korea and mainland Japan. SNP genotyping of *M. leprae* has also been demonstrated to have a characteristic worldwide geographic distribution and can be used to trace the worldwide dissemination of leprosy (Monat *et al.*, 2005). Of interest is whether there is a coincident biased distribution of specific SNP genotypes along with the prominent distribution of the four-copy type of the *rpoT* gene in Japan and Korea. More specific determination of *M. leprae* SNP genotypes in Asian countries, especially in Japan and Korea, is therefore important.

Table 2. Stability of single-nucleotide polymorphism (SNP) and *rpoT* genotype among strains subjected to serial passage in nude mice

| Strain and generation | Genotype | | |
|-----------------------|-------------|----------|--------------|
| | Nucleotide* | SNP type | Copy number† |
| Thai-53 3rd | CGA | 1 | 3 |
| Thai-53 4th | CGA | 1 | 3 |
| Thai-53 7th | CGA | 1 | 3 |
| Thai-53 11th | CGA | 1 | 3 |
| Thai-53 12th | CGA | 1 | 3 |
| Kusa-6 Biopsy | CTC | 2 | 4 |
| Kusa-6 1st | CTC | 2 | 4 |
| Kusa-6 2nd | CTC | 2 | 4 |
| Kusa-6 3rd | CTC | 2 | 4 |
| Kusa-6 4th | CTC | 2 | 4 |
| Kyo-1 3rd | CTC | 2 | 4 |
| Kyo-1 5th | CTC | 2 | 4 |
| Kyo-1 7th | CTC | 2 | 4 |
| Kyo-1 8th | CTC | 2 | 4 |
| Zen-4 1st | CTC | 2 | 4 |
| Zen-4 2nd | CTC | 2 | 4 |
| Zen-4 3rd | CTC | 2 | 4 |
| Zen-4 4th | CTC | 2 | 4 |
| Zen-9 Biopsy | CTC | 2 | 3 |
| Zen-9 1st | CTC | 2 | 3 |
| Zen-9 2nd | CTC | 2 | 3 |
| Zen-9 3rd | CTC | 2 | 3 |

*Nucleotide at positions 14676, 164275, and 2935685.

†Copy number of 6 bp tandem repeats in the *rpoT* gene.

The different *rpoT* genotypes identified in mainland Japan and Okinawa were also seen in a previous study (Matsuoka *et al.*, 2000), and different SNP genotypes were also seen in this study between the two regions (Table 1). SNP type 1 was not detected in isolates from the mainland, but there were four type 1 strains in isolates from Okinawa.