

10. 結核菌縦列反復配列多型 (VNTR) 解析において同一パターンを示した 2つの結核発生事例について

小林広記¹⁾、下田清子¹⁾、北野和子¹⁾、小林良清¹⁾、関口真紀²⁾

¹⁾ 長野県佐久保健福祉事務所、²⁾ 長野県環境保全研究所

キーワード：結核, VNTR 解析

要旨：佐久保健福祉事務所（佐久保健所）では、初発患者の発生から2年以上経過後、同一集団内で2人目の患者の発生が認められた2つの結核事例に遭遇し、各事例の患者2人の関連性をそれぞれ推定するため、分子疫学的手法のひとつである結核菌縦列反復配列多型 (VNTR) 解析を実施した。その結果、両事例の患者はそれぞれ同一パターンを示したため、患者発生当時に実施した患者調査や接触者調査、接触者健診の結果と合わせて両事例を解析し、感染源や感染経路の推測を試みた。また、事例を解析することにより、接触者健診の実施時期や、VNTR 解析後の疫学調査の方法等についての課題が明らかとなった。

A. 目的

結核発生時、「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」に基づき、保健所では積極的疫学調査をすることで感染源や感染経路を究明するとともに、感染者の早期発見等を目的として健康診断（接触者健診）を実施しているが、長野県では、積極的疫学調査のひとつの手法として、結核菌縦列反復配列多型 (VNTR) 解析（以下、「VNTR 解析」）を平成26年度に導入した。

近年、当所では、初発患者の発生から2年以上経過後に同一集団内で2人目の結核患者が発生し、VNTR 解析において同一パターンを示した2つの事例を経験したので、その概要を報告する。

B. 事例の概要

事例1：平成X年、患者Aが肺結核（有症状、喀痰塗抹2+、空洞あり）と診断され、その3年9ヶ月後に同一集団内に属する患者Bが肺結核と診断された。患者Bは、患者Aの診断当時、当所で実施した接触者調査において濃厚接触者と判断されたため、最終接触から2ヶ月後にクオンティフェロン[®]TBゴールドを用いたインターフェロン γ 遊離試験（以下、「IGRA」）を実施したが、陰性であったため以降の健診は不要と判断されていた。

事例2：平成Y年、患者Cが肺結核（有症状、喀痰塗抹3+、空洞あり）と診断され、その2年2ヶ月後に同一集団内に属する患者Dが肺結核と診断された。患者Dは、患者Cの診断時、患者Cとの明らかな接触が認められなかったため、接触者健診の対象者とはならなかった。

なお、患者A～Dの4名は、いずれも成人であり、結核既往はない。

どちらの事例も同一集団内における発生ではあるが、初発患者から2年以上経過してからの2人目の患者発生であり、さらに事例1では接触者健診において患者Bの感染が確認されなかったこと、また事例2では、患者Dは明らかな接触歴が認められていなかったことから、一連の感染ではなく、それぞれ異なる感染源から感染した可能性も考えられたため、疫学調査だけでは感染源や感染経路を推定することは困難と思われた。しかし、いずれの患者からも結核菌が分離されていたことから、それぞれ分離菌から関連性を推測するため、VNTR 解析を実施することとなった。

C. VNTR 解析の実施

①解析方法

VNTR 解析は、患者の喀痰から分離された結核菌株を検体として長野県環境保全研究所において実施された。解析は、JATA (15) 領域に超可変領域 (HV: Hyper variable) である3領域を加えた計18領域について行われ、得られた繰り返し配列数のパターンで比較した。

②解析結果

解析結果を表に示した。患者Aと患者Bの菌株及び患者Cと患者Dの菌株の繰り返し配列は、それぞれ18領域全て一致し、同一菌である可能性が強く示唆された。

D. 考察

VNTR 解析によって得られた分子疫学的情報をもとに、患者発生当時に実施した疫学調査（患者調査・接触者調査）や接触者健診の結果と合わせて解析を行い、両事例における感染経路の推測を試みた。

事例1については、VNTR 解析で同一パターンを示したことから両者がそれぞれ異なる感染源から感染

した可能性は低いと考えられ、さらに患者調査や接触者調査において両者の感染源となりうる他の患者が確認されていないことから、患者 B は患者 A から直接感染した可能性が高いと推測された。

なお、「感染症法に基づく結核の接触者健康診断の手引き（改訂第 5 版）」¹⁾（以下、手引き）においては、IGRA の実施時期として、感染曝露から 3～6 ヶ月の間に陽転化する者も少なくないことが報告されているため、2～3 ヶ月後と幅を持たせて設定することが望ましいとされている。事例 1 では、患者 A 診断時の接触者健診において、患者 B に対する IGRA は最終接触 2 ヶ月後（63 日後）に実施されたが、手引きの記載を考慮すると、感染者の把握漏れをより少なくするために、感染・発病リスク等を踏まえた上で実施時期を 3 ヶ月後に設定することを検討する必要性が感じられた。さらに、手引きでは、2～3 ヶ月後の健診において結核陽性率が極めて高い場合には 6 ヶ月後の再検査を奨励している。本事例では IGRA の受診者数が 6 名（うち陽性 1 名）と少数であり陽性率の評価は困難であったと思われるが、接触環境や患者の感染性を考慮し、再検査の要否について慎重に検討することが重要であると感じられた。

事例 2 についても、VNTR 解析で同一パターンを示し、両者の感染源となりうる他の患者が確認されていないことから、患者 C から患者 D へ直接感染した可能性が考えられた。しかし、接触者調査において両者の明確な接触は確認されなかったことや、患者 C の濃厚接触者 20 名の IGRA 陽性率は低率（10%）であり広範囲への感染拡大は考え難いことを踏まえると、

直接感染したと特定することは困難であった。VNTR 解析結果を踏まえ、両者に接触歴等を再度調査することで、新たな接触歴の発見や、または両者の感染源となりうる他の患者の存在が明らかになる可能性が期待されたものの、再調査を行うことで両者や集団内において感染源、被感染者といった意識を惹起し、混乱を生じることが危惧されたため、実際には再調査は実施できなかった。

本事例では感染経路のさらなる追求は断念したが、今後も、明確な接触歴のない患者間で VNTR 解析結果が一致する事例に遭遇する可能性があり、そのような場合、患者・感染者の人権等への配慮をした上でどのように感染源や感染経路の究明を進めるべきか、検討しておく必要があると考えられた。

E. まとめ

一連の感染が疑われる結核発生事例において、VNTR 解析を実施することで感染源や感染経路を推測する上での有用な科学的情報が得られた。また、VNTR 解析の結果をもとに各事例における疫学調査や接触者健診について検証したところ、IGRA の実施時期や、VNTR 解析後の疫学調査の方法等についての課題が明らかとなったことから、今後検討が必要と思われた。

F. 利益相反

利益相反なし

参考文献

- 1) 研究代表者（公財）結核予防会結核研究所長 石川信克：感染症法に基づく結核の接触者健康診断の手引き（改訂第 5 版），厚生労働科学研究，2016 年

表 VNTR 解析による各領域の繰り返し配列数

No.	JATA(12)												JATA(15)			Hypervariable		
	J01	J02	J03	J04	J05	J06	J07	J08	J09	J10	J11	J12	J13	J14	J15	HV1	HV2	HV3
Alias	Mtub 04	MIRU 10	Mtub 21	Mtub 24	QUB 11b	V 2372	MIRU 26	QUB 15	MIRU 31	QUB 336	QUB 26	QUB 4156	QUB 18	QUB 11a	ETR A	QUB 3232	V 3820	V 4120
Locus	0424	0960	1955	2074	2163b	2372	2996	3155	3192	3336	4052	4156	1982	2163a	2165	3232	3820	4120
患者 A	2	3	1	3	4	2	5	4	3	14	5	3	5	2	3	5	5	2
患者 B	2	3	1	3	4	2	5	4	3	14	5	3	5	2	3	5	5	2
患者 C	2	5	2	1	1	3	1	2	3	14	5	4	7	7	3	5	7	2
患者 D	2	5	2	1	1	3	1	2	3	14	5	4	7	7	3	5	7	2