

# 滋賀県衛生科学センターだより

No. 9

平成 22 年(2010年)3月1日

編集発行 滋賀県衛生科学センター

〒520-0834 大津市御殿浜 13-45

Tel 077-537-3050 Fax 077-537-5548

e-mail:[ef45@pref.shiga.lg.jp](mailto:ef45@pref.shiga.lg.jp)

HP:<http://www.pref.shiga.jp/e/ef45/>

## 結核-診断法

## 結核菌-分子疫学解析法

### 結核感染診断法 「クオンティフェロン TB-2G(QFT)」

結核は、過去の病気と思われがちですが、日本では現在もなお主要な感染症のひとつです。結核患者は年々減少していますが、先進諸国と比べるとまだ罹患率は高く、世界の中で「中まん延国」とされています。

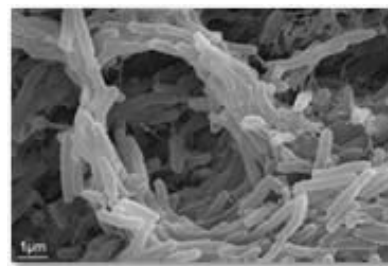
滋賀県では、毎年 200 人以上が新たに結核を発症しています。過去 5 年間をみますと平成 16 年から 18 年までは減少傾向でしたが、平成 19 年から再び増加しています(表 1)。

結核はヒトからヒトへ伝播する感染症で、結核患者が咳やくしゃみをした時に排出された結核菌を吸い込むことによって感染します。結核対策の一つとして、結核患者の接触者健診を行うことは、新たな患者の早期発見を図るとともに、潜在性結核感染(結核菌に感染しているが発症に至らない状態)者を見出し、予防的な治療を行うことで感染の拡大を防ぐことができると考えられます。

従来、結核感染の有無を診断する検査として行ってきたツベルクリン反応(ツ反)は、BCG ワクチンのアミノ酸配列と類似性が高い精製ツベルクリン PPD (Purified Protein Derivative) を抗原として使用するため、BCG 接種が一般的である日本では結核に感染していなくても陽性(偽陽性)と判定される確率が高く、感染の診断はきわめて困難でした。

近年、「全血インターフェロン- 応答測定法」による QFT が開発され、BCG 接種やほとんどの非結核性抗酸菌感染の影響を受けない特異性の高い検査法として導入されるようになり、新しい「結核の接触者健康診断の手引き」(財団法人結核予防会発行、平成 19 年)では、QFT を第一優先の検査として位置づけています。

滋賀県では、平成 19 年度から保健所が行う結核の接触者健康診断に QFT を導入し、平成 20 年度には 514 件実施しました。検査結果は、陽性 38 人(7.4%)、判定保留 16 人(3.1%)、陰性 454 人(88.3%)、判定不可 6 人(1.2%)となりました。



結核菌の電子顕微鏡写真

(財)結核予防会提供

表1 結核の年次推移

		平成16年	平成17年	平成18年	平成19年	平成20年
新登録患者数	全国	29,736	28,319	26,384	25,311	24,760
	滋賀県	271	235	209	219	245
罹患率 (人口10万対)	全国	23.3	22.2	20.6	19.8	19.4
	滋賀県	19.8	17.0	15.0	15.7	17.5

「(財)結核予防会」結核の統計参考

## QFT の原理

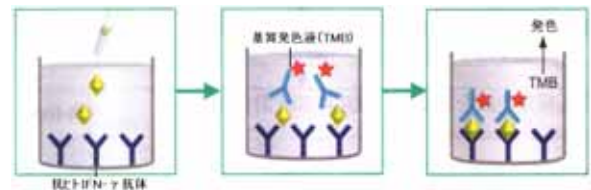
結核菌に対する免疫は、T細胞と呼ばれるリンパ球が主体となる細胞性免疫です。結核菌に初めて感染した後、およそ4～8週で細胞性免疫が獲得されます。ヒトがいったん結核に感染すると、発症していなくても生体内のTリンパ球がその情報を記憶します。そして、再び結核菌あるいは結核菌と同様の抗原が体内に侵入すると、細胞性免疫として血液中のTリンパ球が免疫応答を起こし、「インターフェロン- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )」を産生します。

QFTは、この性質を利用した方法で、2種類の結核菌特異抗原(ESAT-6、CFP-10)を被検者から採取した血液に添加してTリンパ球を刺激し、産生されるIFN- $\gamma$ 量をサンドイッチ酵素免疫測定法(ELISA法)で測定する検査です(図1)。測定値から、陽性、判定保留、陰性と判定します。

### 第1段階：全血を結核菌抗原で刺激



### 第2段階：IFN- $\gamma$ 産生量を ELISA で測定



(QFT-2G 添付文書引用)

図1 QFTの原理

## QFT の課題

QFTは感度が89%、特異度が98%と優れている検査とされていますが、あくまでも結核感染の補助診断の一つです。免疫機能が低下している者、高齢者、重症結核患者などでは陽性率が低いと報告されており、検査結果が陰性または判定保留となった場合でも結核や潜在性結核を否定できず、他の臨床結果と合わせて総合的な診断が必要となります。5歳以下の乳幼児は、判定基準が定まっていないため、ツ反を優先して実施することになっています。また、感染から陽性になるまでの期間や経時的な変化がはっきりしていないこと、過去と最近の感染の区別が困難なことなど、いくつかの課題が挙げられています。

現在、操作性が向上し、より高感度になった次世代のQFTが開発され、普及しつつあります。これからも、結核根絶に向けて新たな診断法に注目していきます。

## 結核菌の分子疫学解析法

滋賀県では、結核菌感染源調査事業を平成12年度から行っています。この事業は、県内で発生した結核患者から分離された結核菌の遺伝子解析をすることにより、地域特異性を明らかにし、感染源および感染経路等の疫学解析の資料として、結核の感染予防を推進することを目的としています。解析には、RFLP法(制限酵素断片長多型法)と平成18年度から導入されたVNTR法(反復配列多型法)が用いられています。

### RFLP(Restriction Fragment Length Polymorphism)法

結核菌の遺伝子には、IS6110と名付けられた配列部位があります。結核菌が持つIS6110の数は0～19個で、挿入される位置や数は、結核菌が世代を重ねる間に変わるのでそれぞれ結核菌ごとに異なります。RFLP法はIS6110の数と位置のパターンを調べ、解析して結核菌ごとの相似性を求める方法です。それぞれの結核菌の持つパターンはその菌株に固有と考えられ、複数の結核菌株のパターンが一致(図2矢印)した場合、それらの株は同じ感染源に由来することが疑われます。

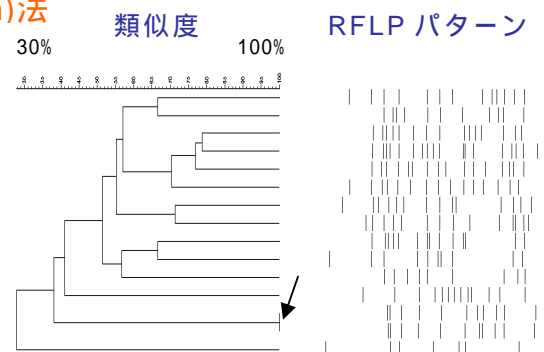


図2 RFLP分析例

## VNTR(Variable Numbers of Tandem Repeats)法

結核菌の遺伝子には、同じ配列の遺伝子が並んでいる領域がいくつかあります。そのうちの12領域で同じ配列の遺伝子がいくつあるかを比較することにより、結核菌ごとの相似性を求める方法です。12領域の数値がすべて一致した場合、同じ感染源が疑われます。

VNTR法は、新しい検査法で、RFLP法と同程度の解像度がある上、迅速に結果が出ることや、データが数値化されるため、過去の菌株や他機関との比較、データベース化が容易にできるという利点があります。

表2はVNTRの分析例です。12領域のうち同じ数値が2領域のみであるため、この二つの結核菌は感染源が違う可能性が高いと考えられます。

表2 VNTR分析例

領域	J01 0424(+04)	J02 0960(M10)	J03 1955(+21)	J04 2074(+24)	J05 2163b(Q11b)	J06 2372(V2372)	J07 2996(M26)	J08 3155(Q15)	J09 3192(M31)	J10 3336(V3336)	J11 4052(Q26)	J12 4156(Q4156)
1 結核菌1	3	4	2	2	2	3	8	4	6	7	6	1
2 結核菌2	3	1	3	2	7	2	7	5	5	8	2	0

## 解析結果の活用

遺伝子解析結果からは、集団感染の監視、結核まん延状態の把握、結核予防対策の効果判定などが推察できます。地域別に解析した場合、同一の解析パターンを示す菌株が多い場合は、結核がまん延しているといえます。また反対に解析パターンの類似性が低く、異なるパターンが多く見られる場合は結核のまん延状態が低く、予防対策の効果が出ているといえます。

滋賀県では、結核患者は増加傾向にあります。過去3年間の分析結果は同じパターンを示す結核菌が少なく、まん延状態は低いと推察されます。

このように分析した後、保健所と連携して、疫学調査を開始するなど、結核対策に活用しています。今後も、結核の感染源・感染経路追求や結核予防対策のためにデータを蓄積するとともに、行政現場に提供していきます。

### 【トピックス】

今年度後半のトピックスを二つ紹介します。一つは、11月19日に、県の9試験研究機関で構成する「琵琶湖と滋賀県の環境に関する試験研究機関連絡会議：平成21年度本会議」を当所で開いたことです。本会議は、毎年、輪番制で開催しており、共同研究の現状やあり方などについて意見交換を行い、当所の紹介と施設見学で締めくくりました（写真左）。

もう一つは、12月16日に、国立国際医療センターからの依頼によるインドネシア共和国「鳥インフルエンザ・サーベイランスシステム強化プロジェクト」の研修事業の一環として、2人の調査団を迎えたことです。新型インフルエンザ情報の発信、検査の状況、サーベイランスシステムなどについて説明し（写真中）、所内見学も行いました（写真右）。

この原稿の編集時には、新型インフルエンザの発生は5週連続して減少していますが、発行した時点ではどうなっているのか、気になります……。終息を期待したいですね！

