

発展途上国におけるらい菌感染状況の疫学調査と ハイリスクグループの事前診断法の実用化に関する研究

私たちの研究テーマをスライド1に示しております。

らいは、らい菌によって引き起こされる慢性伝染病で、熱帯、亜熱帯の開発途上国に蔓延し、途上国における主要な保健衛生問題の1つになっています。

WHOによると、現在世界には243万人のらいの患者がおり、毎年60万人が、新しくらいに罹患しております。多剤併用療法の進歩によって、近年有病率は急速に低下していますが、疫学に関する知見の不足と、予防手段の立ち遅れのために、流行に歯止めがかからず、多くの流行地で新患発生は全く減少傾向を見せておりません。

らい対策の直面しているこの隘路を打開し、らいの疫学に関する研究を飛躍的に発展させ、予防手段の開発の基礎資料を得る目的で、濃厚流行地として世界的に知られる、インドネシアの南スラベシ州で、住民のらい菌感染とらい菌保有状況に関する疫学調査を行うと共に、居住環境や生活用水からのらい菌の検出を試みました。その結果、濃厚流行地においては、10代、20代の若年層を中心に、多数の一般住民がらい患者との直接接なしにらい菌の感染を受けているという事実が明らかになりましたし、約3%の住民が、鼻腔表面にらい菌を保有しているという事実が明らかになりました。

この事実は、未治療の患者との直接接触が主要ならい菌の感染ルートであるとする現在の定説に、重大な疑問を投げかけるものですし、らいの制圧のためには、新しい疫学的知見に基づく対策が必要であるということを示すものです。

以下、調査結果の概要についてご報告いたします。

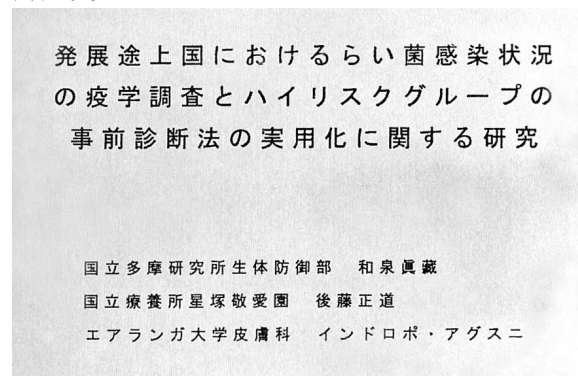
今回調査対象にしましたのは、Tukamasea という村で、スライド2の5つの部落から構成されております。総人口は3074人で、平均年齢26.6歳、男女比は0.91の農村であります。

住民のほとんどはブギス族で、スライド3のような特有の高床式の住居に住んでおります。米作を中心とする農業に従事していて、上水道はありません。井戸

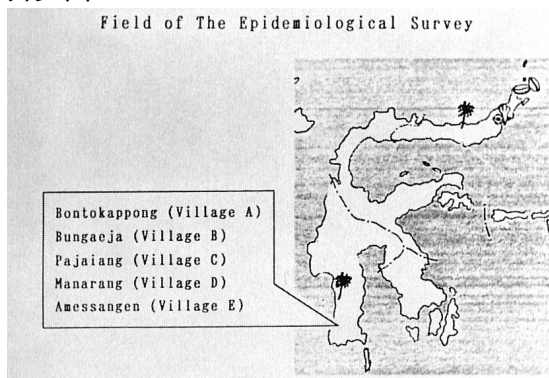


和泉 眞藏 先生
国立多摩研究所生体防御部長

スライド1



スライド2



スライド3



や川の水を生活用水として利用していますけれども、乾季になりますとほとんどの水源が枯れてしまいますので、地域に残った僅かな水源を、多くの住民が共同で洗濯や木浴に利用しています。

この一帯を取り巻く石灰岩の山は、スライド4のように非常に急峻でして、保水性が悪い上に灌漑設備がほとんどありませんので、11月から3月の雨期だけに水稻を栽培し、乾季には全く農業ができません。経済的にはかなり貧しい地域でして、Tukamaseaという言葉はインドネシア語で“哀れ”という意味があるそうです。現在治療中の登録らい患者は2名ということで、有病率は1000人につき0.67ということでありました。流行地のわりには、大した流行ではないように見えます。

調査チームは、医師、看護婦、検査技師、調整員その他を含めて、約十数名で構成されておりますけれども、通訳であるとか地元の案内をするために、部落の長、あるいは地元の保健関係者が協力をしてくれました。(スライド5)

医師によるらいの理学的なチェックに続いて、鼻からの塗沫標本、それから採血、さらに唾液の採取をしております。調査は2回(総計6週間)行われましたが、第2回目のときには、感染源となるらい菌を探すために、生活用水、あるいは各家のハウスダストの採取を行いました。

スライド6は診察中の風景です。

用いられた血清学的方法ですが、スライド7に書いてありますように、らい菌特異PGL-I抗原についてのIgG、IgM抗体をELISAで測定しました。それから、結核菌から精製されましたLAM-B抗原に対する、IgG、IgM抗体をELISAで調べましたが、PGL-Iに関するIgM抗体については、真ん中に示しておりますように、ゼラチン粒子凝集反応という私共が開発した方法(MLPAと略しています)も併用しました。

環境中のらい菌を調べるために行われたのが、鼻粘膜表面の塗沫標本と、それからPCRを用いたらい菌の検索です。スライド8は鼻粘膜の表面から滅菌綿棒でらい菌を採っているところです。

結果をスライド9に示します。らい患者が家族にいないような非接触者と、家族内接触 すなわちらい患者の家族に分けてNCとHCとしています。PGL-Iに対するIgM抗体の陽性率が一番高くて、感染を把握する

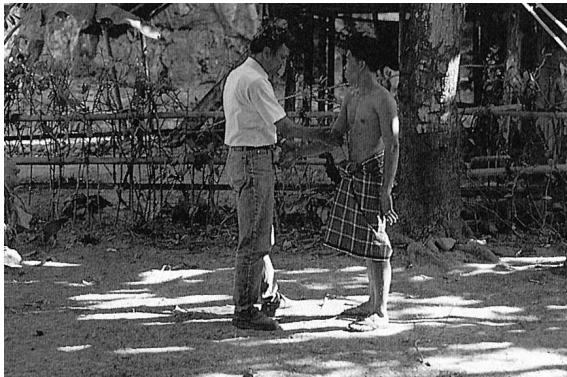
スライド4



スライド5



スライド6



スライド7

血清抗体価の測定法		
抗 原	I g G / I g M	方 法
P G L - I	I g G	E L I S A
P G L - I	I g M	E L I S A
P G L - I	I g M	M L P A
L A M - B	I g G	E L I S A
L A M - B	I g M	E L I S A

ためには、このPGL-Iに対するIgM抗体の解析が一番重要であると考えまして、以下の解析は、PGL-Iに対するIgM抗体について行っております。

非接触者と家族内接触者との陽性率と陰性率を比較したのがスライド10です。黒で示してある陰性率は、非接触者群には当然多くて、家族内接触者には少ないのですが、この非接触者というのは感染を受けていないという意味ではございませんでいわゆる家族内接触者ではないという意味です。陽性率が家族内接触者に少なく非接触者に多いというのは当然ですが、注目してほしいのは、家族内接触者の方に、抗体価の高い、64倍あるいは128倍陽性という例が多いということがありました。

年齢別の抗体陽性率を見ますと、スライド11のように、若年層を中心に抗体が非常にたくさんありまして、特に女子の若年層に高い抗体陽性率が示されています。

抗体価の高いグループ、つまり64倍あるいは128倍陽性で見ますと、スライド12のように、若年層から中年の40代に渡ってかなり継続して陽性者がいるということが分かりました。

次に、鼻粘膜塗沫法とPCRを用いたらい菌の検索結果をスライド13に示しました。家族内接触者の陽性率が15.4%、いわゆる非接触者の中でも3.2%の陽性がありまして、この地域の一般住民は、かなり高率にらい菌を鼻腔表面に待っている、ということが分かり

スライド 8



スライド 9

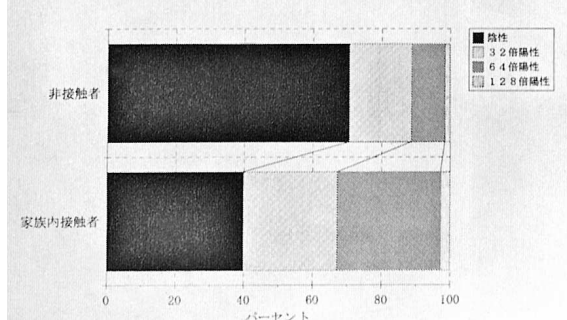
表 3 : 家族内接触者と非接触者の抗体陽性率

	抗原	IgM/IgG	方法	陽性率 (%)		合計
				男性	女性	
NC	PGL-I	IgG	ELISA	51(7.8)	53(6.4)	104(7.0)
	PGL-I	IgM	ELISA	207(31.7)	386(46.5)	593(40.0)
	PGL-I	IgM	MLPA	210(32.2)	400(48.2)	610(41.1)
	LAM-B	IgG	ELISA	140(21.4)	137(16.5)	277(18.7)
HC	PGL-I	IgG	ELISA	5(16.7)	3(7.0)	8(11.0)
	PGL-I	IgM	ELISA	10(33.3)	29(67.4)	39(53.4)
	PGL-I	IgM	MLPA	14(46.7)	30(69.8)	44(60.3)
	LAM-B	IgG	ELISA	5(16.7)	6(14.0)	11(15.1)

NC : 非接触者
HC : 家族内接触者
MLPA : セラチン粒子凝集反応

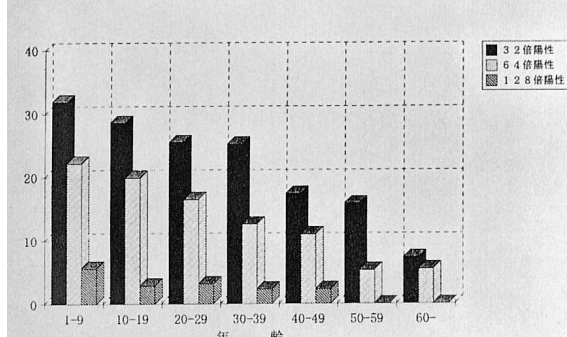
スライド 10

図 1 : 家族内接触者と非接触者の抗 PGL-I IgM 抗体価の比較



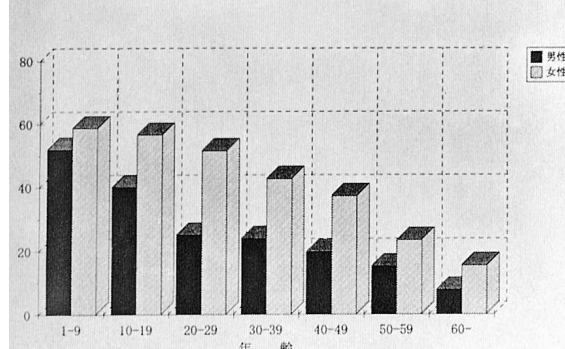
スライド 12

図 3 : 年齢別に見た抗 PGL-I 抗体価の分布



スライド 11

図 2 : 抗 PGL-I 抗体陽性率の年齢別分布



スライド 13

表 4 : 鼻粘膜塗沫法と PCR を用いたらい菌の検索結果

分類	検体数	陽性数	陽性率 (%)
治療中の患者	2	0	0.0
治療終了者	4	0	0.0
新患	11	0	0.0
家族内接触者	13	2	15.4
非接触者	341	11	3.2

ました。

インドネシアは、世界第4位のらいの流行国として知られてはいますが、国内全体にらい患者が均一に分布しているわけではありません。南スラベシというのはその中でも濃厚流行地として知られている地方です。

調査対象としたTukamasea村については、登録患者が人口3000人に対して2名ということでしたが、今回の調査で2300人程の検診をして、新たに28人の新患が発見されました。有病率は1%を超えるという、驚くべき濃厚流行地であることが明らかになりました。

今回の調査で明かにした最も重要な事実というのは、この地域ではらい患者との直接の接触のない一般住民中に、多数のらい特異抗体陽性者がいるということです。検査の感度などから考えますと、感染者の実数はもっと多いと思われます。

今回我々は、環境中のらい菌を検索する1つの手段として、鼻粘膜表面の塗沫標本とPCR法を用いたらい菌の検索を行いまして、一般住民の陽性率3.2%との結果を得ました。問題は、この菌がどこから来たかということなので、その由来と推定される、住民が使う水、あるいはハウスダストの採集を行ってらい菌の検出を試みたところ、生活用水中に混入しているダストの中から、少数のらい菌が付着しているサンプルが発見されました。

血清学的な手段を用いた感染の状態と、PCRを用いたらい菌の保有状態という疫学調査結果から、私たちは、らいの蔓延における患者以外の感染源の重要性を証明したと思っております。

らいの予防には、ワクチンによる感染予防とらい菌の感染を受けた人からの発病予防という、2つの方法が必要ですが、住民の多数が感染を受けてしまっているような濃厚流行地においては、発病予防の方の技術開発がらい対策の成否を左右すると考えられます。

そこで私たちは、血清学的手法を用いて、発病危険者を発病前に予測診断するという方法の開発を始めました。まだ開発途上で、完成した方法ができておりませんが、現在のところ、部分脱脂らい菌菌体と結核菌で吸収した血清を用いるELISAで、相対危険率を9.8倍に増やすという、新しい予測診断法を開発しました。この方法が確立すれば、らいの化学的予防の実用化が一步進むと考えております。

今回のこの疫学調査では貴重な結果を得られたと思っておりますが、ファイザーヘルスリサーチ振興財団からのご助成の賜物であると、深く感謝をしております。

それから、インドネシア側の調査チームのリーダーとして、我々と共に働きましたハサヌディン大学のドクターハッターをはじめ地元の協力者各位に感謝をいたしたいと思います。

また、採集した標本の分析についてはPCRについては多摩研究所の松岡正典博士のグループ、血清学的検査については川津邦雄主任研究官のご協力をいただきました。ここに厚く感謝したいと思います。

質疑応答

Q： 感染者のspecificityをあげるということはすばらしい重要なことだと思います。今2000年までのエリミネーションを狙っておりますので、そのとき昔やったPGL-のもの比べて、先生の改良した点というのはどこなんでしょうか。

A： 基本的には、いわゆる天然のものを使わないで、合成品を使って非常に感度を上げたということがありますが、ポイントはヘルスリサーチです。従来は患者とか家族を調べていたのですが、我々の視点というのは、一般住民の中にどれくらい感染者がいるかというもので、流行地と非流行地を調べて、流行地の状態は全く違って、患者との直接接触なしに自然界からの気道を経た感染を受けているというこ

とを明かにしたという点だと思います。

Q : WHOがそれを何か使うということにまだヘジテイトしていますね。と言いますのは、なにかspecificityとsensitivityの問題だとWHOの人から聞いているんですが…。先生の研究はそこをきっちりブレイクしたと考えるといいわけですね。

A : specificityについては、カットオフの問題がありまして、日本のような非流行地において、いわゆるフォールス・ポジティブの率を5%で切っております。目的によっては1%ないしは0%になるような切り方をしますが、あまりカットオフを高くすると、らい患者の方の陽性率が減るということです。

それともう一つは、WHOが問題にしているのは、らいというのは非常にややこしい病気で、菌の少ないような患者がいたり、菌が非常に多い患者がいたり、その差というのが1対100万位ありますので、いわゆる菌が多くなるようなケースについては当然抗体価が高くなるんですけど、抗体が低くなるようなケースについては陰性があるので、患者についても陰性が多いからというふうなことがコメントです。

しかし、私たちの視点は違います。診断についてはもうすでに臨床的にできますから、患者に応用するというところに視点を置いたのではありません。一般住民の感染の状態というのは決して発病と一緒にないから、菌が少ない患者には陽性率が低いから一般住民は低いというような予測は見事にはずれてまして、実際やってみると、非常に高率に陽性になるということで、疫学的に使えるという方向に問題を持っていったということです。

WHOは2000年にエリミネーションできる可能性があると言っていますが、これはあくまでも、患者から直接感染を受けるのが主要な感染ルートであるという現在の定説に従えば可能なものかもしれませんが、私たちが示したデータのように、らい菌が気道を通じて一般の住民が多数感染することになりますと、感染源対策は非常に困難なので、2000年までのエリミネーションは難しいと考えています。新しい疫学的事実に基づいたら対策というのがないかぎり、世界のらいはなくならないと思っています。事実、WHOの予想と新患発生というのは年々開いておりまして、WHOはかなり急速に減ると予測していますが、90年代の始めから現在まで、らいの新患というのは全く減っていませんで、このまま行けばWHOの予測は必ず外れると思います。

Q : 先生は患者以外の環境中に何か感染源があることを示唆されるということでしたけれども、先生のご調査で、感染源はどの辺が怪しそうでしょうか。

A : 現在調査してまして、一つは水、一つはハウスダストです。しかしハウスダストの方のPCRは、非常に阻害がかかってうまくいかないもので、現在それを改良するために、今回データは出ませんでした。

生活用水からは49例調べまして現在のところ4例ですから、約8%位的生活用水かららい菌が検出されるというデータがあります。これは、用水中に混ざるダストを遠心して、水の部分と混入してるダストとを分けてみると、菌はダストの側へ行きますので、ダストに混入しているということになります。従って、ダストに付いて自然、空気中に浮遊していてそれが水に入るとことは、間違いないと思っていますけれども、問題はダストの菌がどこから来たかということで、これは正直に言って分かりません。

ただ、らい菌というのはご存知のように培養できない菌ですので、ダストの中でどんどん菌が増えて、住民の数十%に感染をするというのは、現実起こり得ないと思っていますし、患者由来とはとても考えられないので、ということになると、やはり自然界でらい菌が増えている何かのシステムがある。

今のところは、これは完全な推定で全く証明がありません。これから証明しようとするところですけど、家畜ではないかと考えています。この地域には昔から牛のらいとか、水牛らいというものがあるのが分かっています。これが人間と同じかどうかという研究がないのですけども、やはり自然界の家畜ないしは何らかの生物の中で増えた菌が空気中に出て、それが人間に気道感染すると推定しています。

最後の部分はあくまで推定ですので、今のところ証明はありません。現在証明しようとしていろいろな

サンプルを集めております。