

第85回総会ミニシンポジウム

II. 非結核性抗酸菌症—何がどこまで判明したか

座長 加治木 章

キーワード：地域差，polyclonal infection，疾患感受性，菌側因子，感染源

シンポジスト：

1. 非結核性抗酸菌症の地域差

佐藤滋樹（名古屋市立大学大学院腫瘍・免疫内科学）

2. MACのpolyclonal infection

松本智成（地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター臨床研究部・感染症センター）

3. 肺MAC症の疾患感受性

慶長直人（国立国際医療研究センター研究所呼吸器疾患研究部）

4. MACの遺伝子的特徴

中川 拓，小川賢二（独立行政法人国立病院機構東名古屋病院臨床研究部／呼吸器科）

5. 肺MAC症の感染源について

西内由紀子（大阪市立大学医学部刀根山結核研究所），前倉亮治（国立病院機構刀根山病院）

非結核性抗酸菌症はHRCTなど画像診断の進歩，液体培地，PCR，DDHなど細菌学的診断法の進歩があり，診断は比較的容易となってきた。また，これらの進歩を取り入れた診断基準（2007年のATS/IDSAのstatement，2008年の結核病学会・呼吸器学会の診断基準など）が発表され，一般呼吸器科医，内科医にも広く認識されるようになってきた。

本疾患の増加に伴い多数の報告がなされ，疫学や臨床像について判明してきたことも多い。しかし，まだまだ

解決すべき問題は多い。

本ミニシンポジウムでは，私が興味をもっている5つの問題について各シンポジストに発表していただいた。

佐藤滋樹先生は「非結核性抗酸菌症の地域差」という演題で世界における菌種の違いについて発表し，わが国におけるアンケート調査により*M. avium*が増加していることを示された。

松本智成先生は「MACのpolyclonal infection」という演題で，29例の*M. avium*慢性持続排菌例で1例はVNTRパターンが異なり外来性再感染が疑われたが，残り28例では薬剤感受性が変化した症例でもVNTRパターンは同一であったことを報告された。

慶長直人先生は「肺MAC症の疾患感受性」という演題で，一般的な肺MAC症の遺伝素因としてHLA関連遺伝子，CFTR，NRAMP1などを紹介し，さらに最近多施設共同研究で発見したMICAとMAC症の関連について報告された。

中川拓先生は「MACの遺伝子的特徴」という演題でVNTRを用い肺MAC症患者由来株とHIV陽性患者由来株の違いを報告した。また*M. avium*の新規挿入配列IS *Mav6*が病原性と関連している可能性について報告した。

最後に西内由紀子先生は「肺MAC症の感染源について」という演題で患者家庭内のMAC分布を調査し，浴室内に多クローン性に定着しており，その一部は患者喀痰分離株と相同性を示し，浴室が感染源である可能性を報告した。

1. 非結核性抗酸菌症の地域差

名古屋市立大学大学院腫瘍・免疫内科学 佐藤 滋樹

はじめに

非結核性抗酸菌症（以下NTM症）の正確な罹患数を把握することは不可能であるが、世界から近年増加していることが多数報告されている。また、*M. ulcerans* 症が赤道直下の地域で発症するのは端的な例として、国、地域によってNTM症全体の罹患率、原因菌種の頻度には明らかな差がある。

本文

本邦ではNTM症は1960年代、1970年代はまれな疾患であった。しかしその後徐々に増加し、1990年代以降は日常診療でも増加を強く実感するところとなった。非結核性抗酸菌症研究協議会（会長：坂谷光則，事務局：名古屋市立大学 佐藤滋樹）は入院病床200以上のすべての病院にアンケート調査を行い、2001年はすべてのNTM、

2007年は主にMACについて、2009年は*M. kansasii*について調べた。2001年では結核排菌患者数も同時に調査しており、厚生労働省結核発生動向調査結核患者数から推計すると、肺NTM症の1年間の新規発生数は約7,500人、人口10万人対の罹患率は5.9となった。海外の報告では、オーストラリア北部（1989～1997年）で3.9/10万（肺外を含む）¹⁾、ニューヨーク（2000～2003年）2.0/10万、ニュージーランド（2004年）1.17/10万²⁾、フランス（2001～2003年）0.72～0.74/10万（非HIV）³⁾などがあるが、これらと比較するとわが国は世界的に見てNTM症の罹患率が高い。

2001年調査では、全抗酸菌症（排菌陽性結核症+NTM症）に占めるNTM症の割合は北海道0.304、東北0.371、関東0.246、中部0.302、近畿0.347、中国0.288、四国0.244、九州・沖縄0.297、全国平均0.292であった。とくに大きな較差はなかった。

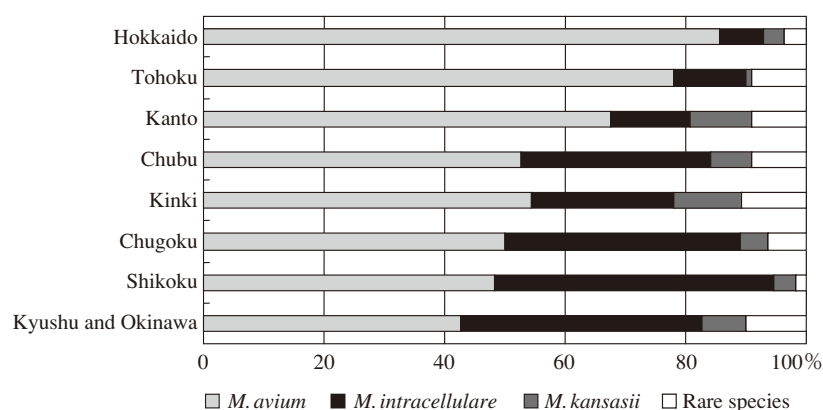


Fig. 1 Prevalence of common causative species of NTM in each area in Japan in 2001

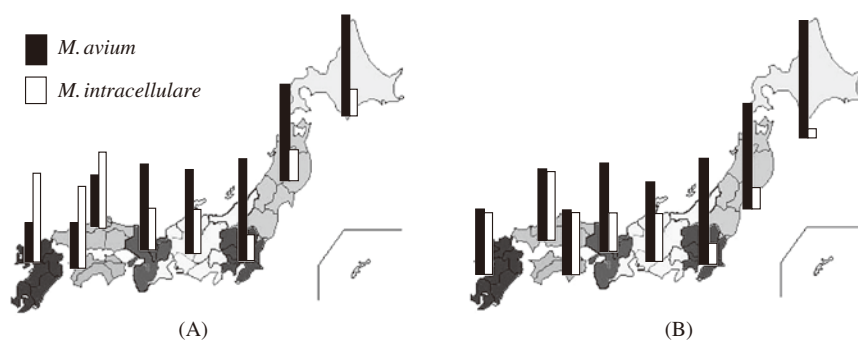


Fig. 2 Distribution of *M. avium* and *M. intracellulare* in Japan in the early 1990's (A) and 2001 (B). The distribution has remarkably changed.

すでに報告したように、2001年調査のNTM症の原因菌種の頻度割合は、*M. avium* 57.8%, *M. intracellulare* 25.0%, *M. kansasii* 8.1%, *M. gordonae* 2.1%, *M. abscessus* 1.8%, *M. fortuitum* 1.2%, *M. chelonae* 0.9%, などであった。Fig. 1に各地域の全非結核性抗酸菌症に占める*M. avium*症、*M. intracellulare*症、*M. kansasii*症の割合を示す（それ以外の菌種は希少菌種としてまとめた）。*M. avium*と*M. intracellulare*は生化学的性質が類似しており、また臨床症状も類似しているが、Fig. 1のように頻度には地域差がある。さらに以前の報告と比較すると、地域差の分布が大きく変わっていた。従来*M. avium*症は東に多く、*M. intracellulare*症は西に多いといわれてきた。Fig. 2Aは1990年代初頭、*M. avium*と*M. intracellulare*がDNA診断で区別できるようになったときに報告された6つの報告を集計したものである。Fig. 2Bは2001年調査の結果で、Fig. 2Aと比較すると、東の*M. avium*の優位性はより優位性が強くなった傾向であり、西については以前の*M. intracellulare*優位は消失し、中国以西で*M. avium*症と*M. intracellulare*症はほぼ同じ頻度となっていた。

2007年（1月～2月）にも同様の全国調査を行った。996例の肺NTM症が集積されたが、菌種ごとの罹患率を

厚生労働省結核発生動向調査から推計し、さらに2001年調査と比較すると*M. avium*症（2001年）10万対3.42→（2007年）10万対3.71、*M. intracellulare*症（2001年）10万対1.48→（2007年）10万対1.52、*M. kansasii*症（2001年）10万対0.483→（2007年）10万対0.475であり、*M. avium*症の増加率が高いようであった。つまり*M. avium*症がとくに増加している可能性があり、これが分布の変容した理由の1つと推測できる。

国立療養所の調査などによると*M. kansasii*症は1980年代半ばより人口10万に対する罹患率は増加していない。一方、近畿地方で頻度24.0%との高い報告（1996年）もあり、*M. kansasii*は都会と地方の差だけでなく、局地的な偏在も疑われる。2009年調査（1月～12月）において、*M. kansasii*症と喀痰と塗抹陽性結核患者の新規診断例を調査した。結果を*M. kansasii*症/喀痰塗抹陽性結核症の比で表すと、北海道0.0480、東北0.0214、関東0.0598、中部0.0261、近畿0.1260、中国0.0452、四国0.0905、九州・沖縄0.0497であり、2001年調査と同様、関東、近畿で多い傾向であった（今回全国的にも、2001年調査と比較しても四国が高かったが、回答数が少なく信頼性に乏しい）。結核症の発症数も地域によって異なるので、より正確に

Table Distribution of the causative species of non-tuberculous diseases in the world

Nation/Region	Sweden	England and Wales	UK	Ireland	France	New York	Australia	New Zealand
Year	2000–2001	1982–1994	1995–1999	1987–2000	2001–2003	2001–2003	1989–1997	2004
Author	Petrini	Lamden	Henry	Kennedy	Dailloux	Bodle	O'Brien	Freeman
Species	Case number							
	n*‡	n*‡	n	n*‡	n	n*	n*‡	n‡
MAC	372	1113	22	23	125	79	45	39
<i>M. kansasii</i>	2	759	3	1	34	7		1
<i>M. gordonae</i>	50	12				0	1	
<i>M. abscessus</i>	27			2		11	2	
<i>M. fortuitum</i>	17	78				10	5	
<i>M. chelonae</i>		61				4		
<i>M. chelonae-abscessus-complex</i>	16		3		28			4
<i>M. szulgai</i>	2							
<i>M. scrofulaceum</i>	2	8					2	2
<i>M. xenopi</i>	14	356	3		66	5		
<i>M. malmoense</i>	75	470	18	5				
<i>M. marinum</i>	32	145		1		4		
<i>M. peregrinum</i>	7							
<i>M. mucogenicum</i>	8							
<i>M. terrae</i>	22						1	
<i>M. simiae</i>	11						1	
<i>M. celatum</i>	8							
<i>M. interjectum</i>	7							
<i>M. lentiflavum</i>	6							
<i>M. bohemicum</i>	5							
<i>M. nonchromogenicum</i>	5							
<i>M. shimoidei</i>	5							
<i>M. hemophilum</i>							2	
Others	15				9			1

* including cases with extra-pulmonary lesions

‡ including HIV-positive cases

は厚生労働省結核発生動向調査の結果が出た後、補正したいと考えている。県別では、*M. kansasii* 症が20例以上集積した県で見ると、大阪府が*M. kansasii* 症/喀痰塗抹陽性結核症の比0.1778、東京都0.0649、神奈川0.0623、千葉0.0583、福岡0.0641と大都会の存在する県で高い傾向であった。しかし、愛知県では集積した*M. kansasii* 症が5例と少なく信頼性に欠けるものの、その比は0.0072ときわめて低く、単純に都会に多いというわけではなかった。

海外からも多くの疫学的報告があるが一般に結核のような登録制度がなく、報告により調査方法が様々であり、真の患者数を把握し地域ごとの正確な比較は不可能である。わが国に多い*M. avium* 症、*M. intracellulare* 症は他の先進国においても最も頻度が高い (Table)。MAC 症に続いて頻度が高い菌種が地域によって異なることに注目されたい。

NTM 症の増加は海外でも多く報告されている。米国において *M. intracellulare* 用の PPD 皮内反応で調査したところ、1971 年～1972 年で 11.2%、1999 年～2000 年で 16.6% と陽性者が増加しており⁴⁾、環境からの *M. intracellulare* 感染者の増加があり NTM 症患者の増加と関連すると推測している。ニューヨークでは、2000 年～2003 年において非 HIV 感染者の NTM 呼吸器感染症は推定 2.0/10 万人で過去の疫学調査と比べて増加していると報告された⁵⁾。カナダのオンタリオの調査⁶⁾では、1997 年から 2003 年の間に NTM の検出 (この報告では「症」ではない) が毎年平均 8.4% 増加したという。英国では 1982 年から 1994 年において、とくに MAC が増加し、8 倍程度の罹患率となったが、多くは HIV 感染と関連していたと報告している⁷⁾。英国で非 HIV 感染者についての 1995 年から 1999 年の調査⁸⁾、アイルランドでの 1987 年～2000 年の調査⁹⁾でも増加を認め、オーストラリアにおいても 1989 年～1997 年の調査で非 HIV 感染者のみにおいても増加していた¹⁰⁾。いずれの国、地域においても NTM 症が増加していることは一致したことのようである。

ま と め

非結核性抗酸菌は土壌、自然水、家庭の水周りなどに広く分布しており、様々なかたちでヒトに疾病をもたらす。近年の非結核性抗酸菌による疾患患者の増加は今後も続くものと思われ、その対策、治療効果の前向きの検証が必要である。

文 献

- 1) O'Brien DP, Currie BJ, Krause VL: Nontuberculous mycobacterial disease in northern Australia: a case series and review of the literature. Clin Infect Dis. 2000; 31: 958-67.
- 2) Freeman J, Morris A, Blackmore T, et al.: Incidence of nontuberculous mycobacterial disease in New Zealand, 2004. N Z Med J. 2007; 120: U2580.
- 3) Dailloux M, Abalain ML, Laurain C, et al.: French Mycobacteria Study Group. Respiratory infections associated with nontuberculous mycobacteria in non-HIV patients. Eur Respir J. 2006; 28: 1211-5.
- 4) Khan K, Wang J, Marras TK: Nontuberculous mycobacterial sensitization in the United States: national trends over three decades. Am J Respir Crit Care Med. 2007; 176: 306-13.
- 5) Bodle EE, Cunningham JA, Della-Latta P, et al.: Epidemiology of nontuberculous mycobacteria in patients without HIV infection, New York City. Emerg Infect Dis. 2008; 14: 390-6.
- 6) Marras TK, Chedore P, Ying AM, et al.: Isolation prevalence of pulmonary non-tuberculous mycobacteria in Ontario, 1997-2003. Thorax. 2007; 62: 661-6.
- 7) Lamden K, Watson JM, Knerer G, et al.: Opportunist mycobacteria in England and Wales: 1982 to 1994. Commun Dis Rep CDR Rev. 1996; 6: R147-51.
- 8) Henry MT, Inamdar L, O'Riordan D, et al.: Nontuberculous mycobacteria in non-HIV patients: epidemiology, treatment and response. Eur Respir J. 2004; 23: 741-6.
- 9) Kennedy MP, O'Connor TM, Ryan C, et al.: Nontuberculous mycobacteria: incidence in Southwest Ireland from 1987 to 2000. Respir Med. 2003; 97: 257-63.

2. MAC の polyclonal infection

地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター臨床研究部・感染症センター 松本 智成

A. 研究目的

Mycobacterium (M.) avium 症は、結核症と異なり有効な治療法がない。現在 rifampicin (RFP), ethambutol (EB), clarithromycin (CAM) による加療が推奨されているが、クラリスロマイシンの感受性が治療成績に影響を与える

といわれている CAM 感受性株であっても排菌陰性化しない場合がある。気管支拡張症等の宿主側の因子も関与するであろうが菌側の因子も関与するはずである。また、環境菌でもある非結核性抗酸菌症の再発は、必ずしも同じタイプの菌であるとは限らず、いったんは排除できても外来性再感染にて再発する場合もありうる。さらに、

*M. avium*による肺外感染症は比較的治りやすい傾向にあることより、治療抵抗性の肺 *M. avium* 症は、実は繰り返す持続感染発病状態を反映しているのかもしれない。または治療抵抗性の肺 *M. avium* 症は、同じ抗酸菌族でも結核菌とは異なる薬剤耐性機構を有する可能性がある。

そこでわれわれは、次の検討を行った。

(1) 治療抵抗性の慢性持続排菌症例の薬剤耐性機構を検討するため、まず慢性持続排菌例にて、繰り返す再感染発病か否かを VNTR にて検討。

(2) 再発は、内因性再燃か外来性再感染かを VNTR にて検討。また外来性再感染の場合、感染源は何かを目標に検索を行う。

B. 研究方法

RFP, EB, CAM 投与にもかかわらず、慢性持続排菌を示す *M. avium* 菌株 (29 株) を時系列で VNTR 測定を行った。薬剤感受性は MIC 測定で判断した。*M. avium* の VNTR は西森等¹⁾, Virginie 等³⁾の方法に従った。血清型別は、抗体を用いて行った。系統樹は、Manhattan 法で距離行列を求め、階層的クラスタリングには、fitch により考案された maximum parsimony method にて系統樹を作成した。

C. 研究結果

18 カ月加療後に再排菌した nodular bronchiectasis 病変を伴う 1 症例は VNTR パターンが異なっていた、他の 28 株の慢性持続排菌症例では、空洞形成型肺病変以外の *M. avium* 症においても VNTR パターンが保たれていた。また、これらの症例中に CAM 薬剤感受性が変化した症例も含まれていたが VNTR パターンは同一で、しかも特に肺病変が進展した病型では CAM に対して、1 例が感受性が変化し、1 例が耐性のままで、残りが感受性のままであり、すべて VNTR パターンは同一であり、感受性が変化しても VNTR は同一であった。

Virginie 等の VNTR と西森等の VNTR を比較した。Virginie 等の VNTR は 8 領域であり西森等の VNTR の 16 領域に比較し解析領域が少なく解像度も低かった。しかしながら、Virginie 等の VNTR と西森等の VNTR の領域を組み合わせることにより解像度の上昇が認められた。

また、系統樹解析を行うと、VNTR において居住歴が異なり接触歴もないが同一の菌株があり、死亡率も高かったことより何らかの病原性との関連が示唆される。

D. 考 察

18 カ月加療後に再排菌した nodular bronchiectasis 病変を伴う 1 症例は VNTR パターンが異なっており、Wallace 等の報告どおり²⁾, polyclonal 感染、および外来性再感染

が疑われたが、他の慢性持続排菌症例では、空洞形成型肺病変以外の *M. avium* 症においても VNTR パターンが保たれており慢性持続感染が示唆された。この差異の一つの原因は、単一の MAC による暴露を受けやすいか、異なる複数の菌株の MAC に暴露しやすいかの居住環境が大きく影響している可能性がある。また、これらの症例中に CAM 薬剤感受性が変化した症例も含まれていたが VNTR パターンは同一で、しかも特に肺病変が進展した病型では CAM に対して、1 例が感受性が変化し、1 例が耐性のままで、残りが感受性のままであり、すべて VNTR パターンは同一であり、感受性が変化しても VNTR は同一であった。

今後さらなる検討を要するが、今回の検討の途中段階では RFP, EB, CAM 投与にもかかわらず慢性持続排菌する症例では、RFP, CAM 感受性菌の単一の菌による感染が多いが何らかの原因による RFP, CAM を含む薬剤抵抗性が示唆された。今回検討した菌株において各患者間の VNTR パターンは異なっていたが、5 組はほぼ同一の VNTR パターン、うち 3 組は完全一致を示しており、居住地域が異なるために、なんらかの菌的因子が示唆された。これらは系統樹解析にても示された。

Virginie 等の VNTR と西森等の VNTR と比較し解像度が低かったが、これらの領域を組み合わせることにより解像度の上昇が見込まれる。

E. 結 論

再排菌 1 症例は VNTR パターンが異なっていた、われわれの行った他の慢性持続排菌症例では、空洞形成型肺病変以外の *M. avium* 症においても VNTR パターンが保たれていた。加療中感受性が変化しても VNTR は同一であった。したがって、今回のわれわれの検討では、*M. avium* 症の治療抵抗性は、繰り返す再感染発病ではなく菌の治療抵抗性による可能性が高い。

文 献

- 1) 西森 敬, 内田郁夫, 田中 聖, 他: VNTR (Variable Numbers of Tandem Repeats) 型別による結核菌群および鳥型結核菌の分子疫学的解析マニュアル. 動物衛生研究所研究報告書. 2003; 109: 25-32.
- 2) Wallace RJ Jr, Zhang Y, Brown BA, et al.: Polyclonal *Mycobacterium avium* complex infections in patients with nodular bronchiectasis. Am J Respir Crit Care Med. 1998; 158: 1235-1244.
- 3) Virginie CT, Grayon M, Boschirolu ML, et al.: New variable-number tandem-repeat markers for typing *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and *M. avium* strains: comparison with IS900 and IS1245 restriction fragment length polymorphism typing. J Clin Microbiol. 2007; 45: 2404-2410.

3. 肺MAC症の疾患感受性

国立国際医療研究センター研究所呼吸器疾患研究部 慶長 直人

はじめに

非結核性抗酸菌は環境中に広く存在し、局所免疫、全身免疫の低下に伴い感染症を引き起こす¹⁾。免疫力の低下には、HIV感染や抗TNF治療薬使用といった後天的な要因と、疾患感受性を規定する遺伝要因が推測されている (Table)。

従来、*Mycobacterium avium* complex (MAC) 症は、中高年の男性喫煙者に多く見られ、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、気管支拡張症、結核後遺症などの基礎疾患の存在があげられる。ところが、近年になり、中年以降の基礎疾患のない女性に発症する例を多く見かけることは周知のとおりである。

先進国では、近年MAC症が増加しているという報告が多く、結核の感染率の低下に伴い非結核性抗酸菌に対する抵抗性も減弱しているという説や、診断技術の発達に伴いこの菌による感染症を診断する機会が増えたこと、人口の高齢化、菌の毒力変化などの説のほか、シャワーを頻繁に浴びる近年の生活習慣の変化を原因にあげる研究者もいる。特にシャワーヘッドは菌の温床になりやすく、菌を含むエアロゾルを吸入する機会が増えているとも報告されており²⁾、今後、検証される必要がある。

非結核性抗酸菌症の宿主側要因

非結核性抗酸菌症に見られる宿主側の異常として、非結核性抗酸菌症を繰り返す例で、中和活性をもつ抗IFN- γ 自己抗体がしばしば見られるとの報告がある³⁾。自己抗体が、疾患の発症を促進するのか、慢性炎症として現れたものかは定かでない。中高年の女性のMAC症については閉経後に生じることが多いことから、女性ホルモ

ンが欠乏することが発症に関連するのではないかという考えがある。露口らは、マウスの卵巣摘除モデルでは、実験的MAC症を増悪させること、さらにエストロゲンを加えたマクロファージに菌に対する強い作用が認められることを報告した⁴⁾。

メンデル式遺伝素因

1990年代後半から、抗酸菌感染症の遺伝素因について注意が払われるようになってきた。特に、メンデル式の遺伝形式をとる全身性抗酸菌感染症の家系において、Th1系の細胞性免疫の活性化に必要なIFN- γ 、IL-12の働きに必須な分子の欠損が知られている⁵⁾。IFN系全般のシグナル伝達分子であるSTAT1の完全欠損では、細胞内寄生細菌のみならず、ウイルス感染にも脆弱であることが知られている。Th1系の機能を増強するIL-12、IL-12レセプター β 1の欠損は、IFN系のシグナルを直接阻害することで生じる感染症に比べると軽症例にとどまることが多く、IL-12の抗酸菌感染防御においての役割は、IFN- γ ほどは必須ではないものと考えられる⁶⁾。

主要組織適合遺伝子複合体クラス I 関連鎖A (MICA)

一般的な遺伝素因については、まだ研究の域を出ないが、これまでにTableに示すような遺伝子とMAC症の関連が報告されている^{7)~9)}。たとえば、ヒト結核症の疾患感受性遺伝子として、古くからHLA-DR2 (遺伝子タイピングでは、HLA-DRB1*15, *16の系統が含まれる) が報告されている。MAC症でも同様な試みがあり、いくつかの報告があるが結論をみていない^{10) 11)}。

われわれは、多施設共同研究により、約20,000個のマイクロサテライトマーカーと300症例のMAC症との関

Table Factors involved in susceptibility to MAC disease

Factors	Details
General	Female, menopause
Underlying disease	
Respiratory	Bronchiectasis, COPD, pneumoconiosis, old tuberculosis, cystic fibrosis, etc.
Non-respiratory	HIV infection, Gastroesophageal reflux disease (GERD)
Genetic	
Defect of Th1 immunity	IFN- γ receptor-1, 2, IL-12, IL-12 receptor, STAT1 deficiency
Candidate genes	HLA-related (MICA), SLC11A1 (NRAMP-1), CFTR-related, VDR, etc.
Miscellaneous	Anti-TNF treatment, anti-IFN- γ autoantibodies

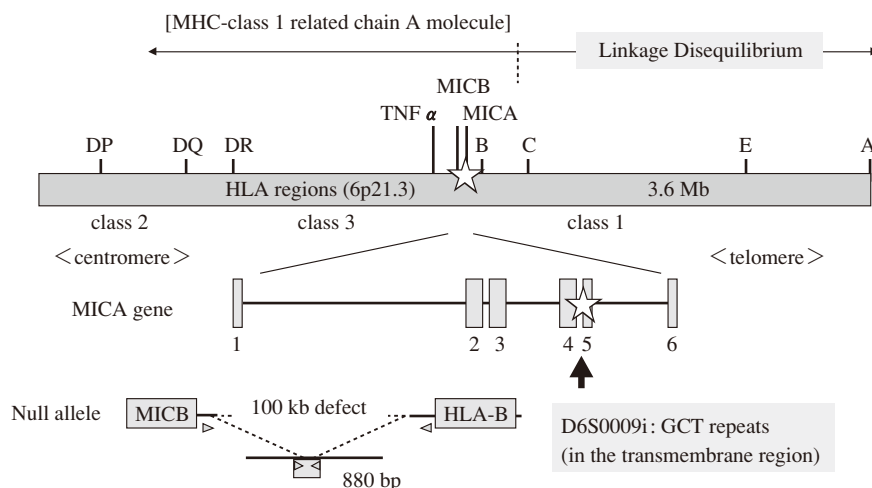


Fig. Location and structure of the *MICA* gene and D6S0009i/MICA-TM Marker

連を検討して、3段階のスクリーニングにより、HLA関連遺伝子領域に存在する *MICA* の遺伝子多型がMAC症と関連する可能性を報告した¹²⁾。この遺伝子多型は、*MICA* の遺伝子発現の程度とも関連し、MAC症の病変部では、*MICA* の発現が認められた。*MICA* はNK細胞レセプターであるNKG2Dのリガンドの一つであり、NK細胞と抗酸菌症の病態との関連について注目される (Fig.)。

おわりに

非結核性抗酸菌の肺感染に関しては、全身性の要因、肺局所の要因、先天性、後天性の要因と、さまざま存在するが、気道粘膜の脆弱性に注目し、さらに遺伝要因の探索を進めていくことによって、病態解明の糸口が得られるものと期待される。

文 献

- 1) Sexton P, Harrison AC: Susceptibility to nontuberculous mycobacterial lung disease. *Eur Respir J.* 2008 ; 31 : 1322–33.
- 2) Feazel LM, Baumgartner LK, Peterson KL, et al.: Opportunistic pathogens enriched in showerhead biofilms. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009 ; 106 : 16393–9.
- 3) Patel SY, Ding L, Brown MR, et al.: Anti-IFN- γ auto-antibodies in disseminated nontuberculous mycobacterial infections. *J Immunol.* 2005 ; 175 : 4769–4776.
- 4) Tsuyuguchi K, Suzuki K, Matsumoto H, et al.: Effect of oestrogen on *Mycobacterium avium* complex pulmonary infection in mice. *Clin Exp Immunol.* 2001 ; 123 : 428–434.
- 5) van de Vosse E, Hoeve MA, Ottenhoff TH: Human genetics of intracellular infectious diseases: molecular and cellular immunity against mycobacteria and salmonellae. *Lancet Infect Dis.* 2004 ; 4 : 739–749.
- 6) Fieschi C, Dupuis S, Catherinot E, et al.: Low penetrance, broad resistance, and favorable outcome of interleukin 12 receptor $\beta 1$ deficiency: medical and immunological implications. *J Exp Med.* 2003 ; 197 : 527–535.
- 7) Tanaka G, Shojima J, Matsushita I, et al.: Pulmonary *Mycobacterium avium* complex infection: association with NRAM1 polymorphisms. *Eur Respir J.* 2007 ; 30 (1) : 90–6.
- 8) Mai HN, Hijikata M, Inoue Y, et al.: Pulmonary *Mycobacterium avium* complex infection associated with the IVS8-T5 allele of the CFTR gene. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2007 ; 11 : 808–13.
- 9) Matsuyama M, Miura Y, Kiwamoto T, et al.: A case of familial pulmonary *Mycobacterium avium* complex disease. *Internal Med.* 2010 ; 49 : 949–953.
- 10) Takahashi M, Ishizaka A, Nakamura H, et al.: Specific HLA in pulmonary MAC infection in a Japanese population. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000 ; 162 : 316–318.
- 11) Kubo K, Yamazaki Y, Hanaoka M, et al.: Analysis of HLA antigens in *Mycobacterium avium-intracellulare* pulmonary infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000 ; 161 : 1368–1371.
- 12) Shojima J, Tanaka G, Keicho N, et al.: Identification of *MICA* as a susceptibility gene for pulmonary *Mycobacterium avium* complex infection. *J Infect Dis.* 2009 ; 199 : 1707–15.

4. MACの遺伝子の特徴

国立病院機構東名古屋病院臨床研究部/呼吸器科 中川 拓, 小川 賢二

1. はじめに

Mycobacterium avium complex (MAC) については、感染源・感染経路・感染様式が不明であり、なぜ欧米に比べて日本で多いのか、なぜ明らかな免疫不全がない中高年女性に多いのか、無治療で比較的安定の症例から治療抵抗性に進行悪化する症例まで臨床経過の幅が大きいのはなぜか、など疑問点が多い。菌側因子と宿主側因子の両面から研究が必要と考えられる。われわれはMACの菌側因子を探るために菌の遺伝子解析をすすめている。

2. *M. avium*の分子疫学

VNTR型別解析法は従来のIS1245-RFLP¹⁾と比較して簡便で、迅速性と再現性が高いことから近年注目されている。われわれは3種類の分子疫学解析法(IS1245-RFLPと、西森らのMATR-VNTR²⁾、およびThibaultらのMIRU-VNTR³⁾)の有用性の比較検討を行った⁴⁾。MATR-VNTR解析法は簡便で迅速性が高いだけでなく最も菌株

鑑別能力が優れていた(Table)。ポリクローナル感染や外来性再感染の検出、病勢予測などの応用が試みられているが、われわれは肺MAC症患者由来株とHIV陽性患者由来株、ブタ由来*M. avium*菌株に対しMATR-VNTR解析を行い、HIV陽性患者由来株は肺MAC症由来株よりむしろ消化管からの感染をおこすブタ由来株に近いことが明らかになった。

3. *M. avium*の亜種分類および新規挿入配列IS_{Mav6}

*M. avium*は4つの亜種すなわち、*M. avium* subsp. *avium* (Maa) (トリ型)、*M. avium* subsp. *hominissuis* (Mah) (ヒト・ブタ型)、*M. avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) (ウシ型)、*M. avium* subsp. *silvaticum* (Mas) (トリ型)に分類される。われわれは臨床分離株114株に対しInsertion sequence (IS) およびHeat shock protein 65 gene analysisを用いて亜種分類を行った。*hsp65*シーケンス解析の結果、臨床分離*M. avium*はすべてMahであった。欧米のMah臨

Table Discriminatory index of VNTR and IS1245-RFLP typing of *M. avium* clinical isolates^b (Inagaki T et al. 2009)⁴⁾

Typing method	Number of isolates	Number of different patterns	Number of clusters	Number of clustered isolates	Number of unique isolates	HGDI ^a
MIRU-VNTR	70	27	16	59	11	0.949
MATR-VNTR	70	56	8	22	48	0.990
IS1245-RFLP	70	53	4	21	49	0.960
IS1245-RFLP+MATR-VNTR	70	68	2	4	66	0.999

^aHGDI was calculated as described by Hunter & Gaston.⁷⁾

^bThere was a total of 70 clinical isolates tested.

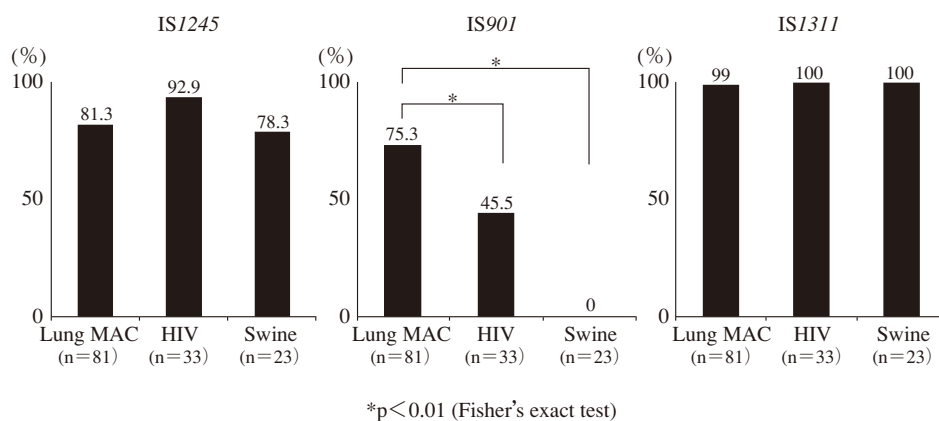


Fig. Clinical isolates of *M. avium* (n=81) from patients with pulmonary infections who were HIV-negative, isolates (n=33) from HIV-positive patients and isolates (n=23) from swine were subjected to genetic analysis by PCR detection of three *M. avium*-specific insertion sequences (IS901, IS1245 and IS1311).

床分離株のIS901分離率は0～8%と非常に低い保有率とされているが、今回調査した株の約70%にIS901のPCR増幅が見られた (Fig.)。このPCR増幅ISを詳細に調べると塩基配列の60カ所に臨床分離株共通の変異が認められ、IS901とは別の新規挿入配列ISMav6と命名された⁵⁾。ISMav6の挿入位置を解析したところ、その一つはIFN- γ の強誘導タンパクをコードする遺伝子cfp29のShine-Dalgarno配列に挿入されていることがわかった。このことからISMav6は菌がもつヒトIFN強誘導蛋白の発現を抑制し、病原性を発揮する可能性が示唆された。実際に日本の菌と欧米の菌が、ISMav6の保有率という点で明確に異なることが明らかになり、日本と欧米の臨床像あるいは罹患率の差が菌側因子に由来する可能性が示唆された。

4. 全国調査

全国の国立病院機構11施設から増悪群 (CAMを含む多剤併用療法を12カ月以上行い、12カ月目の時点での検痰で塗抹陽性が継続かつ胸部X線写真で12カ月前に比べ悪化した症例)と未治療群 (過去から現在に至るまで*M. avium*感染症としての治療を受けたことのない症例)の肺*M. avium*臨床分離株と臨床dataを集め、臨床像とVNTR型別解析、新規挿入配列ISMav6の有無との関連を検討した。さらに未治療群を経過観察し、病状悪化により治療開始したものを未治療悪化群として検討した。VNTR型別解析では地域や病状 (増悪群、未治療悪化群)による固有のクラスター形成はみられなかった。ISMav6がINF- γ を誘導するとされるcfp-29の直上流に挿入されている株は未治療悪化群において有意に多く存在していた。cfp-29に挿入されたISMav6の保有の有無が肺MAC症の病状悪化の一つの要因である可能性が示唆された。

5. *M. intracellulare* に対する分子疫学解析

M. intracellulare に対しては分子疫学解析のための簡便で有用なツールが開発されていなかった。われわれは2007年に公開された*M. intracellulare* ATCC1395のゲノム

情報をもとにVNTR検索ソフトを用いてVNTR領域を検索し、各領域の外側にPCRプライマーを設計した。臨床分離株を解析したところ、非常に高い菌株鑑別能力と*in vivo*における安定性を示した⁶⁾。*M. intracellulare*のVNTR型別解析法が可能になったことにより、簡便で有用な分子疫学ツールとして感染経路や病態の解明に役立つと期待される。

文 献

- 1) van Soolingen D, Bauer J, Ritacco V, et al.: IS1245 restriction fragment length polymorphism typing of *Mycobacterium avium* isolates: Proposal for standardization. J Clin Microbiol. 1998 ; 36 : 3051-4.
- 2) 西森 敬, 内田郁夫, 田中 聖, 他: VNTR (Variable Numbers of Tandem Repeats) 型別による結核菌群および鳥型結核菌の分子疫学的解析マニュアル. 動衛研研究報告書. 2003 ; 109 : 25-32.
- 3) Thibault V, Grayon CM, Boschirolu ML, et al.: New variable number tandem repeat markers for typing *M. avium* subsp. *paratuberculosis* and *M. avium* strains: comparison with IS 900 RFLP and IS1245 RFLP typing. J Clin Microbiol. 2007 ; 45 : 2404-10.
- 4) Inagaki T, Nishimori K, Yagi T, et al.: Comparison of a variable-number tandem-repeat (VNTR) method for typing *Mycobacterium avium* with mycobacterial interspersed repetitive-unit-VNTR and IS1245 restriction fragment length polymorphism typing. J Clin Microbiol. 2009 ; 47 : 2156-64.
- 5) Ichikawa K, Yagi T, Moriyama M, et al.: Characterization of *Mycobacterium avium* clinical isolates in Japan using subspecies-specific insertion sequences, and identification of a new insertion sequence, ISMav6. J Med Microbiol. 2009 ; 58 : 945-950.
- 6) Ichikawa K, Yagi T, Inagaki T, et al.: Molecular typing of *Mycobacterium intracellulare* using multilocus variable-number of tandem-repeat analysis: identification of loci and analysis of clinical isolates. Microbiology. 2010 ; 156 : 496-504.
- 7) Hunter PR, Gaston MA: Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. J Clin Microbiol. 1988 ; 26 : 2465-6.

5. 肺MAC症の感染源について

大阪市立大学医学部附属刀根山結核研究所 西内由紀子
国立病院機構刀根山病院 前倉 亮治

はじめに

Mycobacterium avium complex (MAC) は AIDS 患者に

播種性の日和見感染を起こすだけでなく、基礎疾患のない健康なヒトにも肺感染症を起こし、近年世界中で増えているため注目されている。治療には1年以上の長期に

わたる多剤化学療法が推奨されているにもかかわらず、しばしば化学療法が奏効せずに慢性に進行し、死に至る例がある。また、肺MAC症の特徴として多クローン性の感染と、再感染や再燃がしばしば起こることが知られている¹⁾。MACはヒトからヒトへ直接感染した事例は確認されていないことから環境から感染すると考えられているので、環境中の感染源や感染経路を特定することは肺MAC症の感染予防に重要である。

播種性のMAC症は、病院の給湯設備やportable water、水道が汚染され、経口感染していると考えられている¹⁾²⁾。一方、肺MAC症では汚染されたhot tubやプールなどから気道感染した例が報告されている¹⁾³⁾が、十分に解明されているわけではない。MAC菌および肺MAC症の特徴から感染源は身近にあり、MAC菌が多クローン性に定着していると推測されるが、その実態は知られていない。そこで生活環境すなわち家庭のMAC菌の分布を調べ、分離したMAC菌とその家庭に暮らす患者喀痰分離株の遺伝子多型解析を行って感染源/経路の検討を行った。

家庭内MAC分布⁴⁾

〔方法〕 健常人43人、患者49人の家庭から、台所水道水、浴室シャワー水、浴槽水の3カ所の水各200 mlと台所、洗面所および浴室の排水口やシャワーヘッド計4カ所から水垢を、さらに水周り以外の試料としてエアコンの埃を採取し、培養法で抗酸菌を分離し、16S-23S rRNA spacer領域もしくはhsp 65領域の遺伝子配列により菌種を同定した。分離したMAC菌とその家庭に暮らす患者喀痰分離株はpulsed field gel electrophoresis (PFGE), Restricted fragment length polymorphism (RFLP) 法によって相同性を検討した。

〔結果〕 MAC以外の抗酸菌が家庭の水周りに満遍なく分布していたのに比べ、MAC菌は浴室からのみ分離した(患者8例、健常人1例)⁴⁾。また、健常人浴室より患

者浴室から有意に高頻度に分離した(p=0.01)。MAC菌を分離した患者浴室8例中2例の浴室分離株はPFGEおよびRFLP法で喀痰分離株と相同であった。これらのことから、MACの感染源のひとつとして家庭の浴室が示唆された。しかし、多クローン性に定着している場所は不明であった。そこで、次に患者浴室を対象にして、浴室内のMAC菌の局在を調べた。

MAC菌は浴室、特に浴槽内出水口に多クローン性に定着し、一部は患者喀痰分離株と相同性がみられる⁵⁾⁶⁾

〔方法〕 患者浴室にMACが局在していたので、新たに41人の患者浴室を対象にして、シャワーヘッドの内側や浴槽内出水口を試料採取場所に加えて検討した。同一浴室から分離した株の多クローン性の検討と浴室分離株と喀痰分離株の相同性は、PFGE法で解析した。また、MACを分離しやすい浴室の特徴を探るために浴槽の型や換気など利用方法をアンケート調査した⁵⁾⁶⁾。

〔結果〕 先の49人の患者浴室の分離結果と合わせた合計90浴室のMAC分離結果をTable 1に示す。28浴室(31%)からMACを分離した。最も高頻度に分離したのは浴槽内出水口で、37試料中18試料(49%)から分離した。また、浴槽内出水口では分離培地で多くのMACコロニーが形成され⁵⁾、洗剤や消毒薬に抵抗性を示して繰り返しMAC菌が分離された⁶⁾ことからMACがバイオフィルムを形成して定着していることが示唆された。MAC菌は浴槽内出水口以外にシャワーヘッド、シャワー口から採水した水、浴槽水、排水口からも分離したので、浴室全体に分布していた。同一浴室から複数株のMACを分離したのは10浴室、そのうち5浴室では浴槽内出水口からコロニーの形態が異なる複数の株が得られた。これらのMACが多クローン性かどうかを調べた結果、5浴室由来MAC株ならびに浴槽内出水口の3試料由来MAC株も多クローン性を示した。その1例をFig.に示す。

Table 1 Recovery of *M. avium* and *M. intracellulare* from residential bathrooms of outpatients with pulmonary MAC disease

	Sampling site						Total	
	Surface of the shower head	Inside the shower head	Shower water	Bathtub inlet	Bathtub water	Drain	Samples	Residences
No. of test samples	78	35	87	37	86	80	403	90
<i>M. avium</i>	1 (1.3)	2 (5.7)	5 (5.8)	18* (48.7)	11 (12.8)	8 (10.0)	45 (11.2)	25 (27.8)
<i>M. intracellulare</i>	2 (2.6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2.5)	4 (1.0)	4 (4.4)

Data are represented as the number of samples or residences from which *M. avium* or *M. intracellulare* were recovered. Numbers in parenthesis represent the percentage.

*Over 100 colonies of *M. avium* in a primary isolation plate were recovered from 10 out of 18 culture positive samples.

すなわち、MAC菌は浴室内で多クローン性に定着していることがわかった。

次にMAC菌を分離した28例中24例について、浴室分離株とその浴室を利用している患者の喀痰分離株の遺伝子型の相同性をPFGE法で比較した。その結果、24例中9例(38%)で相同性を示した(Fig.)⁴⁾⁵⁾。また、浴室の型や利用方法がMAC菌の定着に関与していることがアンケート結果から示された(Table 2)⁵⁾⁶⁾。循環型浴槽を利用していたのは1例であった。洗濯に利用するために翌日まで浴槽水を溜めたままにしている浴室や、換気扇の利用時間が短い浴室で有意に高頻度に菌を分離した。

まとめと考察

MACは、家庭内では浴室に局在し、多クローン性に定着している。なかでも、浴槽内出水口は検査試料の約半数(49%)から分離したことから、身近な生活環境におけるMAC菌の主な増殖場所であることが示された。浴槽内出水口は、給湯器やフコ釜と接続して浴槽内に給湯する口で、一般に浴槽水の喫水線の下に位置している。出水口の内側は湯垢などが付着しやすく、掃除にくい構造になっているため、MACのバイオフィルムが形成されやすい場所となっている。浴室分離MAC菌が、その浴室を利用している患者喀痰分離株と高頻度に相同性を示したにもかかわらず、患者から浴室に菌が移った可能性があるために感染源であると言い切ることは難し

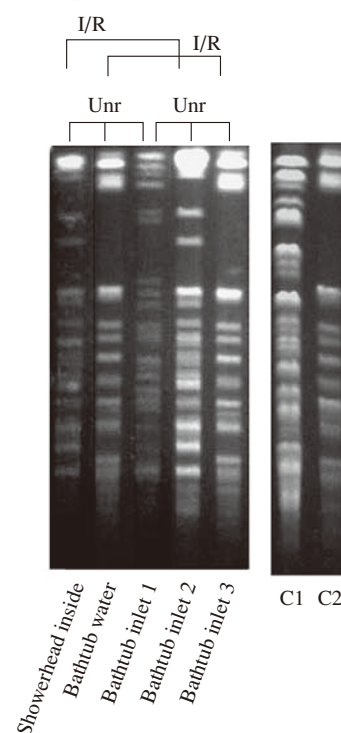


Fig. Polyclonal colonization of *M. avium* complex (MAC) in a residential bathroom of patient #29 and environmental isolates possessed identical or related pulsed field gel electrophoresis (PFGE) profiles. PFGE profiles of chromosomal *Xba*I digests of MAC isolates were shown. Unr, Unrelated profiles; I/R, Identical or related profiles. C1, Isolate from sputum 1 on 2004.6 from patient #29; C2, Isolate from sputum 2 on 2006.3. from patient #29.

Table 2 Participants' residential bathtub type and ventilation method of bathrooms

	Recovery of <i>M. avium</i> and <i>M. intracellulare</i>		
	Culture positive	Culture negative	Total
Type of bathtub			
Bathtub supplied with hot-water	5	15	20 ³⁾ *
Bathtub attached to a bath-boiler			
Natural circulation type ¹⁾	8	1	9
Forced circulation type ²⁾	5	6	11
Recirculating bathtub (24 hr-home bath)	1	0	1
The time of draining off water from bathtub after bathing			
Shortly after bathing	3	10	13 ⁴⁾ *
Next day	14	12	26
Keep hot water in a bathtub	1	0	1
Unknown	1	0	1
Ventilation of a bathroom			
Bathroom dryer	0	3	3 ⁴⁾ *
Ventilating fan			
Regular use	0	3	3
1-8 h after bathing	3	5	8
0.5-1 h after bathing	4	2	6
No bathroom dryer or no ventilating fan	12	9	21

Data are represented as the number of residences.

1): Natural circulation type of bath-boiler that has two holes in a bathtub.

2): Forced circulation type of bath-boiler that has one hole in a bathtub.

3): The Chi-square was used for analysis.

4): Mann-Whitney U-test were used for analysis.

*P value<0.05

い。慢性に進行する肺MAC症は、初感染の時点特定することが難しいため、感染源の特定を難しくしている。しかし、多クローン性に定着していること、エアロゾルを形成しやすい場所であること、患者喀痰分離株と異なる遺伝子型のMAC菌も多く認められたことは、浴室が感染源であることを強く印象づける。さらに肺MAC症の特徴である多クローン性ならびに再燃・再感染をしばしば起こすことも浴室での感染の危険性を示唆している。患者浴室を介して再燃や再感染が起こっていることを検証するためには、前向きコホート研究を行う必要があると思われる。

浴室利用のアンケート結果から、浴槽水は早めに排水し、常時換気扇を利用して浴室を乾燥することが菌の定着を防ぐために重要である。また、肺MAC症の患者は中高年の女性が多く、彼女たちは浴室の掃除を含めた家事をこなしている。浴室の掃除には、ブラシがけのあとシャワーを使って洗い流していると思われるが、このときに菌を含んだエアロゾルが形成されやすいと推測される。そこで、浴室の換気扇は常時使用して、できる限り乾燥させることを指導するとともに、家事を行っている患者にはマスクをして浴室の掃除をするように指導する

ことを推奨したい。

文 献

- 1) Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, et al.: An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007 ; 175 : 367–416.
- 2) von Reyn CF, Maslow JN, Barber TW, et al.: Persistent colonisation of potable water as a source of *Mycobacterium avium* infection in AIDS. *Lancet.* 1994 ; 343 : 1137–1141.
- 3) Angenent LT, Kelley ST, Amand A, et al.: Molecular identification of potential pathogens in water and air of a hospital therapy pool. *Proc Nat Acad Sci.* 2005 ; 102 : 4860–4865.
- 4) Nishiuchi Y, Maekura R, Kitada S, et al.: The recovery of *Mycobacterium avium* complex (MAC) from pulmonary MAC patients' residential bathrooms. *Clin Inf Dis.* 2007 ; 45 : 347–351.
- 5) Nishiuchi Y, Tamaru A, Kitada S, et al.: *Mycobacterium avium* complex organisms predominantly colonize in the bathtub inlets of patients' bathrooms. *Jpn J Infect Dis.* 2009 ; 62 : 182–186.
- 6) Unpublished data.

————— The 85th Annual Meeting Mini-Symposium —————

NON-TUBERCULOUS MYCOBACTERIOSIS WHAT HAS BEEN COMING OUT

Chairperson: Akira KAJIKI

Abstract Diagnosis of non-tuberculous mycobacteriosis is relatively easy, because of recent technological advances (HRCT, MGIT, PCR, DDH etc). Although many reports of this disease have been published, there are many problems to resolve.

1. Prevalence of non-tuberculous mycobacteriosis: Shigeki SATO (Department of Medical Oncology and Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences)

Questionnaire surveys to determine the prevalence of non-tuberculous mycobacterial (NTM) disease were carried out in 2001, 2007, and 2009. The NTM disease rate was estimated at 5.9/100,000, confirming that Japan has one of the world's highest NTM disease rates. Examination of the proportions of *M. avium* and *M. intracellulare* disease in Japan by region revealed that the *M. avium*/*M. intracellulare* disease ratio increased in different regions since past reports. In the 2007 survey, the *M. avium* disease rate had increased over the 2001 level. *M. kansasii* had a high disease rate in the Kinki and Kanto regions. Disease rates tended to be high in regions that

have a metropolis. However, the disease rate was low in Aichi Prefecture, so that the presence in a region of a metropolis is probably not of itself a factor causing a high disease rate. The distributions of the bacteria causing NTM thus vary among different countries and regions.

2. Polyclonal infection of *Mycobacterium avium* using variable numbers of tandem repeats (VNTR) analysis: Tomoshige MATSUMOTO (Department of Clinical Research and Development, Center for Infectious Diseases, Osaka Prefectural Hospital Organization, Osaka Prefectural Medical Center for Respiratory and Allergic Diseases)

Mycobacterium avium complex (MAC) is refractory to therapy, containing rifampicin (RFP), ethambutol (EB), and clarithromycin (CAM). It was widely accepted that therapeutic difficulties of pulmonary MAC treatment was caused by highly resistance to antibiotics or repeated re-infection from environment. Variable number of tandem repeats (VNTR) analysis of MAC is available. So, we studied the MAC-VNTR of clinical isolates from 29 patients with pulmonary MAC, refractory to the therapy. Compared the clinical isolates before

with after each therapy, clinical isolates derived from the all except one patient showed the same VNTR patterns, before and after.

According to MAC-VNTR analysis of the clinical isolates we studied, frequency of polyclonal infection was low (1/29). We concluded that the highly resistance to antibiotics or the repeated same VNTR type infection from environment made refractory pulmonary MAC.

3. An approach to identify susceptibility genes in patients with non-HIV-related pulmonary *Mycobacterium avium* complex (MAC) infection: Naoto KEICHO (Department of Respiratory Diseases, Research Institute, National Center for Global Health and Medicine)

Mycobacterium avium complex causes human pulmonary disease. Th1 T cells play a role in protective immunity from mycobacterial infection. Genetic defect of Interferon-gamma/ Interleukin-12 axis is known to cause familial non-tuberculous mycobacterial infection. On the other hand, non-mendelian type of genetic abnormalities such as polymorphisms of HLA, CFTR and SLC11A1 (NRAMP1) genes has also been investigated as disease susceptibility genes. Recently our group has reported disease association with MHC-class I related chain-A molecule (MICA), comparing 300 sporadic cases with 300 healthy controls.

4. Genetic feature of *Mycobacterium avium* complex: Taku NAKAGAWA, Kenji OGAWA (Department of Pulmonary Medicine, National Hospital Organization Higashinagoya National Hospital)

The bacterial factors contributing to the pathogenesis of *M. avium* complex infection and diversity of disease progression remain unclear. MATR-VNTR typing is inexpensive and easy to perform and has an excellent discriminatory power compared with MIRU-VNTR and IS1245-RFLP typing. MATR-VNTR typing revealed that *M. avium* isolates from HIV-positive patients are analogous to the isolates from pig enterically-transmitted rather than those from HIV-negative patients with pulmonary diseases.

M. avium comprises four subspecies. We performed genetic analysis by using Insertion Sequence (IS) for 114 clinical isolates of *M. avium*. All clinical isolates were identified as *M. avium* subsp. *hominissuis* by sequence analysis of *hsp65*. PCR detection rate of IS901 was about 70%, while detection rate in

Europe and America was 0–8%. Compared with the original IS901, 60 point mutations were found in the sequence of the insertion sequence detected from all PCR-positive clinical isolates. This new insertion sequence was designated ISMav6. It became clear that *M. avium* strains in Japan are distinct from strains in Western countries in terms of the prevalence of ISMav6.

We conducted genetic analysis for *M. avium* isolates collected from 11 hospitals all over Japan, but MATR-VNTR typing failed to show that distinct clusters correlate with disease progression or region.

Genetic typing for *M. intracellulare* using VNTR has not yet been developed. We identified VNTR loci in the genome of *M. intracellulare* ATCC1395 and applied them as a molecular epidemiological tool to clinical isolates.

5. Infection source of pulmonary *Mycobacterium avium* complex (MAC) disease: Yukiko NISHIUCHI (Toneyama Institute for Tuberculosis Research Osaka City University Medical School), Ryoji MAEKURA (National Hospital Organization Toneyama National Hospital)

Pulmonary MAC disease is characterized as the polyclonal infection and the recurrence, which suggest the presence of polyclonal niche of MAC in environment surrounding patients. We revealed that MAC was recovered from bathrooms but not from other sites of residences. The bathtub inlet was the niche with polyclonal colonization of MAC in the bathrooms of MAC patients. The identical/related genotypic profiles with isolates from patients were revealed by pulsed field gel electrophoresis. These results implied that the residential bathroom might be one of the infectious sources of pulmonary MAC disease.

Key words: Regional prevalence, Polyclonal infection, Host factor, Bacterial factor, Infectious sources

Department of Respiratory Medicine, National Hospital Organization Ohmuta National Hospital

Correspondence to: Akira Kajiki, Department of Respiratory Medicine, National Hospital Organization Ohmuta National Hospital 1044–1, Tachibana, Omuta-shi, Fukuoka 837–0911 Japan. (E-mail: kajikia@oomuta.hosp.go.jp)