

長崎県における結核菌の分子疫学解析(2024)

右田 雄二、田川 依里、吉川 亮

Molecular epidemiological study of *Mycobacterium tuberculosis* in Nagasaki Prefecture (2024)

Yuji MIGITA, Eri TAGAWA and Akira YOSHIKAWA

キーワード：結核菌、VNTR、遺伝系統、分子疫学

Key words : *Mycobacterium tuberculosis*, Variable numbers of tandem repeats, Genetic lineage, Molecular epidemiology

はじめに

結核は、結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*)によって引き起こされる感染症で「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」において、二類感染症に指定されている。2016年11月の「結核に関する特定感染症予防指針」¹⁾の改正では2020年までに日本の結核罹患率(人口10万対)を低蔓延国の基準(10以下)まで引き下げる目標が示された。わが国は2021年に罹患率9.2で低蔓延国入りを果たしたが²⁾、国内でも罹患率の高い長崎県は2023年になって罹患率10以下となった。

本県では2012年から感染症法第15条の積極的疫学調査の一環として、長崎県結核菌分子疫学調査実施要領に基づき、VNTR(Variable Numbers of Tandem Repeats)法による遺伝子型別を実施している。今回、2003年以降の長崎県における結核の推移、並びに2024年4月～2025年3月までに県内の結核病床を有する医療機関から収集した37株のVNTR法による遺伝子型解析結果について報告する。

対象および方法

1 県内結核の推移

2003年以降における本県の結核罹患率、新規登録結核患者数および菌陽性者数³⁾を、並びに2019年以降の外国出生の新規登録結核患者数²⁾を示した。

2 VNTR分析の方法

県内の結核病床を有する医療機関から分離された結核菌37株(熱処理済み：95～105℃、10分)を分

析対象とした。鋳型DNAの抽出はLoopamp PURE DNA抽出キット(栄研化学)を用いた。VNTR領域ごとの反復回数の測定方法は「結核菌VNTR ハンドブック」⁴⁾準拠し、JATA12領域にJATA(15)3領域(QUB-11a、ETR A、QUB-18)⁵⁾および超可変3領域(QUB-3232、VNTR3820、VNTR4120)⁶⁾を加えた合計18領域のプライマー対を使用した。PCRの反応条件は95℃で2分加熱後、95℃30秒、63℃30秒、72℃90秒のサイクルを35回実施し、最後に72℃で7分加熱した。PCR増幅産物は0.5×TBE緩衝液を用いた2% Nusieve 3:1 Agarose(Lonza社)のアガロースゲルを使用し、Mupid®-One(Mupid社製)を用いて、100V 60～120分間の条件下で電気泳動を行った。サイズマーカーにはO'RangeRuler 100bp+500bp DNA Ladder(Thermo Fisher Scientific社)を使用した。泳動後のゲルはエチジウムブロマイドで染色した後に紫外線照射下で撮影した。このようにして得られた各領域それぞれのPCR増幅産物の分子量サイズから反復配列回数を算定した。

3 遺伝系統

分析した各菌株のVNTRプロファイルを山形県衛生研究所より提供された最大事後確率(maximum a posteriori: MAP)推定法による解析プログラムを用いて、北京型株5型〔祖先型4型(ST11/26、STK、ST3、ST25/19)および新興型〕と非北京型株⁷⁾に分類した。

4 分子疫学解析事例

VNTRプロファイルが同じであった菌株群については、患者の発生病や保健所による患者間の行動歴等

の疫学調査結果と照合し、感染経路の解析を試みた。

結果および考察

1 県内結核の推移

2003年以降における長崎県の結核罹患率、新規登録結核患者数および菌陽性者数を示す(図1)。本県の結核罹患率は全国と同様、年々低下傾向にあるものの国内では依然として高く、2023年になって低蔓延国の基準を下回る9.8となった。

新規登録結核患者のうち菌陽性者の人数については、本県でVNTR遺伝子型解析を開始した2012年は新規登録結核患者286人のうち菌陽性者は184人であったが、2023年は124人のうち71人と、罹患率の低下とともに菌陽性者数も大きく減少した。

2019年以降の新規登録結核患者のうち外国出生者の人数を示す(表1)。国内の新規登録結核患者数は年々減少している中で、2022年までは外国出生結核患者は全体の10%強を占めていたが、2023年には国内の新規登録結核患者10,096人のうち外国出生者は1,619人(16%)と増加傾向がみられた。本県も全国と同じ傾向にあり、2022年までは外国出生の新規登録結核患者は全体の5%未満であったが、2023年になると県内の新規登録結核患者124人のうち外国出生者18人(15%)と大きく増加した。コロナ禍後の2022年3月以降は入国が可能となったことが要因と考えられた。

2 分子疫学解析結果

解析した菌株は2023年10月～2024年11月までに医療機関から保健所に届出された患者由来株で、県央14株、県南6株、県北・佐世保市10株、西彼4株、長崎市3株の合計37株であった。年齢階級別にみると、41歳未満は8人、41-60歳は1人、61-80歳は9人および81

歳以上は19人で、61歳以上が全体の8割を占めた。外国出生者に注目すると、41歳未満の8人はすべて外国出生者であった。VNTR解析結果を示す(表2)。

遺伝系統については、北京型が28株(76%)で、非北京型は9株(24%)であった。北京型のうち祖先型が20株(71%)、新興型は8株(29%)であった。外国出生者は非北京型と新興型がそれぞれ4株であった。解析した菌株のVNTRプロファイルを2012年4月以降に解析した菌株のVNTRプロファイルと照合した結果、37株中8株が過去の解析結果とクラスターを形成したが、過去10年を超えるVNTRプロファイルとの照合であるためか疫学的な関連性は不明であった。

まとめ

現在、わが国の結核は低蔓延化により向かっているが、外国人労働者や観光客の増加により日本における外国出生の結核患者が占める割合が増加傾向にある。今後は、高蔓延国からの留学生や技能実習生などの中長期の滞在予定者に対しては入国前検査が義務化されるが、訪日後に発症するケースもあるため外国人結核対策は急務である。

これまで、わが国の結核は日本出生者が大部分で、遺伝系統は北京型株が全体の7～8割^{8,9)}を占めていたが、今後は外国出生者に多い新興型や非北京型の割合が増加する可能性がある。特に新興型は若年層に多く感染伝播し発病しやすい型と報告¹⁰⁾されている。

現在わが国も罹患率の低下により結核菌陽性者数が減っているが、今後も菌株を収集し、VNTR解析や新しい解析技術である全ゲノム解析を駆使し、感染の広がりを実態を継続的に監視することは結核対策を進める上で重要であると考えられる。

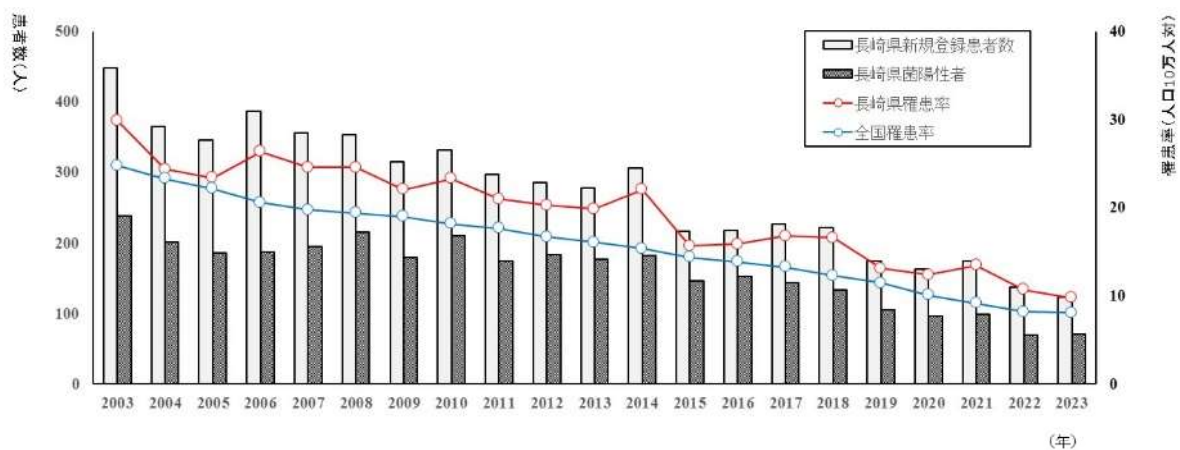


図1 長崎県における結核の推移

表 1 長崎県における外国出生結核患者数の推移

発生年	全国		長崎県	
	新規登録患者数	外国出生患者数 (%) *	新規登録患者数	外国出生患者数 (%) *
2019	14,460	1,541 (11)	174	7 (4)
2020	12,739	1,411 (11)	163	3 (2)
2021	11,519	1,313 (11)	175	9 (5)
2022	10,235	1,214 (12)	137	7 (5)
2023	10,096	1,619 (16)	124	18 (15)

* ()内は新規登録患者数のうち外国出生者数を百分率で示す

表 2 長崎県におけるVNTR解析結果 (2024)

菌株 No.	HC	発生年月	年齢	性別	JATA (12)										JATA (15)							超可変領域	垂種系統	外国出生者	MLVA型が一致した菌株No. (0):完全一致 (1):1領域違い
					01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	QUB 18	QUB 11a	ETRA	QUB3232	V 3820	V 4120			
S724	県南	2023年10月	91	M		4	6	2	2	1	3	7	4	4	10	4	2	5	9	4	12	11	3	nBj	
S725	県南	2024年3月	33	M		3	3	1	4	3	2	5	4	3	20↑	4	3	6	3	3	7	7	2	nBj	○
S726	県南	2024年4月	79	M		4	3	3	3	3	3	7	4	5	7	8	4	7	9	4	D 13/20↑	18	6	STK	S113(1)
S727	佐世保市	2023年12月	85	F		5	4	2	3	2	2	5	4	2	12	6	3	2	4	1	6	5	4	nBj	
S728	佐世保市	2023年12月	88	M		4	3	3	3	7	3	7	4	5	7	8	5	10	8	4	15	13	5	ST25/19	S288(1)
S729	佐世保市	2023年12月	90	M		3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	10	8	4	10	13	9	ST25/19	S99(1), S314(1), S563(1), S633(1)
S730	佐世保市	2024年1月	67	F		4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5	10	9	4	16	14	12	ST3	S53(0), S548(1), S711(1)
S731	佐世保市	2024年3月	93	M		4	1	3	2	6	4	7	4	5	7	8	5	8	9	4	17	14	12	ST3	
S732	佐世保市	2024年6月	30	F		1	4	12	3	8	1	2	4	4	7	7	2	10	11	1	1	11	4	nBj *EAI	○
S733	県北	2024年2月	61	F		3	3	6	3	6	3	4	4	5	7	9	3	8	8	4	14	17	13	Modern	S660(1)
S734	県北	2024年3月	91	F		4	3	4	3	6	3	7	4	5	10	8	3	8	8	4	13	16	10	Modern	
S735	県北	2024年5月	80	M		3	3	3	4	7	3	7	4	6	7	2	5	10	8	4	12	11	11	ST25/19	
S736	県央	2023年10月	93	F		2	3	3	3	5	3	7	2	5	14	9	4	9	8	4	12	9	5	ST11/26	
S737	県央	2023年11月	23	F		3	4	2	3	2	5	5	4	2	6	6	3	2	4	2	11	7	4	nBj	○
S738	県央	2024年1月	86	M		4	1	3	2	6	4	9	4	5	7	8	5	10	9	4	10	14	12	ST3	S41(0)
S739	県央	2024年2月	81	M		4	3	4	4	6	3	7	4	5	7	8	3	8	8	4	13	12	10	Modern	
S740	県央	2024年3月	83	F		3	3	3	4	5	3	7	5	4	7	2	5	10	8	4	12	13	11	ST25/19	
S741	県央	2024年1月	29	F		4	3	4	3	6	3	7	4	5	7	8	3	5	8	4	13	14	6	Modern	○
S742	西彼	2023年11月	87	F		4	3	3	3	3	3	6	4	3	7	7	4	8	8	4	15	19	13	STK	
S743	西彼	2023年11月	62	M		4	3	3	2	X	3	8	4	4	7	10	5	10	X	X	15	10	8	ST25/19	
S744	西彼	2024年3月	89	F		3	3	3	4	7	3	6	5	5	7	2	5	10	8	4	10	14	9	ST25/19	S573(0), S699(0)
S745	西彼	2024年8月	21	F		4	3	4	3	10	3	7	2	5	7	8	3	8	8	4	14	15	8	Modern	○
S746	長崎市	2023年12月	87	F		4	3	4	3	5	4	7	4	5	7	8	3	8	8	4	8	17	9	Modern	
S747	長崎市	2023年12月	63	M		4	2	3	3	3	3	7	6	4	7	9	4	13	8	4	18	15	5	STK	
S748	長崎市	2024年3月	51	F		4	3	3	3	3	3	6	4	5	7	8	4	9	8	4	13	20↑	17	STK	
S749	県央	2024年6月	100	M		2	2	2	1	3	2	5	2	3	13	8	3	2	20↑	3	12	4	3	nBj	
S750	県央	2024年6月	87	F		3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	9	20↑	4	9	12	4	ST25/19	
S751	県央	2024年7月	82	M		4	3	2	3	3	3	7	3	5	7	8	4	10	8	4	14	17	8	STK	
S752	県央	2024年9月	82	F		2	2	2	3	3	2	5	4	3	11	7	2	3	20↑	3	12	5	4	nBj	
S753	県央	2024年9月	67	M		4	3	3	3	2	1	7	4	4	7	9	4	10	8	4	17	15	13	STK	
S754	県央	2024年10月	27	M		4	3	3	3	5	3	6	4	5	7	7	3	10	20↑	4	16	14	8	Modern	○
S755	県央	2024年11月	82	M		2	3	1	4	4	2	4	4	3	8	5	3	5	5	3	7	5	2	nBj	
S756	県央	2024年11月	68	F		4	3	3	2	8	3	7	4	5	7	10	5	10	D 3/5	4	14	12	6	ST25/19	
S757	県南	2024年7月	78	M		4	3	3	3	3	4	7	4	5	7	8	4	7	8	4	16	18	6	STK	
S758	県南	2024年9月	22	F		2	4	4	3	2	2	2	4	5	7	6	2	5	9	7	1	6	4	nBj	○
S759	県南	2024年10月	22	F		4	3	4	3	6	3	7	4	5	7	8	3	8	8	4	11	14	12	Modern	○
S760	佐世保市	2024年10月	99	F		4	3	3	3	3	3	7	4	5	7	7	4	11	8	2	12	14	10	STK	S284(1)

D: double X: 欠損領域 EAI((East-African-Indian): フィリピン蔓延株

謝 辞

本事業の遂行にあたり、疫学情報、解析データおよび菌株の提供等にご協力いただきました地域保健推進課、各保健所、長崎市保健環境試験所並びに協力医療機関の関係諸氏にお礼を申し上げます。

参 考 文 献

- 1) 厚生労働省:結核に関する特定感染症予防指針の一部改正について(平成28年11月25日)
- 2) 公益財団法人結核予防会結核研究所疫学情報センター <http://www.jata.or.jp/rit/ekigaku/> (2025.6.20アクセス)
- 3) 長 崎 県 : 長 崎 県 の 結 核 (2024) : <https://www.pref.nagasaki.jp/shared/uploads/2025/02/1740014098.pdf> (2025.6.20アクセス)
- 4) 地研協議会保健情報疫学部会マニュアル作成ワーキンググループ編:結核菌VNTRハンドブック(2012)
- 5) 岩本朋忠:結核菌北京型ファミリーの集団遺伝学的解析から推察される日本国内定着型遺伝系統群の存在と遺伝系統別薬剤耐性化傾向の違い, *Kekkaku*, **84**, 755-759(2009)
- 6) Iwamoto T et al.: Hypervariable loci that enhance the discriminatory ability of newly proposed 15-loci and 24-loci variable-number tandem repeat typing method on *Mycobacterium tuberculosis* strains predominated by the Beijing family, *FEMS Microbiol., Lett.*, **270**, 67-74(2007)
- 7) Seto J. et al.: Phylogenetic assignment of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing clinical isolates in Japan by maximum a posteriori estimation, *Infect. Genet. Evol.*, **35**, 82-88(2015)
- 8) 岩本朋忠:世界的感染拡大傾向が危惧される結核菌北京型株, 複十字, **329**(2009)
- 9) 岩本朋忠:結核菌北京型ファミリーの集団遺伝学的解析から推察される日本国内定着型遺伝系統群の存在と遺伝系統別薬剤耐性化傾向の違い, *Kekkaku*, **84**, 755-759(2009)
- 10) 永田美樹、他:茨城県における結核菌分子疫学解析について(平成29年～令和3年), 茨城県衛生研究所年報, **60**, 32～35(2022)