

# 結核菌の遺伝子型と県内分布状況について

川原康彦 保田和里 福留智子 内山浩子 吉野修司 杉本貴之 藤崎淳一郎

## VNTR Genotyping and Molecular Epidemiology Studies of *Mycobacterium tuberculosis* in Miyazaki Prefecture

Kawahara Yasuhiko, Yasuda Asato, Fukudome Tomoko, Uchiyama Hiroko  
Yoshino Shuji, Sugimoto Takayuki, Fujisaki Junichiro

### 要旨

本県では 2012 年から結核菌の VNTR 検査を実施している。2020 年 3 月までに当研究所に搬入された結核菌 161 株のうち同一患者を除いた 453 株について解析を行った。系統推定解析では全国と同様の割合で祖先型が多い傾向がみられた。また、12 領域が完全に一致し、クラスターを形成したものは 53 クラスターあり、形成率は 41.7%であった。1 領域不一致事例での関連性の検討では関連性が示唆される事例が 2 件あった。

キーワード：結核菌，VNTR，クラスター

### はじめに

2012 年度に宮崎県結核菌検査実施要領が施行されて以降、当研究所では菌株間の遺伝子レベルでの型別調査を行ってきた。結核菌の遺伝子型別法は国際的には Supply's 24 MIRU-Variable number of tandem repeats(VNTR)法が用いられており、結核菌のゲノム上に存在する反復配列領域の多様性を利用した方法で、施設間でのデータの比較や蓄積を行うことができる。日本では Supply's VNTR 法を国内の現状に合わせて改良された JATA(12)-VNTR 法が標準法として提唱され<sup>1)</sup>普及している。さらに分解能を高めるために JATA(15)-VNTR 法や HV-VNTR 法も追加領域として提唱され<sup>2)</sup>実施している。今回、当研究所へ搬入された結核菌の解析結果をまとめたので報告する。

### 対象

2012 年 12 月から 2020 年 3 月までに当研究所に搬入された結核菌 461 株のうち同一人物の 2 回目以降を除いた 453 株を解析の対象とした。

### 方法

結核菌ハンドブックに基づき JATA(12)-VNTR 解析を行った。12 領域が一致する株については追加領域として、JATA(15)-VNTR の追加 3 領域及び HV-VNTR の 3 領域の計 6 領域(計 18 領域)を実施した。Seto らの方法<sup>3)</sup>に従い、得られた反復数から最大事後確率(MAP)推定法で、北京型(祖先型及び新興型)と非北京型に系統推定を行った。12 領域が完全に一致したものをクラスターと定

表 1 年齢別系統分類

年齢	<20	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	>90	合計
件数	4	8	20	17	25	41	101	176	61	453
祖先型	0	3	7	12	11	28	54	103	37	255
新興型	3	1	9	2	5	8	17	23	10	78
非北京型	1	4	4	3	9	5	30	50	14	120

表2 年齢別クラスター形成数

年齢(歳)	<20	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	>90	合計
件数	4	6	18	16	23	37	96	170	53	423
クラスター形成した件数	3	3	9	10	8	23	43	53	24	176

義し、疫学情報より関連性の有無の推定を行った。また、1 領域違いの集団についても疫学的な関連性があるか併せて調査した。

## 結果

### 1 系統推定

系統推定では453株を対象として解析すると祖先型、新興型及び非北京型の順に56.3%, 17.2%, 26.5%となった。年齢別をみると高齢者では祖先型の割合が高いが、年齢が下がるにつれ新興型の割合が増加している傾向がみられた(表1)。

### 2 クラスター形成率

453株の解析の結果、12領域では2~17株を含む53のクラスターが形成され、189株(41.7%)が含まれていた。また年齢別では若年層ほどクラスター形成率が高くなる傾向がみられた(表2)。

### 3 クラスター内における関連性の検討

53 クラスターの疫学情報より関連性の有無を調査したところ、関連性が未確認ものも多数を占めた(表3)。関連性が疑われるクラスターについて、1件は3名が同一地域かつ発症時期が近かったが疫学情報からは判断できなかった。もう1件については2名が隣接する市町村の異なる施設に長期入院しており、未知の経路で感染した可能性が否定できなかった。

### 4 1領域不一致事例での関連性の検討

1領域違いの疫学情報を全て確認していくと2件については関連性がみられた。1件目は親子関係、2件目は入院中の患者が発症し、その際に看護師が感染していた。

## 考察

系統分類では全国と同様に祖先型が多い傾向がみられた。しかし、アジア地域に多く感染力が強いといわれる新興型の割合が若年層で増加しており、今後も継続して調査を行っていき監視していく。

クラスター形成株の関連性を調査したところ、

表3 クラスター内における関連性

	同一施設利用	7
	夫婦	3
	親子	2
一部関連あり	同一施設利用	1
	夫婦	1
	親子	1
	同胞	1
疑わしい	接触の可能性あり	2
関連未確認		34
		52

JATA12領域は集団感染時の菌株の異同判定には有用であり、科学的根拠になることが確認できた。また、JATA12領域はヒトからヒトへ感染する際に偶発的に変異する可能性がある<sup>4)</sup>とされているが、本県においても同様に確認された。今後は1領域違いのクラスターについても疫学情報を注意深く観察する必要がある。

散発で発症した患者由来株は疫学的関連がなくてもクラスターを形成することがあり過去に県内で蔓延した株の再発、もしくは未知の経路で感染した可能性がある<sup>4)</sup>。未知の経路確認のためにも疫学的情報を再度見直し、関連性を突き詰めていかなければならない。

患者から患者へ感染する際に偶発的な変異の可能性もあるため、依頼時には解析時の判断に必要な詳細な疫学情報が必要である。また、今後さらに分解能を高めていくため、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析を検討していく。

## 参考文献

- 1) 前田ら：国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型(VNTR)分析システム, 結核, 83, 673-678, (2008)
- 2) 和田ら：結核菌の縦列反復配列多型(VNTR)解析に基づく分子疫学とその展望, 結核, 85,

845-852, (2010)

- 3) Seto ら : Phylogenetic assignment of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing clinical isolates in Japan by maximum a posteriori estimation, *Infect Genet Evol*, 35, 82-

88, (2015)

- 4) 加藤ら : 結核分子疫学調査の手引き 第一版, 日本, (2017)