

埼玉県における結核菌分子疫学解析（令和6年度）

伊藤由加里 坂本大地 中川佳子 近真理奈* 佐藤孝志 尾関由姫恵

Molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* in Saitama Prefecture (2024.4-2025.3)

Yukari Ito, Daichi Sakamoto, Keiko Nakagawa, Marina Kon, Takashi Sato and Yukie Ozeki

はじめに

結核は、結核菌群 (*Mycobacterium tuberculosis* complex ただし *Mycobacterium bovis* BCG を除く) による感染症であり、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律における二類感染症に分類され、診断後直ちに届け出なければならない全数報告の疾患である。日本における2023年の結核罹患率（人口10万対）は8.1であり前年と比べ0.1減少し、結核低まん延国の水準である10.0以下を3年連続で継続した¹⁾。日本の結核罹患率は、米国等他の先進国の水準に年々近づき、近隣アジア諸国に比べても低い水準にある。

結核に関する特定感染症予防指針²⁾においては、都道府県等は結核菌が分離された全ての結核患者について、結核菌を収集するよう努め、分子疫学的手法からなる病原体サーベイランスの構築に努める必要があるとしている。埼玉県衛生研究所では、平成28年4月から、埼玉県結核菌分子疫学調査実施要領³⁾に基づき、県内で発生した患者から分離された結核菌株について、反復配列多型 (Variable numbers of tandem repeats : VNTR) 分析を実施している。本調査の目的は、集団感染における共通感染源の究明、並びに、県内の結核患者菌株のデータベースを作成し、長期間及び広域的な伝播経路を推定する科学的根拠を保健所等に提供することである。今回は、令和6年度の結核分子疫学調査について報告する。

対象及び方法

1 対象

対象は、令和6年4月から令和7年3月までに当所に搬入された県内（さいたま市を除く）発生患者由来結核菌株176株のうち、重複検体及び検体不良のため検査不能であった2株を除く174株とした。

2 検査方法

(1) DNAの抽出：DNA抽出物は、滅菌蒸留水に結核菌株を懸濁し、加熱抽出により抽出した。

- (2) VNTR分析：VNTR分析領域の設定は、多重反復配列領域のうち、Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA) (12)-VNTR分析法に用いられている12領域⁴⁾にJATA(15)-VNTR分析法で追加されている3領域⁵⁾、超多変(Hypervariable: HV)領域に属する3領域 (QUB3232, V3820, V4120)⁵⁾、並びに国際比較6領域 (MIRU4, MIRU16, MIRU40, ETR-C, Mtub30, Mtub39)⁵⁾の計24領域とした。各菌株のDNA抽出物をテンプレートに、それぞれ片側に蛍光標識したプライマーとExTaq HS version (Takara) を用いたPCR法で増幅を行った。得られたPCR産物を適宜希釈し、Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) にて電気泳動を行った。PCR産物の反復配列数はGene Mapper ソフトウェア (Applied Biosystems) を用いて算出した。
- (3) 北京型別：Warrenらの方法⁶⁾に従い、北京型結核菌同定プライマー (5'-TTCAACCATGCCGCCTCTAC-3', 5'-CACCCTCTACTCTGCCTTG-3') と非北京型結核菌同定プライマー (5'-GGTGCAGATTGAGGTTCCC-3', 5'-TCTACCTGCAGTCGCTTGTGC-3') を用いてPCRを行い、北京型及び非北京型に分類した。
- (4) 系統推定：北京型別によって北京型と判別された株について、結核菌VNTRハンドブック追補版⁷⁾に従い、VNTR分析から祖先型又は新興型の系統推定を行った。
- (5) クラスター解析：菌株間のVNTR分析を比較し、24領域すべての反復数が一致する菌株を同一クラスターと判定した。また、クラスターを形成した菌株の母数に占める割合をクラスター形成率とした。

結果

1 対象者の内訳

解析した174株の患者診断時の年齢は21歳から99歳であった。平均年齢は、日本出生患者76.8歳、外国出生患者34.3歳、全体では66.2歳であった。それぞれの年齢階級別患者数を図1に示した。男女別患者数は、男性115名(66.1%)、女性59名(33.9%)であった。また、174名のうち日本出生患者は142名(81.6%)、外国出生患者は32名

* 現 川口市保健所

(18.4%) であった。外国出生患者の出身国は、インドネシア8名、中国5名、フィリピン5名、ベトナム5名、ネパール2名、ミャンマー2名、他5か国各1名であった。外国出生患者の日本滞在歴は、1年未満7名、1年以上3年未満11名、3年以上5年未満2名、5年以上10年未満3名、10年以上20年未満6名、20年以上1名、不明2名であった。

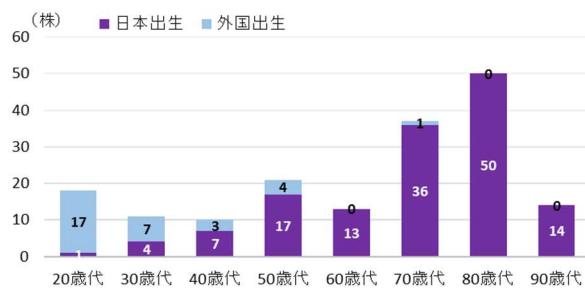


図1 年齢階級別患者数

2 北京型別及び系統推定

北京型別及び系統推定は、判定不能であった日本出生患者3株(70歳代2名、80歳代1名)を除く171株について実施した。PCRによる北京型別検査の結果、北京型は119株(69.6%)、非北京型は52株(30.4%)であった。さらに、北京型株についてVNTR分析をもとに系統推定を行ったところ、祖先型は78株(65.5%)、新興型は41株(34.5%)であった(表1)。

表1 北京型別・系統推定

型別	株数	(%)	系統推定	株数	(%)
北京型	119	(69.6)	祖先型	78	(65.5)
			新興型	41	(34.5)
非北京型	52	(30.4)			
計	171				

各型の平均年齢は、北京型68.1歳、非北京型61.0歳であった。北京型のうち祖先型の平均年齢は75.0歳、新興型は55.0歳であった。

出生国別にみると、日本出生患者139株の内訳は、北京型104株(74.8%)、平均年齢73.0歳、非北京型35株(25.2%)、平均年齢74.1歳であった。北京型104株のうち祖先型は75株(72.1%)、平均年齢76.2歳、新興型29株(27.9%)、64.8歳であった。

外国出生患者32株の内訳は、北京型15株(46.9%)、平均年齢34.4歳、非北京型17株(53.1%)、平均年齢34.1歳であった。北京型15株のうち祖先型が3株(20.0%)、平均年齢46.0歳、新興型が12株(80.0%)、平均年齢31.5歳であった。それぞれの型別及び系統推定における年齢階級別検出数を図2~5に示した。



図2 年齢階級別北京型検出数



図3 年齢階級別非北京型検出数



図4 年齢階級別祖先型検出数

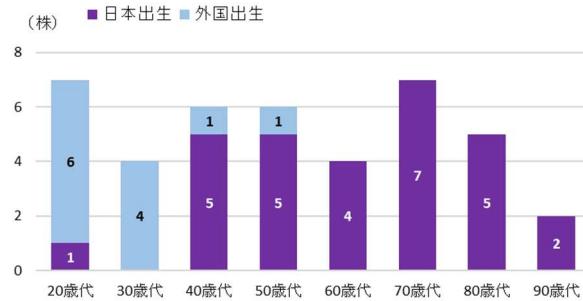


図5 年齢階級別新興型検出数

3 クラスター解析

解析は、今年度VNTR分析を実施し、北京型別または系統推定が判定不能であった3株を除く171株と、平成28年4月以降にVNTR分析を実施した株を比較した。171株中クラスターを形成した株は49株で、クラスター形成率は28.7%であった。北京型のクラスター形成率は37.0%(44/119)、非北京型は9.6%(5/52)であった(表2)。北京型のうち祖先型のクラスター形成率は29.5%(23/78)、新興型は51.2%(21/41)であった(表3)。なお、北京型別または系統推定が判定不能であった3株はすべてクラスターを形成しなかった。

外国出生患者株の中でクラスター形成株は5株で3クラスターに属していた。3クラスターはすべて北京型の新興型で、同国出身の外国出生患者2名で構成されていた。

表2 型別クラスター形成率

型別	解析株数	クラスター形成株数	クラスター形成率(%)
北京型	119	44	37.0
非北京型	52	5	9.6
計	171	49	28.7

表3 系統別クラスター形成率

系統推定	解析株数	クラスター形成株数	クラスター形成率(%)
祖先型	78	23	29.5
新興型	41	21	51.2
計	119	44	37.0

考察

厚生労働省の2023年結核登録者情報調査年報集計結果によると、2023年の埼玉県（さいたま市を除く）の新登録結核患者は468名であった¹⁾。また新登録肺結核患者の約7割は培養陽性であった¹⁾。調査期間が異なるので推定ではあるが、新規結核患者のうち培養陽性を7割と仮定すると、令和6年度は、本県の培養陰性を除く新規登録結核患者の53.0%（174/328）の分子疫学解析を実施していたと考えられる。

全国的に新登録結核患者における外国出生患者の割合は増加傾向にあり、2022年は11.9%、2023年は16.0%と4.1%の大幅な増加となっている。外国出生患者は、20歳代は同年齢階級の新登録結核患者全体の8割以上を、30歳代は同年齢階級の6割以上を占めている¹⁾。

埼玉県でも、令和5年度の調査菌株における外国出生患者の割合は16.4%、令和6年度は18.4%と増加した⁸⁾。年代別では、20歳代の外国出生患者株は94.4%、30歳代の外国出生患者株は63.6%であり、若齢層の外国出生患者が多いという全国的な傾向と一致していた。外国出生患者の中で入国前結核スクリーニングの対象国出身者は、8割を占めていた。令和7年度に開始される入国前結核スクリーニングの実施による結核対策上の効果を本県においても期待したい。

令和6年度の北京型別の結果、北京型の検出率は69.6%であった。北京型の年齢階級別検出率は、70歳代で82.9%（29/35）と最も高かった。一方、最も低かったのは20歳代で44.4%（8/18）であった。北京型は、ほかの遺伝子系統と比べ感染伝播力が強く、薬剤耐性との関連が高く、発病や再発を起こしやすいとされている⁹⁾。日本で分離される

結核菌の7-8割ほどが北京型株であるといわれており^{9) 10)}、今回の調査は全国の傾向と同様であった。出生国別にみると、日本出生患者の北京型の検出率は74.8%（104/139）であった。しかし、外国出生患者の北京型は46.9%（15/32）であり北京型の割合が低かった。出身国での流行状況を反映していると推測された。

さらに、北京型株の中でも新興型は、祖先型と比較して発症するまでの期間が短く、感染伝播力がより強く、発病しやすい傾向があり、特に都市部で勤労世代の感染が増加しているとされる^{11) 12)}。今回の系統推定の年齢階級別検出率は50歳代以上の患者では祖先型が6割以上であるのに対し、20歳代から40歳代では新興型が6割以上となっていた。また、出生国別の系統推定では、日本出生患者は72.1%（75/104）が祖先型であったのに対し、外国出生患者では新興型が80.0%（12/15）であった。

世界では、結核の約3割が北京型であり、北京型の中では新興型の割合が高いと言われているが、日本を含む東アジア地域は北京型の高蔓延地域である。東アジアの国の中で、日本と韓国は北京型の系統で祖先型の割合が高いが、その他の国は新興型の割合が高いと言われている。^{10) 13)} 今回の日本出生患者及び外国人出生患者の結果は報告にある傾向とほぼ一致し、出身国での流行状況を反映していると推測された。

また、高齢者に祖先型が多い傾向がみられたことは高齢者結核患者では内因性再燃の影響¹⁰⁾が大きいと考えられた。

クラスター形成率を見ると、北京型は非北京型よりもクラスター形成率が高かった。更に、北京型の祖先型に比べて新興型のクラスター形成率は51.2%と高く、近年の感染伝播を反映していると推定された。今回の調査では、外国出生患者と日本出生患者がクラスターを形成した株は確認されなかった。新型コロナウイルス感染症の五類移行に伴い、世界的に人の流れが増加していることから、今後も日本出生患者と外国出生患者間の分子疫学的関連性を注視していく必要があると考えられた。

当所で実施したVNTR分析で完全一致したクラスターの中には、保健所の調査において疫学的関連性が乏しいとされた事例があり、VNTR分析では分解能が不十分であると考えられた。結核菌ゲノム解析を導入することにより、集団感染における感染経路のより精度の高い推定、疫学的関連性が乏しいクラスターへの活用が期待される¹⁴⁾。

文献

- 1) 厚生労働省: 2023年結核登録者情報調査年報集計結果, 2024.
- 2) 厚生労働省: 結核に関する特定感染症予防指針.
- 3) 埼玉県感染症対策課: 埼玉県結核菌分子疫学調査実施要領.
- 4) 前田伸司, 村瀬良朗, 御手洗聰, 他: 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
- 5) 和田崇之, 長谷篤: 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
- 6) Warren RM, Victor TC, Streicher EM, et al.: Patients with active tuberculosis often have different strains in the same sputum specimen. *Am J Respir Crit Care Med.* 169, 610-614, 2004
- 7) 和田崇之: VNTR 型別における反復数傾向. 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 追補版.
- 8) 伊藤由加里, 石井明日菜, 榎本雄太, 他: 埼玉県衛生研究所報 第 58 号 令和 6 年, 61-64, 2025.
- 9) 加藤誠也, 灌井猛将, 大角晃弘, 他: 結核分子疫学調査の手引き第一版. 2017
- 10) 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. 結核, 84, 755-759, 2009
- 11) Hanekom M, van der Spuy GD, Streicher E, et al.: A recently evolved sublineage of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strain family is associated with an increased ability to spread and cause disease. *J Clin Microbiol.* 45, 1483-1490, 2007
- 12) Iwamoto T, Fujiyama R, Yoshida S, et al.: Population structure dynamics of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains during previous decades in Japan. *J Clin Microbiol.* 47, 3340-3343, 2009
- 13) Sabina Atavliyeva, Dana Auganova and Pavel Tarlykov: Genetic diversity, evolution and drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* lineage 2. *Frontiers in Microbiology*. 15, 2024
- 14) 濱戸順次, 和田崇之, 阿彦忠之, 他: 山形県における結核菌ゲノム解析を用いた結核分子疫学調査. 感染症学雑誌, 97, 6~17, 2023