

## 資料2

# 沖縄県結核菌分子疫学調査報告

衛生環境研究所

## 1. 菌株保管、VNTR解析状況

- ・2024年は73株、2025年は5月までに32株が当所に搬入された。
- ・2024年に結核と診断された患者の培養陽性株96のうち、75株（78%）の菌株について、保管およびVNTR解析を実施した。
- ・2012年以降に搬入された1007株のうち、910株（90%）についてVNTR解析を実施しており、2016年以降に搬入されたすべての株について解析が完了した。

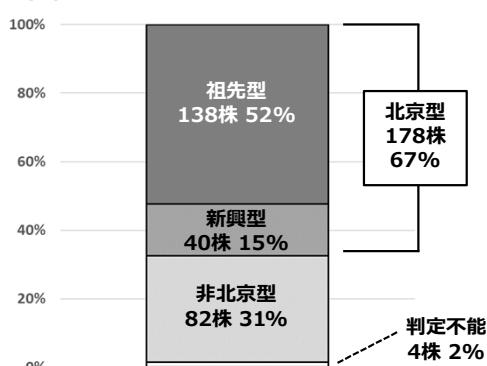
| 管轄保健所  | 2012~2016年 | 2017年 | 2018年 | 2019年 | 2020年 | 2021年 | 2022年 | 2023年 | 2024年 | 2025年~5月 | 累計<br>(2012~2025年5月) |
|--------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|----------------------|
| 北部保健所  | 44         | 10    | 8     | 6     | 4     | 2     | 6     | 5     | 3     | 3        | 91                   |
| 中部保健所  | 138        | 38    | 39    | 17    | 24    | 32    | 16    | 19    | 29    | 15       | 367                  |
| 南部保健所  | 93         | 27    | 20    | 11    | 22    | 14    | 12    | 15    | 15    | 12       | 241                  |
| 八重山保健所 | 14         | 10    | 10    | 5     | 3     | 1     | 4     | 6     | 4     | 1        | 58                   |
| 宮古保健所  | 9          | 0     | 8     | 14    | 11    | 1     | 2     | 2     | 1     | 0        | 48                   |
| 那覇市保健所 | 71         | 27    | 14    | 10    | 10    | 16    | 16    | 16    | 21    | 1        | 202                  |
| 計      | 369        | 112   | 99    | 63    | 74    | 66    | 56    | 63    | 73    | 32       | 1007                 |

表1. 保健所別の菌株保管数（2012年～2025年5月）

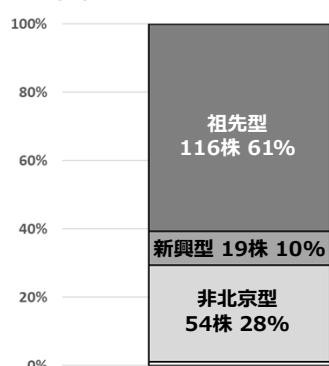
## 2. 系統解析

- ・直近5年（2021年以降）の検体由来の264株について、系統解析を実施した（図1）。系統解析は瀬戸らの方法<sup>1)</sup>によって実施した。12領域によって型別するJATA(12)-VNTRの解析データに基づく。
- ・系統解析の結果、67%が北京型（祖先型が52%、新興型が15%）であった（図1(a)）。国内で分離される結核菌株について、全国および他都道府県では約70-80%が北京型であると報告されている<sup>2)-6)</sup>（表2）。沖縄県においても、全国と同様の傾向がみられた。
- ・患者年齢を60歳以上と60歳未満に分けて、系統解析を実施した（図1(b),(c)）。60歳以上では祖先型が61%、新興型が10%であるのに対し、60歳未満では祖先型が38%、新興型が29%となった。北京型と非北京型では有意な差は認められなかったが、60歳未満で有意に新興型が多かった。日本では、若年者層の結核患者から新興型が分離される割合が高いことが報告されており<sup>7)</sup>、沖縄県でも同様の傾向がみられた。新興型は祖先型と比較して発症するまでの期間が短く、感染力が強く、集団感染を起こしやすいことが報告されている<sup>7)</sup>。

(a) 全体



(b) 60歳以上



(c) 60歳未満

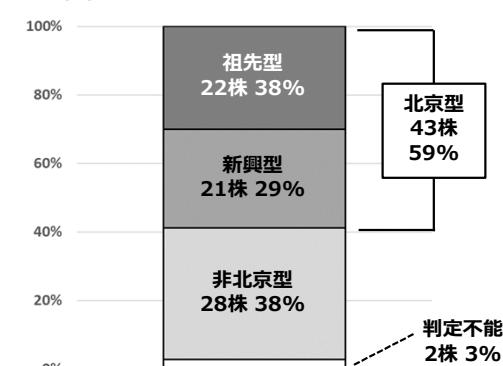


図1. 系統解析 (a) 全体（計264株） (b) 60歳以上（計191株） (c) 60歳未満（計73株）

| 都道府県             | 集計年         | 検体数 | 北京型   |       |       | 非北京型  |
|------------------|-------------|-----|-------|-------|-------|-------|
|                  |             |     | 祖先型   | 新興型   | 合計    |       |
| 秋田 <sup>3)</sup> | 2012-2015   | 143 | 71.4% | 10.5% | 81.9% | 23.8% |
| 山形 <sup>4)</sup> | 2009-2015   | 494 | 56.5% | 15.2% | 71.7% | 28.3% |
| 石川 <sup>5)</sup> | 2016-2018年度 | 170 | 60.0% | 10.6% | 70.6% | 26.5% |
| 岐阜 <sup>6)</sup> | 2014-2018年度 | 397 | 57.2% | 11.3% | 68.5% | 31.5% |

表2. 各都道府県（秋田県、山形県、石川県、岐阜県）における系統解析

1) Seto J, et al., Infect. Genet. Evol., 2015, 35, 82-88. 2) 岩本忠朋. 複十字. 2009, no.329, p.20-21.

3) Konno T, et al., Jpn. J. Infect. Dis., 2017, 70, 472-473. 4) Seto J, et al., Emerging Infect. Dis., 2017, 23(3), 448-455.

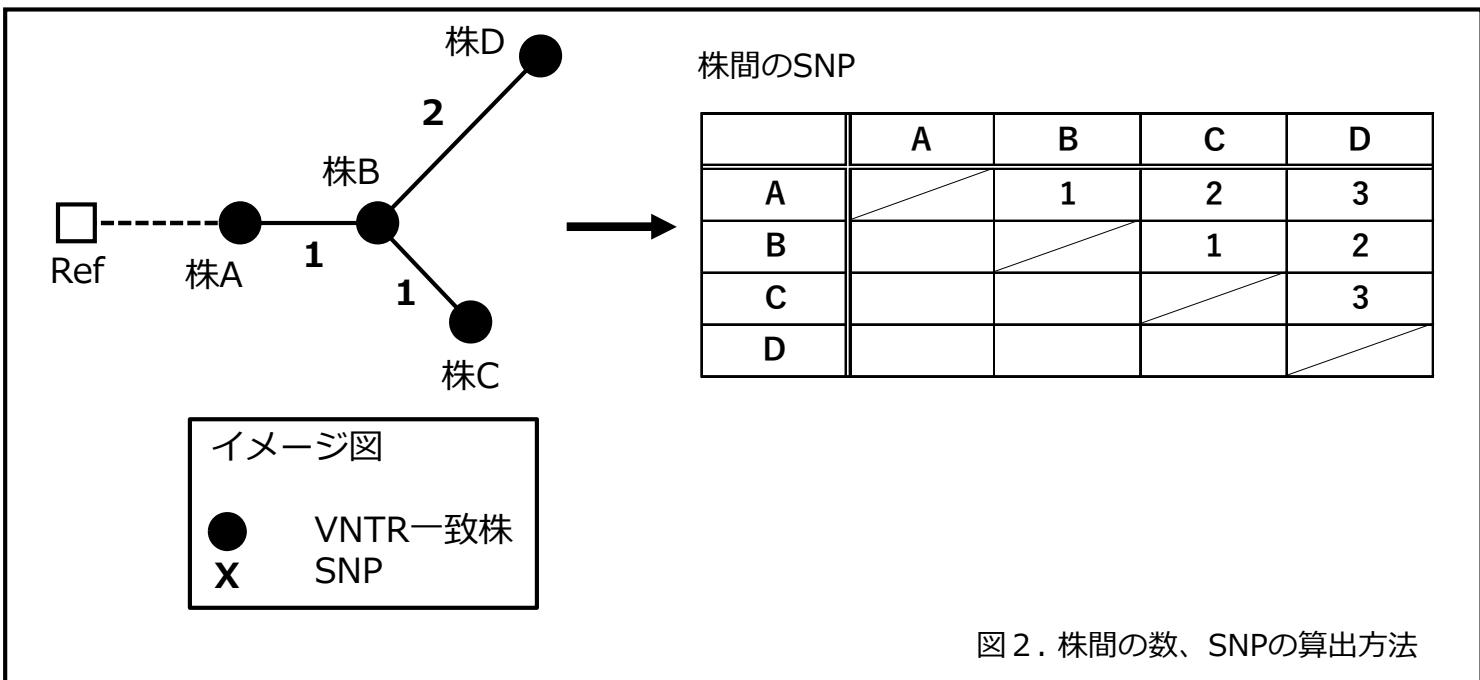
5) 児玉洋江. 日本臨床微生物学会雑誌. 2021, vol.31, no.1, 27-32. 6) 越勝男. 岐阜県保健環境研究所報. 2019, vol.27, 28-32.

7) Iwamoto T, et al., J. Clin. Microbiol., 2009, 47, 3340-3343.

### 3. ゲノム解析を用いた分子疫学調査

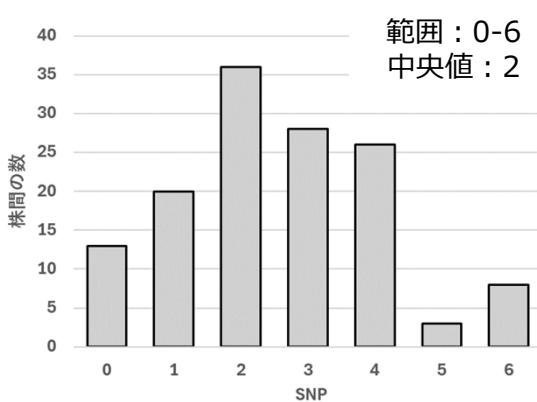
- ・JATA(18)-VNTRが複数分離株（3株以上）で一致した事例の株（2012～2025年に分離された77株）についてゲノムを解析し、得られたゲノム配列データをもとに、ゲノム比較解析を実施した。
- ・ハプロタイプネットワーク図をもとに、図2の例にあるように、株間の数、SNPを算出した。図2の場合は、株間の数が6、株間のSNPが1, 1, 2, 2, 3, 3となる。

※SNP（一塩基多型）：染色体ゲノム塩基配列中の異なる塩基の数



- ・JATA(18)-VNTRが一致しており、疫学的関連が認められた7事例（32株、134ペア）について、SNPの分布を示す（図3(a)）。その結果、7事例内の株間において、SNPが0～6であった。SNP5以上は、いずれも宮古保健所管内施設集団事例における株間で見られた。また、JATA(18)-VNTRが一致しているが、症例間の関連性が認められなかった15事例（45株、65ペア）についても、SNPの分布を示す（図3(b)）。症例間の関連性が認められなかった株間のSNPは中央値10であったが、SNP6以下のが29ペア、認められた。

(a) 疫学的関連が認められた事例



(b) 症例間の関連性が認められなかった事例

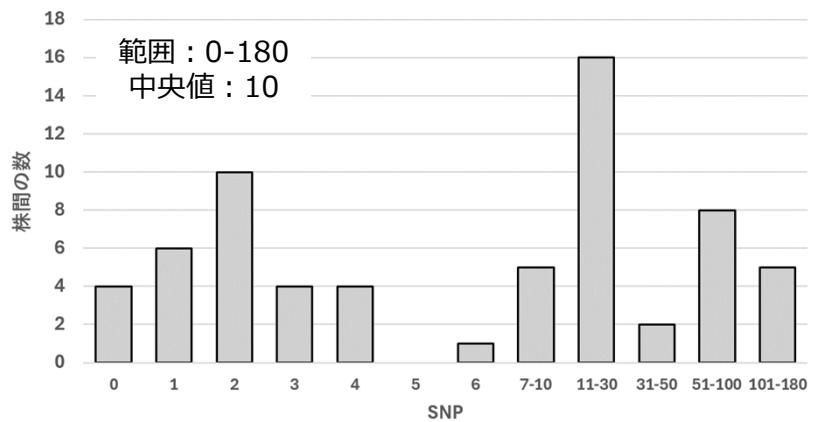


図3. (a) 疫学的関連が認められた7事例（32株、134ペア）におけるSNPの分布  
(b) 症例間の関連性が認められなかった15事例（45株、65ペア）におけるSNPの分布

#### <ゲノム解析条件>

- ・使用機器：iSeq 100, NovaSeq X Plus (Illumina)
- ・DNA抽出：QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN)
- ・ライブラリ調整：QIASeq FX DNA Library UDI Kit (QIAGEN)
- ・データ解析：MTBseq ([https://github.com/ngs-fzb/MTBseq\\_source](https://github.com/ngs-fzb/MTBseq_source))

- ・JATA(18)-VNTRが一致し、症例間の関連性が認められなかった事例について、ゲノム比較解析を実施した（図4）。
- ・診断が同一年の症例由来株の比較では、80% (8/10) が6SNP以内の差しか認められず、感染源になんらかの共通項があることが示唆された。診断が1年離れた症例由来株の場合には、SNP6以内のペアは53% (8/15) と低下し、2年以上の期間が離れた症例では32.5% (13/40) であった。1年以内にVNTRが一致した症例については、なんらかの関連性を示唆している可能性がある。

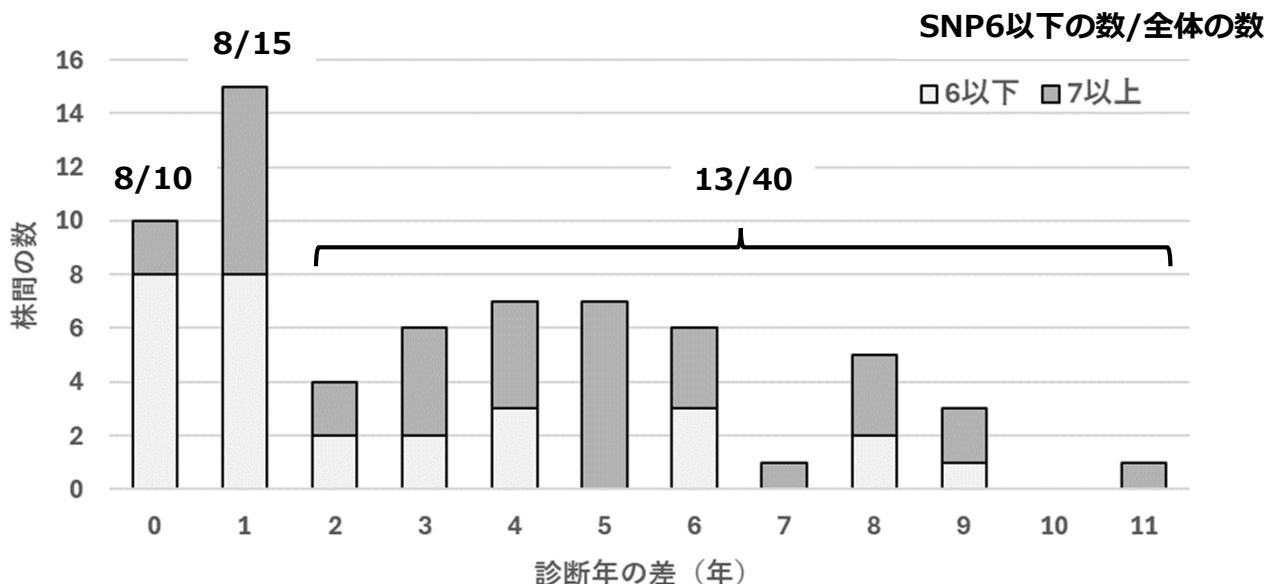
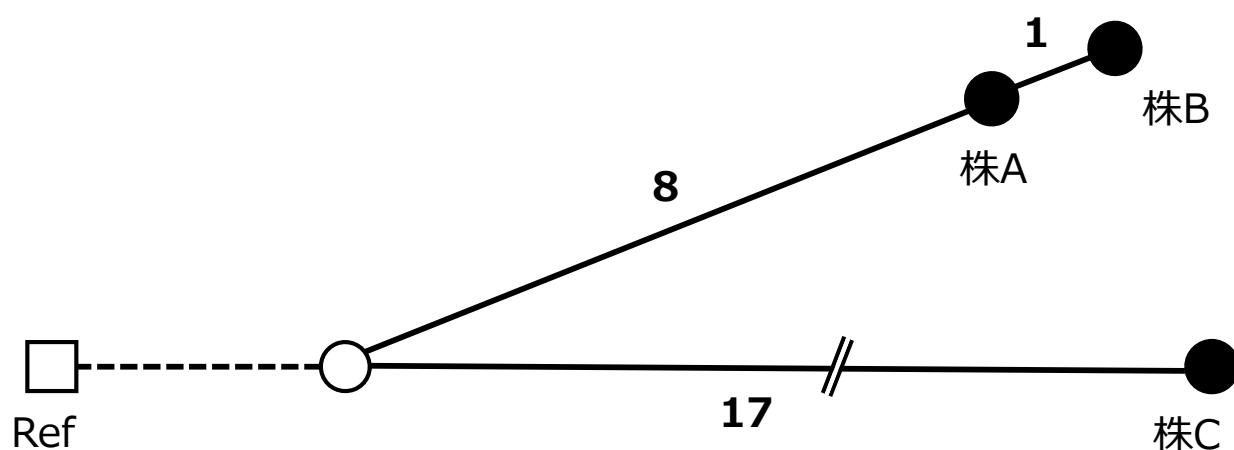


図4. JATA(18)-VNTRが一致しているが、症例間の関連性が認められなかった事例における診断年の差ごとのSNPの分布

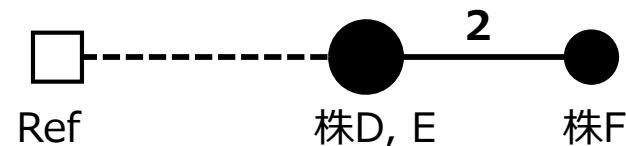
- ・JATA(18)-VNTRが一致したものの、症例間の関連性が認められなかった事例のハプロタイプネットワーク図を示す（図5）。
- ・株AとBの診断年はともに2013年であり、SNPは1である。管轄保健所は異なっているが、患者間の疫学的ななんらかの関連性を示唆している可能性がある。
- ・株A, Bと株Cの診断年の差は5年であり、SNPは25以上離れている。JATA(18)-VNTRは一致したが、ゲノム配列比較から、患者間の疫学的な関連性がみられない可能性が高いと考えられた。



| 株No. | 管轄保健所 | 診断年  | 疫学的関連 |
|------|-------|------|-------|
| 株A   | 保健所A  | 2013 | 不明    |
| 株B   | 保健所B  | 2013 | 不明    |
| 株C   | 保健所B  | 2018 | 不明    |

図5. ハプロタイプネットワーク図  
Ref: ゲノムリファレンス株 (H37Rv)

- ・JATA(18)-VNTRが一致し、疫学的関連が認められた株と症例間の関連性が認められなかつた株の両方が含まれている事例のハプロタイプネットワーク図を示す（図6）。
- ・株Dと株Eは、保健所の疫学調査によって疫学的関連があることがわかつており、ゲノム配列比較でもSNPは存在せず同一であった。
- ・株D, Eと株Fは、診断年の差が2年であったが、SNPが2であった。このように、診断年が同一の症例でなくとも、例外的にSNPが少なく患者間の疫学的な関連性が示唆される場合もあった。



| 株No. | 管轄保健所 | 診断年  | 疫学的関連   |
|------|-------|------|---------|
| 株D   | 保健所B  | 2017 | 株Eと関連あり |
| 株E   | 保健所C  | 2017 | 株Dと関連あり |
| 株F   | 保健所B  | 2019 | 不明      |

図6. ハプロタイプネットワーク図  
Ref : ゲノムリファレンス株 (H37Rv)

- ・これまでに当所でゲノム解析を実施した184株について、遺伝系統を調べた（表3）。
- （集団事例、VNTR一致例を先行して解析したため、バイアスがかかっている）
- ・今後、ゲノム解析からの系統分類を詳細に検討し、他自治体とのゲノム比較解析等を実施したい。

### 北京型（143株）

| Lineage   | Sub-lineage | 株数               | 祖先型 or 新興型 |
|-----------|-------------|------------------|------------|
| Lineage 2 | 2.1         | proto-Beijing    | 1          |
|           | 2.2.1       | -                | 35         |
|           | 2.2.1       | Asia Ancestral 2 | 25         |
|           | 2.2.1       | Asia Ancestral 3 | 61         |
|           | 2.2.1       | Asian/Africa 2   | 7          |
|           | 2.2.1.1     | Pacific RD150    | 9          |
|           | 2.2.2       | Asia Ancestral 1 | 5          |

### 非北京型（41株）

| Lineage   | 株数 |
|-----------|----|
| Lineage 1 | 8  |
| Lineage 3 | 2  |
| Lineage 4 | 31 |

表3. 遺伝系統分類（184株）