

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 (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¹⁾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^{2)～6)}（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⁷⁾、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⁷⁾。

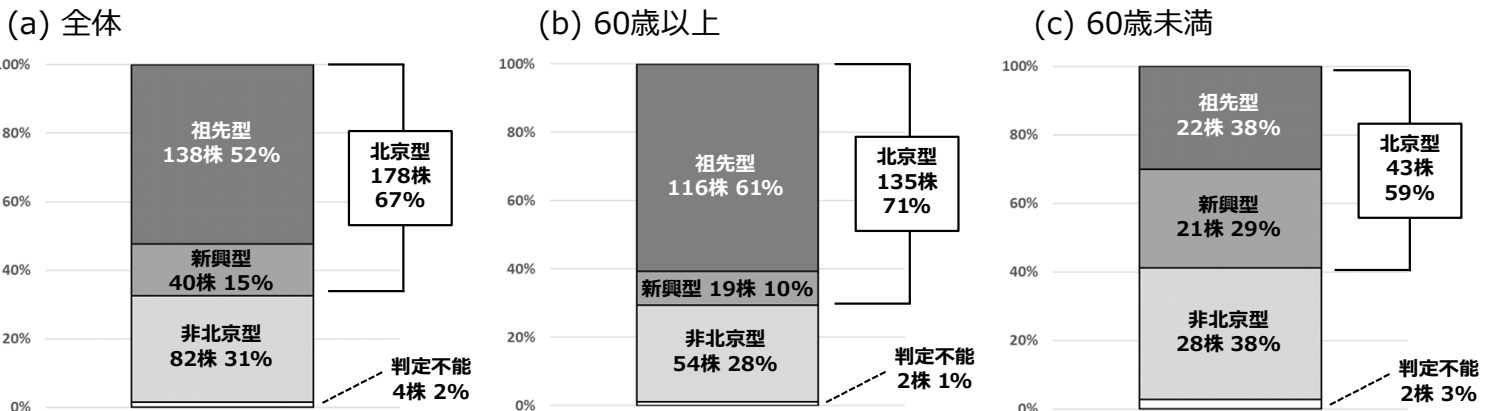


図1. 系統解析 (a) 全体（計264株）、(b) 60歳以上（計191株）、(c) 60歳未満（計73株）

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 ³⁾	2012～2015	143	71.4%	10.5%	81.9%	23.8%
山形 ⁴⁾	2009～2015	494	56.5%	15.2%	71.7%	28.3%
石川 ⁵⁾	2016～2018年度	170	60.0%	10.6%	70.6%	26.5%
岐阜 ⁶⁾	2014～2018年度	397	57.2%	11.3%	68.5%	31.5%

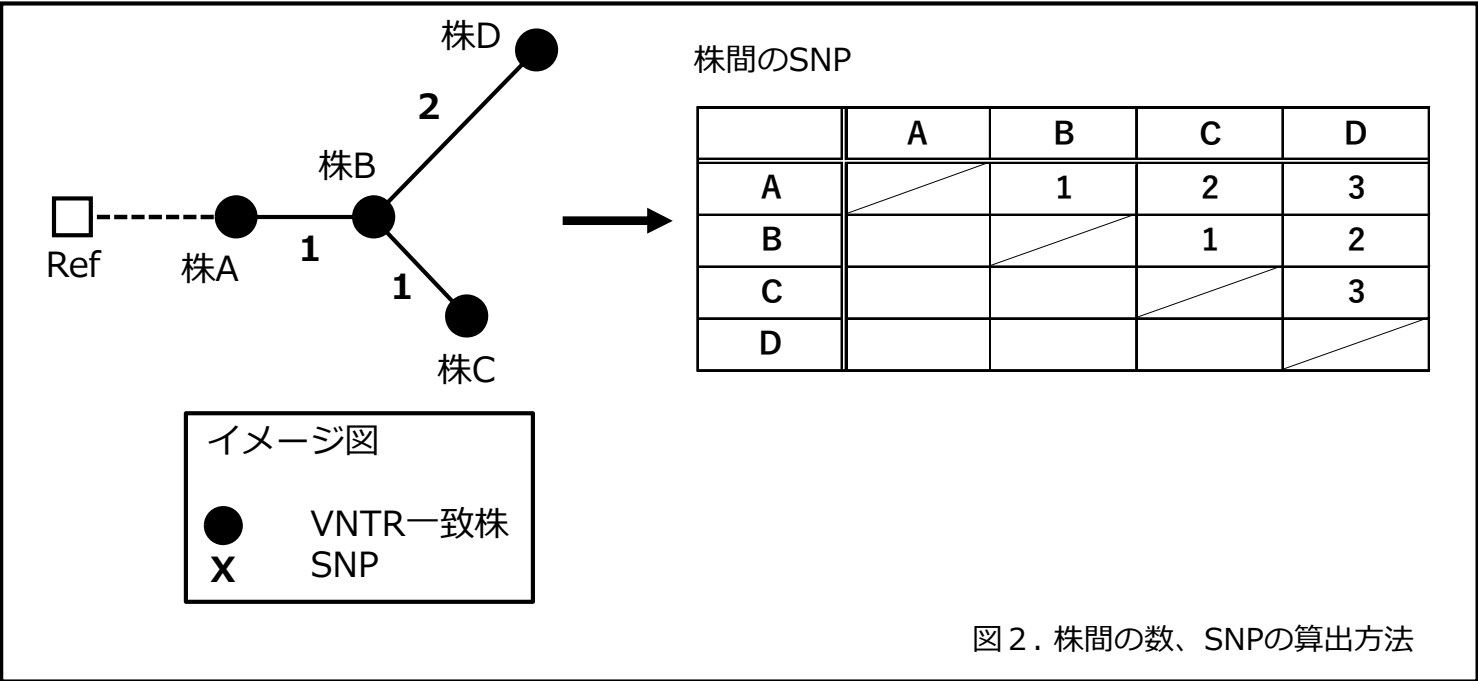
表2. 各都道府県（秋田県、山形県、石川県、岐阜県）における系統解析

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以下のものが29ペア、認められた。

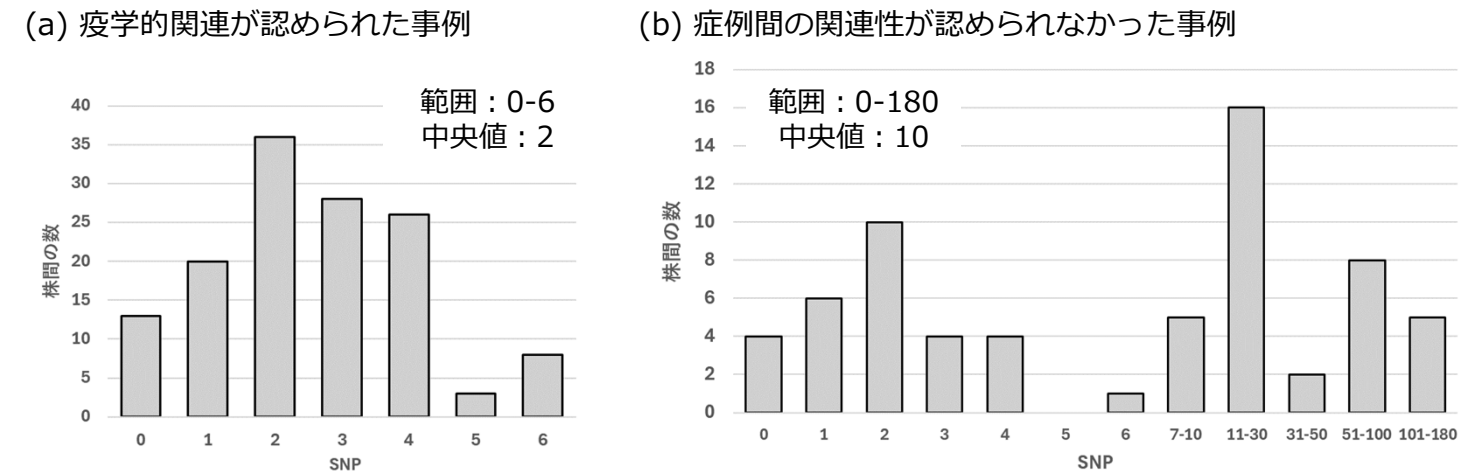


図3. (a) 疫学的関連が認められた7事例（32株、134ペア）におけるSNPの分布
(b) 症例間の関連性が認められなかった15事例（45株、65ペア）におけるSNPの分布

- <ゲノム解析条件>
- ・ 使用機器：iSeq 100, NovaSeq X Plus (Illumina)
 - ・ DNA抽出：QIAmp 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)

- ・ 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。

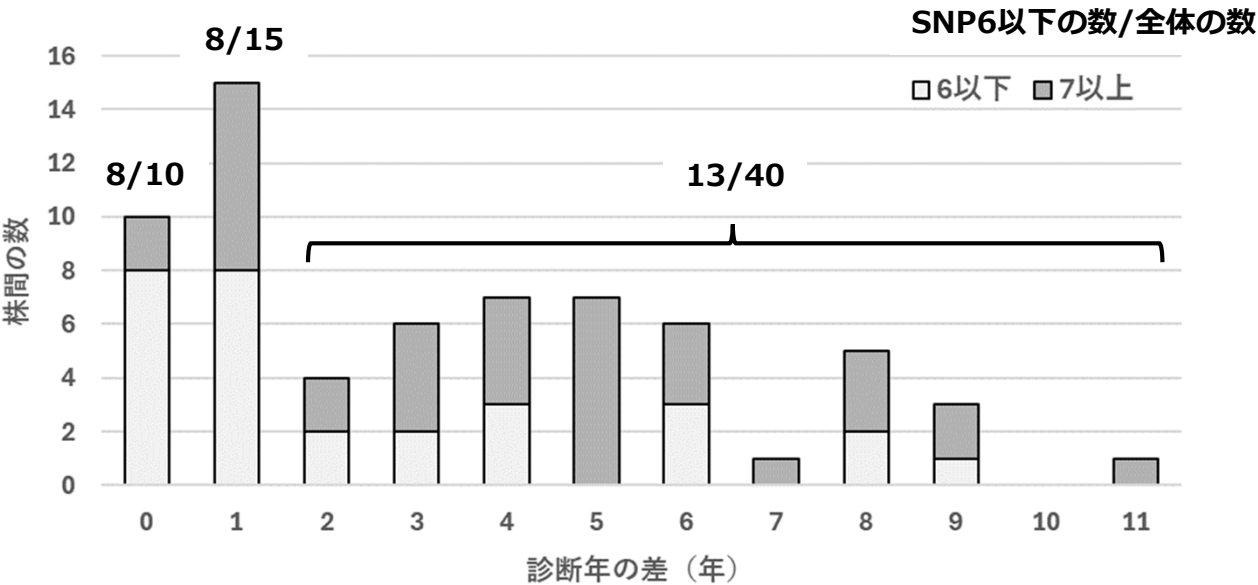
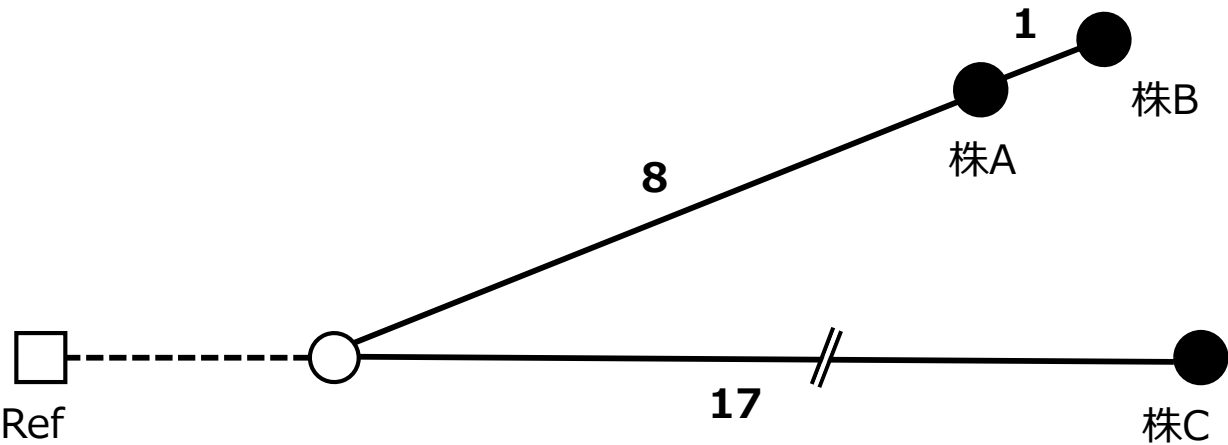


図4． JATA(18)-VNTRが一致しているが、症例間の関連性が認められなかった事例における診断年の差ごとのSNPの分布

- ・ 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っ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っており、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。

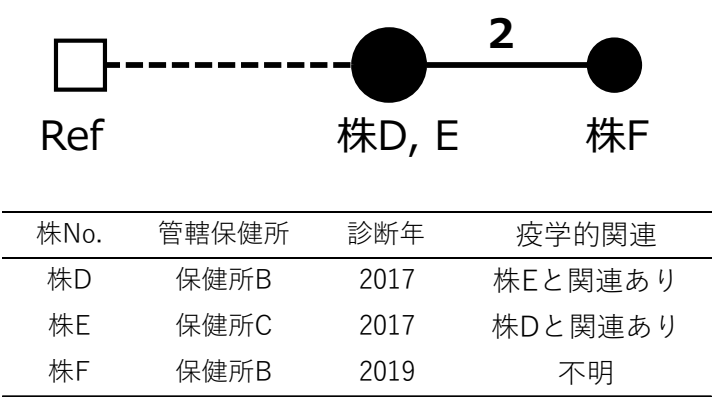


図 6．ハプロタイプネットワーク図
Ref：ゲノムリファレンス株（H37Rv）

- ・ 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	祖先型
	2.2.1	-	35	判定不能
	2.2.1	Asia Ancestral 2	25	祖先型
	2.2.1	Asia Ancestral 3	61	祖先型
	2.2.1	Asian/Africa 2	7	新興型
	2.2.1.1	Pacific RD150	9	新興型
	2.2.2	Asia Ancestral 1	5	祖先型

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）