

福島県で分離された結核菌の系統分類について

菅野奈美 富田望 菊地理慧 二本松久子 小黒祐子¹⁾ 吉田学²⁾
微生物課 ¹⁾ 前福島県衛生研究所 ²⁾ 県南保健福祉事務所

要 旨

2003年度から2014年度までに結核菌分子疫学調査で搬入された結核菌323株について北京株、非北京株の分類を実施した。北京株についてはancient型とmodern型の分類も実施した。結果は県内で分離された結核菌株の約8割が北京株であり、さらに北京株はancient型が8割であった。結核発症時に外国籍だった患者株、または過去に外国籍から日本国籍を取得した患者株では国籍によって分離される結核菌の系統が異なることが明らかとなり、日本での結核感染か、入国前感染による持ち込みなのかを推定する手助けになり得るものと思われた。

キーワード：結核菌、北京株・非北京株の分類、ancient型・modern型、外国籍

はじめに

結核菌の遺伝子型については世界規模で解析がなされ、東アジア地域に広く分布する系統のひとつが北京株と呼ばれている。また、日本で蔓延している結核菌の多くも北京株であり、結核菌全体の8割といわれている。

当所では2003年度から結核菌分子疫学調査を実施し、県内の医療機関等で分離・同定された結核菌株が搬入されている。今回、福島県内で分離された結核菌の系統を把握する目的で、北京株・非北京株の分類を実施したので報告する。

材 料

2003年度から2014年度までに医療機関等で分離された結核菌323株を用いた。

方 法

1 結核菌からのDNA抽出

DNAの抽出はバイオセーフティレベル3の施設内でクラスII B3のバイオセーフティキャビネットを使用して行った。菌株を滅菌蒸留水に懸濁後95℃10分の加熱処理にてDNAを抽出した。

2 結核菌の分類

北京株、非北京株の分類はWarrenらの方法¹⁾を用い(プライマーセット1, プライ

マーセット4使用)実施した。さらにWada²⁾らの方法を用いてancient型、modern型に型別した。

3 MST解析

分子疫学調査で実施しているJATA15-VNTRの解析結果と照合し、解析ソフトBioNumerics(Applied Math社)を用いてMinimum spanning tree(以下、“MST”とする)解析を実施した。

結果及び考察

結核菌株323株について北京株、非北京株の分類を実施したところ、247株(76.5%)が北京株であり、わが国で分離される結核菌全体の約8割が北京株である³⁾という日本の現状と同じであった。

北京株、非北京株の地域別分類について表1に示す。北京株の分離について、患者の地域別で見ると、県北は122株(78.7%)、県中は16株(76.2%)、県南は8株(72.7%)、会津は38株(67.9%)、南会津は3株(60.0%)、相双は32株(71.1%)、郡山市は7株(87.5%)、いわき市は21株(95.5%)であった。分離割合の地域差については、収集している結核菌株が県内で発生した集団感染対策を必要とする事例の菌株であることから、集団感染由来と思われる同一株の割合が結果

表1 北京株・非北京株の地域別分類

| 保健所 | 北京株 | | | 非北京株 | 総計 |
|------|---------|--------|-----|------|-----|
| | ancient | modern | 計 | | |
| 県北 | 98 | 24 | 122 | 33 | 155 |
| 県中 | 12 | 4 | 16 | 5 | 21 |
| 県南 | 7 | 1 | 8 | 3 | 11 |
| 会津 | 34 | 4 | 38 | 18 | 56 |
| 南会津 | 1 | 2 | 3 | 2 | 5 |
| 相双 | 24 | 8 | 32 | 13 | 45 |
| 郡山市 | 5 | 2 | 7 | 1 | 8 |
| いわき市 | 18 | 3 | 21 | 1 | 22 |
| 計 | 199 | 48 | 247 | 76 | 323 |

に影響したものと思われる。また、菌株数が少ない県南、南会津、郡山市については、今後の菌株の搬入動向によって大きく変動する可能性があるため、今後散発患者を含めた結核菌株を収集し、解析をすることでより正確な地域差を把握できるものと思われる。

北京株全体を ancient 型, modern 型に型別を実施したところ, ancient 型は 199 株 (80.6%), modern 型は 48 株 (19.4%) であった。南会津を除く 7 地域で 7 ~ 9 割以内で ancient 型が分離されていた。中国 (北京), 香港, 台湾等の東アジア地域で分離される北京株は modern 型が多く, 日本は ancient 型が多いという報告^{3, 4)}があり, 福島県も同様の結果となった。

男性患者由来および女性患者由来の結核菌株の結果を表 2 に示す。北京株の分離について男性患者由来株は 167 株 (79.9%), 女性患者由来株は 80 株 (70.2%) であった。ancient 型, modern 型の型別については, 男女共に ancient 型が 8 割であった。

表2 北京株・非北京株の患者性別分類

| 性別 | 北京株 | | 非北京株 | 総計 |
|----|---------|--------|------|-----|
| | ancient | modern | | |
| 男 | 133 | 34 | 42 | 209 |
| 女 | 66 | 14 | 34 | 114 |
| 計 | 199 | 48 | 76 | 323 |

年齢階級別の結核菌株の結果を表 3 および図 1 に示す。北京株の ancient 型と modern 型の分離について, 40 歳代以上の患者由来の modern 型が 2 割程度であるのに対し, 10 ~ 30 歳代の患者由来の modern 型は 3 割であった。格段に差があるわけではないものの, 分離される結核の系統が世代間でやや変化をみせているのではないかと推察する。modern 型は感染伝播力や発病率が高いとされる新興型であるため, 若年者層で modern 型が広がっていくことは結核対策上問題であり, 今後 modern 型の分離動向を注視する必要があると思われる。

結核発症時に外国籍だった患者株, または過去に外国籍から日本国籍を取得した患者株に焦点をおくと, フィリピン出身の患者由来株では 5 株中 5 株が非北京株, 中国出身の患者由来株では 5 株中 4 株が北京株, シンガポール出身の患者由来株の 1 株は北京株, ベトナム出身の患者由来株の 1 株は非北京株で

表3 北京株・非北京株の年齢階級別分類

| 年齢階級 | 北京株 | | 非北京株 | 総計 |
|-------|---------|--------|------|-----|
| | ancient | modern | | |
| 10~19 | 4 | 2 | 1 | 7 |
| 20~29 | 15 | 7 | 10 | 32 |
| 30~39 | 14 | 6 | 10 | 30 |
| 40~49 | 29 | 6 | 5 | 40 |
| 50~59 | 34 | 6 | 5 | 45 |
| 60~69 | 17 | 3 | 10 | 30 |
| 70~79 | 32 | 9 | 16 | 57 |
| 80以上 | 54 | 9 | 19 | 82 |
| 計 | 199 | 48 | 76 | 323 |

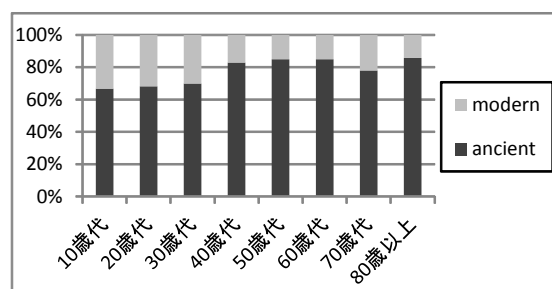


図1 ancient型・modern型の年齢階級別分類

あった。さらに ancient 型, modern 型の型別をした結果, 中国出身の患者由来株の北京株は 4 株中 3 株が modern 型であった。シンガポール出身の患者由来である 1 株も modern 型であった。

北京株・非北京株の結果と JATA15-VNTR の結果を照合し, MST 解析を実施した結果を図 2 に示す。フィリピン出身の患者由来株は県内で分離された他の非北京株と異なる clonal complex を形成した。結核菌分子疫学調査で実施している JATA15-VNTR の結果に加え, 結核菌の系統分類を実施し, 日本のみならず諸外国で分離されている結核菌の系統についても把握しておくことで, 日本での結核感染か, 入国前感染による持ち込みなのかを推定する手助けになり得るのではないかと考える。

引用文献

1) Robin M.Warren, Tomas C.Victor, et al. Patients with Active Tuberculosis often Have Different Strains in the Same Sputum Specimen. AMERICAN JOURNAL OF RESPIRATORY AND CRITICAL CARE MEDICINE 2004 ; 169 : 610-614.
 2) Takayuki Wada, Tomotada Iwamoto, Shinji Maeda. Genetic diversity of the Mycobacterium tuberculosis Beijing family in East Asia revealed through refined population structure analysis. Federation of European Microbiological Societies Microbiol Lett 291 (2009)35-43.

3) 岩本朋忠. 結核菌北京型ファミリーの集団遺伝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 2009 ; 84 : 755-759.
 4) 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 9/2009 No. 329

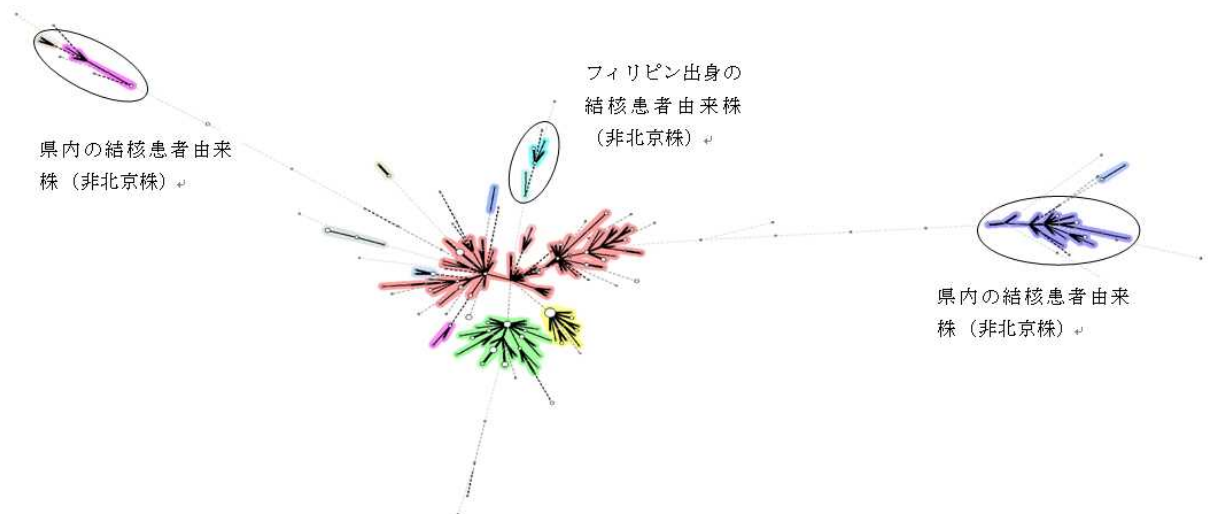


図2 北京株・非北京株のMST解析結果