

島根県における結核菌の Variable-Number of Tandem-Repeats (VNTR) の試験

結果(2018年度)

酒井智健・川瀬遵・福間藍子・村上佳子・小谷麻祐子・熱田純子

1. はじめに

当所では結核の感染源や感染経路の究明を行うため、2012年度から「島根県結核菌分子疫学調査事業実施要領」に基づき、Variable Number of Tandem Repeats 法(以下VNTR 法)による結核菌分子疫学解析を実施している。2018年度の要領改訂により島根県内で登録された結核患者のうち、結核菌が分離された全ての患者が調査対象者となり、島根県内の結核菌遺伝子タイピング情報のデータベース構築が可能となった。2018年度に当所で行ったVNTR 検査の結果について報告する。

2. 検体および方法

2.1 検体

検体は保健所から依頼のあった34株を対象とした。小川培地またはMGIT液体培地に培養された結核菌からDNAを熱抽出(95°C10分)したものを使用した。

2.2 検査方法

VNTR 法分析は前田らの方法¹⁾に従い、JATA(12)-VNTR 分析法の12領域(Mtub04、MIRU10、Mtub21、Mtub24、QUB11b、VNTR2372、MIRU26、QUB15、MIRU31、QUB3336、QUB26、QUB4156)で分析し、必要に応じてJATA(15)3領域(QUB-18、QUB-11a、ETR-A)、超可変(hypervariable、HV)3領域(QUB-3232、VNTR3820、VNTR4120)、国際比較6領域(Mtub39、MIRU40、MIRU04、Mtub30、MIRU16、ETR-C)を分析した。

2.3 系統分類解析

瀬戸らの報告²⁾に従いVNTR パターンデータから非北京型株、祖先型北京型株(ST11/26、STK、ST3、ST25/19)、新興型北京型株に系統分類を推定した。

3. 結果

3.1 VNTR 反復数

検査した菌株のうち、解析した12領域で反復数が完全に一致あるいは一領域違いであったものは、No. 18-4とNo. 18-7、No. 18-6とNo. 18-15、No. 18-13とNo. 18-34、No. 18-30とNo. 18-31の4組8株であり、そのうち24領域で反復数が完全に一致したものは、No. 18-4とNo. 18-7、No. 18-30とNo. 18-31の2組4株であった(表1)。

また、和田らが報告している多発性大規模感染株(putative expanding cluster types, pECTs)³⁾と24領域で反復数が完全に一致あるいは一領域違いのものはなかった。

3.2 系統分類

VNTR パターンによる系統推定の結果については、祖先型北京株が18株(52.9%)、非北京株が11株(32.4%)、新興型北京株が5株(14.7%)であった。また祖先型北京株の内訳は、図1のとおりでありST3、ST25/19、ST11/26とSTKの順に多く分離された。

4. 考察

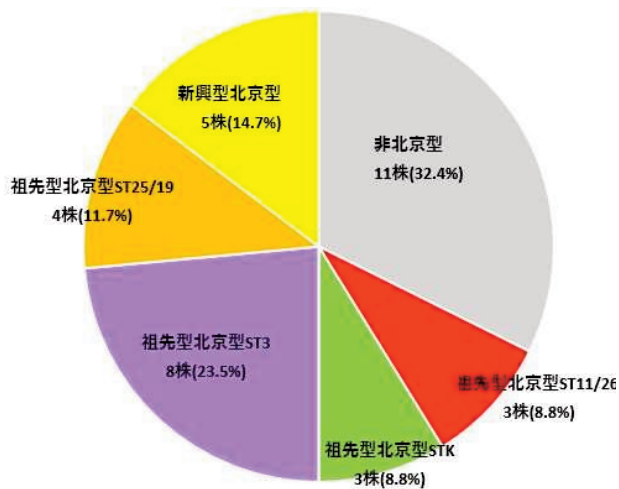
今回、24領域で反復数が完全に一致したNo. 18-4とNo. 18-7の例は集団感染事例であった。また、No. 18-30とNo. 18-31は同じ保健所管内の患者由来株であり、No. 18-31は2016年に分離された菌株であった。両者は同じ職場に勤めていたが、2016年のQFT検査ではNo. 18-30の患者は陰性であり、感染初期であった可能性も考えられた⁵⁾。

今年度はpECTsと同一型の菌株は分離されなかったが、pECT07は首都圏で分離されるストレプトマイシン(SM)耐性菌であるいわゆるM株と呼ばれる菌と同一型であることから³⁾⁶⁾、今後も監視が必要である。

系統解析では北京型の割合が67.6%であり、瀬戸らが報告している全国平均75.1%²⁾と比べて若干低い割合になった。岩本らの報告⁴⁾では、北京型の割合は全国で73.8%、千葉県で80.4%、大阪市で80.4%、神戸市で78.5%、岡山県で72.5%、沖縄県で71.3%となっている。廣地らは、結核罹患率の低い地域は北京型株の割合も若干低いことを報告しており⁷⁾、結核罹患率の低い札幌市では71.6%、広島市が68%⁸⁾と若干低い値となっている。島根県の結核罹患率は年々減少傾向にあり平成29年是对10万人で10.7と全国的には低い地域であることから、今回の結果は廣地らの報告と合致する結果と思われる。

表1 VNTR反復数の一致した菌株とその数値

| 菌株 | Mtub04 | MIRU10 | Mtub21 | Mtub24 | QUB11b | V2372 | MIRU26 | QUB15 | MIRU31 | QUB3336 | QUB26 | QUB4156 |
|-------|--------|--------|--------|---------|--------|-------|--------|--------|--------|---------|--------|---------|
| 18-4 | 3 | 2 | 2 | 4 | 3 | 2 | 5 | 4 | 3 | 11 | 7 | 2 |
| 18-7 | 3 | 2 | 2 | 4 | 3 | 2 | 5 | 4 | 3 | 11 | 7 | 2 |
| 18-30 | 4 | 1 | 3 | 2 | 6 | 5 | 7 | 4 | 5 | 7 | 8 | 5 |
| 18-31 | 4 | 1 | 3 | 2 | 6 | 5 | 7 | 4 | 5 | 7 | 8 | 5 |
| | QUB18 | QUB11a | ETR-A | QUB3232 | V3820 | V4120 | Mtub39 | MIRU40 | MIRU04 | Mtub30 | MIRU16 | ETR-C |
| 18-4 | 5 | 5 | 3 | 9 | 5 | 4 | 3 | 4 | 2 | 2 | 2 | 4 |
| 18-7 | 5 | 5 | 3 | 9 | 5 | 4 | 3 | 4 | 2 | 2 | 2 | 4 |
| 18-30 | 10 | 7 | 4 | 15 | 14 | 12 | 3 | 3 | 2 | 4 | 3 | 4 |
| 18-31 | 10 | 7 | 4 | 15 | 14 | 12 | 3 | 3 | 2 | 4 | 3 | 4 |



8)青田達明 他：広島市の結核患者由来菌のVNTR遺伝子型別.広島市衛研年報. 2016 ; 35 : 48～51

図1 2018年分離株系統分類解析結果

- 1) 前田伸司 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-JATA(12)-VNTR 分析法の実際, 結核, 83(10), 673～678(2008)
- 2) Seto J et al.: Phylogenetic assignment of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing clinical isolates in Japan by maximum a posteriori estimation , Infect Genet Evol, 35, 82～88(2015)
- 3) 和田崇之 他：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—大阪市の例, 結核, 85(12), 845～852(2010)
- 4) 岩本朋忠：結核菌分子疫学研究の将来展望. 第84回総会ミニシンポジウム「結核菌分子疫学の展望」. 結核. 2009 ; 84 : 789～791
- 5) 原田登之：種々の接触者健診におけるQFT結果と解釈について, 結核, 85(7), 845～852(2010)
- 6) 大角晃弘 他：首都圏における. ストレプトマイシン耐性結核菌M株の伝播状況. 結核. 2009 ; 84 : 388
- 7) 廣地敬 他：札幌市における結核菌北京型株について. 札幌市衛研年報. 2011 ; 38 : 61～63.