

平成21年度厚生労働科学研究費補助金
食品の安心・安全確保推進研究事業

分担研究報告書

8. 赤痢菌分離株の分子疫学的解析に関する研究

研究分担者 泉谷秀昌

研究課題名： 輸入食品の食中毒菌モニタリングプラン策定手法に関する研究

分担研究課題： 赤痢菌分離株の分子疫学的解析に関する研究

分担研究者 泉谷秀昌（国立感染症研究所 細菌第一部 第二室 室長）

研究要旨

細菌性赤痢は、赤痢菌 (*Shigella* spp.) によって生じる経口感染症であり、本菌に汚染された食品や水を介してヒトに感染する。細菌性赤痢は、感染症法において三類感染症に含まれ、確定例および無症状保菌者等の届出が義務付けられている。感染症発生動向調査によれば細菌性赤痢の発生数は年間 600 名前後を推移している。その推定感染地は海外が大半を占める一方で、近年の集団事例（2001 年輸入カキ、2004 年ハワイ便機内食、2008 年輸入イカ）などでは輸入食品も感染源の重要な位置を占めることが示唆されている。また、細菌性赤痢の国内例に関しては、そのほとんどが散发例であり、原因究明にいたることはほとんどない。こうした国内例の原因究明にあたり、輸入例、国内例に限らず現在の流行菌型を把握することは非常に重要であると考えられる。本研究では主として赤痢菌分離株に着目しこれらの特徴づけを行うべく、赤痢菌の分子疫学的解析を行った。

A. 研究目的

細菌性赤痢は赤痢菌に汚染された食品や水を介して感染する。

最近の我が国における細菌性赤痢患者の発生数は年間 600 名前後を推移している。その大半は海外輸入例である。また、近年発生した集団事例では海外からの食品の関連が示唆されることもある。一方で、国内例は散发例がほとんどであることもあってか、原因究明にいたることはほとんどないのが現状である。そこで本研究では、国内例および輸入例の赤痢菌分離株を材料に型別を行い、流行菌株を特徴づけ、そのデータバンクの構築を行う。さらに、国内例のデータと比較し、型別結果と疫学情報のつきあわせを積み重ねることで、型別法が原因究明に対して有用であるか否かを検討する。

B. 研究方法

2009 年までに国立感染症研究所細菌第一部に送付された赤痢菌分離株を供試菌株とした。

型別の方法としては、パルスフィールドゲル電

気泳動法 (pulsed-field gel electrophoresis; PFGE)、もしくは複数遺伝子座を用いた反復配列多型解析 (multilocus variable-number tandem-repeat analysis; MLVA) を使用した。得られたデータを Bionumerics ソフトウェアに取り込み、データベースの構築、並びに解析を行った。

C. 研究結果

Shigella sonnei 分離株約 500 株分について既報の MLVA 遺伝子座から 7 箇所選んで MLVA を実施した。結果を Genemapper ソフトにて解析し、各遺伝子座のリピート数を算出し、Bionumerics に入力した。Bionumerics 上では最小全域木 (minimal spanning tree; MST) によるクラスター解析を行った。

クラスター解析の全体像を図 1 に示す。左上部および中央左に多く集まる赤い丸はインドなど南アジアに渡航歴のある患者由来株であり、中央部に多く集まる青い丸はインドネシアなど東南アジアに渡航歴のある患者に由来する。

図1で番号(MST-group#)の振ってある箇所は、主だった集団事例、並びに2007-2009年の株の中でMST上で集積の見られた株の場所を示す。2007年以後の事例に関しての詳細は表1に示すとおりである。

図1で1遺伝子座のみが異なる遺伝子型(single locus variant; SLV)については丸を結ぶ線が太くしてある。

図1に示すように、関連の明らかな集団事例もしくは海外ツアーの事例においては、ほとんどが事例ごとに単一の遺伝子型か、もしくはそのSLVであることが明らかとなった。

MST-gr#4では散発事例の株が他県の集団事例株のSLVであった。また、MST-gr#20では、2007-2008年に4県で発生した散発事例が同じ遺伝子型もしくはそのSLVであった。こうした結果は、共通の汚染源の存在を疑わせたものの、有力な疫学情報を得ることはできなかった。

MST-gr#14のように、集団事例株が異なる時期の輸入例の株とSLVの関係になることもあったが、このような事例は全体としては稀であった。

(なお、MST-gr#14では集団事例株と輸入例の薬剤耐性パターンが異なっていた。)

以上の結果から、*S. sonnei*分離株に関し、MLVAで解析することによって、国内集団事例、海外ツアー事例等の関連のある分離株についてクラスターをつくることがわかり、今後の疫学解析の一助になることが示唆された。また、菌株の解析から国内散発事例の中にクラスターを作るものもあることがわかり、今後もサーベイランスを続ける必要があると考えられた。

D. 結論

近年発生する海外渡航歴のない細菌性赤痢の感染源はほとんど不明のままである。本研究から、赤痢菌、特に*S. sonnei*株についてMLVAを用いることで事例ごとの集積を見ることができ、菌株の解析から疫学上の関連性が示唆されることが期待される。今後、これらの情報を活かしながら疫学調査を進めることで、原因究明の一助になる

ことが期待される。

E. 研究発表

H. Izumiya, Y. Tada, K. Ito, T. Morita-Ishihara, M. Ohnishi, J. Terajima, and H. Watanabe: Characterization of *Shigella sonnei* isolates from travel-associated cases in Japan. *J. Med. Microbiol.* 58 (11), 1486-1491, 2009.

F. 知的所有権取得状況

1 特許取得

なし

2 実用新案

なし

3 その他

なし

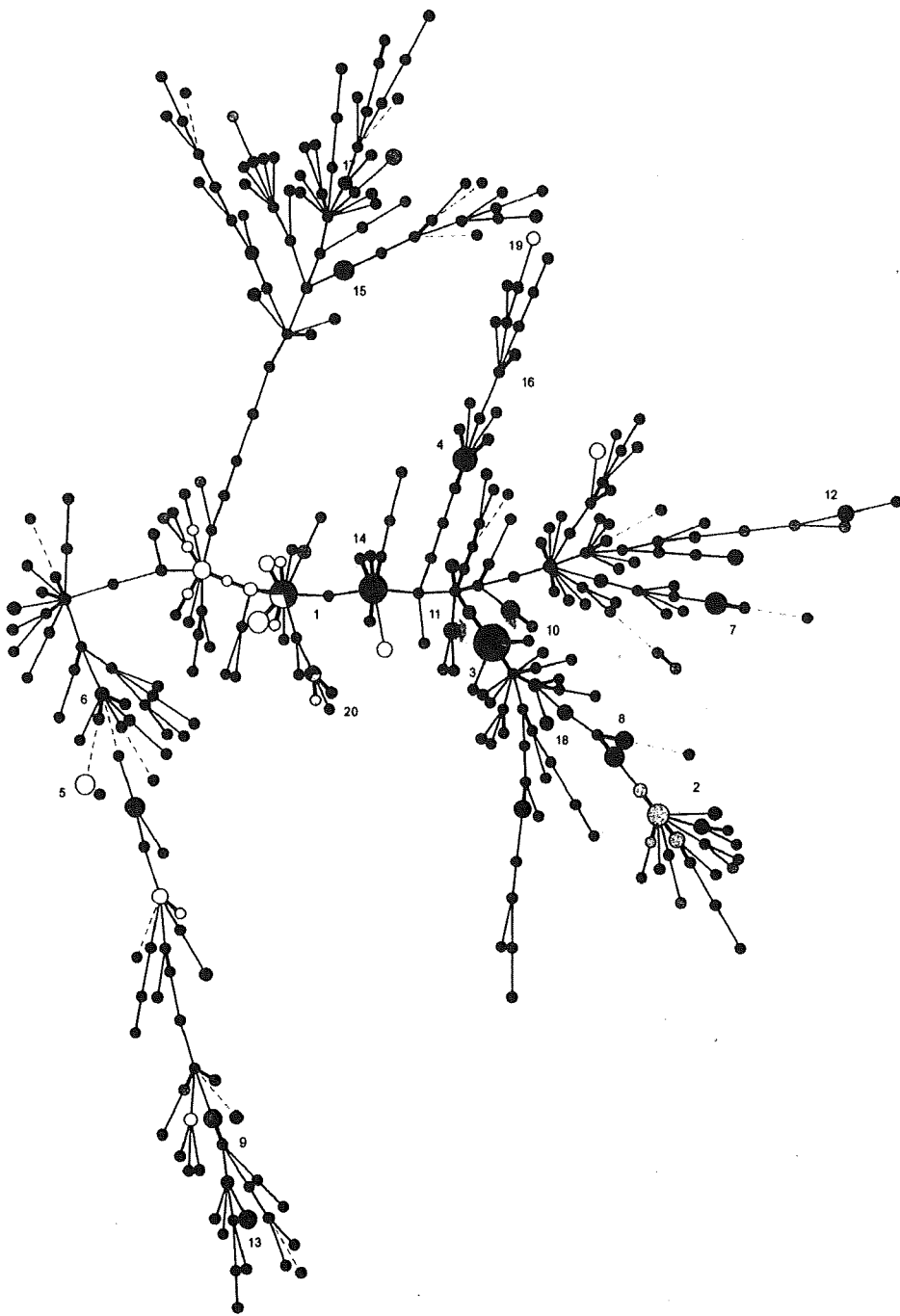


図 1. *Shigella sonnei* 分離株 MLVA の結果に基づく最小全域木。MST-group(gr)#1-20 ; 1, 輸入カキ (2001) ; 2, 機内食 (2004) ; 3, 輸入イカ (2008) ; 4, 保育園+散发例 (2008) ; 5, 保育園 (2009) ; 6, 施設 (2007) ; 7, バリ島 (2009) ; 8, エジプト (2008) ; 9, 散发集積 (2007) ; 10, 国内集団 (2000) ; 11, 国内集団 (2003) ; 12, 国内集団 (2004) ; 13, 国内集団 (2007) ; 14, 国内集団 (2007) ; 15, ネパール (2008) ; 16, 中国 (2008) ; 17, インド (2009) ; 18, エジプト (2009) ; 19, 国内集団 (2009) ; 20, 散发集積 (2007, 2008)。

表 1. *S. sonnei* 分離株の MST 上での集積事例（上段、国内例；下段、輸入例）

MST-gr#	事例	n	時期	変異	備考	
14	保育園集 団	12	Jul-07	SLV	2002 年中国、2005 年 カンボジア	
6	施設集団	5	Aug-07	DLV	2004 年インド	
20	散発集積	5	Aug-07	Nov-08	SLV	4 県
9	散発集積	5	Oct-07	SLV		
3	飲食店集 団	21	Aug-08	SLV	輸入イカ疑い	
4	保育園集 団+散発	11	Nov-08	Oct-08	SLV	2 県
5	保育園集 団	5	Mar-09	none		

MST-gr#	渡航先	n	時期	変異	備考
16	中国	2	Jul-08	SLV	
8	エジプト	9	Oct-08	SLV	2007 年エジプト
15	ネパール	5	Dec-08	none	
7	バリ島	7	Feb-09	SLV	
17	インド	2	Mar-09	none	

