



# 日本獣医師会学会関係情報



日本産業動物獣医学会・日本小動物獣医学会・日本獣医公衆衛生学会

----- 日本獣医師会学会からのお知らせ -----

## 令和元年度 日本獣医師会獣医学術学会年次大会 地区学会長賞受賞講演（関東・東京地区選出演題）

### [日本産業動物獣医学会]

#### 産地区—4

### C/Dモザイク毒素が検出された牛ボツリヌス症

岡本みさき<sup>1)</sup>，橘 美奈子<sup>1)</sup>，松本敦子<sup>1)</sup>，千葉耕司<sup>2)</sup>，今関智恵<sup>3)</sup>，渡辺哲也<sup>4)</sup>

1) 千葉県中央家畜保健衛生所，2) 千葉県夷隅農業事務所，  
3) 千葉県安房健康福祉センター，4) ちばNOSAI連組合

#### はじめに

家畜のボツリヌス症は、*Clostridium botulinum* (Cb)のうち、C型又はC/Dモザイク（以下C/D型）毒素を産生するC型菌、およびD型又はD/Cモザイク（以下D/C型）毒素を産生するD型菌が原因とされている。近年の国内における牛ボツリヌス症では、1990年代のC型菌由来毒素検出2例を除き、D/C型毒素が単独もしくはD型及びD/C型のD型菌由来毒素が検出されている。今回、起立不能牛からD型及びC/D型のボツリヌス毒素を検出し、牛ボツリヌス症と診断したので、その概要を報告する。

#### 材料及び方法

1. **発生状況**：平成29年11月以降、搾乳牛80頭を飼養するフリーストールの一農場で起立不能後に死亡又は廃用となる成牛が増加、平成30年2月に起立不能牛1頭の病性鑑定を実施した。
2. **材料**：33カ月齢のホルスタイン雌（生体）1頭の第一胃、小腸、結腸および直腸内容物、農場内で発見された死亡カラスの腸内容（3羽プール）、農場内に落下していたカラスの糞および環境材料9検体（牛舎内の泥、飼料（2例）、敷料、水槽（2か所）、ウォーターカップ、バケツの水、複数頭の同居牛の糞便プール）を用いた。
3. **方法**：「C型及びD型ボツリヌス症診断プロトコール」に準じ、上記材料又は培養物を用いて、毒素の検

出、PCR法による毒素遺伝子の型別および中和試験を実施した。

#### 結 果

鑑定畜の第一胃内容の増菌培養物からD型およびC/D型毒素が検出された。また、環境材料については、カラス腸内容、及びカラス糞の増菌培養物からC/D型毒素が検出された。その他有意な病原体は検出されなかった。これらの結果に加え、病性鑑定後、飼養牛全頭に診断予防的にボツリヌスワクチンを接種したところ発生が終息したことから、本症例を牛ボツリヌス症と診断した。

#### 考 察

本症例では給与飼料や土壌から毒素やCbは検出されず、発生時に牛舎への侵入増加が認められたカラスの腸内容や糞からのみC/D型毒素が検出された。C/D型毒素産生菌による牛のボツリヌス症は実験的には証明されていないが、発生状況及び検査結果を総合すると、本症例はカラスにより場内に持ち込まれたC/D型毒素産生菌が牛での発生に関与した可能性は否定できない。これまで発症牛からのC/D型毒素の検出報告も、D型とC/D型の異型菌由来毒素が同時に検出されたという報告もなく、本症例が国内初の報告である。今後は牛のC/D型毒素感受性の解明と、健康牛および発症牛やカラスの毒素保有状況調査が必要と考える。

## 次世代シーケンサーを用いた豚腸内細菌叢の 16S rRNA メタゲノム解析

藤井勇紀, 鹿島悠幹, 都筑智子, 川上純子, 大内義尚

茨城県県北家畜保健衛生所

### はじめに

次世代シーケンサーの登場により, 16S rRNA メタゲノム解析による腸内細菌叢の把握が可能となったが, 国内の野外豚における腸内細菌叢データの報告は少ない. 今回, 管内の複数養豚場の健康豚糞便, および大腸菌症発症豚の糞便を用いて, 豚腸内細菌叢の比較解析を実施したのでその概要を報告する.

### 材料および方法

管内養豚場の健康豚から, 離乳期 (40~60日齢), 肥育前期 (90~120日齢), 肥育後期 (150~180日齢), 繁殖母豚の4ステージの直腸便 (19農場349検体) と, 病性鑑定で採材した大腸菌症発症豚から, 直腸便 (21農場43検体) を供試した. DNA抽出後, 16S rRNA 遺伝子のV3-V4領域のPCR増幅を行い, ライブラリー調整を行った試料について, 次世代シーケンサーMiSeq (Illumina社) を用いて塩基配列を決定し, 腸内細菌叢構成について, ステージ間, 農場間, 農場内個体間, 大腸菌症の発症の有無での比較を行った. なお, 解析はCLC genomic workbench, Metagenome@kin (共にWF社) とBionumerics (インフォコム社), R (フリーソフト) を用いて実施し, ランダムサンプリングで各検体を15000リードに揃え, 細菌属の構成率の算出, 主座標分析, 階層型クラスタリング解析, 細菌種数カウント,  $\alpha$ 多様性解析を実施した.

### 成 績

1. ステージ間での比較: 主要細菌属の平均構成率は, 離乳期から繁殖母豚までの4ステージについて, *Prevotella* 属菌 (10.5%→5.2%→4.9%→0.9%) や *Lactobacillus* 属菌 (15.1%→13.9%→11.6%→3.7%) で減少し, *Clostridium* 属菌 (7.15%→12.1%→16.4%→26.7%) や, *Turicibacter* 属菌 (0.2%→0.5%→1.6%→8.2%) で増加するなど, ステージ間で差が見られた. 主座標分析, 階層型クラスタリング解析でも, ステージごとにクラスタリングされる傾向にあった. OTU数の平均値は離乳期→肥育→肥育後期→繁殖母豚の順に, 362.5→405.7→467.4→441.5であり, 離乳期から肥育後期にかけて増加し,

繁殖母豚では若干の減少が見られた. また大腸菌症発症豚での平均値は282.3であり, 健康豚4ステージよりも低値であった. Shannon Indexの値は, 5.71→5.83→6.08→5.53で, 離乳期から肥育後期にかけて増加し, 繁殖母豚では大きな減少が見られた. また大腸菌症発症豚での平均値は5.07であり, こちらも健康豚4ステージよりも低値であった.

2. 農場間・農場内個体間での比較: 主要細菌属の平均構成率は, いずれのステージにおいても農場間で異なり, 農場内個体間は類似していた. 主座標分析, 階層型クラスタリング解析では, 離乳期と肥育後期については, 農場間で別のクラスターに分かれたが, 繁殖母豚では農場間で類似していた.

3. 大腸菌症発症豚と健康豚の比較: 主要細菌属の平均構成率は, *Prevotella* 属菌が大腸菌症発症豚で1.4%, 離乳期健康豚で10.5%であり大きな差が見られた. *Escherichia* 属菌の平均構成率は大腸菌症発症豚で6.14%, 離乳期で0.55%, 肥育前期で0.17%, 肥育後期で0.04%, 繁殖母豚で0.25%であり, 大腸菌症発症豚で有意に高かった (U検定,  $P<0.01$ ). 主座標分析, 階層型クラスタリング解析では, 大腸菌症発症豚と離乳期健康豚がそれぞれ別のクラスターに分類された.

### 考 察

今回の結果から, 本県の健康豚の腸内細菌叢は, ステージ間, 農場間では異なり, 農場内個体間では類似することが示唆された. また,  $\alpha$ 多様性は肥育後期までは月齢とともに増加していくが, 繁殖母豚では低下するなど, 発育ステージによって腸内細菌構成は変化していくことが確認された. 大腸菌症を発症すると *Escherichia* 属菌が有意に増加し, その他の細菌属も構成率が大きく変化し,  $\alpha$ 多様性の低下も見られるなど, 疾病発症時にも菌叢パターンに変化があることを確認された. 今後はさらにデータを積み重ね, 健康豚の腸内細菌叢に影響を与える要因の解明と, 大腸菌症の発生状況, または抗菌剤の使用状況で農場を分類し, その菌叢パターンを比較することで, 疾病発症要因のある菌叢パターンや抗菌剤の腸内細菌叢への影響についても解明を行ってきたい.

[参考] 令和元年度 日本産業動物獣医学会 (関東・東京地区) 発表演題一覧

- |  |  |
|--|--|
| <p>1 子牛に対する吸入療法の効果の検討<br/>佐藤茉純 (千葉県農業共済組合連合会), 他<br/>北部家畜診療所</p> <p>2 離乳後より流涎を呈し予後不良と診断されたホルスタイン種子牛の一症例<br/>五島可祥 (千葉県農業共済組合連合会), 他<br/>北部家畜診療所</p> <p>3 頭部腫脹を呈する牛における生前臨床検査による早期予後診断の検討<br/>佐藤礼一郎 (麻布大学), 他</p> <p>4 ホルスタイン種子牛にみられた頸部心臓逸所症の1症例<br/>瀧口朝陽 (ひので酪農業協同組合)</p> <p>5 牛の乳頭における乳頭腫症へのペン型局所凍結治療器による局所凍結療法の効果<br/>鈴木太郎 (神奈川県農業共済組合家畜診療所), 他</p> <p>6 開腹手術時に発見された地方病性牛白血病 (EBL) の2例<br/>村尾光輝 (柿沼獣医科医院・埼玉県), 他</p> <p>7 肥育牛における地方病性牛白血病発症事例<br/>水谷直子 (山梨県東部家畜保健衛生所), 他</p> <p>8 牛白血病ウイルス感染牛の末梢血中リンパ球標本を用いた免疫組織化学的検討<br/>戸崎香織 (栃木県中央家畜保健衛生所), 他</p> <p>9 地方病性牛白血病感染が酪農経営に及ぼす影響<br/>古屋裕崇 (群馬県家畜衛生研究所)</p> <p>10 バルク乳を用いたマイコプラズマ性乳房炎スクリーニング検査と最適な検査方法の検討<br/>高安真理子 (茨城県北家畜保健衛生所), 他</p> <p>11 超音波画像における乾乳期間中の乳牛の乳頭内部の変化<br/>上野遥可 (日本大学), 他</p> | <p>12 浅間家畜育成牧場における受精卵移植成績向上への取り組み<br/>小野塚慎之輔 (群馬県浅間家畜育成牧場), 他</p> <p>13 群馬県における牛ヨーネ病検査の取り組み<br/>高梨資子 (群馬県家畜衛生研究所), 他</p> <p>14 C/D モザイク毒素が検出された牛ボツリヌス症<br/>岡本みさき (千葉県中央家畜保健衛生所), 他</p> <p>15 劇症型を呈した牛伝染性角膜炎の集団発症例<br/>磯 日出夫 (磯動物病院・栃木県), 他</p> <p>16 乳牛の潜在性ルーメンアシドーシスにおける血中アディポネクチン濃度の評価<br/>岩崎まりか (日本獣医生命科学大学), 他</p> <p>17 平成28年シーズン以降に発生した豚流行性下痢の疫学解析<br/>鹿島悠幹 (茨城県北家畜保健衛生所), 他</p> <p>18 牛呼吸器病候群病原体遺伝子一括検査による東日本地区における呼吸器病病原体の浸潤状況調査<br/>八木勝義 (JA全農家畜衛生研究所), 他</p> <p>19 次世代シーケンサーを用いた豚腸内細菌叢の16S rRNA メタゲノム解析<br/>藤井勇紀 (茨城県北家畜保健衛生所), 他</p> <p>20 豚の食餌性胃潰瘍が生産性に及ぼす影響<br/>綿村崇宏 (千葉県中央家畜保健衛生所), 他</p> <p>21 トウキョウXの育成率向上を目的とした卵黄抗体の効果<br/>小山朗子 (公財東京都農林水産振興財団), 他</p> <p>22 国内豚コレラ発生に伴い強化した野生イノシシ抗体保有状況調査<br/>田代卓也 (埼玉県川越家畜保健衛生所), 他</p> |
|--|--|

[日本小動物獣医学会]

小地区—4

ダックスフンドの脛骨内反症に対する医療用3Dプリンターの有用性

小林 聡<sup>1)</sup>, 森 淳和<sup>2)</sup>, 安川慎二<sup>2)</sup>, 伊澤幸甫<sup>2)</sup>, 中條哲也<sup>2)</sup>

1) ONE for Animals, ONE 千葉どうぶつ整形外科センター,  
2) ONE for Animals, DVMS どうぶつ医療センター横浜

はじめに

ダックスフンドには脛骨遠位の成長板障害によって脛骨が内反する脛骨内反症 (PV) という疾患が存在する。骨変形による患肢の機能障害、疼痛や足根関節周囲の関節炎が生じるため脛骨の骨切り変形矯正手術が必要となる場合が多い。しかしダックスフンドの脛骨は短く、周囲の軟部組織が多いため、術中のランドマーク設定が困難で、術前計画通りに実施できず、矯正不良や骨切り後の骨癒合不全が生じるリスクが知られている。人医療で

は変形矯正手術の成績向上のために3Dプリンターモデル (3Dモデル) が使用されているが、獣医療での使用報告は少なく実用化されていない。そのため今回、ダックスフンドの脛骨内反症の骨切り変形矯正手術を、3Dプリンターモデルを作成し術前計画および模擬手術を実施したのち行い、変形矯正の正確度を調査した。

材料および方法

PVによる跛行を主訴に来院した症例に関して3Dプリンターモデルを使用した変形矯正を実施した。症例は



ダックスフンドのPV6肢（4症例）ですべての症例に関してX線・CT検査を実施した。CT検査後、画像解析ソフトを使用しmechanical angle（mMPTA, mMDTA, mCaPTA, mCrDTA）を測定し、コンピューター上での変形矯正を計画した。さらにCTデータより患肢の実物大医療用3Dモデルを作成し、術前にシミュレーション手術を実施し変形矯正計画との整合性評価、骨切り部分の確認、骨切り後に骨を固定するインプラントの形状設定を行い、その後、実際に症例の変形矯正手術を行った。手術中には作成した医療用3Dモデルを滅菌して持ち込み骨切りや変形矯正の指標として用いた。

## 結 果

6肢ともに術後の変形矯正は良好に実施され、各mechanical angleに関して変形矯正計画で想定した角

度と術後の角度に有意な差は認められず、全項目で変形矯正計画との差は3°未満となっており術前計画通りの矯正が行われていた。

## 考 察

これまでPVの変形矯正では術前に平面画像で設定した骨切りラインが術中にどの部分にあたるかの判断が困難で、骨切り面の設定や接合角度等は術者の経験に頼る部分が多かった。今回、手術対象となるPVの3Dモデルを作成し、術前シミュレーションを行ってから骨切り変形矯正手術を行うことで、術前計画に近く矯正が可能であった。医療用3DモデルはPVに対する骨切り変形矯正の精度を上げるために有用な手段であると考えられた。

### 小地区—11

## 前腕の広範囲皮膚欠損創に遊離全層植皮術による皮膚再建を実施した犬の2例

山下傑夫<sup>1)</sup>、唐鎌周平<sup>1)</sup>、中道 潤<sup>2)</sup>、小野憲一郎<sup>2)</sup>、平尾秀博<sup>2)</sup>

1) 日本動物高度医療センター 東京、2) 日本動物高度医療センター 川崎本院

### はじめに

四肢は軟部組織肉腫の好発部位である。その多くがイヌ血管周皮腫や末梢神経鞘腫瘍などの低悪性度の腫瘍であり、転移性は高くはないものの局所浸潤性が問題となる。限局した病変では適切な切除縁を確保した外科的切除が第一選択となるが、大型の腫瘍では切除後の皮膚再建が難しく、断脚術が選択されることもある。今回、前腕部に大型の軟部組織肉腫が発生した犬の2症例において患肢を温存した拡大切除を行い、広範な皮膚欠損創に対して異なる手法を用いて遊離全層植皮術による皮膚再建を実施したので、その概要を報告する。

### 症例および経過

**症例1**：ミニチュア・シュナウザー、去勢雄、13歳齢、5.9kgで、右前腕部後面の皮下に50×40×30mm程度の軟部組織腫瘍が認められた。筋肉や骨への浸潤は認められず、組織生検では低悪性度の軟部組織肉腫（NOS）の診断であった。一期手術として浅層筋膜を底部マージンとした腫瘍の拡大切除を行い、広範な皮膚欠損創には移植床として肉芽形成を目的に豚由来コラーゲンシートである人工真皮（ペルナック®）を欠損創の形状にあわせて成形して縫着した。切除検体の病理組織検査では組織生検と同じく肉腫（NOS）の診断であり、切除縁は完全と判定された。術後2週目には良好な肉芽形成がみられたため、一期手術から14日目に二期手術として遊離全層植皮術を実施した。術後経過は良好で植皮片は脱落せずに完全に生着し、移植部位には十分な発毛が認め

られた。患肢機能に問題はなく、補助療法は行わずに経過観察とした。術後2年4カ月目に心不全で死亡したが、腫瘍の再発は認めなかった。

**症例2**：雑種犬、避妊雌、13歳齢、13.0kgで、左前腕部後面の皮下に大きさ80×40×40mm程度の一部自潰を伴った不整な軟部組織腫瘍が認められた。筋肉や骨への浸潤は認められず、組織生検ではイヌ血管周皮腫の診断であった。症例1と同様に底部筋膜を含めた腫瘍の拡大切除を行った。本症例では広範な皮膚欠損創に対して肉芽形成は行わずに、一次的に体幹部より採皮して移植片を作成し遊離全層植皮術を実施した。この際、植皮片の生着性を高めることを目的として、肉芽形成や血管新生促進作用を有するbFGF製剤（フィブラスト®）を植皮片の縫着時に1回のみ全体に噴霧した。術後経過は良好で植皮片は完全に生着し、移植部位には十分な発毛が認められた。術後の病理組織検査では生検診断と同じくイヌ血管周皮腫の診断であり、切除縁は完全と判定された。補助療法は行わずに経過観察としているが、術後1年を経過して再発は認めていない。

## 考 察

今回の症例は前腕部に大型の軟部組織肉腫が発生しており根治的には断脚術の実施も考慮された。しかしながら、いずれの症例も患肢機能を温存して腫瘍の完全切除を行い、広範な皮膚欠損創に対する遊離全層植皮術は完全に生着して良好な経過が得られた。症例1のように、人工真皮の使用は均一で良好な真皮様肉芽組織を形成するため、二期的に施行する植皮術の生着率を高めること

ができる。また、移植前に最終的な病理組織診断や切除縁の評価ができることから、腫瘍の悪性度や切除縁の状態によっては断脚術への変更も可能となる。ただし手術が2回必要となることから、術後管理の長期化やコストの上昇が問題となる。いっぽう、症例2では人工真皮は使用せずに腫瘍切除と植皮術を同時に実施したが、植皮片の生着は良好であり治療期間も短縮することができた。bFGF製剤の有用性については検証が必要であるも

の、早期の血行再建を促すことで植皮片の生着率を高める効果が期待される。ただし一期的植皮術では移植前に切除縁の評価ができないことから、不完全切除例ではbFGFが残存した腫瘍細胞の増殖を促進する可能性が考えられた。いずれの再建手法も腫瘍の広範切除後に通常の皮膚再建が困難な部位において有用であり、症例にあわせた治療計画が望まれる。今後も症例を蓄積して検討を行いたい。

〔参考〕令和元年度 日本小動物獣医学会（関東・東京地区）発表演題一覧

【A会場】

- 1 BioMedtrix BFX EBM 人工股関節全置換術を施行した犬の股関節形成不全10症例12関節  
大坂文也（動物救急センター府中・東京都），他
- 2 レッグ・カルベ・ベルテス病に樋口式大腿骨頭回転骨切り術を適応し軟骨温存療法を実施した犬の1例  
池田人司（オールハート動物リファーマルセンター・東京都），他
- 3 人工股関節全置換術（BioMedtrix BFX EBM THR）を施行した犬の股関節形成不全の1例  
田中真司（所沢アニマルメディカルセンター），他
- 4 若齢猫の骨盤狭窄に対し骨盤拡張術を行った一例  
川西航太郎（動物病院ハートランド・茨城県），他
- 5 トイ・プードルに生じた運動器疾患に関する回顧的調査  
森 淳和（ONE for Animals・横浜市），他
- 6 膝蓋骨脱臼に対し手術を実施した犬84症例135肢の治療成績  
金野 弥（小川犬猫病院・神奈川県），他
- 7 両側性の膝蓋骨内方脱臼に前十字靭帯断裂を伴ったアビシニアン1症例  
藤井聖久（くすの木動物病院・東京都）
- 8 浅指屈筋腱脱臼を呈した犬の1例  
有馬克治（相模原どうぶつ医療センター・神奈川県），他
- 9 ダックスフンドの脛骨内反症に対する医療用3Dプリンターの有用性  
小林 聡（ONE千葉どうぶつ整形外科センター・千葉県），他
- 10 僧帽弁閉鎖不全症の犬における画像診断と肺病理所見の比較  
鈴木陽彦（日本大学），他
- 11 C7-T1間の椎間板ヘルニアに対しベントラスロット法を実施した犬の3例  
灰井康佑（とがさき動物病院・埼玉県），他
- 12 糸球体疾患を併発した免疫介在性脱髄性ポリニューロパチーの若齢猫の1例  
桑原孝幸（桑原動物病院・群馬県），他
- 13 脊髄実質内に血腫様嚢胞病変を形成した犬の1例  
鬼頭梨永（日本動物高度医療センター），他
- 14 左結腸静脈一右内腸骨静脈シャントの猫の1例  
鹿野恭平（とがさき動物病院・埼玉県），他
- 15 肝管空腸吻合を行った肝外胆管閉塞の猫の2例

佐々木 亮（日本動物高度医療センター），他  
（東京・川崎市）

- 16 横隔膜ヘルニアを修復した猫5症例の検討  
牧田裕里子（小滝橋動物病院グループ・東京都），他
- 17 尿腹症を呈した尿管結石症の犬の3例  
松村健太（杉田動物病院・千葉県），他

【B会場】

- 1 機能性甲状腺癌の犬の1例  
安中 靖（安中動物病院・群馬県）
- 2 猫の気管に発生したリンパ腫の1例  
佐藤正幸（くらの動物病院・群馬県），他
- 3 悪性転化後に外科療法を行ったネコの消化管Low grade リンパ腫の2例  
加藤直之（カトウ獣医科クリニック・横浜市），他
- 4 口腔扁平上皮癌に対しカルボプラチン超選択的動注化学療法併用放射線療法を実施した猫7例  
金井詠一（麻布大学），他
- 5 オルソボルテージ放射線療法を実施した頭蓋内浸潤を伴う犬の鼻腔腺癌の1例  
福井康平（たぐち動物病院・埼玉県），他
- 6 外科的切除を実施した多発性肝嚢胞の猫の1例  
福井祐一（こまち動物病院・茨城県），他
- 7 家族性皮膚筋炎の遺伝子検査を行ったシェットランドシープドッグの2例  
山下啓吾（麻の葉動物病院・埼玉県），他
- 8 外科適応と考えるも実施の時期に苦慮した真珠腫性中耳炎の犬2例  
村上桃加（どうぶつの総合病院・埼玉県），他
- 9 フルララネルにより軽快した犬の *Demodex injai* によるニキビダニ症の2例  
中林竜太（DVMs どうぶつ医療センター），他
- 10 前腕の広範囲皮膚欠損創に遊離全層植皮術による皮膚再建を実施した犬の2例  
山下傑夫（日本動物高度医療センター），他
- 11 食道狭窄症に対してバルーン拡張術を実施した犬の7例  
徳田 智（日本動物高度医療センター），他
- 12 犬の急性膵炎に対する各治療法の効果，予後についての検討

- 林 幸太郎 (荊谷動物病院グループ, 他  
江東総合病院・東京都), 他
- 13 犬の食道内異物の15例  
九鬼正己 (ダクタリ動物病院,  
JOY動物病院・東京都), 他
- 14 輪部黒色腫に対して異種角膜強膜移植を実施した犬  
の一例  
深川 碧 (鎌倉山動物病院・神奈川県), 他
- 15 犬と猫の健康管理を目的としたウェアラブルデバイ  
スの活用  
山崎敦史 (日本大学), 他
- 16 病院の混雑状況が待合室トリアージ判定に与える影  
響について1316症例を用いた回顧的研究  
杉浦洋明 (DVMs どうぶつ医療センター), 他  
横浜救急診療センター・横浜市)
- 17 献血時の鎮静下採血におけるアルファキサロンの再  
検討  
仙波恵張 (日本動物医療センター・東京都), 他
- 18 大規模災害発生時の段階的ペットの保護環境 (場  
所・施設等) に関する考察  
平井潤子 (公社東京都獣医師会), 他

## [日本獣医公衆衛生学会]

### 公地区—10

## 薬剤耐性結核菌の全ゲノムを用いた分子疫学解析

水越文徳<sup>1)</sup>, 小林信之<sup>2)</sup>, 切替富美子<sup>3)</sup>, 切替照雄<sup>3)</sup>, 船渡川圭次<sup>1)</sup>, 桐谷礼子<sup>1)</sup>

1) 栃木県保健環境センター微生物部, 2) 前 東京病院, 3) 順天堂大学医学部 微生物学講座

### はじめに

結核は開発途上国を中心に蔓延しているが、日本でも結核罹患率は依然として高い状態にある。結核は、長期間、抗結核薬を適切に投与すれば効果的に治療できるが、薬剤耐性菌の出現のリスクがある。特に、主要な抗結核薬であるイソニアジド (INH)、リファンピシン (RFP) が効かない多剤耐性 (MDR) 結核菌 (TB)、さらにフルオロキノロン系または注射可能な抗結核薬にも耐性がある超多剤耐性 (XDR) TBは、公衆衛生、臨床上で重要な問題となっている。

### 材料と方法

全国の国立病院機構の病院で分離された薬剤耐性TB (254株) の全ゲノム情報を解読し、タイピング (Lineage 解析/北京型)、SNP コンカテマーを用いた系統樹解析を実施した。また、患者の年齢、性別、国籍、薬剤感受性などの疫学解析を行った。さらに、主要な薬剤耐性遺伝子 *katG*, *inhA*, *rpoB* についてアミノ酸の変異を検討した。

### 結 果

#### (1) Lineage 分類と系統樹解析

解析した254株を5つのLineageに分類した。日本の主流であるLineage 2 Ancestral型が143株と最も多く、その殆どが日本人患者由来TB (134/143; 93.7%) だった。一方、東アジアで流行しているLineage 2 Modern型は56株で、外国人患者由来TBが半数を占めた (27/56; 48.2%)。

#### (2) 薬剤耐性TBの疫学および臨床的特徴

INH耐性TBは188株、RFP耐性TBは12株、MDR-TBは54株だった。MDR-TBのうちXDR-TB

は9株で、全て日本人患者由来の株であり、このうち5株が初発患者から分離された。再発患者の割合は、INHまたはRFP単剤耐性TB感染患者群 (36/200; 18.0%) よりも、MDR・XDR-TB感染患者群 (24/54; 44.4%) の方が有意に多かった。外国籍患者由来TBの割合では、INHまたはRFP単剤耐性TB感染患者群 (32/200; 16.0%) よりも、MDR・XDR-TB感染患者群 (20/54; 37.0%) と有意に多かった。

#### (3) 薬剤耐性遺伝子の変異

INH耐性の242株について、*katG*と*inhA*遺伝子の解析を行った。INH耐性に最も関連性がある315番目のアミノ酸に変異のあったTBが96株 (39.7%) だった。次に多かったのは*katG*と*inhA*の両方に変異のない株だった (84株; 34.7%)。国籍別に比較すると、日本人由来の193株のうち、*katG*と*inhA*の両方に変異がなかったのは81株 (42.0%) だった。一方、外国籍患者由来の49株のうち、36株 (73.5%) で*katG* S315変異が認められた。一方、RFP耐性の66株は全て、RFP耐性に関与する遺伝子*rpoB*のHot Spot (507—533番目) のアミノ酸に変異や挿入が認められた。

### 考 察

WHOの報告では、世界的にもINH耐性 (RFP感受性) TBは7.1%の新規感染者、7.9%の再発患者から分離され、さらにMDRを含むRFP耐性TBは3.5%の新規患者、18%の再発患者から分離されている。MDR-TBは世界的にも増加傾向にあり、その分布は拡散している。本研究でも、外国籍患者からMDR-TBは多く分離された。これらのMDR-TBが分離された患者の国籍は、東アジア、東南アジアであり、MDR-TBが多く分離される地域でもある。グローバル化により海外由来株が日本の結核菌のLineage分布に影響を与えていることもあ



り、海外から流入する株を監視していくことが重要である。

XDR-TBの9株全てが日本人患者から分離された。また、日本人由来のINH耐性株の半数で*katG*と*inhA*の両方に変異が認められなかった。日本では、近年、ベダキリンが新たに抗結核薬として位置づけられ、国内で結核の治療に用いられている薬剤の種類は多い。日本の多様化した抗結核薬の投与が薬剤耐性TBの出現パターンに影響を与える可能性が示唆される。また、9株のうち5株が初発の患者から分離され、日本人の間でXDRTBが伝搬している可能性が考えられる。XDR-TBの感染性などについては不明ではあるが、薬剤の選択圧

から逃れることから感受性TBよりも拡散しやすい可能性もある。したがって、XDR-TB感染源・感染経路を解明し、それを断つことが重要である。

日本人と外国籍の患者由来TBの間では、疫学的、臨床学的、遺伝子学的に異なる特徴を示した。また、MDR-TBは再発した患者から多く分離され、再発した場合の投薬には十分な注意が必要とされる。XDR-TBの半数が初発の患者から分離されていることから、感染源・感染経路を断つことがその対策や制圧に重要である。本研究の成果は、将来的な抗結核療法において有用な情報を還元できると期待される。

### 〔参考〕令和元年度 日本獣医公衆衛生学会（関東・東京地区）発表演題一覧

- 1 薬剤耐性結核菌の全ゲノムを用いた分子疫学解析  
水越文徳（栃木県保健環境センター微生物部），他
- 2 2012/2018シーズンの茨城県におけるノロウイルスの分子疫学  
本谷 匠（茨城県衛生研究所），他
- 3 *Enterobacter cloacae*を検出した有症苦情について  
佐藤奈都子（群馬県衛生環境研究所），他
- 4 敗血症診断補助としてのPCR法の検討  
額賀 亮（山梨県食肉衛生検査所），他
- 5 豚の消化管破損と枝肉汚染の実態調査  
齊藤真由（神奈川県食肉衛生検査所），他
- 6 と畜場に搬入された牛および豚における*Escherichia albertii*保菌調査  
砂川知妃呂（神奈川県食肉衛生検査所），他
- 7 牛尿毒症検査に向けてのBUNおよびAUN値の比較検討  
山崎優紀（茨城県北食肉衛生検査所），他
- 8 県内と畜場に搬入された病畜における動物用医薬品の残留状況  
倉橋浩一（千葉県東総食肉衛生検査所），他
- 9 多様な増殖像を示した豚の卵巣腫瘍の一例  
阿左美有右（横浜市食肉衛生検査所），他
- 10 中皮腫様の形態を示した牛の全身性腫瘍の2症例  
坂本哲理（茨城県西食肉衛生検査所），他
- 11 馬肉及びシカ肉のサルコシステイス検出状況  
土井りえ（埼玉県衛生研究所），他
- 12 群馬県内におけるペットのSFTS浸潤調査（第1報）  
狩野友秀（群馬県獣医師会）（公衆衛生管理事業委員会），他