

# ツシマヤマネコの糞等のDNA分析(2023年度)

齋藤 佳子, 松尾 進

## Fecal and Tissue DNA Analysis of Tsushima leopard cats (2023)

Yoshiko SAITO and Susumu MATSUO

キーワード: ツシマヤマネコ、糞のDNA分析、動物種と雌雄の判別、個体識別

Key words: Tsushima leopard cats, fecal DNA analysis, identification of species and sex, individual identification

### はじめに

ツシマヤマネコは、対馬にのみ生息する野生のネコで、その生息数は減少傾向にあり、1994年に「絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律」に基づき「国内希少野生動植物種」に指定された。1995年には「ツシマヤマネコ保護増殖事業計画」が策定され、ツシマヤマネコが自然状態で安定的に存続できる状態になることを目指し、様々な取組が行われている。当センターでは、2006年度から環境省からの委託を受けて、痕跡調査で採取された糞等のDNA分析を行っている。

本稿では、2023年度分として分析依頼を受けた検体のうち2024年3月末までの判定結果を報告する。

### 分析方法

各分析は、Kurose, *et al.* (2005)<sup>1)</sup>と Menotti-Raymond & O'Brien (1995)<sup>2)</sup>に基づく吉川, 他(2017)<sup>3)</sup>の方法に準じて行った。

#### 1 動物種の判別

痕跡調査において、ツシマヤマネコのものである可能性が高いとして採取された糞のうち、215検体を被検材料とした。

これらの検体について、Kurose, *et al.* (2005)<sup>1)</sup>と吉川, 他(2017)<sup>3)</sup>に従い、ミトコンドリアDNAのcytochrome b 遺伝子をターゲットとした primer sets を用い、*Prionailurus bengalensis* (ツシマヤマネコ)、*Martes melampus* (テン)、*Mustela sibirica* (イタチ)、*Felis catus* (イエネコ)、*Canis lupus* (イヌ)の5種の特異的遺伝子をPCRで増幅させ、電気泳動を行い、5種を判別した。

#### 2 雌雄の判別

動物種の判別を実施した検体のうち、ツシマヤマネコのDNAが検出された糞(動物種の判別に使用したDNA) 162検体を被検材料とした。

これらの検体について、吉川, 他(2017)<sup>3)</sup>に従い、核DNAをターゲットとしたprimer setsによりX染色体およびY染色体の特異的DNA領域をSemi-Nested PCRで増幅させ、電気泳動を行い、雌雄を判別した。

また、一部の検体については、吉川, 他(2017)<sup>3)</sup>に従い、シークエンサーを用いて、増幅産物の塩基配列を決定した後、BLAST検索によりX染色体およびY染色体上のDNAであることを確認し、雌雄を判別した。

#### 3 個体識別

動物種の判別を実施した検体のうち、ツシマヤマネコのDNAが検出された糞(動物種の判別に使用したDNA)、過去に死亡した個体の筋肉及び保護個体の糞と漿液のうち、10検体を被検材料とした。

これらの検体について、Menotti-Raymond & O'Brien<sup>3)</sup>によって報告されたMicrosatelliteをマーカーにして、その遺伝子型を決定し、吉川, 他(2017)<sup>3)</sup>に従い、各遺伝子座のアリルの組み合わせにより個体を識別した。

### 分析結果

#### 1 動物種の判別結果

動物種の判別結果を表1に示す。215検体を分析した結果、213検体について動物種を判別することができた(判別率約99%)。その内訳は、ツシマヤマネコが160検体、ツシマヤマネコとテン両方が検出さ

れたものが1検体、ツシマヤマネコとイヌ両方が検出されたものが1検体、テンが26検体、テンとイエネコ両方が検出されたものが1検体、テンとイヌ両方が検出されたものが1検体、イエネコが23検体、不明が2検体であった。

表1 動物種の判別結果 (2023年度)

動物種	検体数
ツシマヤマネコ	160
ツシマヤマネコとテン	1
ツシマヤマネコとイヌ	1
テン	26
テンとイエネコ	1
テンとイヌ	1
イエネコ	23
不明	2
計	215

(2024年3月末判定分まで)

## 2 雌雄の判別結果

雌雄の判別結果を表2に示す。162検体を分析した結果、52検体について雌雄を判別することができた(判別率約32%)。その内訳は雄が12検体、雌が40検体であった。

表2 雌雄の判別結果 (2023年度)

性別	検体数
雄	12
雌	40
不明	110
計	162

(2024年3月末判定分まで)

## 3 個体識別結果

10検体を分析した結果、7検体(約70%)で各遺伝子座を決定することができた。

## 参考文献

- 1) Kurose N., R. Masuda & M. Tatara: Fecal DNA analysis for identifying species and sex of sympatric carnivores: a noninvasive method for conservation on the Tsushima Islands, Japan, *Journal of Heredity*, **96**(6), 688–697(2005).
- 2) Menotti-Raymond, M. A. & S. J. O'Brien: Evolutionary conservation of ten microsatellite loci in four species of Felidae, *Journal of Heredity*, **86**(4), 319–322(1995).
- 3) 吉川 亮, 他: ツシマヤマネコの糞等のDNA分析(2005-2015), 長崎県環境保健研究センター所報, **62**, 133–138(2017).

## 再生砂による浅場づくり実証試験事業 2023年度事後調査結果

松尾 進, 橋本 京太郎, 粕谷 智之

Population Density Changes of *Ruditapes philippinarum* in Shallow Waters created using Recycled Glass Sand in Omura Bay (2023)

Susumu MATSUO, Kyotaro HASHIMOTO, Tomoyuki KASUYA

キーワード：ガラスの砂、アサリ、底生生物、生物多様性、大村湾

Key words: recycled glass sand, *Ruditapes philippinarum*, benthos, biodiversity, Omura Bay

## はじめに

長崎県は、2014年度から「再生砂による浅場づくり実証試験事業」に取り組んでおり、2016年度には大村市森園地先(以降、大村)に廃ガラスを原材料とする再生砂を覆砂して、広さ1 haの浅場を造成した。さらに、2018年度には、時津町崎野自然公園地先(以降、時津)に、大村と同様に広さ0.1 haの浅場を造成した(図1)。

県環境保健研究センターは、本事業における覆砂効果の検証を担当しており、覆砂した区画(覆砂区)と覆砂していない区画(対照区)において、覆砂前(事前調査)および覆砂後(事後調査)のアサリ等の底生生物の生息密度などをモニタリングしており、その結果等については8報に渡って報告してきた<sup>1)~8)</sup>。

大村については2021年度までで事後調査が終了していることから、本報告では、時津において実施した2023年度事後調査結果を基に、時津の覆砂区の現況と課題を検討する。

## 調査エリア概況

時津の覆砂区は、大村の覆砂区で確認されているような底質の固化は見られないものの、一部のエリアで、竣工時に埋没していた大礫や巨礫が露出した状態である(図2-1、大村の覆砂区については2020年度および2021年度の事後調査結果を参照<sup>3), 5)</sup>。

時津の対照区は、覆砂区近傍のエリアを選定しており(図1)、大村同様、大礫や巨礫の合間を砂泥が埋める底質環境である(図2-2)。

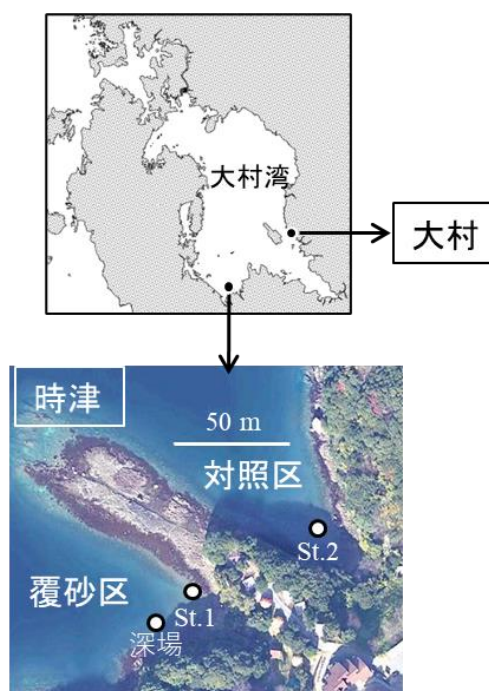


図1 大村の造成浅場の位置及び時津における調査地点位置図  
(測点印(○)下の文字は測点名を示す。  
写真はGoogle Mapより引用。)

## 材料と方法

調査日程を表1に、調査測点を図1に示す。なお、以降、造成場所(大村、時津)を付さず単に試験区(覆砂区、対照区)、測点(St.1、深場、St.2)を表記している場合は、いずれも時津の試験区、測点を指す。

調査は干潮時に行い、各測点へは陸上から徒歩で赴いた。底生生物の採集は原則として枠取り調査で行い、30×30 cm枠内の海底の土砂を深さ10



図2-1 時津の覆砂区の状況の推移

cm程度採取した後、目合1 mmの篩にかけ、残ったものの中から目視で底生生物を取り出した。杓取り調査は1測点当たり3回行い、合わせて1サンプルとした。時津の覆砂区の測点の1つである「深場」は水深が1 m以上あり、杓取りが困難であることから、採集にはエクマンバージ採泥器(開口部: 15×15 cm)を用いた。採泥器を複数回投入して海底の土砂を得た後、目合1 mmの篩にかけ、残ったものの中から底生生物を取り出した。得られた底生生物は可能な限り種まで同定し、個体数を計数するとともに、アサリについては最大100個体までを無作為に選んで殻長を計測した。

底質分析用試料は口径35 mm、長さ50 cmのアクリルパイプを用いて採取した。パイプを海底に深さ10 cm程度まで差し込み、金属製のヘラを使ってパイプ下部を塞いだ後、パイプ内部の底質が落ちないようにゆっくりと引き抜いた。パイプ内の海水を静かに排水した後、底質をボトルに移した。採取は1測点当たり3回以上行い、合わせて1サンプルとした。



※撮影方向の航空写真はGoogle Mapより引用

図2-2 時津の対照区の状況

表1 時津における調査日程

		底生生物		底質		
		覆砂区 St.1	対照区 St.2	覆砂区 St.1	対照区 St.2	深場
事前調査	2017年6月6日	○	○	○	○	○
	2017年8月21日	○	○	○	○	○
	2018年8月22日	○	○	○	○	○
事後調査	2019年1月11日	○	○	○	○	○
	2019年8月26日	○	○	○	○	○
	2020年1月15日	○	○	○	○	○
	2020年8月26日	○	○	○	○	○
	2021年1月20日	○	○	○	○	○
	2021年8月20日	○	○	○	○	○
	2022年1月7日	○	○	○	○	○
	2022年8月23日	○	○	○	○	○
	2023年1月11日	○	○	○	○	○
	2023年8月24日	○	○	○	○	○
2024年1月17日	○	○	○	○	○	

覆砂区(深場)では、アクリルパイプによる採泥が困難なことから、底質の採取には上述のエクマンバージ採泥器を用いた。

底生生物の生息密度に関わる項目として、粒度組成、中央粒径、泥分率、強熱減量、底層CODおよび硫化物を、それぞれJIS A1204(ふるい分析)<sup>9)</sup>、底質調査方法<sup>10)</sup>に従い分析した。

海底直上10 cmの位置にJFEアドバンテック社製のワイパー式メモリー水温塩分計(INFINITY-CTW)およびワイパー式メモリーDO計(RINKO W)を覆砂区と対照区それぞれに設置し、水温、塩分および溶存酸素量を各調査日から30日間以上連続観測した。

生物多様性の検討には中村のRI(Rank Index)指数を用いた<sup>11)</sup>。出現した底生生物の個体数を6段階に分けて、種ごとにランク値を当てはめ、次式によってRI指数を求めた。

$$RI = \sum Ri / \{S \times (M-1)\}$$

ここで、 $S_i$ は種数、 $R_i$ は*i*番目の種の個体数ランク、 $M$ は個体数ランクの段階数(すなわち、6段階: 0, 1, 2, ..., 5)を表す。

## 結果

### 1 アサリ生息密度と殻長組成

アサリ生息密度の推移を図3に示す。覆砂区のアサリ生息密度は、2023年8月の調査ではSt.1および深場の両測点ともにアサリは確認されず、いずれも0個体/m<sup>2</sup>と推計され、2024年1月の調査ではSt.1でのみ1個体が確認され、St.1は3.7個体/m<sup>2</sup>、深場は0個体/m<sup>2</sup>と推計された。覆砂区のアサリ生息密度は覆砂後も0 ~ 18.5個体/m<sup>2</sup>と少なく、覆砂前と大きな変化も見られていない。対照区のアサリ生息密度は、2023年8月の調査では確認されず、0個体/m<sup>2</sup>と推計され、2024年1月の調査では7個体が確認され、25.9個体/m<sup>2</sup>と推計された。なお、対照区では、2022年1月に一時的に96個体/m<sup>2</sup>となったものの、全体としては覆砂区と同様大きな変化は見られていない。

覆砂区および対照区におけるアサリの殻長組成の推移をそれぞれ図4-1、図4-2に示す。覆砂区では、覆砂の前後を通じて、殻長10 mm未満の稚貝個体数の大きなピークは無く、殻長15 mm以上の個体も確認されなかった(図4-1)。対照区の殻長組成については、2022年1月に殻長5 mm未満の稚貝個体数がほかの調査日より少し多く見られたが、覆砂区と同じく殻長10 mm未満の稚貝個体数の大きなピークは無く、殻長15 mm以上の個体も確認されなかった(図4-2)。

### 2 底質

粒度組成および底質環境の推移を図5および図6に示す。粒度組成を比較すると、覆砂区(St.1)では覆砂後の2018年8月以降、細礫 ~ 粗砂分が増加し、対照区においては2018年8月および2020年8月に中礫 ~ 粗砂分の割合が高くなった(図5)。中央粒径値は覆砂区(St.1)では覆砂前は0.17 ~ 0.19 mm(平均0.18 mm)であったのに対して、覆砂後は0.21 ~ 0.30 mmの範囲(平均0.24 mm)であり、覆砂によってわずかに上昇した(図6a)。また、覆砂区(深場)においては、中央粒径値は0.24 ~ 0.71 mmの範囲(平均0.42 mm)で推移し、覆砂区(St.1)よりも高い傾向が見られた。対照区における中央粒径値は、0.19 ~ 1.85 mmの範囲(平均0.45 mm)であり、2018年8月および2020年8月にそれぞれ1.28 mmおよび1.85 mmと高い値となったものの、それ以外の

調査においては0.19 ~ 0.27 mmの範囲で、覆砂区と比較して大きな差は見られなかった(図6a)。

泥分率については、覆砂区(St.1)では覆砂前に8.0 ~ 10.8 % (平均9.4 %)であったのに対して、覆砂直後の2018年8月には14.4 %と一時的に増加したものの、その後は4.1 ~ 10.4 %の範囲(平均6.6 %)で推移し、全体としては減少傾向であった(図6b)。覆砂区(深場)の泥分率については、1.0 ~ 11.3 %の範囲(平均5.1 %)で推移し、測定した期間においてはSt.1と同じく減少傾向であった(図6b)。一方、対照区の泥分率については、0.5 ~ 4.9 % (平均2.5 %)で推移し、覆砂区と比較して調査期間を通じて大きな変化はみられなかった(図6b)。

強熱減量については、覆砂区(St.1)では覆砂前は2.7 ~ 3.6 % (平均3.2 %)であったのに対して、覆砂後は0.6 ~ 2.5 %の範囲(平均1.6 %)に低下した(図6c)。覆砂区(深場)では、測定した期間において0.6 ~ 1.9 %の範囲(平均1.4 %)であり、2020年8月までは覆砂区(St.1)よりも低い傾向が見られていたが、2021年1月以降は覆砂区(St.1)と概ね同程度で推移した。対照区では強熱減量は1.8 ~ 4.1 %の範囲(平均2.4 %)で推移し、2018年8月以降は、覆砂区よりも概ね高い値を示した(図6c)。

覆砂区の覆砂後の底層CODはSt.1および深場の両測点において3.2 mg/L以下(図6d)、硫化物は0.14 mg/g以下となり(図6e)、対照区においても2018年8月以降の底層CODは8.0 mg/L以下、硫化物は0.15 mg/g以下で、底層CODおよび硫化物については、覆砂区、対照区の両方で水産用水基準を満たす結果であった<sup>12)</sup>。

### 3 水質

水温、塩分、および溶存酸素飽和度の推移を図7-1、図7-2に示す。水温は、夏期は26.7 ~ 32.5 °C、冬期は9.1 ~ 12.6 °Cの範囲で推移した。また、塩分については、夏期は24.2 ~ 32.2、冬期は測定器の不具合により対照区の2024年1月21日21:00以降が欠測となったが、それ以外では31.8 ~ 33.0の範囲で推移した。溶存酸素飽和度については、夏期は20 ~ 150 %、冬期は測器の不具合により2024年2月13日9:00以降が欠測となったが、それ以外では73 ~ 116 %の範囲で推移した。溶存酸素飽和度については、夏期に対照区において覆砂区よりも僅かに低い傾向が見られたものの、水温と塩分については覆砂区と対照区との間に大きな差は見られなかった。

アサリの生息に適した水質環境は、水温10 ~ 30

°C、塩分20~35の範囲であるとされ<sup>13)</sup>、溶存酸素飽和度が10%以下(水温15°C)の環境下では13日程度でへい死が起こるとされている<sup>13)</sup>。覆砂区と対照区においては、調査期間中、水温が31°C以上とな

った日は同じ日のほぼ同じ時間帯に3日間あった以外は、夏期および冬期ともに、概ね適正範囲内であった。

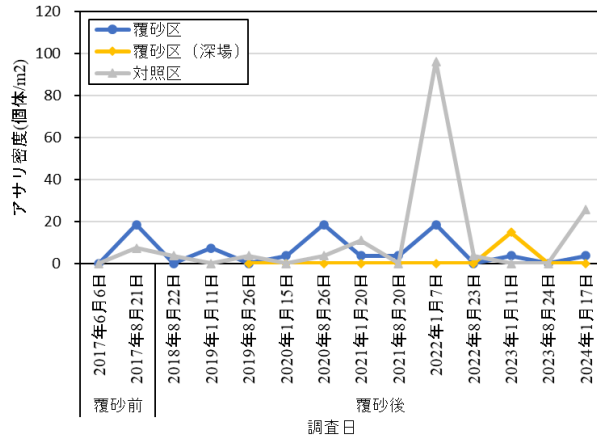


図3 時津におけるアサリ生息密度の推移

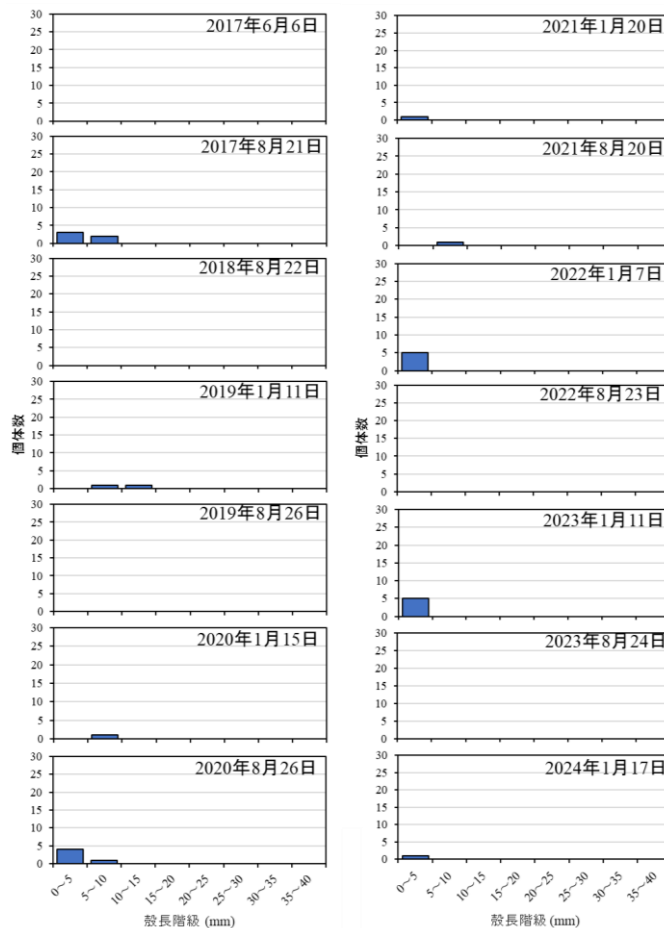


図4-1 時津の覆砂区 (St.1および深場) におけるアサリの殻長組成  
2測点 (St.1および深場) の殻長データを合わせて作成した。

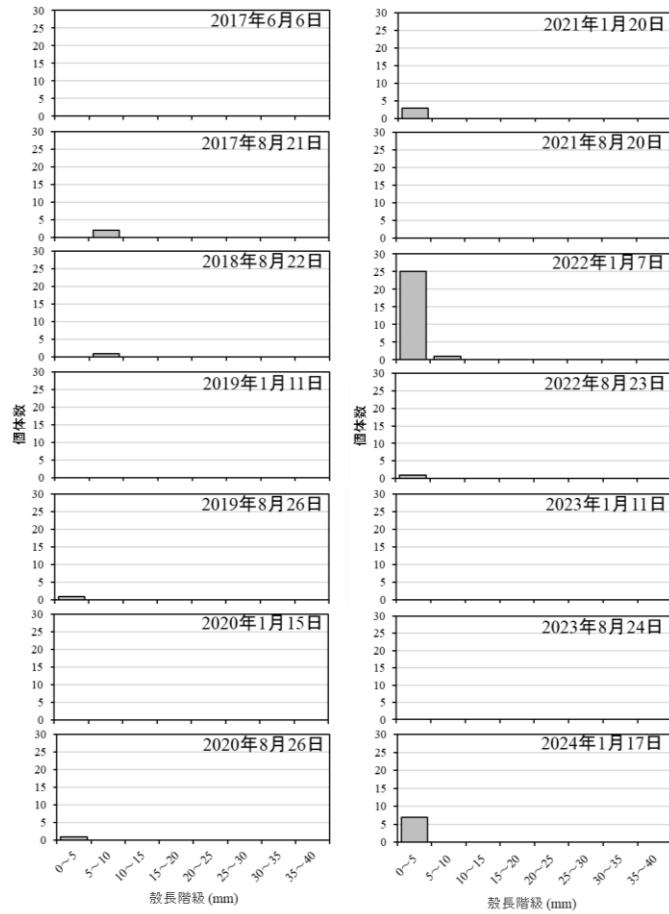


図4-2 時津の対照区 (St.2) におけるアサリの殻長組成

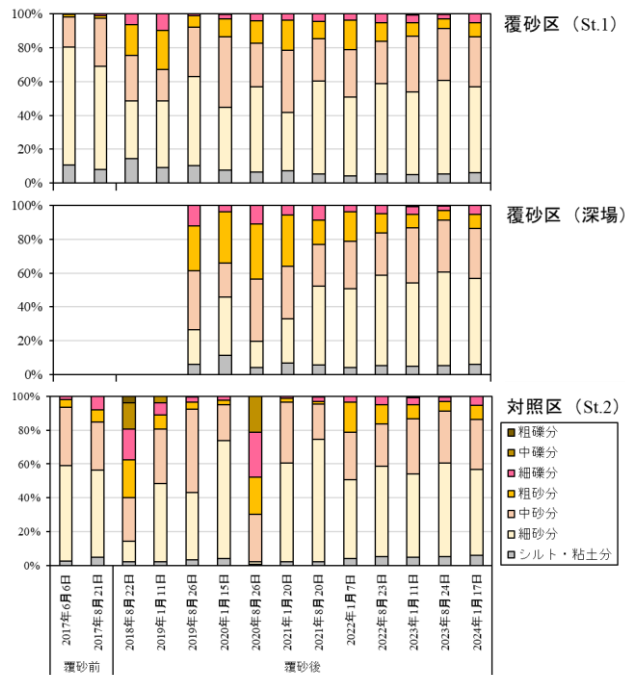
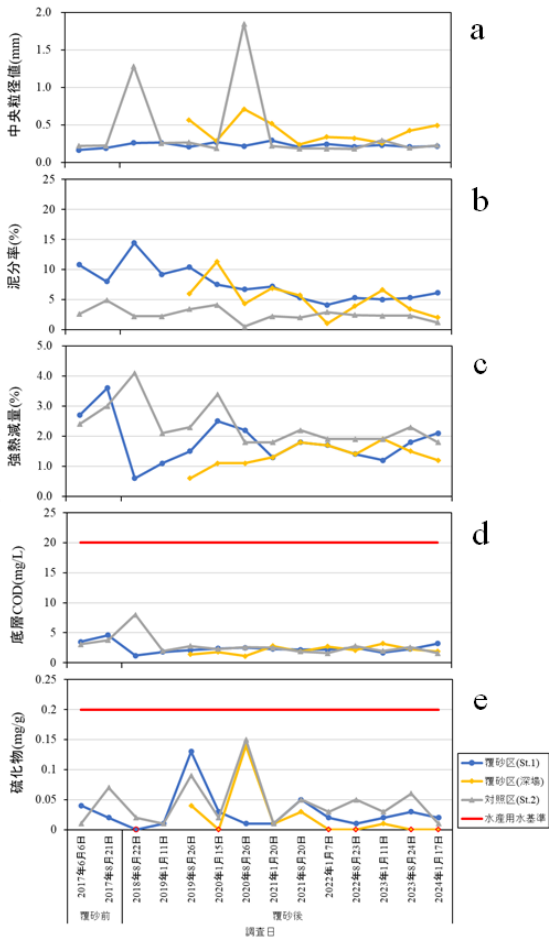


図5 時津の覆砂区 (St.1および深場)、対照区 (St.2) における底質の粒度組成



※硫化物の赤枠付き:検出下限値未満(0.01 mg/g未満)

図6 時津における底質環境の推移

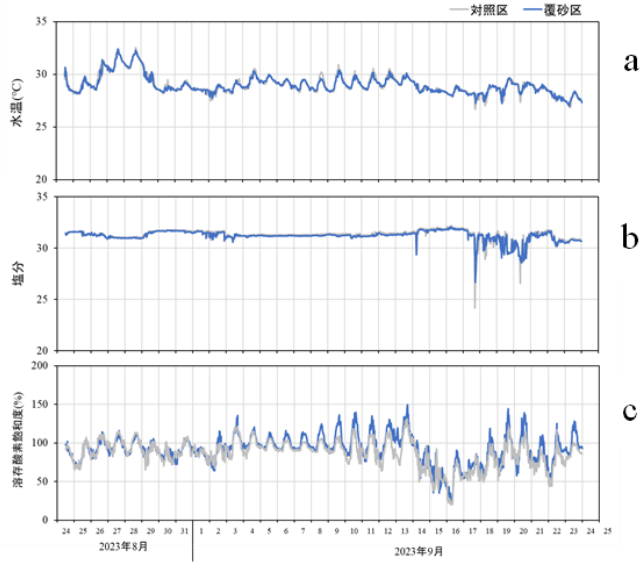


図7-1 時津における夏季の水質変動

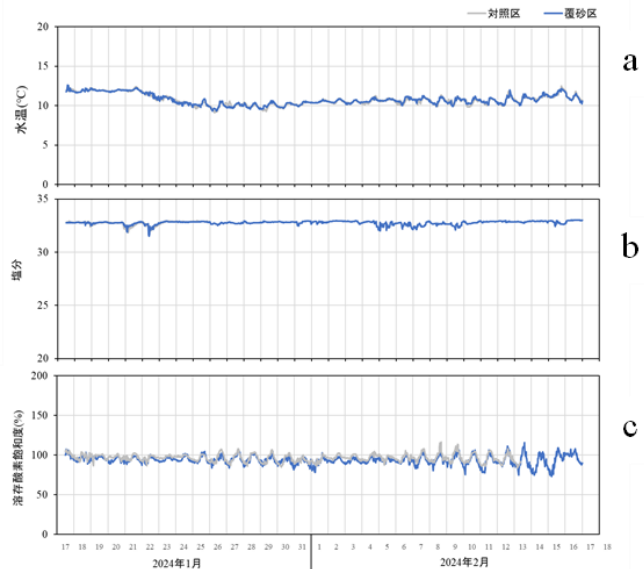


図7-2 時津における冬季の水質変動

#### 4 生物多様性

全出現種を対象とした RI 指数を図 8 に示す。RI 指数は、全測点において、およそ 8 月に低く 1 月に高い傾向が見られ、それぞれ覆砂区: 0.023 ~ 0.107、覆砂区(深場): 0.014 ~ 0.071、対照区: 0.018 ~ 0.060 の範囲で、およそ右肩上がりに推移した。また、一部の調査日を除いて、覆砂区の方が対照区より高い値で推移した。

2020 年 1 月の調査では、RI 指数は、覆砂区 (St.1): 0.057、覆砂区(深場): 0.029、対照区 0.020 であったが、最新の 2024 年 1 月の調査では、覆砂区 (St.1): 0.107、覆砂区(深場): 0.071、対照

区 0.053 となり、特に覆砂区の 2 測点においてより上昇傾向にあった。

#### 5 考察

アサリについては、これまでの調査で、覆砂区 (St.1 および深場) および対照区の各測点において、殻長 10 mm 未満の個体が確認されており、稚貝の供給はあったものと推察されるが、いずれの測点でも殻長 15 mm 以上の個体は確認されておらず、供給された稚貝のほとんどが定着できていないものと考えられる。



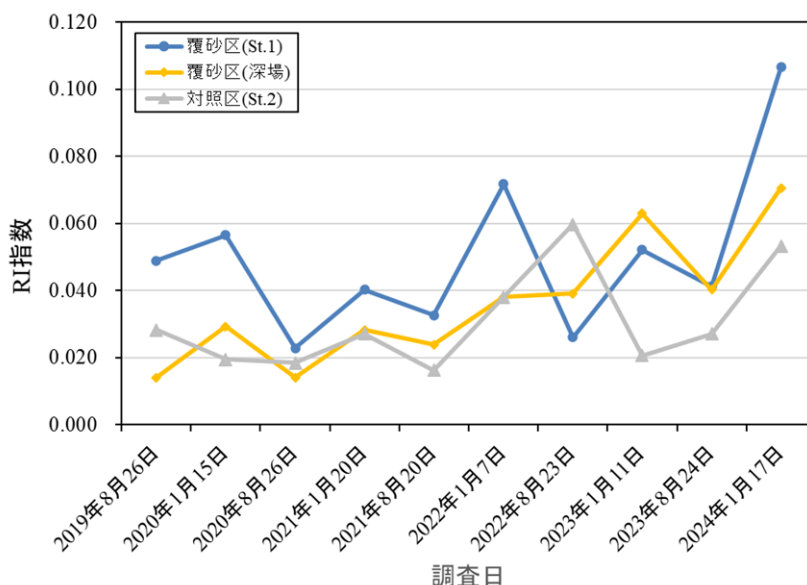


図8 時津における時津における生物多様性指標(RI指数)の推移

水温などの測定データからはアサリが斃死するような大きな環境悪化は観測されなかった。また、アサリの成育に適した底質環境が、泥分率で2～30%、強熱減量で3.0%未満と報告されており<sup>14)</sup>、泥分率および強熱減量については覆砂後、覆砂区において概ね適正範囲内で推移していた。一方、中央粒径値は0.5～4mmが適正とされているのに対し<sup>14)</sup>、<sup>15)</sup>、覆砂区(St.1)においては、覆砂以降も0.5mm未満とアサリの生育に適さない状態のまま変化が見られず、覆砂区(深場)においても、概ね覆砂区(St.1)と同様に推移していた。

時津町の浅場の沖合は、時津港と長崎空港を結ぶ高速船の航路となっていることから、航走波が頻繁に打ち寄せる環境にある。浅場造成前の事前調査では、水深が1.0以浅の海底では、砂は波によって浮遊移動すると予測されており<sup>16)</sup>、底質のかく乱によるアサリ稚貝のへい死や散逸の原因となっている可能性がある。このような特徴をもつアサリ漁場では、流速を抑えてアサリの逸散を防ぐために網張りや支柱式ノリ養殖施設を設置する試みが行われており<sup>17)</sup>、<sup>18)</sup>、当該浅場におけるアサリの生残率向上のためには同様の取り組みが必要と考えられる。

生物多様性については、全測点において、RI指数はおおよそ1月に高くなり8月に低くなる傾向が見られた。これは大村でも同様の傾向が確認されている<sup>9)</sup>。調査期間全体では、RI指数は、おおよそ対照区より覆砂区で高く推移してきており、全測点でおおよそ上昇傾向にあったが、特に覆砂区の2測点では対照区と比較してその傾向が強く、造成さ

れた浅場は多様な生物の生息場として機能していることが示唆された。

#### 参考文献

- 1) 粕谷智之:再生砂による浅場づくり実証試験事業 平成30年度事後調査結果ーガラスの砂浜(大村湾)におけるアサリ生息密度の変遷ー, 長崎県環境保健研究センター所報, (64), 44-52(2019).
- 2) 粕谷智之:再生砂による浅場づくり実証試験事業 平成31年度事後調査結果ー底生生物の多様性についてー, 長崎県環境保健研究センター所報, (65), 43-52(2021).
- 3) 粕谷智之, 他:再生砂による浅場づくり実証試験事業 第3報 令和2年(2020年)度事後調査結果, 長崎県環境保健研究センター所報, (66), 33-49(2021).
- 4) 古賀彩子, 他:大村市に造成した「ガラスの砂浜」における被覆網によるアサリ保護効果, 長崎県環境保健研究センター所報, (66), 104-108(2021).
- 5) 橋本京太郎, 他:再生砂による浅場づくり実証試験事業 2021年度事後調査結果, 長崎県環境保健研究センター所報 (67), 40-57(2022).
- 6) 古賀彩子, 他:大村市に造成した「ガラスの砂浜」における被覆網によるアサリの保護効果(2021年度), 長崎県環境保健研究センター所報 (67), 102-107(2022).
- 7) 橋本京太郎, 他:大村市に造成した「ガラスの砂浜」における被覆網によるアサリの保護効果

- (2022 年度), 長崎県環境保健研究センター所報 (68), 98-103 (2022).
- 8) 松尾進, 他: 再生砂による浅場づくり実証試験事業 2022 年度事後調査結果, 長崎県環境保健研究センター所報 (68), 104-111(2023).
  - 9) JIS A1204: 土の粒度試験方法, (2020).
  - 10) 環境省水・大気環境局: 底質調査方法, vii + 417 pp., (2012).
  - 11) 中村寛志: 昆虫群集を使った環境評価手法について — RI 指数とグループ別 RI 指数法 —, 日本環境動物昆虫学会誌, **24**(1), 7-14(2013).
  - 12) 日本水産資源保護協会: 水産用水基準 2018 年版, 119 pp., (2018).
  - 13) 水産庁増殖推進部: 二枚貝漁場環境改善技術導入のためのガイドライン平成 25 年 3 月, 220 pp., (2013).
  - 14) 新保裕美, 他: アサリを対象とした生物生息地適性評価モデル, 海岸工学論文集, **47**, 1111-1115(2000).
  - 15) 清水康弘, 他: アサリ母貝場干潟造成効果評価事業, 三重県水産研究所平成 29 年度事業報告, 87-88(2019).
  - 16) 長崎県環境部: 再生砂による浅場づくり実証事業に係る調査及び工事設計業務委託報告書, (2019).
  - 17) 樋渡武彦, 他: 網張り試験による流速減衰と二枚貝浮遊幼生着底促進効果について, 環境工学研究論文集, **44**, 555-561(2007).
  - 18) 長谷川夏樹, 他: 支柱式ノリ養殖施設によるアサリ稚貝の定着促進効果, 水産工学, **49**(2), 125-132(2012).



門	綱	目	科	属	種	名	R1.8	R1.9	R2.0	R2.1	R2.2	R2.3	R2.4	R2.5	R2.6	R2.7	R2.8	R2.9	R3.0	R3.1	R3.2	R3.3	R3.4	R3.5	R3.6	R3.7	R3.8	R3.9	R4.0	R4.1	R4.2	R4.3	R4.4	R4.5	R4.6	R4.7	R4.8	R4.9	R5.0	R5.1	R5.2	R5.3	R5.4	R5.5	R5.6	R5.7	R5.8	R5.9	R6.0	R6.1	R6.2	R6.3	R6.4	R6.5	R6.6	R6.7	R6.8	R6.9	R7.0	R7.1	R7.2	R7.3	R7.4	R7.5	R7.6	R7.7	R7.8	R7.9	R8.0	R8.1	R8.2	R8.3	R8.4	R8.5	R8.6	R8.7	R8.8	R8.9	R9.0	R9.1	R9.2	R9.3	R9.4	R9.5	R9.6	R9.7	R9.8	R9.9	R10.0	R10.1	R10.2	R10.3	R10.4	R10.5	R10.6	R10.7	R10.8	R10.9	R11.0	R11.1	R11.2	R11.3	R11.4	R11.5	R11.6	R11.7	R11.8	R11.9	R12.0	R12.1	R12.2	R12.3	R12.4	R12.5	R12.6	R12.7	R12.8	R12.9	R13.0	R13.1	R13.2	R13.3	R13.4	R13.5	R13.6	R13.7	R13.8	R13.9	R14.0	R14.1	R14.2	R14.3	R14.4	R14.5	R14.6	R14.7	R14.8	R14.9	R15.0	R15.1	R15.2	R15.3	R15.4	R15.5	R15.6	R15.7	R15.8	R15.9	R16.0	R16.1	R16.2	R16.3	R16.4	R16.5	R16.6	R16.7	R16.8	R16.9	R17.0	R17.1	R17.2	R17.3	R17.4	R17.5	R17.6	R17.7	R17.8	R17.9	R18.0	R18.1	R18.2	R18.3	R18.4	R18.5	R18.6	R18.7	R18.8	R18.9	R19.0	R19.1	R19.2	R19.3	R19.4	R19.5	R19.6	R19.7	R19.8	R19.9	R20.0	R20.1	R20.2	R20.3	R20.4	R20.5	R20.6	R20.7	R20.8	R20.9	R21.0	R21.1	R21.2	R21.3	R21.4	R21.5	R21.6	R21.7	R21.8	R21.9	R22.0	R22.1	R22.2	R22.3	R22.4	R22.5	R22.6	R22.7	R22.8	R22.9	R23.0	R23.1	R23.2	R23.3	R23.4	R23.5	R23.6	R23.7	R23.8	R23.9	R24.0	R24.1	R24.2	R24.3	R24.4	R24.5	R24.6	R24.7	R24.8	R24.9	R25.0	R25.1	R25.2	R25.3	R25.4	R25.5	R25.6	R25.7	R25.8	R25.9	R26.0	R26.1	R26.2	R26.3	R26.4	R26.5	R26.6	R26.7	R26.8	R26.9	R27.0	R27.1	R27.2	R27.3	R27.4	R27.5	R27.6	R27.7	R27.8	R27.9	R28.0	R28.1	R28.2	R28.3	R28.4	R28.5	R28.6	R28.7	R28.8	R28.9	R29.0	R29.1	R29.2	R29.3	R29.4	R29.5	R29.6	R29.7	R29.8	R29.9	R30.0	R30.1	R30.2	R30.3	R30.4	R30.5	R30.6	R30.7	R30.8	R30.9	R31.0	R31.1	R31.2	R31.3	R31.4	R31.5	R31.6	R31.7	R31.8	R31.9	R32.0	R32.1	R32.2	R32.3	R32.4	R32.5	R32.6	R32.7	R32.8	R32.9	R33.0	R33.1	R33.2	R33.3	R33.4	R33.5	R33.6	R33.7	R33.8	R33.9	R34.0	R34.1	R34.2	R34.3	R34.4	R34.5	R34.6	R34.7	R34.8	R34.9	R35.0	R35.1	R35.2	R35.3	R35.4	R35.5	R35.6	R35.7	R35.8	R35.9	R36.0	R36.1	R36.2	R36.3	R36.4	R36.5	R36.6	R36.7	R36.8	R36.9	R37.0	R37.1	R37.2	R37.3	R37.4	R37.5	R37.6	R37.7	R37.8	R37.9	R38.0	R38.1	R38.2	R38.3	R38.4	R38.5	R38.6	R38.7	R38.8	R38.9	R39.0	R39.1	R39.2	R39.3	R39.4	R39.5	R39.6	R39.7	R39.8	R39.9	R40.0	R40.1	R40.2	R40.3	R40.4	R40.5	R40.6	R40.7	R40.8	R40.9	R41.0	R41.1	R41.2	R41.3	R41.4	R41.5	R41.6	R41.7	R41.8	R41.9	R42.0	R42.1	R42.2	R42.3	R42.4	R42.5	R42.6	R42.7	R42.8	R42.9	R43.0	R43.1	R43.2	R43.3	R43.4	R43.5	R43.6	R43.7	R43.8	R43.9	R44.0	R44.1	R44.2	R44.3	R44.4	R44.5	R44.6	R44.7	R44.8	R44.9	R45.0	R45.1	R45.2	R45.3	R45.4	R45.5	R45.6	R45.7	R45.8	R45.9	R46.0	R46.1	R46.2	R46.3	R46.4	R46.5	R46.6	R46.7	R46.8	R46.9	R47.0	R47.1	R47.2	R47.3	R47.4	R47.5	R47.6	R47.7	R47.8	R47.9	R48.0	R48.1	R48.2	R48.3	R48.4	R48.5	R48.6	R48.7	R48.8	R48.9	R49.0	R49.1	R49.2	R49.3	R49.4	R49.5	R49.6	R49.7	R49.8	R49.9	R50.0	R50.1	R50.2	R50.3	R50.4	R50.5	R50.6	R50.7	R50.8	R50.9	R51.0	R51.1	R51.2	R51.3	R51.4	R51.5	R51.6	R51.7	R51.8	R51.9	R52.0	R52.1	R52.2	R52.3	R52.4	R52.5	R52.6	R52.7	R52.8	R52.9	R53.0	R53.1	R53.2	R53.3	R53.4	R53.5	R53.6	R53.7	R53.8	R53.9	R54.0	R54.1	R54.2	R54.3	R54.4	R54.5	R54.6	R54.7	R54.8	R54.9	R55.0	R55.1	R55.2	R55.3	R55.4	R55.5	R55.6	R55.7	R55.8	R55.9	R56.0	R56.1	R56.2	R56.3	R56.4	R56.5	R56.6	R56.7	R56.8	R56.9	R57.0	R57.1	R57.2	R57.3	R57.4	R57.5	R57.6	R57.7	R57.8	R57.9	R58.0	R58.1	R58.2	R58.3	R58.4	R58.5	R58.6	R58.7	R58.8	R58.9	R59.0	R59.1	R59.2	R59.3	R59.4	R59.5	R59.6	R59.7	R59.8	R59.9	R60.0	R60.1	R60.2	R60.3	R60.4	R60.5	R60.6	R60.7	R60.8	R60.9	R61.0	R61.1	R61.2	R61.3	R61.4	R61.5	R61.6	R61.7	R61.8	R61.9	R62.0	R62.1	R62.2	R62.3	R62.4	R62.5	R62.6	R62.7	R62.8	R62.9	R63.0	R63.1	R63.2	R63.3	R63.4	R63.5	R63.6	R63.7	R63.8	R63.9	R64.0	R64.1	R64.2	R64.3	R64.4	R64.5	R64.6	R64.7	R64.8	R64.9	R65.0	R65.1	R65.2	R65.3	R65.4	R65.5	R65.6	R65.7	R65.8	R65.9	R66.0	R66.1	R66.2	R66.3	R66.4	R66.5	R66.6	R66.7	R66.8	R66.9	R67.0	R67.1	R67.2	R67.3	R67.4	R67.5	R67.6	R67.7	R67.8	R67.9	R68.0	R68.1	R68.2	R68.3	R68.4	R68.5	R68.6	R68.7	R68.8	R68.9	R69.0	R69.1	R69.2	R69.3	R69.4	R69.5	R69.6	R69.7	R69.8	R69.9	R70.0	R70.1	R70.2	R70.3	R70.4	R70.5	R70.6	R70.7	R70.8	R70.9	R71.0	R71.1	R71.2	R71.3	R71.4	R71.5	R71.6	R71.7	R71.8	R71.9	R72.0	R72.1	R72.2	R72.3	R72.4	R72.5	R72.6	R72.7	R72.8	R72.9	R73.0	R73.1	R73.2	R73.3	R73.4	R73.5	R73.6	R73.7	R73.8	R73.9	R74.0	R74.1	R74.2	R74.3	R74.4	R74.5	R74.6	R74.7	R74.8	R74.9	R75.0	R75.1	R75.2	R75.3	R75.4	R75.5	R75.6	R75.7	R75.8	R75.9	R76.0	R76.1	R76.2	R76.3	R76.4	R76.5	R76.6	R76.7	R76.8	R76.9	R77.0	R77.1	R77.2	R77.3	R77.4	R77.5	R77.6	R77.7	R77.8	R77.9	R78.0	R78.1	R78.2	R78.3	R78.4	R78.5	R78.6	R78.7	R78.8	R78.9	R79.0	R79.1	R79.2	R79.3	R79.4	R79.5	R79.6	R79.7	R79.8	R79.9	R80.0	R80.1	R80.2	R80.3	R80.4	R80.5	R80.6	R80.7	R80.8	R80.9	R81.0	R81.1	R81.2	R81.3	R81.4	R81.5	R81.6	R81.7	R81.8	R81.9	R82.0	R82.1	R82.2	R82.3	R82.4	R82.5	R82.6	R82.7	R82.8	R82.9	R83.0	R83.1	R83.2	R83.3	R83.4	R83.5	R83.6	R83.7	R83.8	R83.9	R84.0	R84.1	R84.2	R84.3	R84.4	R84.5	R84.6	R84.7	R84.8	R84.9	R85.0	R85.1	R85.2	R85.3	R85.4	R85.5	R85.6	R85.7	R85.8	R85.9	R86.0	R86.1	R86.2	R86.3	R86.4	R86.5	R86.6	R86.7	R86.8	R86.9	R87.0	R87.1	R87.2	R87.3	R87.4	R87.5	R87.6	R87.7	R87.8	R87.9	R88.0	R88.1	R88.2	R88.3	R88.4	R88.5	R88.6	R88.7	R88.8	R88.9	R89.0	R89.1	R89.2	R89.3	R89.4	R89.5	R89.6	R89.7	R89.8	R89.9	R90.0	R90.1	R90.2	R90.3	R90.4	R90.5	R90.6	R90.7	R90.8	R90.9	R91.0	R91.1	R91.2	R91.3	R91.4	R91.5	R91.6	R91.7	R91.8	R91.9	R92.0	R92.1	R92.2	R92.3	R92.4	R92.5	R92.6	R92.7	R92.8	R92.9	R93.0	R93.1	R93.2	R93.3	R93.4	R93.5	R93.6	R93.7	R93.8	R93.9	R94.0	R94.1	R94.2	R94.3	R94.4	R94.5	R94.6	R94.7	R94.8	R94.9	R95.0	R95.1	R95.2	R95.3	R95.4	R95.5	R95.6	R95.7	R95.8	R95.9	R96.0	R96.1	R96.2	R96.3	R96.4	R96.5	R96.6	R96.7	R96.8	R96.9	R97.0	R97.1	R97.2	R97.3	R97.4	R97.5	R97.6	R97.7	R97.8	R97.9	R98.0	R98.1	R98.2	R98.3	R98.4	R98.5	R98.6	R98.7	R98.8	R98.9	R99.0	R99.1	R99.2	R99.3	R99.4	R99.5	R99.6	R99.7	R99.8	R99.9
---	---	---	---	---	---	---	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------











# 橘湾における藻場の炭素量調査

橋本 京太郎

## Estimation of carbon storage in seaweed beds in Tachibana Bay

Kyotaro HASHIMOTO

キーワード：橘湾、海藻藻場、炭素貯留、ブルーカーボン  
 Key words: Tachibana Bay, seaweed, Carbon storage, Blue carbon

### はじめに

近年、海洋生態系によって貯留・隔離される炭素であるブルーカーボンは、気候変動の緩和策の一つとして注目されている。当センターでは、県下の藻場におけるブルーカーボンに関する調査を実施しており、藻場の観測や草体の炭素貯留量の調査を行っている<sup>1)</sup>。今回、2022年度に実施した橘湾における海藻藻場の調査結果を報告する。

### 調査方法

本研究では、干潮時に岸から徒歩で到達できる海藻藻場を調査対象とし、牧島、飯盛、有喜、唐比、千々石の5地点を調査地点とした(図1)。

藻場面積、繁茂量に関する調査は、2022年5月から2022年12月まで毎月1回行った。藻場面積は、GPS端末(GARMIN社製 eTrex 30J)の面積計算機能を用いて、藻場外周を目視で確認しながら踏査することにより求めた。藻体採集は、坪刈りによって行った。

採集した藻体は実験室に持ち帰り、湿重量や炭



図1 調査地点

素含有率などを測定した。また、国分ら<sup>2)</sup>の手法により、生分解試験を行い、100日後に残存した炭素量を求めた。

表1 調査結果

		対象生態系の分布面積	単位面積当たりの湿重量	含水率	炭素含有率	残存率	CO <sub>2</sub> 吸収係数(ton/ha)
		調査期間中の最大面積(m <sup>2</sup> )	最大草体重量(g/m <sup>2</sup> )				
調査地点	千々石	415	1258.36	0.7969	0.0472	0.0971	0.0966
	唐比	5201	3582.1	0.8072	0.0472	0.0971	0.2611
	有喜	531	1089.29	0.8013	0.0472	0.0971	0.0818
	飯盛	789	1308.53	0.7981	0.0472	0.0971	0.0999
	牧島	221	283.65	0.8126	0.0472	0.0971	0.0201

## 調査結果

優占した海藻は、ヤツマタモクとヨレモクであり、調査期間中の藻場の最大面積は221～5201 m<sup>2</sup>であった(表1)。藻場は夏以降(7～12月)にかけて流れ藻となり、消失した。

海藻藻場のCO<sub>2</sub>吸収係数(ton/ha)は、次式を用いて算出した<sup>3)</sup>。

CO<sub>2</sub>吸収係数=(単位面積当たりの湿重量)×(1-含水率)×(P/B比)×(炭素含有率)×(44/12)×(残存率)×(生態系全体への変換係数)

ここで、P/B比(生産量/現存量)はヤツマタモクとヨレモクのP/B比報告値<sup>4)</sup>の平均値1.5、生態系全体への変換係数は1.5<sup>3)</sup>を適用した。橘湾における海藻藻場のCO<sub>2</sub>吸収係数は、0.020～0.261 ton/haの範囲であり、平均0.11 ton/haであった。

## 参考文献

- 1) 橋本京太郎:大村湾におけるアマモ場の炭素貯留量の測定. *長崎県環境保健研究センター所報*, 68, 112-114(2022).
- 2) 国分秀樹, 他:ブルーカーボン評価に向けた伊勢湾内干潟アマモ場における炭素貯留量の試算, *土木学会論文集 B2(海岸工学)*, **73**, I\_1261-I\_1266(2017)
- 3) ジャパンブルーエコノミー技術研究組合:Jブルークレジット認証申請の手引き-ブルーカーボンを活用した気候変動対策-Ver.2.3, 25-32(2023).
- 4) 水産庁:第3版 磯焼け対策ガイドライン 第2章 藻場とは, <https://fra.repo.nii.ac.jp/record/105/files/2022081945.pdf>, (2024年7月31日アクセス).

# 感染症サーベイランスにおけるウイルス感染症 (2023年度)

松本 文昭、高木 由美香、井原 基、吉川 亮

## Annual Surveillance Report of Viral Infectious Diseases (2023)

Fumiaki MATSUMOTO, Yumika TAKAKI, Motoki IHARA and Akira YOSHIKAWA

キーワード: サーベイランス、インフルエンザ、アデノウイルス、日本紅斑熱  
Key words: Surveillance, Influenza, Human Adenovirus, Japanese spotted fever

### はじめに

感染症発生動向調査(サーベイランス)は、1999年4月1日に施行された「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」(感染症法)に基づき、感染症の発生情報の正確な把握と分析、その結果の国民や医療機関への迅速な提供・公開により、感染症に対する有効かつ確かな予防・診断・治療に係る対策を図り、多様な感染症の発生及びまん延を防止することを目的に実施されている。

長崎県では、2023年4月1日に施行された「長崎県感染症発生動向調査実施要綱」<sup>1)</sup>(県要綱)に基づき、積極的疫学調査の一環として、保健所長が必要と判断した検査を随時対応するとともに、2023年4月からは、県要綱に基づく「病原体サーベイランス実施要領」を新たに定め、県内の医療機関からウイルス性の感染症と診断された患者の検体を毎月収集し、検査対応を行っている。ここでは2023年度に行政検査依頼および病原体サーベイランスとして搬入された検体について、ウイルス遺伝子の検索等を行ったので、その結果について報告する。

### 調査方法

#### 1 検査材料

随時対応の行政検査において、ウイルス性の感染症と疑われた112名の患者から採取された合計249検体を検査材料とした。表1に行政検査依頼として搬入された検体の疾病別内訳を示す。

病原体サーベイランスとして、県内の病原体定点医療機関から提供された587検体(患者587名)を検査材料とした。

いずれの検査においても、臨床検体は管轄保健

所が実施可否を判断のうえで医療機関より回収し、当センターに直接または郵送により搬入された。

#### 2 検査方法

改正された感染症法の施行に伴い、国立感染症研究所が発行した病原体検出マニュアルや参考文献等<sup>2,3)</sup>に準じて、検体の前処理、遺伝子検出、細胞培養、ウイルス分離・同定等について検査標準作業書を作成し、これらに基づき検査した。

### 調査結果及び考察

#### 1 行政検査依頼の対応

##### (1) インフルエンザ(インフルエンザ肺炎を含む)

インフルエンザと診断された10名中8名からインフルエンザウイルスA/H3が検出され、残る2名からはインフルエンザウイルスの遺伝子は検出されなかった。

また、インフルエンザによる肺炎と診断された1名からはA/H1pdm09の遺伝子が検出された。

##### (2) 無菌性髄膜炎

無菌性髄膜炎と診断された14名分の患者検体に対し、エンテロウイルス(Enteroviruses; EVs)およびパレコウイルスの遺伝子検出を実施した結果、9名の検体からEVsの遺伝子を検出した。検出したEVsの塩基配列の一部をダイレクトシーケンス法により決定し、ウイルス型別のためのウェブツール Enterovirus Genotyping tool<sup>5)</sup>により型別した結果、5名がコクサッキーウイルス(CV) B5型、3名がエンテロウイルスA71型(EV- A71)、1名がエコーウイルス3型と同定された。

表1. 行政検査依頼における疾病別の被検者数及び検体件数内訳

疾病名	検査材料(内訳)										
	被検者数 (人)	検体数	咽頭拭い液	鼻腔拭い液	糞便 (直腸拭い)	血液	血清	髄液	尿	痂皮・皮膚	その他
インフルエンザ (インフルエンザ肺炎含む)	11	11	11								
無菌性髄膜炎	14	59	14		14	3	11	14	3		
麻しん・風しん	1	6	2			1	1		2		
急性脳炎・脳症	1	3		1			1		1		
ヒトメタニューモウイルス感染症	4	4	4								
ダニ媒介感染症	73	142				65	41	1		34	1
デング熱、チクングニア熱	1	1					1				
日本脳炎	1	4	1		1		1	1			
その他	6	19	6		5	3		1	3		1
計	112	249	38	1	20	72	56	17	9	34	2

(3) 麻しん・風しん

麻しんと疑われた患者1名分の患者検体に対し、麻しんウイルスおよび風しんウイルスの遺伝子検索を実施したが、いずれも検出されなかった。

(4) 急性脳炎・脳症

急性脳炎・脳症が疑われた1名の患者検体に対し、EVsおよびパレコウイルスのRT-PCRによる検査を実施したが、いずれも検出されなかった。

(5) ヒトメタニューモウイルス感染症

ヒトメタニューモウイルスによる気管支炎や肺炎と診断された患者4名分の検体に対し、遺伝子検索を実施した結果、1名の検体からヒトメタニューモウイルスB2型の遺伝子が検出された。

(6) ダニ媒介感染症

ダニ媒介感染症の検査項目として、重症熱性血小板減少症候群（SFTS）とリケッチア感染症（つつが虫病および日本紅斑熱）を対象としている。

SFTSおよびリケッチア感染症は、臨床症状等により区別することが困難であり、検査項目を限定することができないため、本県では3疾患のうちいずれか一つの診断名であっても3疾患の検査を実施している。これらの3疾患の遺伝子検出は、SFTSウイルス、*Orientia tsutsugamushi*および*Rickettsia japonica*を対象として実施し、ペア血清による抗体価測定は*O. tsutsugamushi*と*R. japonica*を対象として検査を実施している。2023年度において3疾患を疑う患者検体は、73名分142検体であった。

遺伝子検出の結果、7名からSFTSウイルス、10名から*R. japonica*、8名から*O. tsutsugamushi*の遺伝子が検出された。*O. tsutsugamushi*については、血清型別のため、ダイレクトシークエンスにより、56 kDa type specific antigen gene の部分配列を決定し、MEGA6.0<sup>4)</sup>を用いて近隣結合法<sup>5)</sup>による分子系統樹解析を行った。その結果、Kawasakiが1例、Kurokiが7例検出された。

ペア血清による抗体価測定を行った5名のうち1名から*R. japonica*に対する抗体価の有意な上昇、抗体陽転が認められた。他の1名から*O. tsutsugamushi* Kuroki株に対する抗体価の有意な上昇、抗体陽転が認められた。残る3名からは特異的抗体は検出されなかった。

SFTSおよびリケッチア感染症は野外の藪や草むらに潜んでいる病原体を保有しているマダニ類に刺咬されることで感染が成立する。感染予防のためには刺咬されないことが重要であり、具体的には長袖、長ズボンの着用や作業後の着替え、昆虫忌避剤の使用等があげられる。また、屋外活動後はシャワーや入浴でマダニ類に刺咬されていないか確認を行なうことも重要である<sup>6)</sup>。

(7) デング熱、チクングニア熱

デング熱、チクングニア熱を含む蚊媒介性感染症が疑われた1名の患者検体に対し、デングウイルス・チクングニアウイルス、ジカウイルスおよびフラビウイルス属の遺伝子検出を試みたが、いずれも検出されなかった。

(8) 日本脳炎

日本脳炎が疑われた1名の患者検体に対し、日本脳炎ウイルスの遺伝子検出および同ウイルスに対する特異的IgM抗体の検出を試みたが検出されなかった。脳炎・脳症を惹起するウイルスとしてエンテロウイルスおよびパレコウイルスの遺伝子検出を試みたものの、いずれも検出されなかった。

(9) その他

そのほか、県要綱に規定されていない診断名（急性心不全、流行性筋痛症等）の患者検体6名分が搬入された。そのうち、アデノウイルス感染症と診断された1名からコクサッキーウイルスA10型の遺伝子が検出された。また、急性心不全・心筋炎と診断された1名からコクサッキーウイルスB5型の遺伝子が検出された。

2 病原体サーベイランス

搬入された587検体の内訳は、診断名としてインフルエンザ327件、ヘルパンギーナ73件、アデノウイルス感染症51件、咽頭結膜熱33件、流行性角結膜炎33件、RSウイルス感染症30件、感染性胃腸炎15件および手足口病14件であった。

図1に月別の検体搬入数および搬入検体に占める診断名の割合を示す。毎月32件から67件の検体が搬入され、月平均では約48検体が搬入されていた。感染症の流行状況により検体搬入数に占める診断名割合は変化し、4月から8月にかけてはヘルパンギーナの検体数が増加し、9月以降は、県内においても全国と同様に咽頭結膜熱が流行したことから、咽頭結膜熱およびアデノウイルス感染症の診断名が増加していた。

搬入された578検体のうち538検体から検索対象のウイルス遺伝子が検出された。表2に月別の検出ウイルス検出結果を示す。

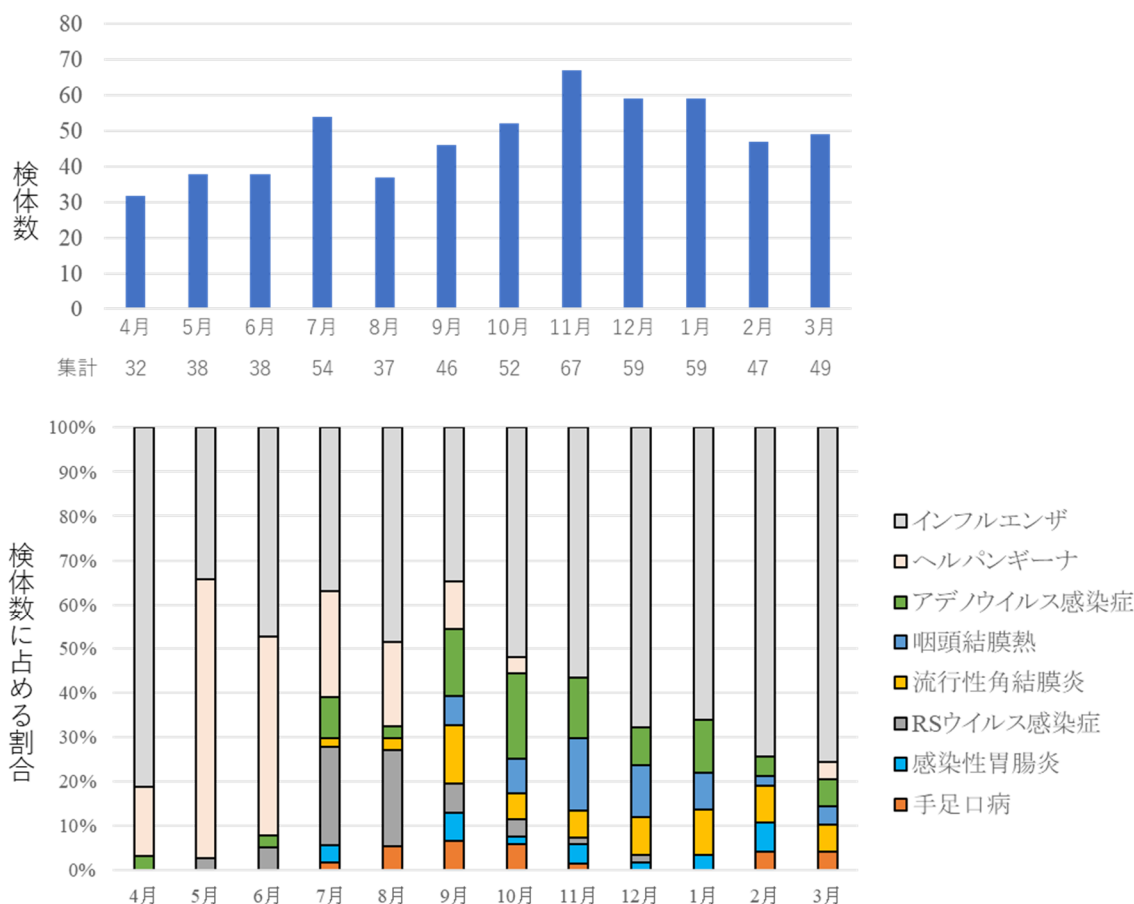


図1 病原体サーベイランスにおける月別検体搬入数および診断名の割合

(1) インフルエンザ

インフルエンザにおいては、搬入された327検体中318検体からインフルエンザウイルスの遺伝子が検出された。A型判定およびB型系統判定の結果、A/H3が206件と最も多く、次いでA/H1pdm09が48件、B/Victoria系統が60件検出、そのほか、重複感染が疑われる事例として、A/H3とSARS-CoV-2の同時検出が1件、A/H3とB/Victoria系統の同時検出が1件、A型陽性だが遺伝子量が少ないため亜型判定できなかった事例が2件であった。

月別のインフルエンザウイルス検出状況を図2に示す。2023年4月から11月まではA/H3が大半を

占めていたが、12月以降は、A/H1pdm09およびB/Victoria系統が混在して検出された。B/Victoria系統の割合は12月以降も上昇し続け、2月検査分から流行の主系統がA/H3からB/Victoria系統に置き換わったことが示唆された。

2023年の長崎県内では、インフルエンザの流行が例年より早い時期から始まり、県感染症対策室は、2023年10月5日にインフルエンザ流行注意報を、11月30日には、インフルエンザ流行警報を発表した<sup>7)</sup>。2024年第11週（3月18日から3月24日）時点においても流行警報は解除されておらず、流行株把握のためのサーベイランスを継続していく必要がある。

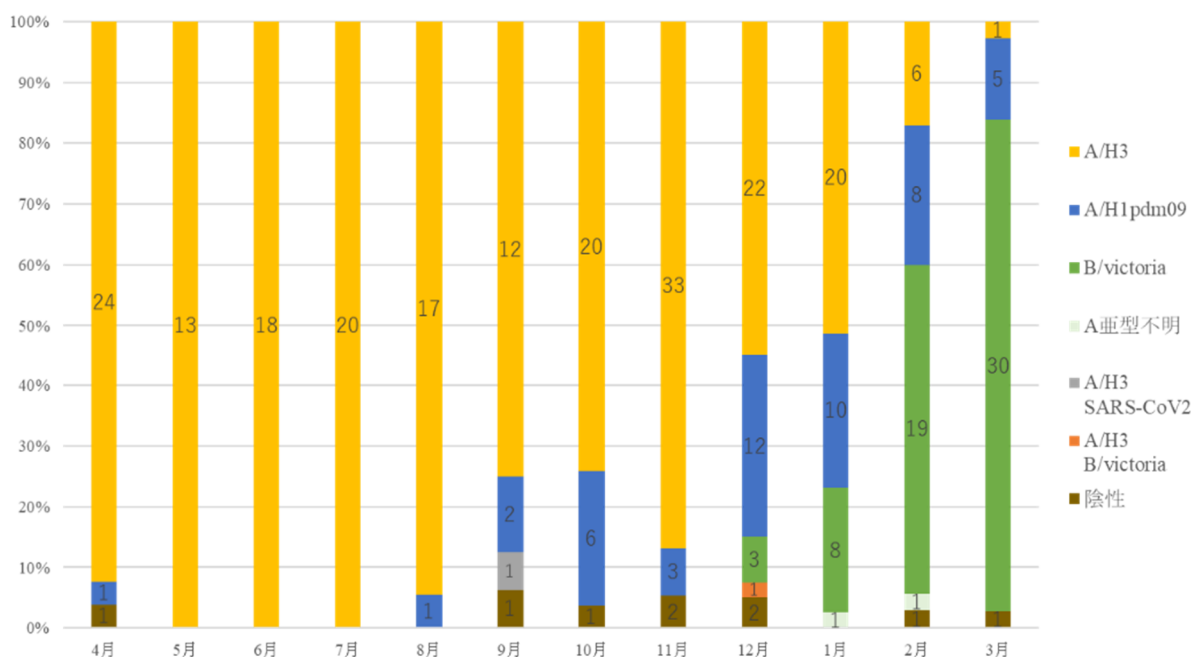


図2 検査月別のインフルエンザウイルス検出割合

(2) 咽頭結膜熱、アデノウイルス感染症および流行性角結膜炎

9月以降に県内における本格的な流行が始まった咽頭結膜熱からは、搬入された33検体すべてからアデノウイルスの遺伝子が検出され、殆どがAdenovirus B3 (Ad-B3)であった。同時期から検体搬入数が増加したアデノウイルス感染症（咽頭炎や扁桃炎含む）においても51件中50件からアデノウイルスが検出され、その大半をAd-B3が占めていた。

また、流行性角結膜炎も33件中31件からアデノウイルスが検出され、そのうち過半数をAd-B3が占めていた（図3）。

国立感染症研究所の病原微生物検出情報（IASR）によると、2023年から2024年にかけて咽頭結膜熱や流行性角結膜炎から検出されたアデノウイルスはAd-B3が多く検出されており、本県においても全国的な流行と同様の傾向を示していたと考えられる<sup>8)</sup>。

(3) ヘルパンギーナおよび手足口病

春先から流行が始まったヘルパンギーナは、75検体中54検体からエンテロウイルス属の遺伝子を検出した。内訳は、CV-A2が25件、CV-A10が16件、CV-A4が4件、CV-A6が3件、CV-B5が2件、ライノウイルスAが3件、ライノウイルスBが1件で

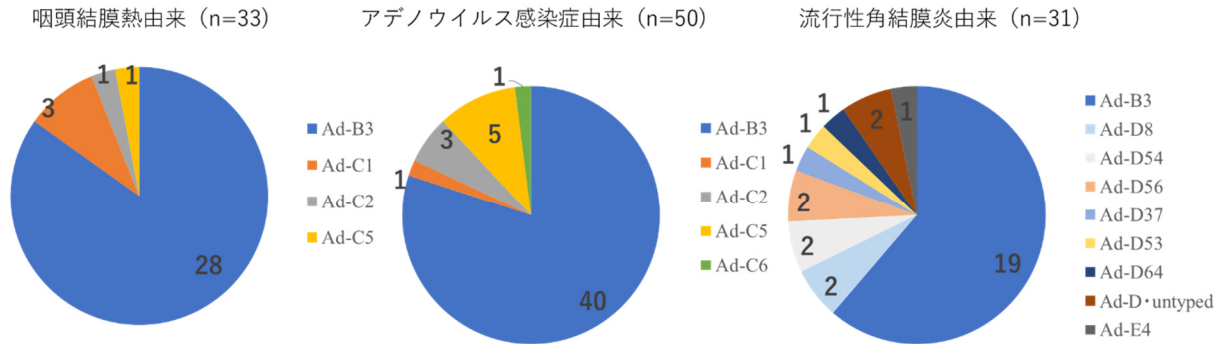


図3 診断名別のアデノウイルス検出数

あった。

手足口病においては、搬入された14検体中11検体からエンテロウイルス属の遺伝子を検出し、内訳はCV-A6が6件、EV-A71が4件、CV-A2が1件であった。

IASRによると、2023年は、ヘルパンギーナからはCV-A2が流行の主流として検出されていた。手足口病については、検出報告数が例年と比べて少ないものの、EV-A71を含めたいくつかの種類のエンテロウイルスが混在して検出されている<sup>9)</sup>。

他の病原体サーベイランス対象疾患の検出状況については、表2を参照されたい。

本事業の適切かつ確実な遂行のためには、医療機関、保健所および地方衛生研究所である当センターが連携して本事業に取り組む必要があり、それらの達成が特殊な病原体に対する注意喚起等の行政施策、ひいては県民の感染症に対する意識向上につながると考えられる。

### 謝 辞

感染症発生動向調査にご協力頂いた各定点医療機関および協力医療機関の諸先生、検体の収集および搬入にご協力頂きました長崎市、佐世保市、県立各保健所の関係諸氏に深謝する。

### 参 考 文 献 ・ 脚 注

1) 長崎県感染症情報センター: 長崎県感染症発生動向調査実施要綱, <https://www.pref.nagasaki.jp/bunrui/hukushi-hoken/kansensho/kansen-c/hasseidoukou/> (2024.3.30)

2) 国立感染症研究所: 病原体検出マニュアル, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/labo-manual.html> (2024.3.30)

3) 国立感染症研究所 (厚生労働科学研究 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「現在、国内で分離・同定できないウイルス性出血熱等の診断等の対応方法に関する研究」班): SFTS ウイルス検出マニュアル, (2013).

4) Tamura K, *et al.*: MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0, *Mol Biol Evol*, **30**(12), 2725-29, (2013).

5) Saitou, N, *et al.*: The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol Biol Evol*, **4**, pp406-425 (1987).

6) 国立感染症研究所: マダニ対策、今できること, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/sfts/2287-ent/3964-madanitaisaku.html> (2024.3.30)

7) 長崎県感染症対策室: インフルエンザ流行注意報・警報, <https://www.pref.nagasaki.jp/bunrui/hukushi-hoken/kansensho/kansenshou/influ/> (2024.3.30)

8) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報 アデノウイルス分離検出情報, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/510-graphs/1535-iasrgv-aden.html> (2024.3.30)

9) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報 夏の疾患(ヘルパンギーナ/手足口病), <https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr/510-surveillance/iasr/graphs/4892-iasrgnatus.html> (2024.3.30)

表2 病原体サーベイランスにおける月別ウイルス検出結果

診断名	検出ウイルス	2023										2024		
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
インフルエンザ	Influenza A/H1 pdm09	1				1	2	6	3	12	10	8	5	
	Influenza A/H3	24	13	18	20	17	13	20	33	23	20	6	1	
	Influenza A -NT										1	1		
	Influenza B/Victoria									4	8	19	30	
RSウイルス感染症	RSvirus subgroup A (genotype: ONI)				5	2	2	2						
	RSvirus subgroup B (genotype: BA9)		1	2	7	6	1							
	RSvirus subgroup B (genotype: BA11)								1	1				
咽頭結膜熱	Adenovirus 1								1				2	
	Adenovirus 2									1				
	Adenovirus 3						3	4	10	5	5	1		
	Adenovirus 5									1				
感染性胃腸炎	Norovirus GII.4								1			1		
	Rotavirus G8											1		
	Sapovirus GI.1										1			
	Adenovirus 3						1							
	Adenovirus 41				1									
	Coxsackievirus A6								1					
	Coxsackievirus A10							1						
	Human Parechovirus 1				1				1					
	Human Parechovirus 3							1						
Human Parechovirus 6										1				
手足口病	Coxsackievirus A2					1								
	Coxsackievirus A6				1		1	1	1			1	1	
	Enterovirus A71						2	1					1	
ヘルパンギーナ	Coxsackievirus A2	2	14	4	5									
	Coxsackievirus A4			3		1								
	Coxsackievirus A6					1	1						1	
	Coxsackievirus A10	1	2	4	3	2	3	1						
	Coxsackievirus B5		1			1								
	Adenovirus 3													
	Human Rhinovirus		2	1					1					
流行性角結膜炎	Adenovirus 3						4	2	2	2	4	2	3	
	Adenovirus 4							1						
	Adenovirus 8						1					1		
	Adenovirus 37										1			
	Adenovirus 53						1							
	Adenovirus 54									2				
	Adenovirus 56					1			1					
	Adenovirus 64				1									
Adenovirus NT									1	1				
その他 (扁桃炎、アデノウイルス感染症等)	Adenovirus 1		1											
	Adenovirus 2				2			1						
	Adenovirus 3						6	8	9	5	7	2	3	
	Adenovirus 5				3	1		1						
	Adenovirus 6							1						

NT: 型不明



# 長崎県環境保健研究センターにおける 新型コロナウイルスのゲノム解析 (2023年度)

松本 文昭, 井原 基, 高木 由美香, 山口 結奈, 蔡 国喜, 右田 雄二, 吉川 亮

## Overview of whole genome analysis for SARS-CoV-2 in Nagasaki Prefectural Institute of Environment and Public Health (2023)

Fumiaki MATSUMOTO, Motoki IHARA, Yumika TAKAKI, Yuina YAMAGUCHI,  
Guoxi CAI, Yuji MIGITA and Akira YOSHIKAWA

キーワード : SARS-CoV-2、新型コロナウイルス感染症、変異株、ゲノム解析  
Key words : SARS-CoV-2, COVID-19, Variants, Whole genome analysis

### はじめに

2019年12月に中国湖北省で発生したSARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) による新型コロナウイルス感染症 (Coronavirus disease of 2019: COVID-19)は、その後、世界各地に広がり、世界的なパンデミックとなった。さらに、SARS-CoV-2が変異を繰り返した結果、感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される変異株 (Variants of Concern = VOC)が出現し、世界保健機関 (World Health Organization: WHO)を中心として世界的なサーベイランス体制が取られている<sup>1)</sup>。

我が国においても国立感染症研究所がWHOの評価を参考にいくつかの変異株をVOCに位置付け、発生動向を監視してきたが、2023年4月21日現在、オミクロンをVOCに位置付けている<sup>2)</sup>。

長崎県内では、2023年5月8日にCOVID-19の感染症法上の位置付けが5類感染症に変更されたことに伴い、COVID-19患者発生に伴う積極的疫学調査の一環として、保健所長の判断により行われてきた接触者調査が終了した。しかし、新たな変異株の流行を監視するため、国は新型コロナウイルスのゲノム解析の継続を要請しており、それに対応するため県内8か所の医療機関および2か所の民間検査機関の協力のもと、「新型コロナウイルスゲノムサーベイランス」を実施してきた。

当センターでは既報<sup>3)</sup>のとおり2020年2月から行政検査対応を、2021年7月からゲノム解析を開始しており、ここでは、2023年4月以降のゲノム解析結果について報告する。

### 材料および方法

#### 1 調査期間

2023年4月1日から2024年3月31日とした。

#### 2 供試検体

##### (1) 対象検体

調査対象者から採取された鼻咽頭ぬぐい液等の上気道由来検体および唾液を検査材料とした。それらの検体は、医療機関や民間検査機関において採取され、自施設において遺伝子検査または抗原定量検査を実施のうえ、十分な遺伝子量があると見込まれた検体を選別し、直接当センターに郵送された。そのようにして集められた延べ571検体を解析対象とした。

##### (2) ゲノム解析用検体の選別

解析に供する検体は、上記送付検体を対象に当センターで実施したreal time PCR検査でSARS-CoV-2遺伝子陽性かつゲノム解析に必要なと考えられるRNA量 (real time PCRにおいてCt値27以下)が見込まれるものを選別した。すなわちゲノムサーベイランスのために提供された571検体のうち上記条件に合致した482検体をゲノム解析に供した。

#### 3 方法

SARS-CoV-2の全塩基配列解析に基づく変異株の発生動向監視のため、次世代シーケンサー (Next Generation Sequencer: NGS)によるゲノム解析を既報<sup>3)</sup>に基づき行った。

### 結果

ゲノム解析に供した482検体から313株のSARS-CoV-2ゲノムを決定した。決定した配列のPangolinによる系統分類の結果を図1および図2に示す。

分類の結果、オミクロン株のBA.2系統が計26株(BA.2.3.20系統3株、BA.2.75系統6株、BA.2.86系統17株)、BA.5系統が2株、BA.5から派生したBQ.1系統が11株、BJ.1系統とBM.1.1.1系統の遺伝子組み換え体(リコンビナント)であるXBB系統が計125株

(XBB.1.5系統15株、XBB.1.16系統39株、その他のXBB系統71株)、XBB.1.9.2から派生したEG.5系統が86株、BA.2.86系統から派生したJN.1系統が42株、BA.2.86系統とFL.5系統のリコンビナントであるXDQ系統が19株、その他のリコンビナントが2株であった。

オミクロン株の経時的推移をみると本県では、解析月による差はあるものの、調査期間中は複数の系統が混在して検出されていた。

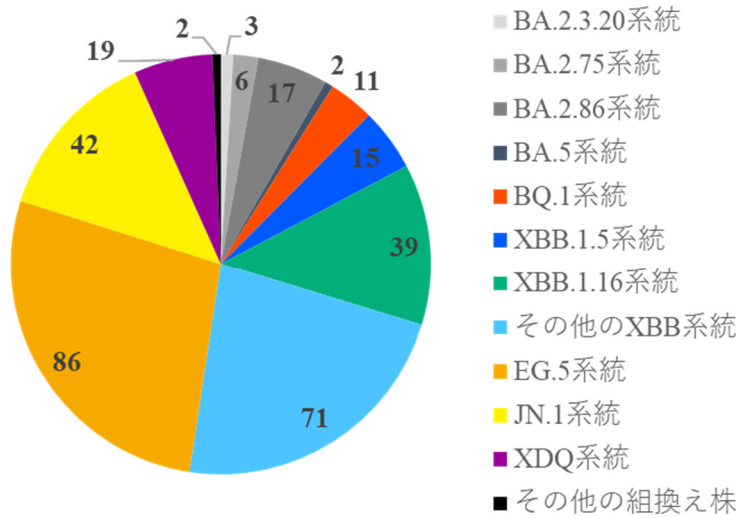


図1 令和5年度SARS-CoV-2ゲノムサーベイランスにおける系統解析結果 (n=313)

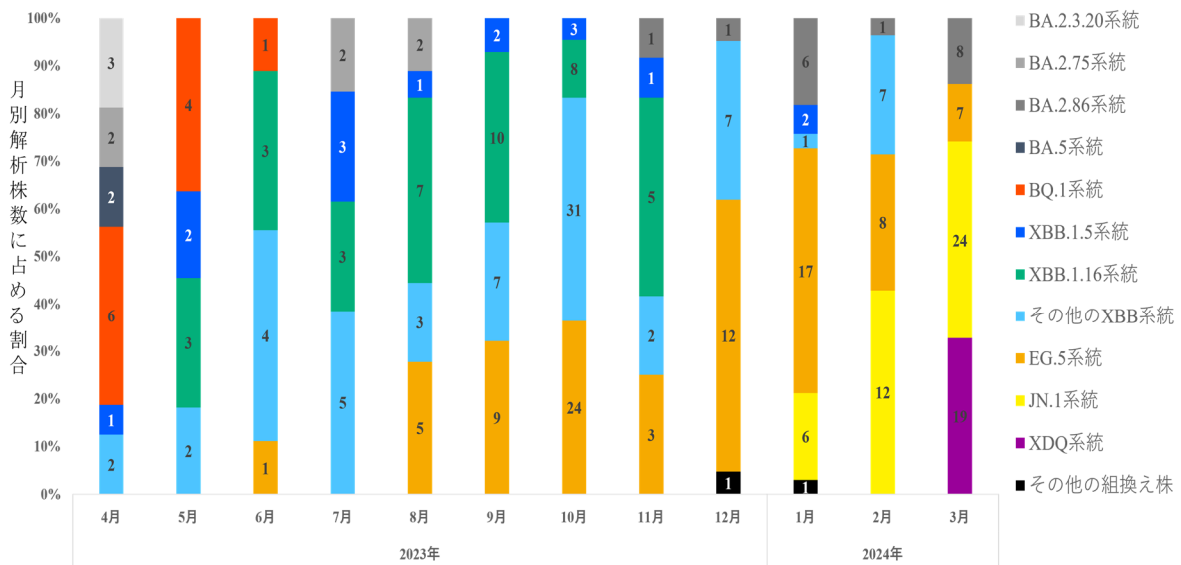


図2 令和5年度SARS-CoV-2ゲノムサーベイランスにおける月別検出系統割合 (n=313)

## 考 察

調査期間中における解析検体数は、2021年の1,056検体<sup>3)</sup>、2022年の1,447検体<sup>4)</sup>から大幅に減少し、571検体であった。これは、ゲノムサーベイランスにおいては、医療機関等における検査を経て選別された検体が搬入されるが、2023年5月8日に、COVID-19の感染症法上の位置づけが5類定点把握感染症に変更されたことで、これまでのような全数把握とそのため必要な検査診断の機会が減少したことが影響したと考えられた。

長崎県におけるゲノム解析に基づく系統分類の結果、調査期間中においては、本県では異なる系統のオミクロン株が混在して流行していたことが示唆され、過去の流行時のように特定の系統が支配的となる状況はみられなかった。

国立感染症研究所による民間検査機関等からの検体を解析した結果<sup>5)</sup>では、2023年4月から8月にかけて国内ではBA.2, BA.5, XBB系統等複数の系統が同時に流行していたが、8月以降はEG.5系統の占める割合が増加し、流行の主系統になった。その後、年末年始を境にJN.1系統の検出割合が急増して流行の主系統が置き換わっており、本県における解析では流行の主系統とはならなかったものの、EG.5系統、JN.1系統ともに検出され始めた時期は概ね全国と同様の傾向を示していた。

県内では3月に初めて検出されたXDQ系統は、全国的には3月末時点でJN.1系統とその亜系統に次ぐ広がりを見せており<sup>6)</sup>、今後の動向を注視する必要がある。

感染症法上の位置づけ変更に伴い、COVID-19に対する多くの対応が変化した。しかしながら、位置づけ変更後においても、新たなVOCの出現に注意することが必要であることから、引き続きゲノムサーベイランスを実施することが国から求められている<sup>7)</sup>。平時のサーベイランス体制におけるルーチンワークに加えて、変異株の動向把握のためのゲノム解析についても引き続き実施していく必要がある。

## 謝 辞

解析用検体の収集および搬入にご協力頂いた各医療機関の諸先生、医療従事者等の関係諸氏に深謝する。

## 参 考 文 献

- 1) World Health Organization: Tracking SARS-CoV-2 variants, <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/> (2024.7.3 Accessed)
- 2) 国立感染症研究所: 感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の変異株について (第26報), <https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2551-ccpr/11879-sars-cov-2-26.html> (2024.7.3 Accessed)
- 3) 長崎県環境保健研究センター所報 67, (2021) 報文, 長崎県環境保健研究センターにおける新型コロナウイルス検査の概要 (2021年度)
- 4) 長崎県環境保健研究センター所報 68, (2022) 資料, 長崎県環境保健研究センターにおける新型コロナウイルス検査の概要 (2022年度)
- 5) 国立感染症研究所, 新型コロナウイルス感染症サーベイランス週報 (2024年第14週), [https://www.niid.go.jp/niid/images/epi/covid19/pdf/COVID-19\\_2024w14.pdf](https://www.niid.go.jp/niid/images/epi/covid19/pdf/COVID-19_2024w14.pdf) (2024.7.3 Accessed)
- 6) 国立感染症研究所, IASR Vol. 45 p85-86: 2024年6月号 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 2024年4月現在, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2547-idsc/iasr-topic/12721-532t.html>  
厚生労働省, 新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査におけるゲノム解析及び変異株PCR検査について (要請) の一部改正について, (感感発0319第2号 令和6年3月19日)

# 長崎県における結核菌の分子疫学解析(2020～2023)

右田 雄二、山口 結奈、吉川 亮

## Molecular epidemiological study of *Mycobacterium tuberculosis* in Nagasaki Prefecture (2020～2023)

Yuji MIGITA, Yuina YAMAGUCHI and Akira YOSHIKAWA

キーワード：結核菌、VNTR、遺伝系統、分子疫学

Key words: *Mycobacterium tuberculosis*, Variable numbers of tandem repeats, Genetic lineage, Molecular epidemiology

### はじめに

結核は、結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*)によって引き起こされる感染症で「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」において、二類感染症に指定されている。2016年11月の「結核に関する特定感染症予防指針」<sup>1)</sup>の改正では2020年までに日本の結核罹患率を低蔓延の水準(罹患率10以下)まで引き下げる目標が示された。2022年の新規登録結核患者数は10,235人で、罹患率(人口10万対)は8.2<sup>2)</sup>まで低下し、わが国もついに低蔓延国となった。本県においても罹患率は年々低下しているが、国内では罹患率の高い地域であり、同年の新登録結核患者数137人、罹患率10.7<sup>3)</sup>であった。

本県では2012年から感染症法第15条の積極的疫学調査の一環として、長崎県結核菌分子疫学調査実施要領に基づき、VNTR(Variable Numbers of Tandem Repeats)法による遺伝子型別を実施している。今回、2020年4月～2024年3月までに長崎県内において発生した結核患者のうち結核病床を有する医療機関から収集した176株(長崎市分は長崎市保健環境試験所が実施)について、VNTR法による遺伝子型の解析を実施した。このうち疫学的関連性が確認された事例を中心に報告する。

### 対象および方法

#### 1 VNTR分析の方法

県内の結核病床を有する医療機関から分離された結核菌株176株(熱処理済み:95～105℃、10分)を分析対象とした。鋳型DNAはフェノールクロロホ

ルム処理後、エタノール沈殿法により精製した。VNTR領域ごとの反復回数の測定方法は「結核菌VNTRハンドブック」<sup>4)</sup>に準拠し、JATA12領域にJATA(15)3領域(QUB-11a, ETR A, QUB-18)<sup>5)</sup>および超可変3領域(QUB-3232, VNTR3820, VNTR4120)<sup>6)</sup>を加えた合計18領域のプライマー対を使用した。PCRの反応条件は、95℃で2分加熱後、95℃30秒、63℃30秒、72℃90秒のサイクルを35回実施し、最後に72℃で7分加熱した。PCR増幅産物は0.5×TBE緩衝液を用いた2% Nusieve 3:1 Agarose(Lonza社)のアガロースゲルを使用し、Mupid@-One(Mupid社製)を用いて、100V 60～120分間の条件下で電気泳動を行った。サイズマーカーにはO' RangeRuler 100bp+500bp DNA Ladder(Thermo Fisher Scientific社)を使用した。泳動後のゲルはエチジウムブロマイドで染色した後に紫外線照射下で撮影した。こうして得られた各領域それぞれのPCR増幅産物の分子量サイズから反復配列回数を算定した。

#### 2 遺伝系統

分析した各菌株のVNTRプロファイルを山形県衛生研究所より提供された最大事後確率(maximum a posteriori: MAP)推定法による解析プログラムを用いて、北京型株5型〔祖先型4型(ST11/26, STK, ST3, ST25/19)および新興型〕と非北京型株<sup>7)</sup>に分類した。これら解析結果をサーベイランス対象地域(県南、県央、長崎市、県北・佐世保市)別、年齢階級別に整理した。

3 分子疫学解析事例

VNTRプロファイルが同じ菌株群については、患者の発生届や保健所による患者間の行動歴等の疫学調査結果と照合し、感染経路の解析を試みた。

結果および考察

1 遺伝系統

解析した176株のうちサーベイランス対象4地域164株の系統解析結果を地域別(表1-1)、年齢層別(表1-2)に示した。全地域では、北京型(Bj)が125株(76%)、北京型のうち祖先型(Ancient)が84株(67%)、新興型(Modern)が41株(33%)であった。この結果は、わが国の北京型株の7~8割は祖先型との報告<sup>8,9)</sup>と概ね合致した。しかし2012年4月~2019年3月集計結果<sup>10)</sup>と比較すると、新興型87株(23%)に対して、直近3年では41株(33%)と新興型の検出割合が増加していた。地域別では、県北・佐世保市で新興型が20株(39%)、長崎市で非北京型(nBj)が14株(33%)と、他の地域よりも高い割合であった。年齢層別では、81歳以上で祖先型53株(71%)、61-80歳で祖先型24株(65%)と若い年齢層よりも高い傾向にあった。一方、41-60歳では新興型が4株(57%)、41歳未満では非北京型が5株(45%)と高い割合であった。非北京型5株については、

いずれも20代でフィリピン、ネパールおよびインドネシアの外国出生者由来であった。

新興型は国内では若年層に多く、祖先型よりも感染伝播・発病しやすい型、非北京型株は都市部において外国人患者から多く分離される型と報告<sup>8,9)</sup>されている。本県においても同様な傾向がみられた。

2 分子疫学解析事例

本研究期間に解析した176株のVNTRプロファイルを2012年4月以降に解析した菌株のVNTRプロファイルと照合した結果、31クラスターが確認されたが、過去10年を超えるVNTRプロファイルとの照合であるため、多くの疫学的関連性は不明であった。患者間で疫学的関連性が確認された事例を示す(表2)。その内訳は施設内感染(疑い含む)3事例(No.1、No.2、No.4)と家族・職場間感染1事例(No.3)の合計4事例であった。No.1は高齢者施設内における入所者間感染事例、No.2は医療機関併設型の介護医療院における再感染事例、No.4は障害者施設における入所者から職員への感染事例であった。No.3は夫婦間感染と扱われたが、その後発症した職場の同僚も同じVNTRプロファイルであった。

表1-1 サーベイランス対象地域における遺伝的特徴

地域区分 n=164	平均 年齢	北京型株					非北京型株		
		祖先型 (Ancient)				新興型 (Modern)	合計(%)*	合計(%)*	
		ST11/26	STK	ST3	ST25/19				合計(%)**
県南	81	3	1	6	4	14 (74)	5 (26)	19 (83)	4 (17)
県央	82	2	4	5	9	20 (74)	7 (26)	27 (73)	10 (27)
長崎市	80	1	4	5	9	19 (68)	9 (32)	28 (67)	14 (33)
県北・佐世保市	77	5	7	4	15	31 (61)	20 (39)	51 (82)	11 (18)
合計		11	16	20	37	84 (67)	41 (33)	125 (76)	39 (24)

合計(%)\*: 全株内で占める割合      合計(%)\*\*: 北京型株内で占める割合

表1-2 各年齢階級における遺伝的特徴

年齢区分 n=164	北京型株					非北京型株		
	祖先型 (Ancient)				新興型 (Modern)	合計(%)*	合計(%)*	
	ST11/26	STK	ST3	ST25/19				合計(%)**
41歳未満	1	0	0	3	4 (67)	2 (33)	6 (55)	5 (45)
41-60歳	0	0	2	1	3 (43)	4 (57)	7 (100)	0 (0)
61-80歳	2	4	5	13	24 (65)	13 (35)	37 (88)	5 (12)
81歳以上	8	12	13	20	53 (71)	22 (29)	75 (72)	29 (28)
合計	11	16	20	37	84 (67)	41 (33)	125 (76)	39 (24)

合計(%)\*: 全株内で占める割合      合計(%)\*\*: 北京型株内で占める割合

表2 疫学的関連性が確認された事例

事例 No.	菌株 No.	JATA (12)										JATA (15)				超可変領域		亜種系統	発症年	疫学関連		
		01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	QUB-11a	ETR-A	QUB-18	3232				v3820	v4120
1	S0418	4	3	3	3	3	3	5	4	5	7	8	4	20↑	20↑	4	13	18	15	STK	2020	施設内感染疑い (入所者間)
	S0476	4	3	3	3	3	3	5	4	5	7	8	4	20↑	20↑	4	13	18	15			
	S0555	4	3	3	3	3	3	5	4	5	7	8	4	20↑	20↑	4	13	18	15			
2	S0634	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	10	8	4	11	12	11	ST25/19	2022	施設内感染疑い (患者⇒看護師⇒患者)
	S0687	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	10	8	4	11	12	11		* S0687は2014年にnBjに感染歴あり 今回、ST25/19型に再感染	
3	S0057	4	3	3	2	7	3	7	4	5	7	10	5	10	5	4	15	12	8	ST25/19	2013	家族内感染(夫婦間) 職場内感染疑い
	S0090	4	3	3	2	7	3	7	4	5	7	10	5	10	5	4	15	12	8			
	S0694	4	3	3	2	7	3	7	4	5	7	10	5	10	5	4	15	15	8			
4	S0430	4	3	7	3	5	3	7	4	5	7	8	3	8	8	4	14	14	9	Modern	2018	施設内感染疑い (入所者⇒職員)
	S0718	4	3	7	3	5	3	7	4	5	7	8	3	8	8	4	14	14	9			

3 再感染事例について

医療機関併設型の介護医療院における再感染事例(No.2)について示す(図1)。当該施設で勤務する看護師Cが2022年1月に発症した後、入所者Aが2023年4月に発症した。両名ともST25/19型でVNTRプロファイルは完全に一致したが、看護師Cと入所者Aは、感染性期間において接触歴がまったくなかったことから、双方とも結核と診断されない別の入所者から感染した可能性が高いと考えられた。入所者Aについては、2014年8月に非北京型株への感染履歴があり、同時期に同じ施設にいた入所者Bも非北京型株に感染していた。この両名の接触歴は不明であるが、VNTRプロファイルが超可変領域1領域(VNTR3820)違いで類似しており感染の可能性が考えられた。入所者Aについては再燃を疑っていたが、異なる遺伝子型の結核菌による再感染であることが判明した。

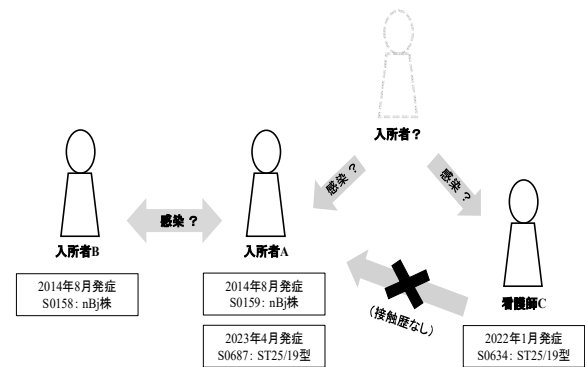


図1 再感染事例について

さらに、これまで高齢者は再燃が多く、再感染事例は少ないと考えられていたが、VNTR法による分子疫学解析により再感染事例が明らかとなった。

最後に、本報告による分子疫学解析事例を通して、これまでの実地疫学だけでは推定の域を出なかった感染経路の証明、未知の感染経路の発見、再燃・再感染の鑑別および散发事例の確認がある程度可能となった。このように分子疫学解析による事例検討を進めることで、保健所は接触者健診の適正な範囲を選択し、重点的に取り組むべき対策を明確にする根拠になり得ると思われる。

謝辞

本事業を遂行するにあたり、疫学情報、解析データおよび菌株の提供等にご協力いただきました県地域保健推進課、各保健所、長崎市保健環境試験所並びに協力医療機関の関係諸氏にお礼を申し上げます。

参考文献

1) 厚生労働省:結核に関する特定感染症予防指針

まとめ

2020年4月～2024年3月の本県における新登録結核患者由来176株の分子疫学解析結果を取りまとめた。県内結核菌の北京型株祖先型の出現割合は全国と同じ傾向であったが、新興型は長崎市・佐世保市の都市部で比較的若い年齢層に多く、非北京型株は若い外国出生者に多かった。これまでコロナ禍で外国からの入国が制限されていたが、2022年3月以降は入国が可能となった。今後、結核患者の多い国からの留学生や技能実習生などの中長期の滞在予定者に対しては入国前検査が義務化されるが、訪日後に発症するケースもあり、外国人結核対策を強化する必要があると思われる。

- の一部改正について(平成28年11月25日)
- 2) 公益財団法人結核予防会結核研究所疫学情報センター<http://www.jata.or.jp/rit/ekigaku/> (2024.6.5アクセス)
  - 3) 長崎県：長崎県の結核(2023)：<https://www.pref.nagasaki.jp/shared/uploads/2024/02/1708913907.pdf> (2024.6.5アクセス)
  - 4) 地研協議会保健情報疫学部会マニュアル作成ワーキンググループ編：結核菌VNTRハンドブック(2012)
  - 5) 岩本朋忠：結核菌北京型ファミリーの集団遺伝学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, *Kekkaku*, **84**, 755-759(2009)
  - 6) Iwamoto T et al.: Hypervariable loci that enhance the discriminatory ability of newly proposed 15-loci and 24-loci variable-number tandem repeat typing method on *Mycobacterium tuberculosis* strains predominated by the Beijing family, *FEMS Microbiol., Lett.*, **270**, 67-74(2007)
  - 7) 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)
  - 8) 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*, **329**(2009)
  - 9) 岩本朋忠：結核菌北京型ファミリーの集団遺伝学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, *Kekkaku*, **84**, 755-759(2009)
  - 10) 右田 雄二, 他：長崎県における結核菌の分子疫学解析(2012～2019), 長崎県環境保健研究センター所報, **65**, 53～59(2019)