
東京都微生物検査情報

MONTHLY MICROBIOLOGICAL TESTS REPORT, TOKYO

第45巻 第1号
2024年1月号
月 報



東京都健康安全研究センター

<https://idsc.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/>

ISSN 1883-2636

梅毒トレポネーマの遺伝子型別法（2023年度）

梅毒は梅毒トレポネーマ (*Treponema pallidum*) を起因菌とし、主に性的接触によって感染伝播する性感染症である。世界保健機構 (WHO) からは、全世界で2018年を基準として2030年までに罹患率を90%減らすこと、および80%以上の国において先天梅毒罹患率を出生数10万人あたり50例以下にすることが目標として掲げられている¹⁾。

我が国においても古くから梅毒に対しては症例数の調査が行われており、1928年に花柳病予防法、1948年に性病予防法、1999年からは感染症法の中で全数把握対象疾患の5類感染症に設定している。東京都においても近年、全数把握疾患の中では最も多くの報告数を梅毒が占め、その数は概ね増加傾向にある²⁾。梅毒感染を確認する手段としては、保険収載されている抗体検査法が確立されている。また、標準治療薬であるペニシリンについても今日まで耐性株は確認されていなく、本疾病に関しては早期発見、早期治療が原則的な対処法であるといえる。

東京都では、梅毒の早期の発見・治療につなげるべく保健所、東新宿検査・相談室等で梅毒の無料匿名検査を実施し、その一部について東京都健康安全研究センターでも抗体検査を実施している³⁾。その一方、報告数の継続的な増加に伴い、流行株の探知や感染経路の特定に向け菌型別がこれまで以上に求められる状況となってきた。通常、菌型別には分離菌と抗血清を用いた凝集反応、あるいは分離菌から抽出したDNAを対象とした遺伝子型別法が用いられる。しかし、梅毒に関しては原因菌である梅毒トレポネーマの培養が検査室レベルで極めて困難であることから、臨床検体から分離することなしに直接PCR反応を行う遺伝子型別法が主流である(図1)。ただし、PCRを行うには病原体の存在が疑われる病変部を拭うことが重要であり、採取後直ちに検査しない場合は検体を冷凍保管しておくなど注意して執り行う必要がある。また、遺伝子型別に先立ち、*polA* 遺伝子およびTpN47遺伝子を対象としたPCR検査により、検体中に梅毒トレポネーマが含まれているこ

とを確認する必要がある。以下、臨床検体を用いた3種類の遺伝子型別法を紹介する。

1. Enhanced Centers for Disease Control and Prevention (ECDC) 法 (表1)

1998年に米国CDCより発案された2つの型別⁴⁾、すなわち *arp* 遺伝子におけるリピート数の測定と *tprEGJ* 遺伝子における制限酵素切断パターンの解析 (RFLP) に加え、2010年に発表された tp0548 遺伝子の塩基配列解読の3種類を組み合わせる遺伝子型を決定する方法である⁵⁾。いずれも臨床検体から抽出したDNAを鋳型とし、各プライマーにより増幅したPCR産物について二次的な分析を行う。遺伝子型の標記の方法は、例えば *arp* のリピート数が14、*tprEGJ* のRFLPパターンがa、tp0548の塩基配列パターンがbとなれば「14a/b」となる。全世界において2011年の時点で少なくとも3,000以上の臨床検体を型別した実績があり⁶⁾、我が国においては、少なくとも2017年までは14d/fが主流の型と報告されている⁷⁾。14d/fは神経梅毒患者から多く検出されるという報告もある⁶⁾。また、世界各地で見られる梅毒トレポネーマは、大きくはNichols株系統とSS14株系統に分かれているところ、本法におけるtp0548の塩基配列パターンはこれらの系統分類を反映し、14d/fはSS14株系統に含まれるとされる⁷⁾。

2. Multilocus Sequence Typing (MLST) 法 (表2)

本法は多くの細菌種に用いられている方法であり、各菌種で系統分類に適した配列多様性をもつ複数の遺伝子の一部をPCRで増幅後、塩基配列解読し、それらの配列パターンの組み合わせによって型別する方法である。各配列パターンや、組み合わせで得られる遺伝子型 (ST: Sequence Type) は公共データベース化され、自身が分析した株と同様の遺伝子型が過去に報告されているかを調べることが可能である⁸⁾。2023年11月の時点で約1,700程度の検体の分析結果が公共データ

ベースに登録されている。梅毒トレポネーマに関する MLST 法について現行用いられている方法は、2006 年に発案された Sequencing-based molecular typing (SBMT) 法の発展形であり、ECDC 法にも用いられた tp0548 遺伝子に加えて tp0136 遺伝子、tp0705 遺伝子の 3 遺伝子を配列解読の対象としている⁹⁾。本法も Nichols、SS14 の二系統を反映した結果となるが、SBMT に比べて SS14 株系統の解像度が改善されている。また、ECDC 法では同一患者から得られた異なる検体（皮膚ないし粘膜と全血）において *arp* や *tprEGJ* の結果が異なる場合があるものの、本法では検体間で安定した結果が得られるため分子疫学解析においてより有用とする報告もある^{9,10)}。

3. 全ゲノム解析法

菌のゲノム全長に渡り塩基配列を解読する、最も解像度の高い方法である。一般的に、細菌のゲノム解析には目的とする生物以外を由来とする DNA のコンタミネーションが分析の妨げになるため菌の分離が欠かせない。しかし、前述した通り、梅毒トレポネーマは培養困難な菌であるため、ゲノムデータはほとんど蓄積されてこなかった。そこで近年、一般的には純培養を必要とするゲノム解析を、培養することなしに臨床検体から直接実施する Target enrichment 法が開発された。具体的には複数の生物由来の配列が混在した中から RNA ベイトと呼ばれるキャプチャプローブを用いて梅毒由来の配列を特異的に回収する方法であるが、これにより、梅毒に対しても多くのゲノムデータが得られるようになってきた^{11,12)}。

全ゲノム解析法では解像度の高さに加え、検体採取年と組み合わせて分岐年代推定を実施することで、各系統が過去のどの時期に出現したのかを推測することができる^{11,12)}。これにより、2017 年から 2018 年に東京、大阪で採取された検体に含まれる梅毒トレポネーマのうち、SS14 株系統に関しては欧米に比べて東アジア由来と近縁であるものの、国内由来同士はさらに近縁で直近の年代に分岐したことが推察された¹¹⁾。

本法の欠点として、試料中に十分な量の対象生物の DNA が含まれている必要がある点が挙げられる。例えば、Target Enrichment 法をクラミジア・トラコマチスに適用した場合は 1 μ L あたり少なくとも 10⁴ 個以上の菌が含まれた DNA 試料の

みが全ゲノム解読に成功した¹³⁾。一般的に PCR 反応は最適化された条件においては 1 個から検出できるため、PCR 反応を利用する ECDC 法や MLST 法に比べると全ゲノム解析法は感度が劣ると考えられる。さらに、情報量の多さ、複雑さから、解析作業を行うためには一定の熟練を要するとともに、適切な処理速度のパソコンが必要とされる。

このように、梅毒における遺伝子型別にはいくつかの方法が報告されているが、ECDC 法や MLST 法は全ゲノム解析法に比べて解像度が劣るものの PCR 反応を基としているため感度が良く、さらに、分析した時点で遺伝子型という一定のグループ分けが済む利便性がある。流行株の俯瞰的かつ継続的な探知には最適な方法と言える。一方、遺伝子型以上の解像度を必要とする場合、例えば地域的な流行経路を特定するためには感度が低いとはいえ全ゲノム解析法は欠かせないものと考えられる。これらの方法を状況に応じて使い分けることで梅毒流行の背景をいち早く把握し、年々増加する梅毒の感染状況の改善へとつなげていくことが重要である。

文献

- 1) Global Health Sector Strategy on sexually transmitted infections 2016-2021. Towards ending STIs. World Health Organization. 2016.
- 2) 梅毒の検出状況. 東京都感染症情報センター. <https://idsc.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/diseases/syphilis/syphilis/>
- 3) 東京都における梅毒無料匿名検査の陽性率の推移. 東京都微生物検査情報 (月報) 第 37 巻 3 号. <https://idsc.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/epid/y2018/tbkj3903/>
- 4) Pillay *et al.* Sex Transm. Dis. 25(8):408-414. 1998.
- 5) Marra *et al.* J. Infect. Dis. 202(9):1380-1388. 2010.
- 6) Peng *et al.* PLoS Negl. Trop. Dis. Nov;5(11):e1273. 2011.
- 7) Kanai *et al.* J. Clin. Microbiol. 57(1):e01167-18. 2019.

8) PubMLST: Public databases for molecular typing and microbial genome diversity. <https://pubmlst.org/>

9) Grillova *et al.* PLoS One. 13(7):e0200773. 2018.

10) Mikalova *et al.* BMC Microbiol. 13:178. 2013.

11) Beale *et al.* Nat. Commun. 10(1):3255.

12) 水戸部ら. 「日本性感染症学会 第 35 回学術

大会抄録集.

13) Sena *et al.* Manual of Clinical Microbiology, 11th edition. Chapter 60. 2015.

14) Liberman *et al.* Front. Microbiol. 13:1007056. 2022.

15) Read *et al.* J. Clin. Microbiol. 54(8):2172-2174. 2016.

(病原細菌研究科 水戸部 森歌)

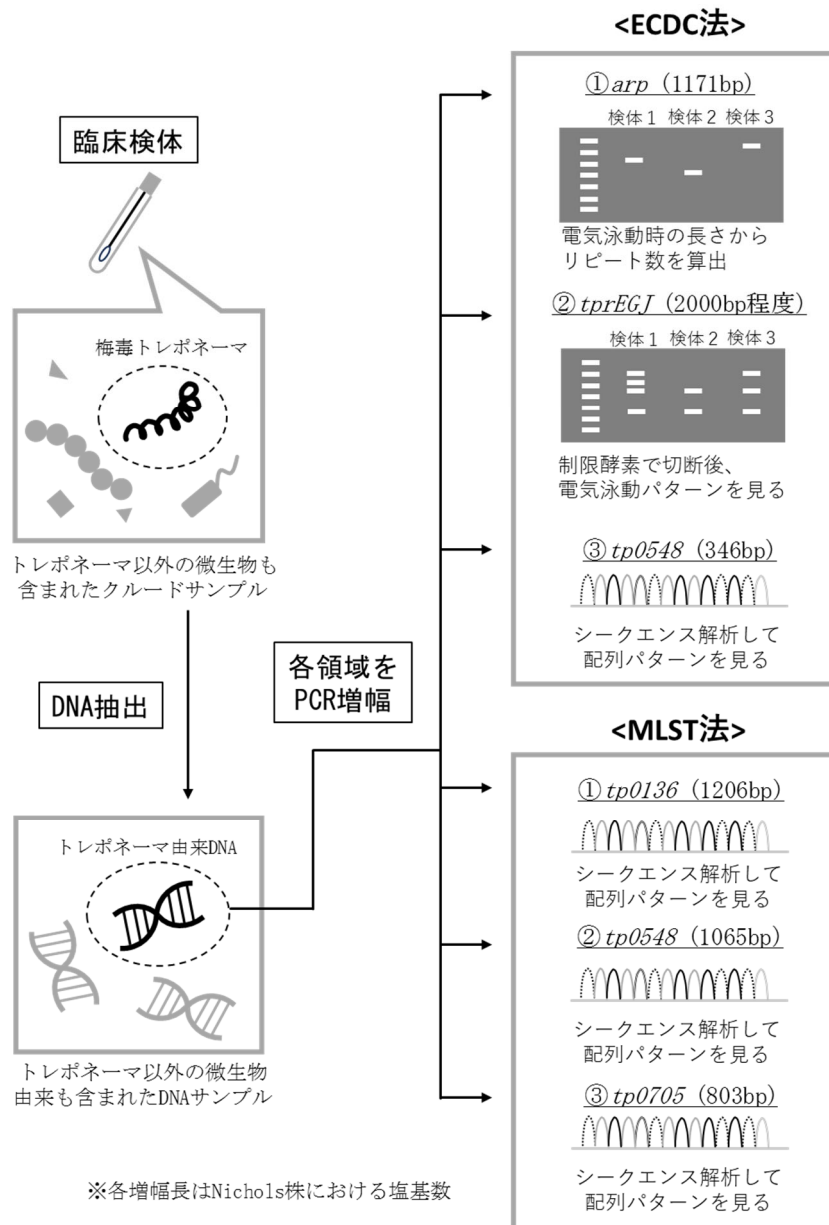


図 1. 梅毒トレポネーマの遺伝子型別法

表 1. Enhanced Centers for Disease Control and Prevention (ECDC)

領域	プライマー配列 ¹³⁾		増幅長*	型の数
<i>arp</i>	forward	CAAGTCAGGACGGACTGTCCCTTGC	1171 塩基	11 ¹⁴⁾
	reverse	GGTATCACCTGGGGATGCGCACG		
<i>tprEGJ</i>	forward (1st)	ACTGGCTCTGCCACACTTGA	2196 塩基/2178 塩基	16 ¹³⁾
	reverse (1st)	CTACCAGGAGAGGGTCCACGC		
	forward (2nd)	CAGGTTTTGCCGTTAAGC	1931 塩基/1848 塩基	
	reverse (2nd)	AATCAAGGGAGAATACCGTC		
tp0548	forward	GGTCCCTATGATATCGTGTTCG	346 塩基	14 ¹⁵⁾
	reverse	GTCATGGATCTGCGAGTGG		

*Nichols 株 (CP004010.2) における増幅長

表 2. Multilocus Sequence Typing (MLST)

領域	プライマー配列 ⁹⁾		増幅長 ⁹⁾	型の数 ⁸⁾
tp0136	forward (1st)	AACCCGTTAGCGCCCAACAT	1789 塩基	38
	reverse (1st)	TCCAGCTCAGCCGAATCTC		
	forward (2nd)	AGTGTCTTCCTCGTCCGTTTC	1206 塩基	
	reverse (2nd)	CACGTGGTGGTGTCAAACCTT		
tp0548	forward (1st)	TGGGGCACTAAACCGGAAGA	1567 塩基	81
	reverse (1st)	TACGGGCATTTGCGGATAGG	1065 塩基	
	forward (2nd)	GCGGTCCTATGATATCGTGT		
	reverse (2nd)	GAGCCACTTCAGCCCTACTG		
tp0705	forward (1st)	GGTCTATATGCAGCCCTTCTTC	1181 塩基	21
	reverse (1st)	GCTTGAGAACGATACCGGATAC		
	forward (2nd)	TGCGGCTTATCCTGATGAATAG	803 塩基	
	reverse (2nd)	TATTCTGCGGCGTTGGATAG		

表1 病原体搬入・検出状況(4種等)*

2024年1月分

機関名		コレラ菌	赤痢菌	チフス菌	パラチフス A菌	腸管出血性 大腸菌	結核菌
区	千代田区						
	中央区						
	港区					1	
	新宿区					1	
	文京区					1	
	台東区						2
	墨田区						
	江東区						
	品川区					3	
	目黒区					2	
	大田区					1	1
	世田谷区						1
	渋谷区						
	中野区						
	杉並区						
	豊島区					1	
	北区						
	荒川区						1
	板橋区						
	練馬区						1
足立区							
葛飾区						1	
江戸川区					2		
市	町田市						
	八王子市					1	
小 計						13	7
都	西多摩				1		1
	多摩立川					1	
	南多摩						
	多摩府中					3	
	多摩小平					4	
	島しょ						
小 計					1	8	1
合 計					1	21	8
健康安全研究センター 検出分						1	

※2016年4月より、各保健所から搬入された検体を集計することとした

表2 検体搬入状況(全数把握対象疾患-五類)*

2024年1月分

	検体数	2024年累計
侵襲性インフルエンザ菌感染症(菌)	5	5
侵襲性髄膜炎菌感染症(菌)		
侵襲性肺炎球菌感染症(菌)	9	9
カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症(菌)**	9	9
播種性クリプトコックス症(菌)	5	5
合計	28	28

*2016年4月(第37巻・第4号)から追加 **2023年5月本庁通知による名称変更

表3 病原微生物検出状況(食中毒関連)

2024年1月分

	菌種名	検体数	2024年累計
細菌	大腸菌		
	毒素原性		
	組織侵入性		
	病原血清型		
	腸管出血性		
	その他・不明		
	サルモネラ		
	O4	4	4
	O7		
	O8		
	O9		
	その他		
	不明		
	腸炎ビブリオ		
	その他のビブリオ		
	エロモナス		
	ブレジオモナス・シゲロイデス		
	カンピロバクター	6	6
	黄色ブドウ球菌		
	F型ウエルシュ菌	21	21
ボツリヌス菌			
F型ボツリヌス毒素産生 クロストリジウム・バラティイ			
リステリア・モノサイトゲネス			
セレウス菌	1	1	
ウイルス	ノロウイルス(G I)	17	17
	ノロウイルス(G II)	289	289
	ノロウイルス(G I,G II)	5	5
	ロタウイルス		
	サポウイルス		
寄生虫	アニサキス	3	3
	クドア		
合計		346	346

表4 HIV 検査数及び陽性数

2024年1月分

	男性		女性		性別不明		合計	
	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数
東京都新宿東口検査・相談室※	754	3	169	0	0	0	923	3
保健所等	156	1	88	0	2	0	246	1
合計	910	4	257	0	2	0	1,169	4
2024年累計	910	4	257	0	2	0	1,169	4

※2021年3月より名称変更

表5 性感染症検査数及び陽性数

2024年1月分

	梅毒検査		クラミジア遺伝子検査		淋菌遺伝子検査	
	検査数	陽性	検査数	陽性	検査数	陽性
東京都新宿東口検査・相談室※	885	90	0	0	0	0
保健所等	189	12	169	7	76	1
合計	1,074	102	169	7	76	1
2024年累計	1,074	102	169	7	76	1

※2021年3月より名称変更

表6 定点把握疾患別病原体分離状況（ウイルス）

2023/2024 過去3か月

定点種別	対象疾患名	検出病原体	11月	12月	1月	合計
小児科	咽頭結膜熱	アデノウイルス	4	4		8
インフルエンザ	インフルエンザ及びインフルエンザ様疾患 (ILI)	インフルエンザウイルスAH1pdm09	19	19	8	46
		インフルエンザウイルスAH3	30	40	15	85
		インフルエンザウイルスB型Victoria系統		2	15	17
眼科	流行性角結膜炎	アデノウイルス	1	2		3

◆東京都微生物検査情報◆

2024年2月29日

編集・発行

東京都健康安全研究センター

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-24-1

TEL:03-3363-3213

FAX:03-5332-7365

S1153803@section.metro.tokyo.jp

<https://idsc.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/>

(2023年7月1日よりURLを変更しました)