

---

# 東京都微生物検査情報

## MONTHLY MICROBIOLOGICAL TESTS REPORT, TOKYO

---

第45巻 第3号  
2024年3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

## 有症事例の喫食残品ミンククジラ肉から検出されたトキソプラズマの遺伝子解析

### 1. はじめに

トキソプラズマ (*Toxoplasma gondii*) はネコ科の動物を終宿主とする一属一種の細胞内寄生原虫である。本原虫はほぼ全ての恒温動物に感染性を有し、アザラシやイルカといった海棲哺乳動物からの報告例<sup>1)</sup>もある。主なヒトへの感染は、ネコの糞便中に排出されたオーシストの手指を介した経口感染とブラディゾイトを内包したシストが寄生した動物の筋肉を生または調理不完全な状態で経口摂取した場合による。

2020年6月に、都内において青森県沖太平洋で漁獲された生のミンククジラ (*Balaenoptera acutorostrata*) 肉を喫食後、下痢や発熱などの症状を呈し、残品からトキソプラズマが検出された事例が2事例発生した。今回、凍結保管されていた残品のミンククジラ肉 (以下、鯨肉) から検出されたトキソプラズマの遺伝学的な特徴について紹介する。

### 2. 組織化学的検査と寄生強度

鯨肉の組織学的検査では筋組織に炎症などの病変は認められなかったが、PAS染色陽性でトキソプラズマに対する免疫組織化学染色陽性の直径約50  $\mu\text{m}$  のシストが認められた<sup>2)</sup>。鯨肉の3か所各25 mgから定法によりDNAを抽出後、トキソプラズマの寄生強度を測定するために、既報<sup>3)</sup>のB1遺伝子を標的としたReal-time PCRを行った。その結果、鯨肉1g中のB1遺伝子コピー数は平均 $1.7 \times 10^8$  コピー/gであった。トキソプラズマのB1遺伝子コピー数は35と報告<sup>4)</sup>されていることから、鯨肉1g当たりの本原虫の寄生数である寄生強度は $4.8 \times 10^6$  個体/gと算出された。

### 3. 遺伝子型別

ヨーロッパと北米を中心とした調査から、トキソプラズマはこれまで遺伝学的に多様性が低いと考えられ、タイプI～IIIの遺伝子型に分類されていた。また、マウスに対する病原性においてはタイプIが非常に強いのに対し、タイプIIおよびタイプIIIは軽度または非病原性とされてきた。しかしながら、近年では、主に南米や北米の野生動物

などにおけるトキソプラズマの解析から、遺伝学的多様性が認められ16のハプログループに分類されている<sup>5)</sup>。

今回、鯨肉から検出されたトキソプラズマの10遺伝子 (SAG1、SAG2 (5'-SAG2、3'-SAG2、alt. SAG2)、SAG3、BTUB、GRA6、c22-8、c29-2、L358、PK1、Apico) について Multiplex Multilocus Nested PCR-RFLP<sup>6)</sup>を行ったところ、L358 遺伝子においてタイプIの切断パターンを持つ非定型のタイプIIであることが判明した (図1)。この切断パターンを示す遺伝子型はトキソプラズマの遺伝子研究データベースである ToxoDB (<http://toxodb.org/toxo/>) において RFLP Genotype #39 に該当し、アメリカのラッコ、ヒツジ、ヤギ由来の分離株が登録されている。

また、3つのエキソン領域 (GRA6、GRA7、SAG1) と3つのイントロン領域 (UPRT1、UPRT7、HP2) の遺伝子配列を用いた系統解析<sup>7)</sup>では、鯨肉から得られたトキソプラズマはハプログループ2に帰属した。タイプIIは特に北半球でヒトや動物に最も一般的な遺伝子型であり、ハプログループ2におおよそ対応している。今回のトキソプラズマの遺伝子型は非定型のタイプIIであったが、ハプログループ2であったことから、タイプIIと密接に関連していることが示唆された。

### 4. 病原性遺伝子

近年、ROP5、ROP16およびROP18などのROPタンパクはトキソプラズマの病原性因子とされ、これらの遺伝子配列からマウスに対する病原性を予測できることが報告されている<sup>7,8)</sup>。これらの遺伝子配列は、主にヨーロッパと北米で見られるタイプI～IIIの遺伝子型だけでなく、中南米やアジアの多様な分離株にも適用できると考えられている<sup>7,8)</sup>。

今回、鯨肉から得られたトキソプラズマについて、ROP5、ROP16およびROP18の遺伝子解析により、ROP5およびROP18の全1650 bpおよび1665 bpの配列はタイプIIの標準株ME49の配列と高い相同性が認められた (図2)。また、ROP16では免疫応答に関与するSTAT3活性能を

制御<sup>9)</sup>しているとされる 503 番目のアミノ酸がタイプ II と同様にセリンであった。これらのことから、鯨肉から得られたトキソプラズマのマウスに対する病原性はタイプ II に近いことが示唆された。

## 5. まとめ

ミンククジラにおけるトキソプラズマの感染実態は、これまでにスコットランドのミンククジラ 5 頭中 1 頭で抗体陽性となったとの報告<sup>10)</sup>があるものの不明な点が多い。また、国内のトキソプラズマの遺伝子型や病原性についての情報は限られている。今後、トキソプラズマの国内検出株について遺伝子解析データを蓄積することにより、本原虫による感染症や食中毒発生時の原因究明において有用な情報をもたらすと考えられる。

## <参考文献>

- 1) Dubey JP, *et al.*, *Vet Parasitol* 288: 109296, 2020
- 2) Murata R, *et al.*, *Parasitol Int* 102832: 2024
- 3) Contini C, *et al.*, *Int J Parasitol* 35: 275–283, 2005
- 4) Burg JL, *et al.*, *J Clin Microbiol* 27: 1787–1792, 1989
- 5) Lorenzi H, *et al.*, *Nat Commun* 7: 10147, 2016
- 6) Su C, *et al.*, *Parasitology* 137: 1–11, 2010
- 7) Fukumoto J, *et al.*, *Plos One* 15: e0227749, 2020
- 8) Dubey JP, *et al.*, *Vet Parasitol* 200: 74–87, 2014
- 9) 山本雅裕, *医学のあゆみ* 234: 477–481, 2010
- 10) van de Velde N, *et al.*, *Vet Parasitol* 230: 25–32, 2016

(病原細菌研究科 村田 理恵)

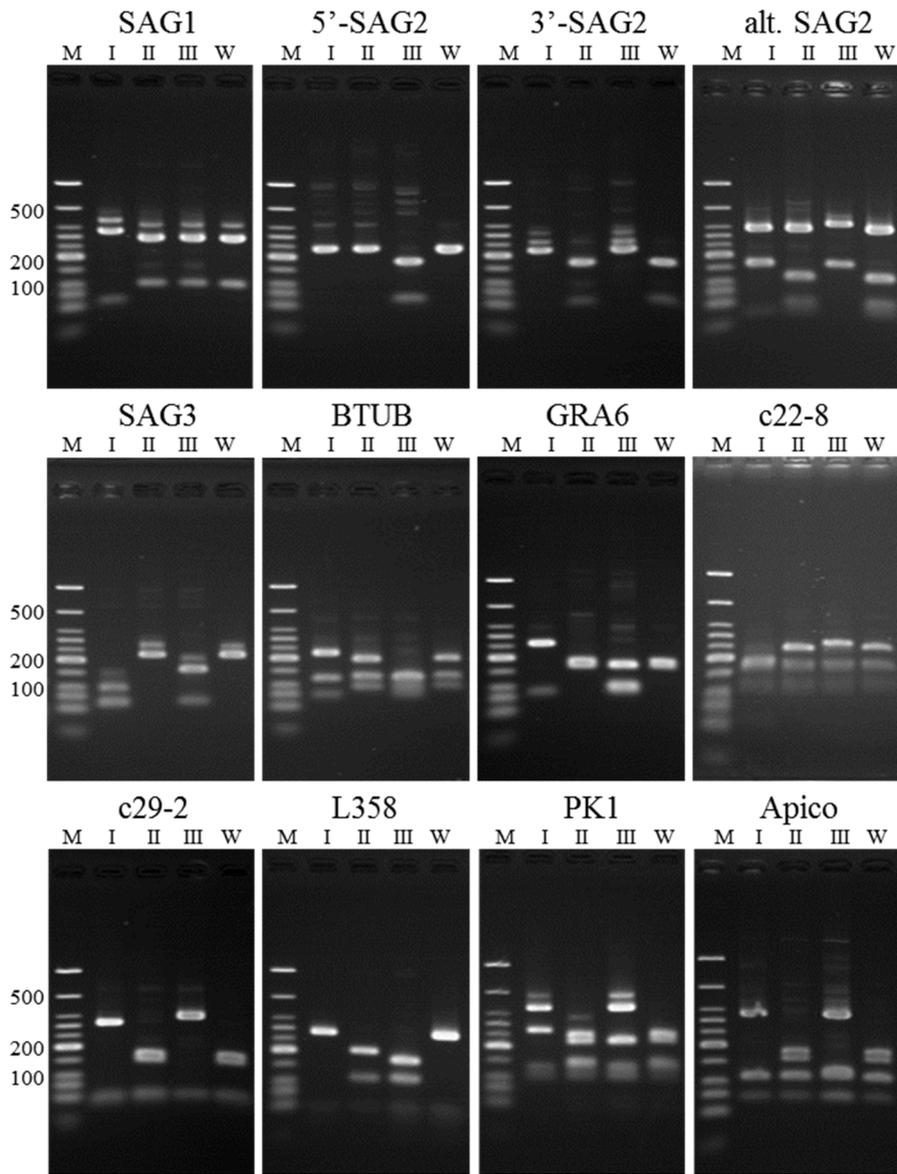


図1 トキソプラズマの Multiplex Multilocus Nested PCR-RFLP 解析  
 I: type I (RH 株), II: type II (Me49 株), III: type III (CTG 株),  
 W: ミンククジラ肉由来トキソプラズマ, M: マーカー(bp)

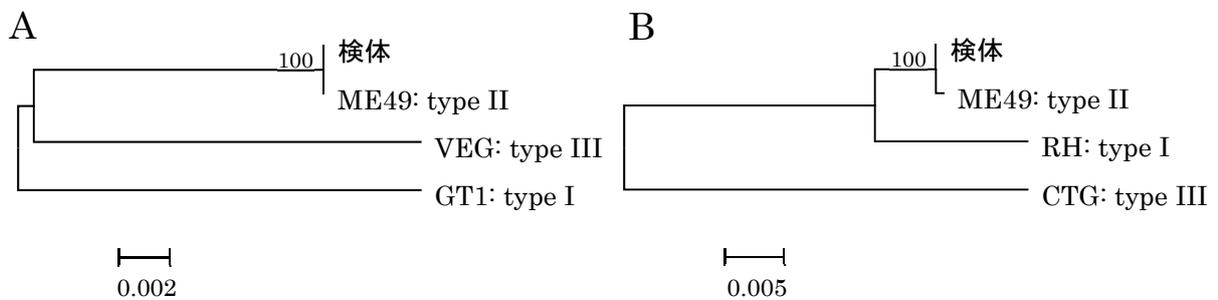


図2 ミンククジラ肉由来トキソプラズマの ROP5 (A) および ROP18 (B) の系統解析 (NJ 法)

## ～今号の話題～

### 都内下水中における新型コロナウイルス量のモニタリング

#### 1. はじめに

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）を原因とする感染症で、未だ完全な収束には至っていない。厚生労働省は、2023年5月からCOVID-19を感染症法上の5類感染症に位置づけ、全数把握から定点把握へ変更した。これに伴い、感染者数を実数では把握できず、以前のように実数的にCOVID-19の流行規模を把握するのが困難となっている<sup>1)</sup>。

下水中のSARS-CoV-2モニタリングは、COVID-19感染状況のモニタリングツールの一つとなることが期待され、米国やオランダ等の諸外国や国内においても、既にモニタリング調査が実施されている。特に米国においてはNational Wastewater Surveillance System (NWSS)を構築し、1,000地点以上のモニタリングポイントを対象とした調査が実施され、各地点の下水中ウイルス量の増減傾向がホームページで逐次公開されている<sup>2)</sup>。

東京都においても、これまでに下水中のSARS-CoV-2モニタリングについて、調査研究を行ってきた<sup>3,4)</sup>。下水中のSARS-CoV-2のウイルス量は臨床検体と比較し少なく、また、下水中に阻害物質が多く存在することから、下水中のウイルス量測定には、下水試料の濃縮や核酸抽出・精製等において煩雑な前処理工程が必要となる（図1）。そこで、我々は多検体処理やコンタミネーションリスクの低下を目的とし、全自動遺伝子検査装置を用いた半定量的な下水モニタリング法を構築した。本稿では、都内下水処理施設を対象に、本法を用いた下水モニタリングを実施したので検出状況を報告する。

#### 2. 下水中のSARS-CoV-2モニタリング法の構築

下水試料200mLを遠心分離し、沈渣と上清に分離した後、沈渣液2mLを分取した。さらに、沈渣液の希釈系列試料（×1、×10、×100）を作製し、アプティマSARS-CoV-2キットを用いて全自動遺伝子検査装置（Panther system、HOLOGIC社）による測定を実施した（図1）<sup>4)</sup>。

結果判定は、3段階で評価し、Total RLU（×1,000）値（以降、RLU値）が1,000以上を強陽性、RLU

値560以上1,000未満を弱陽性、560未満を陰性とした。さらに、採水地域20ヵ所での各希釈系列試料（3段階）の結果を、ヒートマップ形式でのスコア化することで、定量的なモニタリング法を構築した。

#### 3. 都内下水中のSARS-CoV-2モニタリング

2023年5月から2024年2月までの都内水再生センター20施設を対象に週1回のペースで流入下水を採取し、本法によるモニタリング調査を実施した（図2）。その結果、①2023年5月から9月にかけて、下水中のウイルス量が多い施設の割合が高く、②2023年10月から12月にかけて減少傾向、③2023年12月から2024年2月にかけて増加傾向が確認された。この増減は都内定点医療機関あたりの定点患者報告数と概ね連動しており、本法がモニタリング法として有用な方法であると考えられた。

下水中のウイルス量（増加・減少）は、降雨による水量の増加や気温等の外的影響を受けることが考えられ、地域における感染者数との関連性の評価には、補正が必要になる場合が多い。当センターのヒートマップ形式では採水地域毎に、希釈系列試料を検査しなければならないが、補正なしに感染者数との関連性を認めることができた。

一方で、下水調査による感染症流行の早期探知や感染症拡大の予測には、依然として課題が残っている。

COVID-19においても、最近では軽症や無症候の患者が多く、必ずしも検査を実施しないことから、感染者数が過少評価されている可能性もある。潜在的な感染者を含めた評価が期待される下水中のウイルスモニタリングは、感染実態を把握できる有用なモニタリングツールの一つとして有用と考えられ、今後も継続的に調査していく必要がある。

#### <参考文献>

- 1) 厚生労働省、事務連絡：新型コロナウイルス感染症の5類感染症移行後の対応について
- 2) CDC：National Wastewater Surveillance System (NWSS), <https://www.cdc.gov/nwss/index.html>

(2024年3月1日現在。URLは変更または抹消の可能性ある)

3) 熊谷遼太：東京健安研七年報, 72, 87-92, 2021.

4) 熊谷遼太：東京健安研七年報, 74, 75-79, 2023.

(ウイルス研究科 熊谷 遼太)

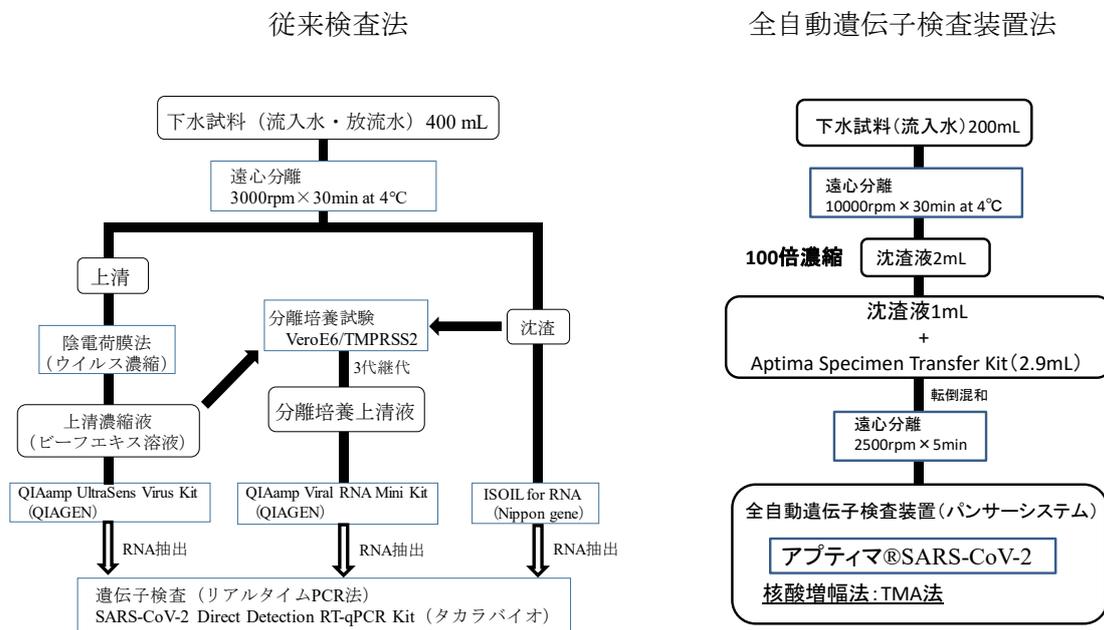


図1. 従来検査法と全自動遺伝子検査装置法の検査フロー

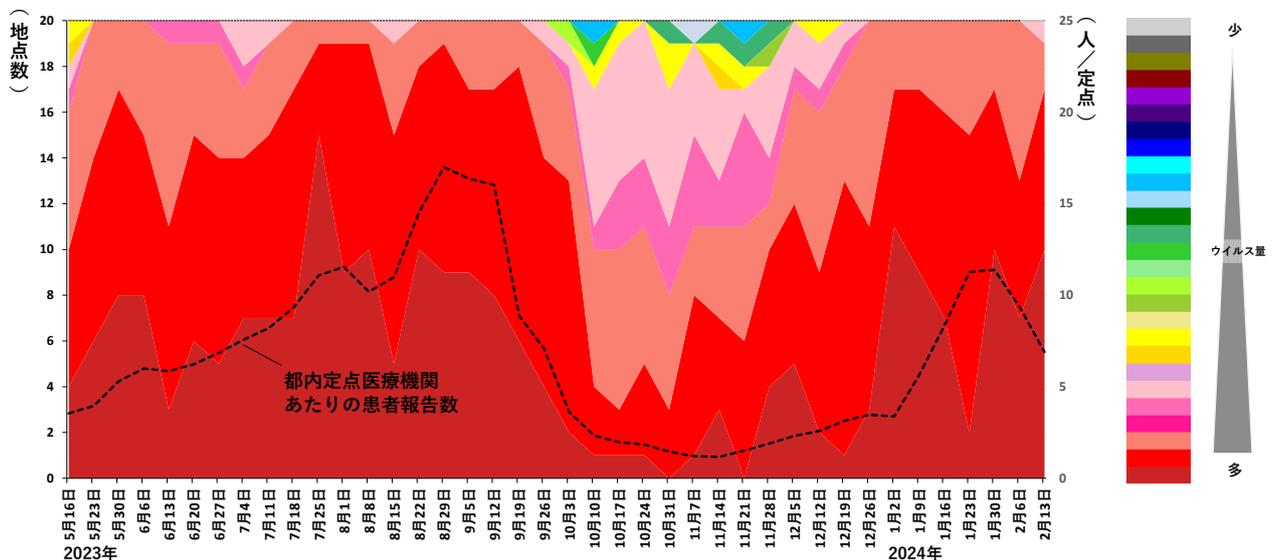


図2. 都内下水中の SARS-CoV-2 モニタリング結果 (2023年5月16日～2024年2月13日)

表1 病原体搬入・検出状況(4種等)\*

2024年3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			2
	文京区					2	1
	台東区						2
	墨田区						1
	江東区					1	
	品川区					2	3
	目黒区						2
	大田区						
	世田谷区						6
	渋谷区						
	中野区						1
	杉並区					2	
	豊島区					2	
	北区						
	荒川区						
	板橋区					1	2
	練馬区						6
足立区					2		
葛飾区						4	
江戸川区						1	
市	町田市						
	八王子市						5
小 計			1	1		12	36
都	西多摩					1	
	多摩立川						3
	南多摩						
	多摩府中						2
	多摩小平					2	
	島しょ						
小 計						3	5
合 計			1	1		15	41
健康安全研究センター 検出分						5	

※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3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	11
侵襲性髄膜炎菌感染症(菌)	1	1
侵襲性肺炎球菌感染症(菌)	10	26
カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症(菌)**	11	31
播種性クリプトコックス症(菌)	1	7
合計	28	76

\*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3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		5
	O7	1	1
	O8		
	O9	1	1
	その他		
	不明		
	エルシニア・エンテロコリチカ		
	エルシニア・シュドツベルクローシス		
	腸炎ビブリオ		
	その他のビブリオ		
	エロモナス		
	プレジオモナス・シグロイデス		
	カンピロバクター	6	21
	黄色ブドウ球菌		
	F型ウエルシュ菌		21
	ボツリヌス菌		
F型ボツリヌス毒素産生			
リステリア・モノサイトゲネス			
セレウス菌		1	
赤痢菌			
エシェリキア・アルベルティイ			
プロビデンシア・アルカリファシエンス			
ウイルス	ノロウイルス(GⅠ)	31	135
	ノロウイルス(GⅡ)	84	576
	ノロウイルス(GⅠ,GⅡ)	3	15
	ロタウイルス		
	サポウイルス		
寄生虫	アニサキス		4
	クダア		
合計		126	780

**表4 HIV 検査数及び陽性数**

2024年3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 <sup>※</sup>	553	5	145	0	0	0	698	5
保健所等	148	1	56	0	2	0	206	1
合計	701	6	201	0	2	0	904	6
2024年累計	2,489	15	709	0	5	0	3,203	15

※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3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 <sup>※</sup>	725	89	0	0	0	0
保健所等	174	10	165	10	86	0
合計	899	99	165	10	86	0
2024年累計	3,063	309	502	24	237	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）**

2024年過去3か月

定点種別	対象疾患名	検出病原体	1月	2月	3月	合計
小児科	咽頭結膜熱	アデノウイルス	1			1
	流行性耳下腺炎	アデノウイルス		1		1
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	10	3	2	15
		インフルエンザウイルス AH3	21	6		27
		インフルエンザウイルス B型 Victoria 系統	16	51	23	90

◆東京都微生物検査情報◆

2024年5月2日

編集・発行

東京都健康安全研究センター

東京都感染症情報センター

〒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)