

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03932

研究課題名(和文)人の流れを考慮した空間分子疫学による結核伝播様式の解明

研究課題名(英文)Uncovering transmission of tuberculosis based on spatial molecular epidemiology with person flow data

研究代表者

和田 崇之(WADA, Takayuki)

大阪公立大学・大学院生活科学研究科・教授

研究者番号：70332450

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：病原体の伝播経路を把握して予防策を打ち出し、より大きな拡散を事前に阻止することは公衆衛生、感染症対策として重要である。本研究ではエアロゾルによって感染伝播する結核を対象とし、調査地域におけるプレコロナ期の結核患者由来菌株をゲノム解読し、系統解析によって患者間の感染伝播事例を抽出、可視化した。また、交通流動調査に基づく人流データから個人間の1日の接触量を集計してネットワークを構築し、その結果にしたがって地域コミュニティ構造を得る計算手法について評価した。調査地域におけるGPSなどのリアルタイム人流データを用いて、個人間の接触量を計量できるツールも並行して開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新型コロナウイルスの感染流行により、病原体伝播が引き起こされる背景を解き明かす研究需要は急激に高まった。本研究は、患者への聞き取り調査や遺伝子解析による伝播経路の解明が進んでいる結核を対象として、その伝播事例を詳細にデータ化するとともに、感染伝播の要因となりうる患者間の地域的近接性や、社会全体の人流との相関を調べようとするものである。ポストコロナ期における「感染症に強い社会」の構築に向けた情報活用のあり方を模索できる点で、社会的意義は大きい。古来より国民病とされてきた結核は今や低蔓延期に移行しつつも、再発や薬剤耐性などの懸念がなお残り、その抑制に向けた結核対策を底上げしうる研究でもある。

研究成果の概要(英文)：Understanding pathogen transmission and implementing preventive measures are essential for public health. It is crucial to comprehend pathogen transmission routes and devise preventive measures against widespread outbreaks. Our study focused on tuberculosis (TB) which can transmit via aerosols. We sequenced TB strains from patients before the COVID-19 era, then used phylogenetic analysis to extract and visualize transmission cases. Furthermore, we evaluated a method for determining local community structure based on aggregated daily contact data obtained from a traffic flow survey. Additionally, we developed a tool utilizing real-time GPS data in our study area to quantify contact between individuals.

研究分野：公衆衛生学

キーワード：感染症 結核 分子疫学 空間疫学 ゲノミクス 人流解析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 日本における結核の罹患率は、研究開始時(2018年)において人口10万人当たり12.3であり、中蔓延国に分類される状況にあった。現在のポストコロナ期に至るまで、結核罹患率は漸減傾向が続いており、日本国内で結核によって命を落とすことはほとんどなくなった。しかし、結核は高齢化した際の再発や薬剤耐性化に加え、治療のための入院などが必要なケースが少なくなく、休職に伴う経済的・社会的損失、自身が新たな感染源となることへの精神的プレッシャー、長期にわたる治療や再発への恐怖が、特に若い感染者にとって耐え難い重荷となる。こうした状況は数値として表に出てこないものの、日本社会に大きく陰を落とす健康被害の一つとして捉えることができる。

(2) 結核に限らず、病原体の伝播経路を把握して予防策を打ち出し、より大きな拡散を事前に阻止することは公衆衛生、感染症対策として重要である。こうした状況は新型コロナウイルスの感染流行によってより鮮明になったが、結核では、患者への聞き取り調査(後ろ向き調査)がかねてより活用されており、患者間伝播の追跡を目的とした取り組みが盛んに行われてきた。こうした状況から、結核は日本国内において患者情報と伝播経路を網羅的に掌握可能な唯一の感染症として特筆できるものである。このような実地疫学的取り組みに加え、結核では、患者から分離された結核菌株を網羅的に収集し、菌株ごとの遺伝子レベルでの違い(遺伝型別)を調べることで結核伝播経路のエビデンスとする「結核分子疫学」が利用されている。本手法に基づく菌株の一致判定は患者間の感染伝播を支持する科学的根拠となることから、自治体における結核対策として全国的に導入されている。

(3) さらに近年は、遺伝子解読技術の発展に伴い、菌株ゲノム全体を解読して比較する手法が結核分子疫学に導入されはじめている。これにより、菌株型別解析の精度が劇的に向上し、患者間に関連性が見つからない場合であっても直接伝播が強く示唆されるケースが発見されるようになってきた。未知の結核伝播経路を探索し、その伝播要因を究明することが、このような技術革新によって現実のものとなりつつある。

(4) 感染伝播が成立する要因を考える上で、患者間の地理的関係性、つまり居住地や勤務地などに関する情報(空間情報)は重要な説明因子となりうる可能性が高い。結核菌は患者の咳、くしゃみなどに含まれる菌が空気中を漂い、周囲の人へと伝播する。この時、新規感染の成立には距離的にある程度接近している必要があることから、家族間、学校内といった日常生活での接触の他に、互いの地理的関係性が有用なパラメータとして応用できるはずである。しかし、こうした空間情報は、患者数などのカウントデータと照らし合わせて流行状況を把握するような活用事例がほとんどであり、麻疹などの例外を除くと患者間伝播のリスクとして活用されることは少ない。

(5) アンケートによる移動調査や携帯通信端末の発達により、人がどのように往来し、日々の生活を営んでいるのかがビッグデータとして蓄積されている(人流データ)。人から人へと伝染していく病原体の伝播経路を解明する上で、有用な情報源として活用できる可能性が模索されている。しかし、このような試みはシミュレーションに基づく解析が主流であり、実際の伝播事例を元に入流との相関を調べることはほとんど行われてこなかった。

(6) 研究開始当初は新型コロナウイルスの流行直前であり、感染症の伝播・流行とその抑制を目的とした人流制御が実施されることは想定外の状況にあった。これにより、研究期間中における公衆衛生リソースが逼迫するとともに人流データの活用を取り巻く状況が一変し、研究計画は大きな影響を受けることとなった。

## 2. 研究の目的

本研究では、菌株ゲノムクスによってより多くの結核伝播事例を検出することを目的として、国内でも結核罹患率が高い大阪市を対象として菌株ゲノムデータを集積し、患者間の伝播関係を洗い出すこととした。また、結核伝播の背景要因として検証すべき情報として、患者居住地のような患者自身の地理情報と、地域内の社会活動を俯瞰的に把握できる「人の移動（人流）データ」に着目することとした。

(1) 調査対象とした大阪市は、年間約 600 株の結核菌株が収集されており、これらの中から伝播関係が得られやすい関係性を持ちうる集団を対象としてゲノムデータを集積することとした。ここから、系統解析・変異比較を経て、菌株から見た患者間の相関を明らかにすることを目的とした。

(2) 患者地理情報の感染症対策への活用は、地域別患者数といった統計量に基づく相関解析が主流である。しかし、結核では菌株のゲノム解析によって共通感染源を持つ患者群を絞り込むことができるため、そこに地理情報を付加することによって他の感染症では分析できない疫学調査が可能である。そこで本研究では、居住地や勤務地のような患者地理情報をゲノム解析に基づく伝播経路推定と結びつけ、結核疫学に応用する方法を模索する。具体的には、ゲノム解析によって共通感染源が疑われた感染者間の距離を計測し、結核伝播とその広がり背景に潜む説明要因として検証した。

(3) 携帯通信端末（スマートフォンなど）の発達により、人が社会生活の中でどのように往来し、日々の生活を営んでいるのかがビッグデータとして蓄積されている。一つ一つのデータは個人の行動に過ぎないが、巨視的な観点からは、各都市・地域において様々な傾向と特徴を持った「人流」を観察できる。このようなデータから、人から人へと伝染していく病原体の伝播経路を解明する上で、有用な情報が得られるかもしれない。こうした仮説は、人同士の接触がより多く観測される地域間では、（仮に地域間の距離が離れていても）結核菌の伝播が相互に起こりやすい可能性について検証することによって検証される。そこで本研究課題では、人流データに基づいて人々の接触量を計量するための手法を検討し、そこから相互に接触が多い地域を抽出するための理論的手法を確立することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 分析対象

本研究の調査対象は大阪市全域とした。大阪市は結核罹患率が高く、人流が活発な都市地域でもある。同市における結核患者から分離された結核菌株からゲノム解読対象を選抜し、患者情報は個人特定できないように匿名化して集計することとした。

長期間の潜伏と再発感染事例をできるだけ避け、直接の伝播発症をより多く検出するために、以下の 2 グループを対象とした。

1. 若年者（40 歳未満）結核患者（2012～2019 年）。対象患者は 800 名、うち菌株培養陽性 534 件となり、このうち後述するゲノム解析のために再培養が可能であった 437 株を分析対象とした。
2. 日本国内で分離される結核菌は複数の系統群に細分化され、系統ごとに疫学的特性（患者年齢構成や集団事例の発生頻度など）に有意差があることがわかっている。本研究ではこの中から B2 群を対象とし、本系統に属する結核菌株 264 株（2012～2019 年）を分析対象とした。

### (2) 菌株ゲノム解析

結核菌株はすべて小川培地にて培養し、ゲノム DNA を抽出して MiSeq（Illumina）を用いてショートリード配列を取得した。結核菌株の変異解析には、専用ツールとして提供された

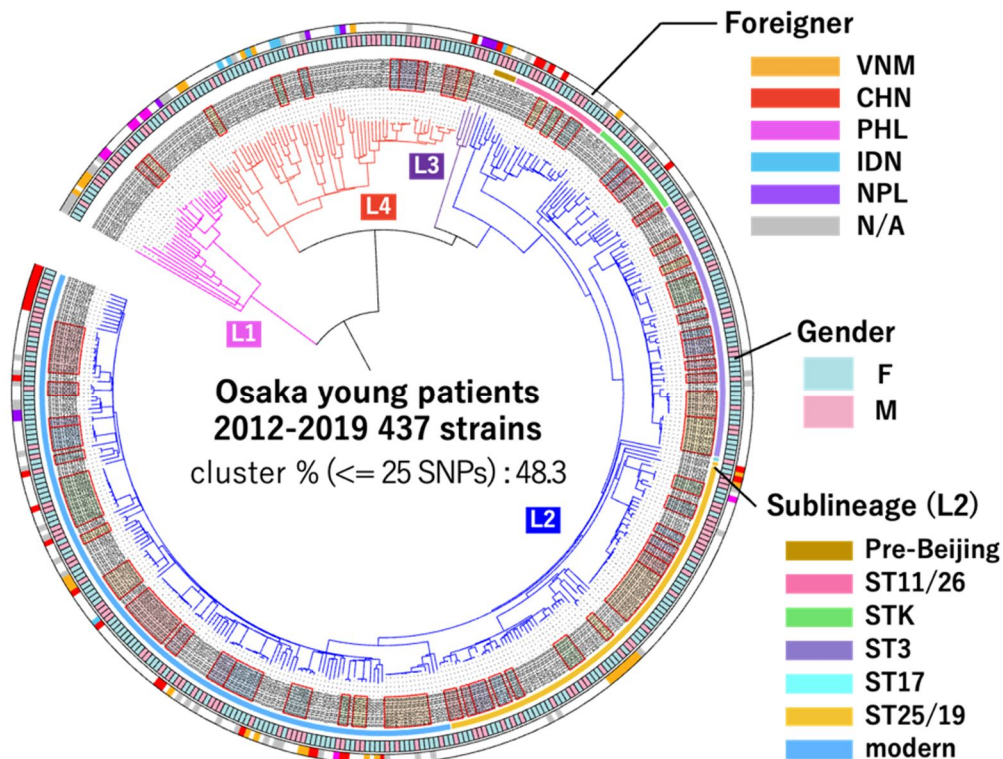
MTBSeq (Kohl et al, 2018) を用いた。これによって得られた各解析株集団の変異箇所を連結した塩基配列アライメントに従って分子系統樹を構築し、全てのペアワイズ株間変異数を計測した。分子系統樹の構築には IQ-Tree 1.6.12 (Nguyen et al, 2015) を用いた。変異数が小さく、互いの伝播相関性が高いと考えられた組み合わせをクラスタとして定義し、それらを再び MTBSeq によって変異解析を行なったのち、Median Joining 法に基づく変異ネットワークを構築して株間の変異蓄積を精査した。

### (3) 人流接触量ネットワーク構築およびクラスタリング手法の検証

東京大学空間情報科学研究センターが提供する「人の流れデータ」を用いて、大阪市内推定在住者 (52,813 人) の 1 日間の位置・移動情報を対象とした。同日 9:00~20:00 の間に 60 分ごとに互いに接触 (接近) 判定を行い、個人間の接触量を重みとする個人間ネットワークを構築した。ここから、ネットワーク内のコミュニティ構造を検出するために、2 種類のクラスタリング手法 (Map Equation (Rosvall & Bergstrom, 2008), Spectral clustering (Von Luxburg, 2007)) を導入した。

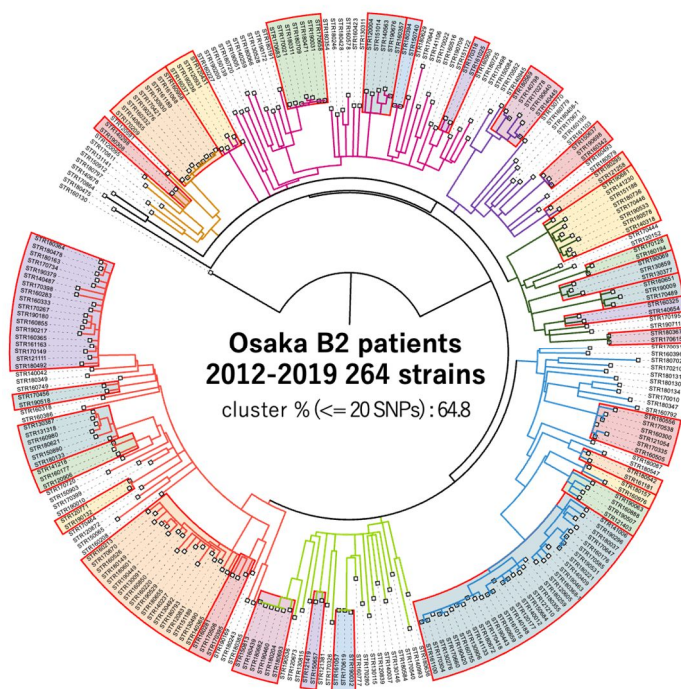
## 4. 研究成果

(1) 40 歳未満患者由来株 (2012-19 年) のゲノム解析では、株間ごとに変異数が少ない菌株群 (SNPs 25 塩基、211 株からなる 57 クラスタ) を検出し、クラスタごとの患者情報分析が可能となった (図 1)。クラスタ内の患者同士のペアワイズ比較では、変異数と居住地点間の直線距離には相関を認めなかった。また、約 8 割のペアが異なる行政区に居住していることが確認された。本結果は、結核菌が広範囲に容易に拡散しうることを示唆しており、感染伝播を探索するためには行政区間を跨いだ患者情報の集約・調査がなお重要な役割を果たすことを意味している。



**図 1** 大阪市内に在住する 40 歳未満結核患者 (2012-2019: プレコロナ期) 由来の菌株ゲノム系統樹。赤枠で囲んだ菌株群が SNPs 数によってクラスタと判定され、伝播関係にある可能性が高い (57 組、211 株)。外周の帯は国内定着系統である L2 内の系統区分のほか、各患者の出生国および性別を示している。系統樹の枝色は結核菌の大まかな系統 (L1-L4) を示す。

(2)全国的に高頻度に分離される単系統株である B2 群は近似したゲノム配列を示し、比較的近年に広く拡散したことが示唆される。本研究では、同群に特異的な点変異を選択し、その変異を遺伝マーカーとして菌株選抜できるリアルタイム PCR 手法を開発し、対象株を効率よく選抜してゲノム解読した (図 2)。これらの菌株は、最大 34 株からなるクラスタ (SNPs 20 塩基) を含み、患者間相関を調べる上で効率の良い菌株集団であることが追証された。また、2017 年に全国規模で収集された国内菌株ゲノム配列をデータベースからダウンロードして統合的に解析を行なったところ、大阪市内で認められた 6 系統区分 (図 2 における枝色と対応) は国内全域で観測されており、全国規模での統一した調査分析対象として活用可能であることが示唆された。



**図 2** 大阪市内で分離された B2 群結核菌株(2012-2019:プレコロナ期)のゲノム系統樹。赤枠で囲んだ菌株群が SNPs 数によってクラスタと判定され、伝播関係にある可能性が高い (31 組、171 株)。系統樹の枝色は大まかな内部系統に沿って着色されている。本系統株はわずかな変異のみで広く拡散し、株間比較を効率的に分析できる対象として期待できる。

(3)パーソントリップ調査に基づくデータを用いた数理モデル研究では、大阪市内居住者の人流データを用い、接触ネットワークを構築した。さらに、そのネットワーク上での感染拡大シミュレーションにおける感染イベントを用いて、感染拡大を特徴づけるネットワークを構築した。これらのネットワークに対して二つのコミュニティ検出手法を適用したところ、接触ネットワークでは空間的に連続的なコミュニティ構造が得られたが、感染拡大を特徴づけるネットワークにおいては、空間的に明確に分割されたコミュニティは集計単位を大きく、かつパラメーターが特定の条件を満たす場合のみで得られた。一般的に、コミュニティ検出手法は教師なし学習であるが、接触ネットワーク上におけるエージェントベース SIR モデルのシミュレーションの結果を用い、このシミュレーション結果に対する再現性によってコミュニティ検出結果を評価する手法を提案した。

(4) 大阪市内居住者の ID 型リアルタイム人流データ (端末ユーザ単位で 1 日単位の移動経路・場所が記録されたデータ) から、ID ペアごとの接触量を計量できるスクリプト開発を行なった。本スクリプトはデータクレンジング、道路ネットワークによる経路推定、接触判定を含み、ID 間の接触量を要素とする行列を出力する。ID の居住地推定と組み合わせることにより、地域間の接触量を重み付きネットワークに変換することが可能であり、現在その活用に向けた計算環境を検討中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Fujiwara N, Onaga T, Wada T, Takeuchi S, Seto J, Nakaya T, Aihara K.	4. 巻 22(1)
2. 論文標題 Analytical estimation of maximum fraction of infected individuals with one-shot non-pharmaceutical intervention in a hybrid epidemic model.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 512
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12879-022-07403-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 瀬戸順次, 三瓶美香, 水田克巳, 和田崇之, 下村佳子, 御手洗聡, 村瀬良朗, 細谷真紀子, 阿彦忠之.	4. 巻 97(1)
2. 論文標題 山形県における結核菌ゲノム解析を用いた結核分子疫学調査	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 感染症学雑誌	6. 最初と最後の頁 6-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11150/kansenshogakuzasshi.e22021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Tsuboi R, Fujiwara N, Itoh R.	4. 巻 17(10)
2. 論文標題 Influence of trip distance and population density on intra-city mobility patterns in Tokyo during COVID-19 pandemic	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLoS ONE	6. 最初と最後の頁 e0276741
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0276741	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takahiro Yabe, Kota Tsubouchi, Naoya Fujiwara, Takayuki Wada, Yoshihide Sekimoto, Satish V. Ukkusuri	4. 巻 10
2. 論文標題 Non-compulsory measures sufficiently reduced human mobility in Tokyo during the COVID-19 epidemic	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18053
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-75033-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 藤原直哉
2. 発表標題 コロナ禍における人流分析
3. 学会等名 関東都市学会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本香織, 橋本美穂, 蒲田脩圭里, 米田佳美, 永石真知子, 吉田英樹, 小向潤, 松本健二, 和田崇之
2. 発表標題 24領域のVNTR 型別における1領域違いの検討
3. 学会等名 第97回日本結核・非結核性抗酸菌症学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 和田崇之, 山本香織, 瀬戸順次, 小向潤, 松本健二, 橋本美穂, 蒲田脩圭里, 米田佳美, 永石真知子, 吉田英樹
2. 発表標題 大阪市結核分子疫学データから見る菌株系統と患者年齢構成および伝播傾向
3. 学会等名 第97回日本結核・非結核性抗酸菌症学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 瀬戸順次, 和田崇之, 村瀬良朗, 下村佳子, 細谷真紀子, 御手洗聡, 阿彦忠之
2. 発表標題 第97回日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会
3. 学会等名 山形県におけるゲノム解析を取り入れた結核分子疫学調査
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松村玲央, 中谷友樹, 和田崇之
2. 発表標題 ゲノム情報を用いたCOVID-19第一波・第二波における都道府県間伝播規模の解析
3. 学会等名 第33回日本疫学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永田彰平, 足立浩基, 藤原直哉, 中谷友樹
2. 発表標題 高解像度な空間単位でのCOVID-19流行予測アプリケーションの開発
3. 学会等名 第31回地理情報システム学会研究発表大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 斎藤正也, 竹内昌平, 蔡国喜
2. 発表標題 HERSYSによる長崎県のCOVID19流行動態
3. 学会等名 統計数理研究所公開シンポジウム「COVID-19とデータ科学」(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 和田崇之
2. 発表標題 伝播経路解明から疫学研究への転換を目指す結核菌ゲノミクス
3. 学会等名 第98回日本結核・非結核性抗酸菌症学会学術講演会(招待講演)
4. 発表年 2023年



1. 発表者名 山本香織, 津田侑子, 浅野瑞穂, 橋本美穂, 下内昭, 和田崇之
2. 発表標題 大阪市における結核分子疫学を用いた外国生まれ結核患者の特徴の分析
3. 学会等名 第98回日本結核・非結核性抗酸菌症学会学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Fujiwara N, Fujihara A, Wada T, Hanibuchi T, Nakaya T, Aihara K.
2. 発表標題 Characteristics of urban proximity networks based on Bluetooth signals
3. 学会等名 International School and Conference on Network Science (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	藤原 直哉  (FUJIWARA Naoya)  (00637449)	東北大学・情報科学研究科・准教授   (11301)	
研究分担者	中谷 友樹  (NAKAYA Tomoki)  (20298722)	東北大学・環境科学研究科・教授   (11301)	
研究分担者	山本 香織  (YAMAMOTO Kaori)  (70649011)	地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所・微生物部・主任研究員   (84407)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	竹内 昌平 (TAKEUCHI Shohei) (80432988)	長崎県立大学・看護栄養学部・講師  (27301)	
研究分担者	翁長 朝功 (ONAGA Tomokatsu) (90823922)	東北大学・学際科学フロンティア研究所・助教  (11301)	2020年度まで

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	瀬戸 順次 (SETO Junji)	山形県衛生研究所・微生物部・研究専門員	
研究協力者	小向 潤 (KOMUKAI Jun)	大阪市保健所・感染症対策課・医務主幹	
研究協力者	井村 元気 (IMURA Genki)	大阪市保健所・感染症対策課・医務副主幹	
連携研究者	田丸 亜貴 (TAMARU Aki) (70270767)	地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所・微生物部・主任研究員  (84407)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関