

令和 5 年 4 月 19 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02282

研究課題名（和文）非結核性抗酸菌をリスク因子とした次世代水供給システムの構築

研究課題名（英文）Establishment of next-generation water supply system to control risk of non-tuberculous Mycobacterium

研究代表者

春日 郁朗（Kasuga, Ikuro）

東京大学・先端科学技術研究センター・准教授

研究者番号：20431794

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,310,000円

研究成果の概要（和文）：近年、日本をはじめとして罹患率が増加している非結核性抗酸菌（NTM）による感染症の感染源として、水供給システムの可能性を評価した。滞留しやすい宅内の給水管やシャワーヘッドを対象としたNTMのサーベイランスを実施したところ、代表的な病原性NTMであるMycobacterium aviumは検出されなかったが、他の日和見感染性のNTMは検出された。これらのNTMは塩素耐性が極めて高く、水供給システムで生残、再増殖していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来、水道水質の微生物リスクとしては大腸菌に代表される腸管疾患が注目されてきた。しかし、近年、エアロゾルを介して感染が生じる非結核性抗酸菌（NTM）が水供給システムで生残し、再増殖していることが示唆されている。これまでにNTMの存在状況に関する知見はほとんどなかったが、本研究の成果により、宅内水道水やシャワーヘッドにおいて、日和見感染性のNTMが存在していること、こうしたNTMは塩素耐性が極めて高く、浄水処理における消毒で完全に除去されずに給水末端に到達し、再増殖していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the potential of water supply systems as a source of infection by non-tuberculous mycobacteria (NTM), whose incidence rate has been increasing in Japan and other countries in recent years. Surveillance of NTM in household plumbing and showerheads revealed that Mycobacterium avium, a typical pathogenic NTM, was not detected, but other opportunistic pathogenic NTM were prevalent. These NTM groups were extremely chlorine resistant, suggesting that they can survive and regrow in the water supply system.

研究分野：環境工学

キーワード：非結核性抗酸菌 水供給システム 微生物再増殖

1. 研究開始当初の背景

近年、わが国では非結核性抗酸菌 (non-tuberculous mycobacteria: NTM) による呼吸器疾患 (肺 NTM 症) が深刻化している。肺 NTM 症は化学療法による治療が確定しておらず、高齢者ほど発症しやすい特徴もあり、高齢化が急速に進行するわが国において社会的にも重大な健康リスクである。NTM は、結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 及びらい菌 (*M. leprae*) を除く *Mycobacterium* 属の総称であり、ヒトへの病原性を有する種類としては *M. avium* complex (MAC: *M. avium*, *M. intracellulare* 等) などが知られている。NTM は水や土壌に常在する細菌であるが、その感染経路については十分に解明されていないが、塩素耐性を有するという特性のため水供給システムで生残、再増殖して健康リスクとなっていることが懸念されている。

2. 研究の目的

本研究では、どのような NTM が水供給システム内で選択的に生残、再増殖しているのか、こうした NTM は水道水中でどのような生理・生態を有しているのか、NTM のリスクを低減するために水供給システムや水利用はどのような点に留意する必要があるのか、といった問いに対して、科学的エビデンスに基づいた知見を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 採材

水源や水供給システムにおける NTM の分布を確認するために、複数の水源 (地下水、表流水)、配水管の洗浄廃水、長期不使用となっている空き家に本管から接続された給水管、建物内蛇口 (滞留前後) から採水を行った。また、一般家屋及び寄宿舍の浴室のシャワーヘッドから生物膜を採取して、分析に供した。

(2) NTM の存在量と多様性解析

水試料および生物膜試料から DNA を抽出した。*Mycobacterium* 属及び *M. avium* の 16S rRNA 遺伝子をそれぞれ標的とした定量 PCR を実施し、NTM の存在量を評価した。また NTM の多様性を評価するために、NTM に特異的な *hsp65* 遺伝子を標的としたアンプリコンシーケンシングを行い、既知の NTM の *hsp65* 遺伝子と比較した。また、試料の雑菌処理を行った後、NTM の単離も試みた。単離には Middlebrook 7H10 寒天培地と共に、Middlebrook 7H9 プロスも用い、存在量の少ない NTM を前培養してから単離することも試みた。

(3) NTM の塩素耐性の評価

分離した NTM を用いて、次亜塩素酸ナトリウムによる消毒実験を行った。リン酸緩衝液に懸濁した分離株に、次亜塩素酸ナトリウム (初期有効塩素濃度 0.60-0.85 mg Cl₂/L) を添加し、時間経過と共に採水して Middlebrook 7H10 寒天培地に塗布してコロニー数を計数した。残留遊離塩素濃度の変化もモニタリングすることで、Ct 値と対数除去値との関係を整理した。

4. 研究成果

(1) 水供給システムにおける NTM の存在状況

水供給システムにおける NTM の分布状況を評価するために、複数の水源 (地下水、表流水)、配水管の洗浄廃水、長期不使用となっている空き家に接続された給水管、建物内蛇口 (滞留前後) の調査を行った。図 1 に、同一建物内の複数の蛇口における 24 時間滞留前後の水道水中の *Mycobacterium* 属 16S rRNA 遺伝子コピー数の変化を示す (Ranhmatika et al., 2022)。24 時間滞留後には残留塩素が低減し、NTM も再増殖していることが明らかになった。なお、代表的な病原性 NTM である *M. avium* は滞留前後ともに定量下限未満であった。詳細な再増殖メカニズムは不明であるが、残留塩素の低減により従属栄養細菌の再増殖が誘発され、それに伴って NTM を含有するアメーバが活性化したことが推察される。水源や建物内蛇口水からは NTM が検出された一方で、配水管の洗浄廃水や長期不使用給水管からの検出頻度は低かった。これらのことから、NTM の再増殖は建物内の給水システム以降で顕在化していると考えられる。一方、シャワーヘッドについては、寄宿舍、一般家屋ともに検出頻度は高かったが、*M. avium* はやはり定量下限未満であった。図 2 に、寄宿舍、一般家屋のシャワーヘッド面積あたりの *Mycobacterium* 属及び *Legionella* 属 16S rRNA 遺伝子コピー数 (全細菌の 16S rRNA 遺伝子コピー数に対する相対濃度) を示す。*Mycobacterium* 属 16S rRNA 遺伝子コピー数の相対濃度は、一般家屋の方が寄宿舍よりも高かった。これはコロナ禍により寄宿舍の使用が制限され、結果的に長期間不使用の期間が発生したことと関連していると推察された。一方、*Legionella* 属については、寄宿舍のみで検出され、一般家屋のシャワーヘッドについてはすべて定量下限未満であった。

NTM の *hsp 65* 遺伝子のアンプリコンシーケンシングの結果（地下水原水：n=2、シャワーヘッド生物膜：n=2）を示す。Groundwater 1 では、*M. abscessus* が全体の 90% 以上を占めていたのに対して、Groundwater 2 からは *M. abscessus* だけでなく、*M. paragordoniae* を始めとした多様な NTM が検出された。これらの地下水は同一地域から得られたものであるが、井戸の場所によって NTM の組成は大きく異なることが示された。シャワーヘッドについては、Showerhead 1 では *M. gorodoniae*、Showerhead 2 では *M. abscessus* が優占していた。シャワーの利用頻度や水質の差異によって優占する NTM は異なることが推察された。

(2) NTM 分離株の塩素耐性試験

単離の結果、*M. abscessus*、*M. fortuitum*、*M. iranicum* などが単離された。これらの NTM は次亜塩素酸ナトリウムへの耐性が大腸菌よりも高く、99.9% 低減するまでの Ct 値は大腸菌の Ct 値の 65~412 倍も高いことが確認された。消毒剤への耐性が高いことにより、水供給システムで選択的に生残り、給水末端において再増殖してリスク因子となっている可能性が推察された。

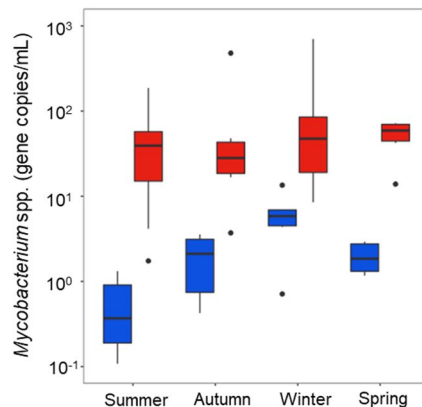


図1 蛇口の滞留前後（青：滞留前、赤：滞留後）における *Mycobacterium* 属 16S rRNA 遺伝子コピー数の変化

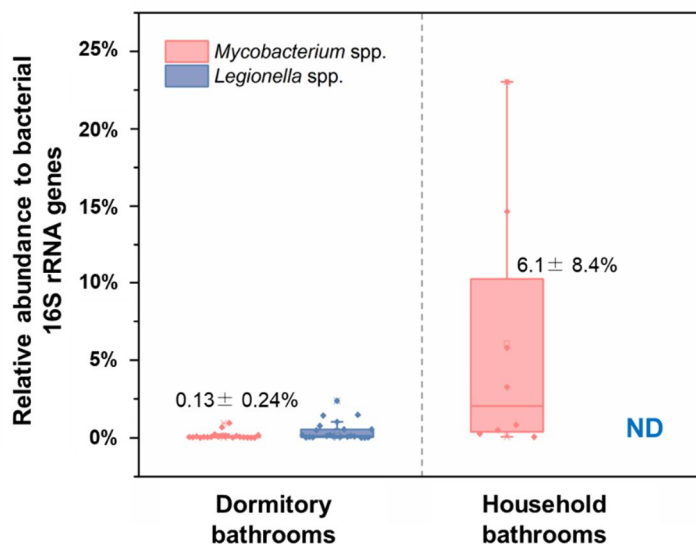


図2 寄宿舍及び一般家屋の浴室シャワーヘッドにおける *Mycobacterium* 属及び *Legionella* 属 16S rRNA 遺伝子コピー数の全細菌 16S rRNA 遺伝子コピー数に対する相対濃度の比較

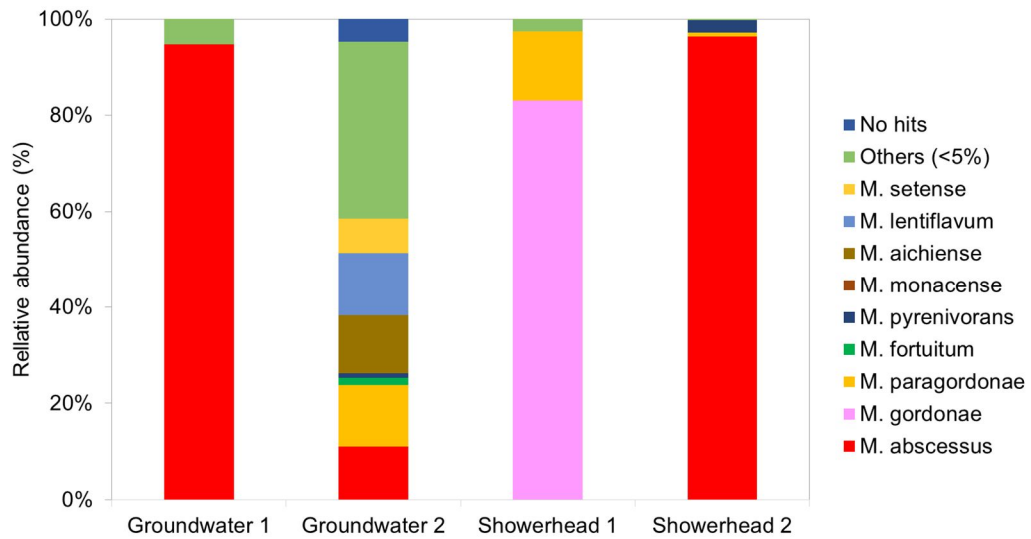


図3 水道原水（地下水）と浴室シャワーヘッド生物膜のNTMの *hsp65* 遺伝子組成の比較

<引用文献>

Rahmatika, I., Kurisu, F., Furumai, H., and Kasuga, I. (2022). Dynamics of the Microbial Community and Opportunistic Pathogens after Water Stagnation in the Premise Plumbing of a Building. *Microbes and Environments* 37(1), ME21065.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Gan Yalan, Rahmatika Iftita, Kurisu Futoshi, Furumai Hiroaki, Simazaki Dai, Fukano Hanako, Hoshino Yoshihiko, Kasuga Ikuro	4. 巻 5
2. 論文標題 The fate and risk of nontuberculous mycobacteria in the water supply system: a review	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 H2Open Journal	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2166/h2oj.2022.144	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 Iftita Rahmatika, Ikuro Kasuga, Futoshi Kurisu, and Hiroaki Furumai	4. 巻 37
2. 論文標題 Dynamics of microbial community and opportunistic pathogens after water stagnation in premise plumbing of a building	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbes and Environments	6. 最初と最後の頁 ME21065
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1264/jsme2.ME21065	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 Nishiyama Y, Nishiyama T, Kanzaki S, Oishi N, Fujioka M, Yamada H, Ebisuno C, Kaiho M, Uwamino Y, Fukano H, Hoshino Y, Hasegawa N, Ogawa K.	4. 巻 27
2. 論文標題 Three cases of otitis media caused by Mycobacterium abscessus subsp. abscessus: Importance of medical treatment and efficacy of surgery	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Infection and Chemotherapy	6. 最初と最後の頁 1251-1257
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jiac.2021.04.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Oka K, Morioka H, Eguchi M, Sato Y, Tetsuka N, Iguchi M, Kanematsu T, Fukano H, Hoshino Y, Kiyoi H, Yagi T.	4. 巻 60
2. 論文標題 Bursitis, Bacteremia, and Disseminated Infection of Mycobacteroides (Mycobacterium) abscessus subsp. massiliense	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 3041-3045
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2169/internalmedicine.6189-20	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 Fukano H, Terazono T, Hirabayashi A, Yoshida M, Suzuki M, Wada S, Ishii N, Hoshino Y.	4. 巻 10
2. 論文標題 Human pathogenic <i>Mycobacterium kansasii</i> (former subtype I) with zoonotic potential isolated from a diseased indoor pet cat, Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Emerging Microbes & Infections	6. 最初と最後の頁 220-222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/22221751.2021.1878935	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 -

〔学会発表〕 計7件(うち招待講演 0件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 春日郁朗, Iftita Rahmatika, 栗栖太, 古米弘明
2. 発表標題 給水管における微生物再増殖と水質管理
3. 学会等名 第27回日本水環境学会シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Iftita Rahmatika, Ikuro Kasuga, Futoshi Kurisu and Hiroaki Furumai
2. 発表標題 Dynamic changes of microbial communities from source to tap in chlorinated drinking water supply system
3. 学会等名 The 9th Microbial Ecology & Water Engineering (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Gan Yalan, Iftita Rahmatika, Ikuro Kasuga, Futoshi Kurisu and Hiroaki Furumai
2. 発表標題 Removal efficiency of nontuberculous mycobacteria in a full-scale drinking water treatment plant
3. 学会等名 Water Environment Technology Conference 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Iftita Rahmatika, Ikuro Kasuga, Futoshi Kurisu and Hiroaki Furumai
2. 発表標題 Diversity of nontuberculous mycobacteria in drinking water in premise plumbing
3. 学会等名 Water Environment Technology Conference 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Iftita Rahmatika, Ikuro Kasuga, Futoshi Kurisu and Hiroaki Furumai
2. 発表標題 One-year monitoring of microbial regrowth and occurrence of opportunistic pathogens after stagnation in premise plumbing
3. 学会等名 Water Environment Technology Conference 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yalan Gan, Futoshi Kurisu, Hiroaki Furumai, and Ikuro Kasuga
2. 発表標題 Quantitative microbial risk assessment of nontuberculous mycobacteria in water supply system in Japan,
3. 学会等名 WET2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yalan Gan, Eriko Shibasaki, Futoshi Kurisu, Dai Simazaki, Ikuro Kasuga
2. 発表標題 Occurrence and Diversity of Nontuberculous Mycobacteria in Biofilms Developed in Showerheads in Dormitories and Houses
3. 学会等名 第57回日本水環境学会年会
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	星野 仁彦 (Hoshino Yoshihiko) (20569694)	国立感染症研究所・ハンセン病研究センター 感染制御部・室長 (82603)	
研究分担者	栗栖 太 (Kurusu Futoshi) (30312979)	東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・准教授 (12601)	
研究分担者	島崎 大 (Simazaki Dai) (60322046)	国立保健医療科学院・その他部局等・上席主任研究官 (82602)	

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
---------	---------