

結核菌と結核症の考古学

—その発生から世界流行まで—

岩井 和郎 前田 伸司 村瀬 良朗

要旨：結核菌の全ゲノム配列が解明されてからこの10年余に蓄積された遺伝子変異に関する情報は、結核菌の地球上での起源からその世界的流行に至るまでの長い歴史を推定させることを可能とするに至った。結核菌はおおよそ3.5万年前に地球上に出現し、その祖先はさらに250万年前まで遡れる環境中の非結核性抗酸菌類であり、その遺伝子水平伝達により変異してヒトに適応したものが増殖した菌であると推定された。世界各地から集めた結核菌のゲノム変異の研究からは、この結核菌は中央アフリカで出現し、やがて人類の移動とともにインド・オセアニアおよび中東に運ばれていった。最も古い人骨結核は9,000年前の地中海東岸の海浜の遺跡から発見された。人類最古のメソポタミア都市文明は結核の爆発的増加に関連し、そこから主として東アジア、地中海沿岸、ロシア、北ヨーロッパに拡大していったと推定されている。約1,000年前からの世界での急激な人口増加が起こるとともに、変異北京系統株である modern type が出現し、それは中国中部から東南アジアなど各国に拡大していった。しかし日本と韓国では分離株の大部分が ancient type であり、modern type が主体を占める中国大陸とは異なっている。これらの研究の成績は、結核の疫学および臨床医学に新しい視角を与え、人類と細菌との関わりを理解するうえでも有用であると思われる。

キーワード：結核菌、遺伝子変異、ミイラ骨結核、系統発生樹、遺伝子地理学

はじめに

地球の長い歴史の中で、いったい結核菌はいつ頃地球上に出現したのだろうか、どのようにして世界中に拡がっていったのだろうかという素朴な疑問の探索は、現在の医学の進歩にどれだけ役に立つのだろうかと同疑問にも思われる。しかしこの考古学的問題は結核症に関わる者の基礎知識として、菌と人との関わりをより深く理解するうえで必要な知識とも思われる。最近の結核菌の遺伝子研究の目覚ましい進歩は、その疑問に大きな科学的証拠を与えてくれつつある。結核菌はほぼ人間にしか感染しない菌であるがゆえに、その伝播の様相は人類の歴史自体と深く関連していて、両者を重ねて観察し理解することが必要な疾患であろうと思われる。

序 章

地球、生物、人類誕生の歴史¹⁾²⁾

そもそも46億年前とされる地球誕生から最初の生命、原核細胞が誕生したのは約35億年前の先カンブリア時代、次いで20億年前に真核生物が発生し、10億年前には動物と植物への分化が起こったとされる。すなわち原核生物である各種バクテリアから真核生物などの原始的な生物は地球発生の比較的早い時期から発生していたとされている。その後、生物の爆発的な進化、魚類や爬虫類の誕生や植物の陸上進出があった古生代、ついで恐竜が全盛を極めやがて滅亡した中生代、そして哺乳類の繁栄した新生代の古第三紀と、類人猿から人類が分化した500万年前までの新第三紀、そして現人類が誕生したとされる約15万年前、日本の縄文時代の1万年前からと、今日までの恐ろしいほどの長い時間の間、原核生物であ

るバクテリアも変動する環境条件に適応しながら、生存・増殖と変異・進化を続けて今日に至っていると思われる。

一方、現人類の起源がいつ頃かについてはその推定年には大きな幅があるが、約40万年前に起立歩行を始めた原人ホモ・エレクトス、ついで20万年前頃にいたネアンデルタール人などの旧人、そしてその一部から遺伝学的なボトルネック的進化^{註1}により新人ホモ・サピエンスが誕生し、人口増加してきたとされる。最近のミトコンドリアDNAの分析からは、15ないし20万年前にいたアフリカに住む女性が最も古いホモ・サピエンスであるという説が広く知られているが、このDNAの変異の速度から推定する分子時計とこれまでの古生物学調査による推定年代との間には数倍の開きがあり、確実なことは今後なお時間を要するものようである。

註1. ボトルネック効果 (bottleneck effect) : たくさんの種類のビーズを容れた大きな瓶から、細い頸部を介してその下の広いスペースにビーズを落とすと、狭い口から1ないし数種のビーズのみが通過して下に落ちる現象から、環境悪化などにより僅かの生物のみが生残り以後その生物のみが繁殖する状態の表現に用いられている遺伝的用語。

アフリカからの人類の移動と世界への拡散

ヒトの全ゲノム配列が解明されてから、地球上に現存する多くの人種でY染色体上の遺伝子の変異の検索が行われ、それによって人類の祖先とその子孫の分化、人類の移動に伴う民族の多様化、その地理的分布の様相が追及できるようになった。Underhillら³⁾は2001年、現在の世界21民族の1,062人の遺伝子の多形性の分析を行った結果、全部で131のハプロタイプがあることを知り、その変異発現までの時間的因子を加えた系統発生樹を作成して、大きく10のグループに分けることをした。その成績から、人類の源は中央アフリカにあり、まずアフリカ大陸内で人口増加と共に遺伝的に異なるいくつかの系統が発生し、ついで約4万年前にアフリカの角(ソマリア)付近からアフリカ脱出が始まり、インド・東南アジア・オセアニア地域へと海沿いに広がるグループが出現した。また、中東レバノン回廊を通して北インド、中国、北アジア(その子孫がシベリア、北米)に移動してゆく過程で、遺伝子変異を重ねながらそれぞれの民族が生まれてきたと推定している。Fig. 1は遺伝子系統樹から見た人類の移動を、時間的推移と地理的分布とを重ねて表したもので、7ないし4.5万年前から始まって人類の進化と移動は、大氷河期でいったん停滞し、暖氷河期から完新世紀に入って再び移動が活発になったことも推察されている。長い間に起こった人類の移動の歴史は、ヒトを媒体とする結核症の世界的伝播のパターンを理解するうえで、重要な基盤であると思われる。

1. ヒトの結核症はいつから出現した?

エジプトのミイラの骨結核

ドイツ・ハイデルベルクで発掘された約9,000年前と推定される人骨に、形態学的に結核性病変と思われる変化が見出されたという記載があるが、結核性であるという科学的証拠は明らかでない。エジプトでは多くのミイラに骨カリエスに相当する病的変化が見出されることがMorse Dら(1964)⁴⁾により報告されたが、その病変から抗酸性杆菌が染めだされたという報告がZimmerman MR(1979)⁵⁾によってなされ、西暦紀元前にすでに結核菌は人に感染し発病させていたと考えられた。最近の結核菌遺伝子研究の進歩をまっけて、2001年Zink Aら⁶⁾は、今から2,500年および5,000年前のエジプトのそれぞれのミイラの骨病変で、PCRで増幅した産物の塩基配列がIS6110と一致したことから、結核菌(群)による病変であることを明らかにした。それらのミイラの41体中20体に骨カリエスと思われる所見を認めたことから、「当時のエジプトでは結核がかなり蔓延していたと思われる」と述べている。さらに彼らは2003年⁷⁾、85体のミイラから25体にRFLP IS6110陽性の結果を得、スポリゴタイプ分析と合わせて、そのすべてが*M. tuberculosis*または*M. africanum*であり、*M. bovis*は見られなかったと報告している。

骨カリエス病変は、エジプトからかなり遅れて今から2,200年前のイギリスで、Pott病相当の病変をもつ遺体が見つかり、ハンガリーではAD 700~800年とAD 1700年頃の遺体で、IS6110配列が検出されている(Taylor GMら⁸⁾、2005; Haas CJら⁹⁾、2000)。南米でもAD 700年頃の遺跡での小児遺体に骨カリエスが見られ、肺、肝からは抗酸菌を多数検出したと報告された(Allison MJら、1973)¹⁰⁾。

9,000年前の東地中海海底遺跡からの骨結核

最近それよりさらに古く、約9,000年前の人骨に結核に一致する病変があるのが報告され、それからの菌の遺伝子解析がなされた(Hershkovitz Iら、2008)¹¹⁾が、これがおそらく世界で最も古い、DNAレベルで確認されたヒト結核症の報告と思われる。地中海東端海岸にあった家畜も飼っていた集落で、地震と地盤沈下のために集落ごと海底に埋没した新石器時代の遺跡で、その粘土層内に埋葬されていた遺骨が発掘されたもので、8,160~9,250年前の遺跡と推定されている。埋葬されていた骨は母親と幼児のもので、いずれの骨にもカリエスに一致する病的所見が認められ、病変部から抽出したDNAのPCR分析ではTbD1陽性で、後述のancestral *M. tuberculosis*に相当した。また高速液体クロマトグラフィーで、結核菌細胞壁の各種ミコール酸に一致するパターンを証明するこ

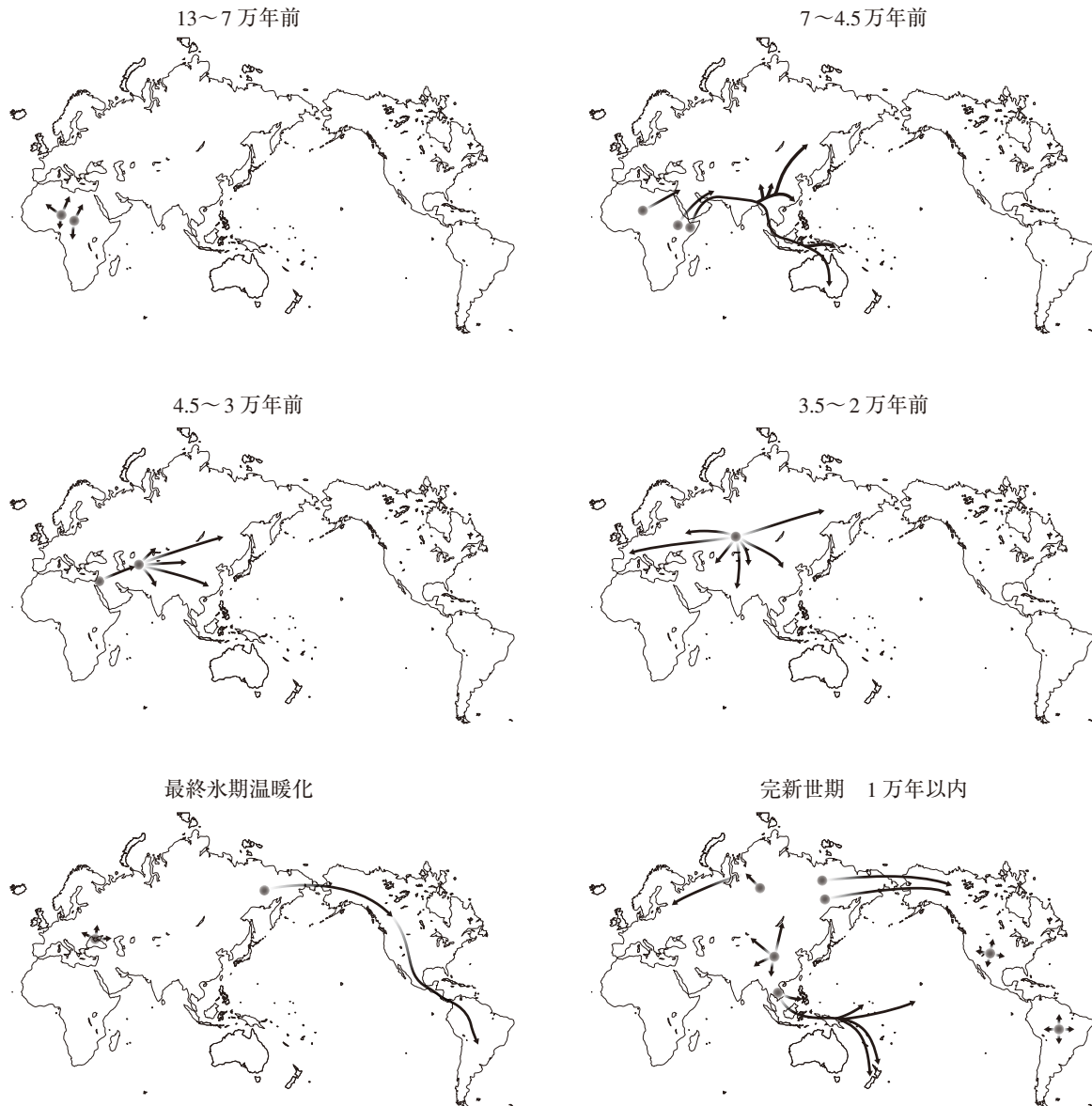


Fig. 1 人類の祖先のアフリカ脱出とその後の移動，人口増加に伴う分布の拡大の推移 (Underhill PA³⁾の原図を簡略化したもの)

とができた。歴史書からは，メソポタミア文明が発達する今から1万年以上前の時代から，この地方ではすでに人は集落をつくって定住し農耕に従事していたことが知られているが，この遺跡では牛の骨も見つかっており家畜と共に生活していたことが認められた。すなわち，結核が家族内感染の形でこの時代にすでに起こっていたことが示されている。

野牛の骨結核

なお¹⁴Cによる検査でおおよそ1.7万年前のものとして判定した北米の遺跡から，今日では絶滅したバイソン（長い角をもつ野牛，北米に野生）の骨が発掘されたが，その骨にカリエスと一致する病変を見出し，そのDNA配列とスポリゴタイプによる分析から結核菌と同定された

(Rothschild BMら，2001)¹²⁾。このような古い時代にどうして北米に結核があったのかと疑問に思えるが，数万年前に陸続きだった北米大陸に，ベーリング海峡を通過してアジアから人類が移動していたとされるので，その人たちの間に結核患者がいて，それからバイソンへの感染が起こったという説明も全く根拠のないことではないかとも思われる。

日本人の骨結核

日本での結核症の歴史については，青木正和の著書「結核の歴史」¹³⁾の中で古い骨結核のことがよく調べて書かれてある。それによれば，日本各地の縄文時代の遺跡から多数の骨が発掘されているがカリエスを思わせる変化は全く見つかっておらず，弥生時代中期までの遺骨

にもない。そして、「大規模調査で知り得た日本でも最も古い骨カリエス病変は、古墳時代後期6世紀の人骨の脊椎に見出されたものである」とした鈴木¹⁴⁾の報告を紹介している。その後、それより古く BC 300年から AD 300年の、弥生時代初期と思われる鳥取県の遺跡から、少なくとも109体の遺骨の中から2体の遺骨に脊椎カリエスに一致する変化を見出し、多数の移住民を大陸から受け入れていた弥生時代の日本での出来事であると述べている (Suzuki Tら, 2006)¹⁴⁾。その後彼らは、日本と交易のあった南韓国海岸の BC100年頃の遺跡からも脊椎カリエスの所見を見出して報告¹⁵⁾し、この時代にも韓国と日本との人の行き来があったと述べている。いずれにせよ日本への結核の伝播と流行は、アジア大陸よりかなり遅れて弥生時代に起こったものと思われる。

2. 結核菌の誕生とその後の変異

ヒト結核菌群の地球上の出現時期

結核菌は地球の歴史から見ると、多くの他の細菌と比べてごく新しい菌と思われる。南カリフォルニア大の Hughes ALら¹⁶⁾は2002年、当時全ゲノム配列が解読されて間もない結核菌 H37Rv株と同 CDC1551株の各保存株の全ゲノム塩基配列の比較を行い、それらの中で機能変化をきたさない synonymous (=silent) な単一塩基多型性 (single nucleotide polymorphism: SNP) を拾い出して、1変異に要する年数を他の菌からの類推で計算を行い、Ps (Proportion of synonymous substitution per synonymous site) = 0.000328 ± 0.000022 で、結核菌 ancestorからの結核菌への遺伝的分岐は今から約3.5万年前であると推算した。後述の Broschらが述べている2~3.5万年前、Wirthらの計算3.75~4.15万年前という値にほぼ近い数字である。

各結核菌群の発現過程

結核菌には各種の亜種があるが、その発現過程を結核

菌 DNAの分析の結果から調べた Mostowy Sら¹⁷⁾の報告は、大塩基配列多型性 (large sequence polymorphism: LSP) の変異を調べた研究である。彼らは2002年、結核菌は菌種により Region of difference (RD) 領域の欠損の様相に差があることを知った。その結果から、結核菌の ancestorから *M. tuberculosis* と *M. africanum* I が分岐し、それに不可逆性の RD9 の欠損が起こったものが *M. africanum* II で、さらに RD7, RD8, RD10 の欠損が加わったものが *M. microti* と seal bacillus, 次に RD5, RD6, RD12, RD13, N-RD25 欠損が加わったものが *M. caprae* で、最後に RD4 欠損が加わったものが *M. bovis* であると報告した。

同じ2002年にパスツール研究所の Broschら¹⁸⁾は、ソマリアの結核患者から分離され特異な細菌学的性状を示す結核菌株の1種、*M. canettii* を含めての研究を報告している。そして、結核菌、*M. africanum*, *M. microti*, *M. bovis* 以外にも、類縁の *M. oryx*, *M. goat*, *M. bovis*, BCG Tokyo, BCG Pasteur の各菌種について RD 領域の欠落状況を調べた。彼らは *M. canettii* には housekeeping gene の多形性はあるが RD 領域の欠損がないため、結核菌群の共通祖先により近い“古い”別の菌種であると考えた。その共通祖先から ancestral *M. tuberculosis* が誕生し、さらに TbD1 欠損, *katG*, *gyrA* 遺伝子変異が加わって modern *M. tuberculosis* 群となり、さらに他の RD 欠損が加わって、*M. africanum* さらに *M. bovis* が派生してきたとして、それを図示した (Fig. 2)。

Huard RCら¹⁹⁾は2003年、*M. canettii* と共に非結核性抗酸菌群 *M. microti*, *M. abscessus*, *M. avium* complex, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. marinum*, *M. simiae*, *M. smegmatis*, *M. szulgai*, *M. xenopi* の各菌種について DNA 解析を行い、すべての非結核性抗酸菌で 16S rRNA, *rpoB* 以外の遺伝子が欠落していることも

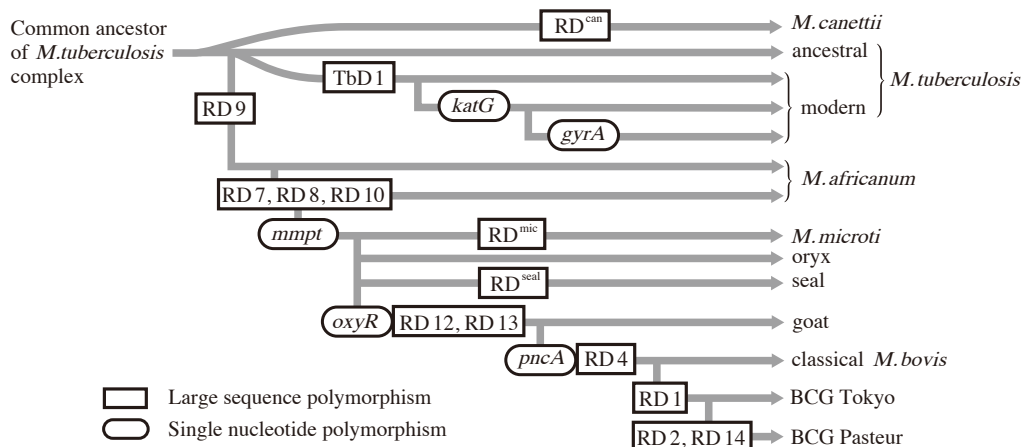


Fig. 2 結核菌が RD 領域の順次の脱落によって、別の亜種が発生する過程 (Brosch R の原図¹⁸⁾より改修)

示し、この方法が結核菌群と非結核性抗酸菌の鑑別・同定に有用であることを強調した。一方 Bakerら (2004)²⁰ は、各結核菌群の薬剤耐性関連遺伝子 *gyrA*, *inhA*, *katG*, *oxy-ahpC*, *pncA*, *rpoB*, *rpsL* の SNPs を調べ、各結核菌群発現に薬剤耐性遺伝子の SNPs が関連していると報告した。その後、Huardら (2006)²¹ は RD 領域欠落と *mmpL* 遺伝子 SNP を組み合わせて調べた結果、*M. africanum* subtype I/II と *M. pinnipedii*, およびこの研究で明らかにされた *Dasie bacillus* と *Oryx bacillus* とを加えての系統発生樹を示した。

結核菌群に先行して存在した非結核性抗酸菌群

前出の Broschらと同じパスツール研究所グループの Gutierrez MCら (2005)²² は、現在の結核菌群のさらなる起源を模索する研究を行った。彼らは、それまでの RD 領域解析から最も結核菌群の共通祖先に近いと考えられていた *M. canettii* が培地上で smooth な形状のコロニーを呈することに注目して、37 株の smooth tubercle bacilli を収集し、非結核性抗酸菌群および結核菌群 (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. microti*, *M. bovis*) と共に遺伝系統解析を行った。その結果、*M. canettii* を含む “smooth tubercle bacilli” の遺伝的多様性は想定以上に高く、その誕生は従来の想定よりも遥かに古い約 300 万年前であると推定した。さらに遺伝子中にモザイク構造があることから、遺伝子の水平伝播が起こった結果結核菌が誕生したと考えた。そして、遺伝的多様性に富む環境中抗酸菌の中から、今からおよそ 3.5 万年前に、ヒト体内に適応した結核菌群の祖先が誕生し、遺伝的ボトルネック効果により増殖した結果、現代の結核菌群が発生したことを推定して報告した (Fig. 3)。

Crubézy Eら (2006)²³ もエジプト・ミイラの脊椎カリエス病変から分離した結核菌 DNA 配列を分析するとともに、GenBank から入手した 53 種の非結核性抗酸菌についてその 65kDa 抗原の塩基配列を調べ、それから各種抗酸菌の系統発生樹を作成し、5,400 年前の結核菌が遺伝子地図上で他の非結核性抗酸菌とどのような位置的關係にあるのかを推測し報告している。結核菌を発生学的に非結核性抗酸菌と関連づけて考えている点で、前出 Gutierrez らの研究と同様の視点にたつ研究報告である。

アフリカから世界への結核菌の伝播拡大

結核菌が地域によって特定の菌種が多いという地域性のあることは、これまでにも北京系統株^{註2}などで報告されていた。Filliolら (米 New Jersey 医大, 2006)²⁴ はアメリカ、フランス、メキシコ、トルコ、アフリカ、オーストラリアの各国から臨床分離結核菌およびウシ型菌の計 323 株を集めて、212 の SNP をマーカーとしてクラスター化を調べた。その結果、全株が 6 つのクラスターに

分けられ、それぞれが地域特異性をもっていることから、中央アジア clade, 東アフリカ・インド clade, 北京 clade, Haarlem clade, ラテンアメリカ・地中海 clade, S clade, T clade, X clade, ウシ型 clade などと命名した。その共通祖先からの分岐の方向と、SNP 数から計算される祖先菌からの時間的距離とを合わせたものを、世界で初めて系統樹として図示した (Fig. 4)。

註2 北京系統株：遺伝系統樹から見た結核菌の分類には、上記 clade, group, family, lineage など各種の命名がなされ報告者により様々である。現在 lineage が最も多く用いられている名称なので、本論文ではその仮訳として ‘系統株’ を用いておく。

彼はスポリゴタイプおよび VNTR によっても同様の検討を行い、スポリゴタイプと SNP ではほぼ同様の系統樹の分類を得たが、VNTR では当時用いた方法では *M. bovis*, 東アフリカ・インド, 北京を除く他の系統株では系統樹の意義のある分類を得ることができなかったとした。前出フランス学派の研究が結核菌発生史の歴史を遡ってその成り立ちを考える研究であるのに対して、Filliol らの研究は菌の遺伝的系統樹が世界の地域により特定されることを示した genogeographical study としての走りであったと思われる。

同じ 2006 年 Gagneux Sら²⁵ は、80 カ国から 875 株の菌を集めて、TbD1 と各 RD 領域の欠損および *pks 15/1*, *katG 463* 遺伝子の SNP を検討し、結核菌にはインド・オ

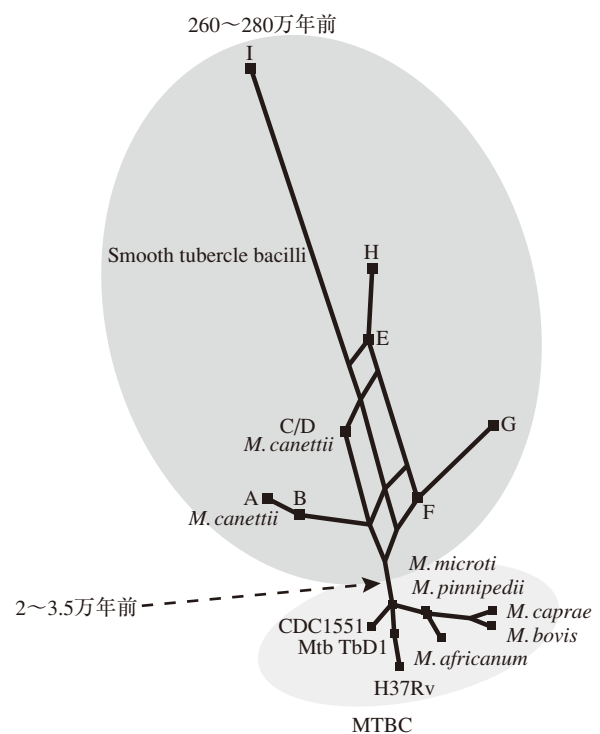


Fig. 3 結核菌群の系統発生樹を遡るとそれは “smooth tubercle bacilli” と呼ばれる環境中の抗酸菌から進化したもので、その起源は 200 万年以上前と推定される。

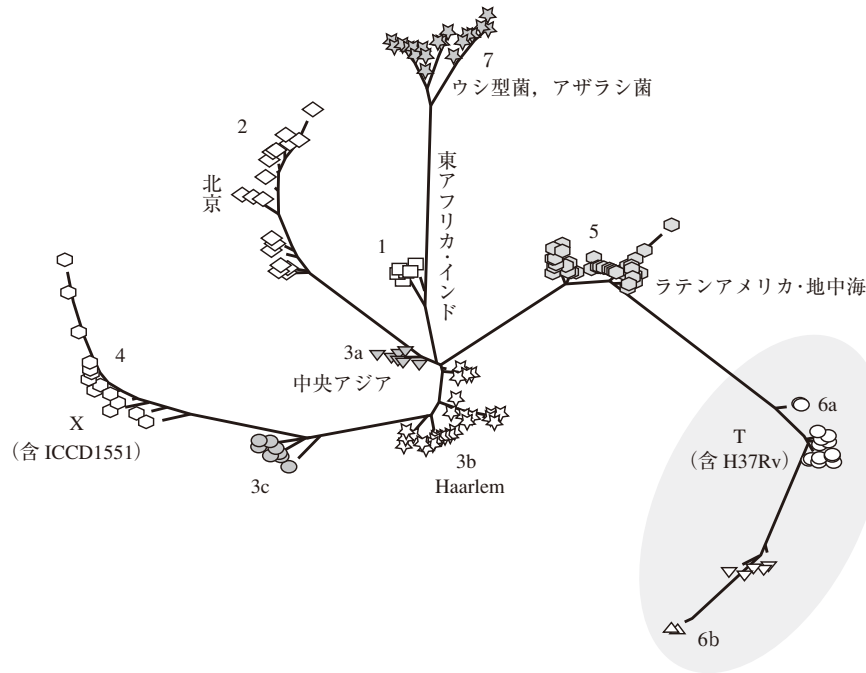


Fig. 4 世界の各地域で分離された結核菌群の系統発生樹を分子時計 (SNP 数差) を考慮に入れて作成した。(Filliol²⁴⁾の図の模写)

セアニア系統株, 東アジア系統株, 東アフリカ・インド系統株, ユーロ・アメリカ系統株, 西アフリカ I/II 系統株の6つの系統に分けられるとした。その DNA 解析から, その progenitor から最も早い時期に *M. canettii* が分岐し, 次にインド・オセアニア系統株が分岐して ancestral *M. tuberculosis* となり, その TbD1 欠落により modern *M. tuberculosis* である東アジア (北京系統株), 東アフリカ・インド系統株が, さらに *pks 15/1* からの 7 bp 脱落により中東, ヨーロッパ・アメリカ, 西, 南, 中央アフリカの各系統株が発生したと推定した (Fig. 5)。またそれらと異なる別の枝からウシ型菌と, *M. africanum* に相当する西アフリカ I/II 系統株とが発生したと考えた。そして人類の移動に伴って結核菌が各地に運ばれ, それぞれの宿主に適応した系統株が出現することにより, 結核菌の地理的分布を示す集団遺伝的構造が形成されたと考えた。ヒト遺伝子系統樹でも, 最も早いアフリカからの脱出がインドからマレー半島の沿岸であるとされているのと, 最も古い結核菌が前述のごとくインド・オセアニア系統株であることが, 符合しているごとくに思われる。

Gutacker MM ら²⁶⁾も 2006 年, アメリカ 3 地区とフィンランドからの 5,069 株の結核菌について synonymous, nonsynonymous, intergenic, concatenated それぞれの SNPs を調べた。SNPs とスポリゴタイプでの成績はいずれでも単一菌集団構造 (clonal population structure) を示したが, MIRU-VNTR では Filliol らの成績同様に系統樹の分岐は認められなかった。集めた結核菌の患者の出生地との関

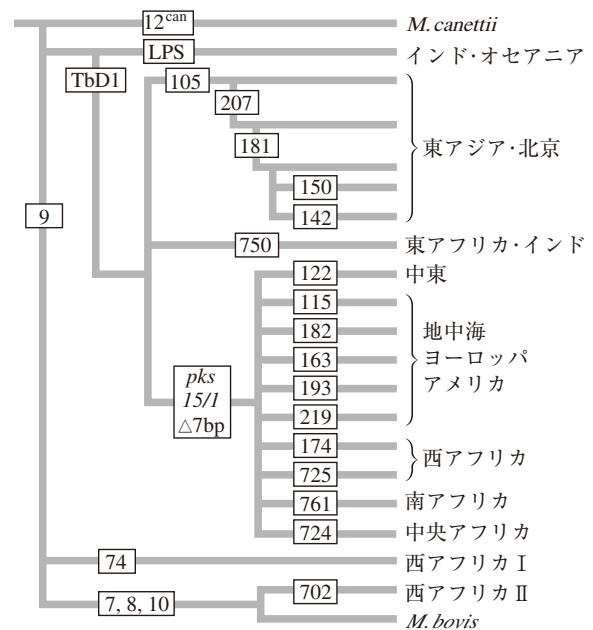


Fig. 5 結核菌群の RD 領域欠損状況から見た各 sublineage とその地域分布との関係 (Gagneux S²⁵⁾の図の紹介) (図中の数字は RD No を示す)

連を見ると, 当然かもしれないが欧米諸国出身と東洋諸国出身では菌の各系統株の分布が大きく異なることを示した。2007 年 Gagneux S らはその総説²⁷⁾の中で Baker, Filliol, Gutacker による 3 つの同様の研究成果を並べて比較し, 少しずつ食い違う地域と系統樹との関連につい

て論じた。

Wirth T (2008)²⁸⁾は系統株ごとのVNTRのバラツキを測定し、そのバラツキ度が高いほどそれだけその系統群が成立してから時間的経過が長いと考えて、分岐推定年を逆算した。彼らはヒト型結核菌とともにウシ型、アザラシ型、山羊型、ノネズミ型、oryx (サウジアラビアに生息するシカに似たウシ科動物)型の菌も含めての系統発生樹を描き、各種動物への感染は主としてアフリカ型結核菌で起こり、それぞれの宿主動物に適応した系統株へと進化したと推定した。さらに結核菌の most recent common ancestor からの分岐以後の年数を菌の系統株別に推算し、東アジア・インド系統株とラテン・地中海系統株の間は41,500年、東アジア・インド系統株と北京系統株との間は37,500年と推定した。

さらに彼は世界地図の上で世界文明の発達^{29)~31)}と重ねて考察し、結核菌はアフリカ・ソマリア地域 (*M. canettii* 関連菌) から、まず肥沃な三日月地帯と呼ばれ世界最古の文明が開けた中東メソポタミア地方に運ばれた。そこで発達した都市文明を流行の起爆剤として、それまで散発的であった集落での結核から急速な感染の拡大が起こり、また当時すでに都市と交易が行われていたインド地方への感染拡大が起こったと考えて、それらを綺麗な図 (Fig. 6) にして示した。

ユーフラテス河とチグリス河との間の肥沃なメソポ

ミア地方に都市文明が起こる9,000年以上前から、人々はすでに狩猟や漁労で移住する生活から、村落を作って農耕を行い家畜 (牛) を飼って定住して農作業する生活に変化していった。この頃の結核はすでに散発的に発生し主として家族内感染によるものであったと思われるが、6,000年前頃からのメソポタミア文明の発現とともに、都市の形成と人口密集化が起こり、それに伴って結核が都市住民の間で急速な感染・発病を起こし、交易により各地に拡大していったことが想定される。なおメソポタミア地域から遠くないエジプトでも、時代はやや遅れるとしても同様な都市文明が発達し、その影響がエジプトでの結核蔓延を加速していたと思われ、事実エジプトの間にはかなりの結核の蔓延があったと推定できる報告も見られる³⁾⁶⁾。

Hershberg Rら (2008)³²⁾は、彼が集めた結核菌の中には他の報告にはなかったフィリピン株も含まれていたが、このフィリピン系統株が、インド洋沿岸・インドネシア、ポリネシア、オーストラリアから分離されるインド・オセアニア系統株と同じ ancient な系統株に属し、時間的・系統発生的にアフリカ系統株の後に分岐して発生していることが示されており、これは人類のアフリカからの最も古い脱出と移住が、インド洋沿岸を伝って海路東南アジアからオセアニアにと拡がっていったという、人類学的知見と軌を一にするものである。

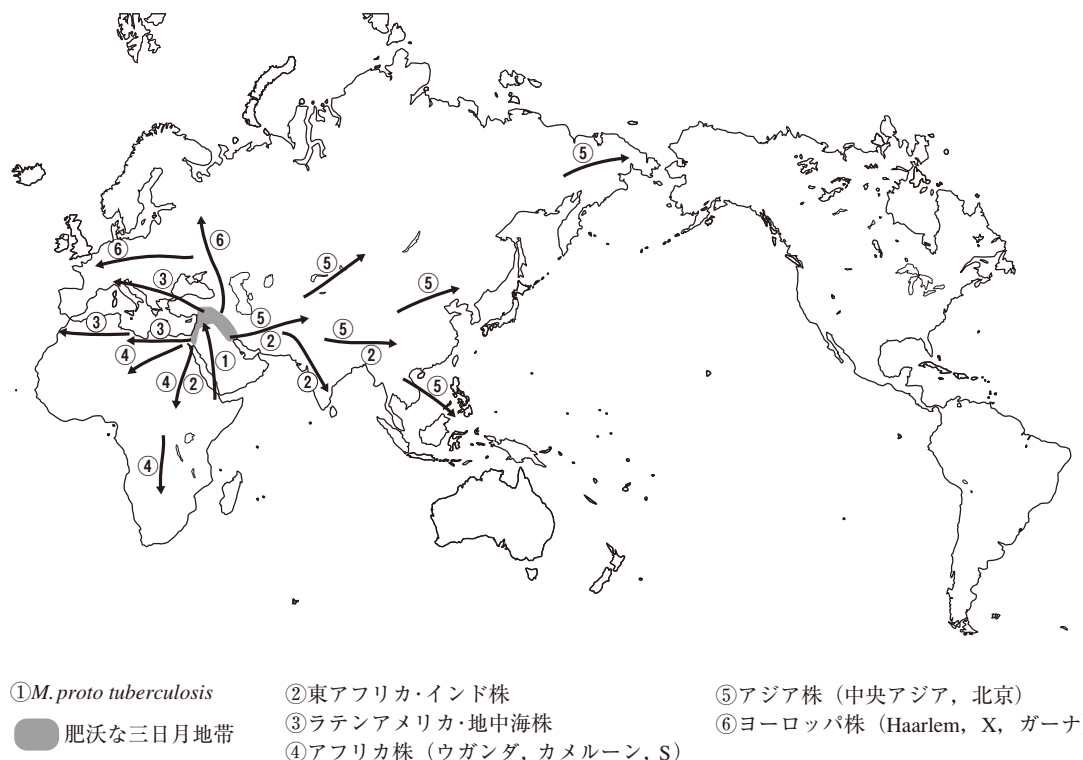


Fig. 6 結核菌がアフリカの角から中東の肥沃な三日月地帯から世界に伝播される経路を示す。(Wirth T²⁸⁾の図を簡略化)

彼はさらに結核流行には人口増加の要因が大きく働くことを指摘している。最近の約1,000年の間に、地球上では文明水準の上昇に伴って東アジアとヨーロッパでの人口の爆発的増加が起こっているが、その人口増加は若い未感染者の割合の増加をもたらす、それは新しい結核感染の母地と媒体となる。そして、その人たちの間で感染が拡大し菌が増殖を続ける間に、新しい変異株の出現が起こり、拡大していったことが推測される。もし、より高い感染性をもつ結核菌変異株が誕生すれば、それは在来の結核菌系統株による感染が新しい変異菌の感染に侵食され置き換えられてゆく可能性が考えられる。次章で述べる北京系統株 modern型の流行も、このように新しい菌株の感染の波を被って古くからの結核菌株による蔓延が覆われてゆくことが想定された。現時点での結核菌分離株の中には、それぞれの地域に特有な古い起源の菌と、その変異により誕生した新種の菌との混在があってよいと思われる。

3. 現在の北京株を中心とした解析

現在世界各国で分離されている北京株の中でも、特に伝染性が強く多剤耐性の頻度が高いとされるW株による感染が、1991年ニューヨークの病院で多発したことがCDCにより報告され、注目された。Plikaytis BBら (1994)³³⁾はその菌について遺伝子分析を行い、NTF-1領域中に挿入された2コピーのIS 6110配列の存在を多くのW株で確認し、NFT-1を調べることがW株の診断に有用であるとした。Kurepina NEら (1998)³⁴⁾はNFT-1とは独立の現象として *dnaA* と *dnaB* 遺伝子の間にIS 6110への挿入が起こっているを示し、これが北京/W株群のマーカーになることを示した。Tsolaki AGら (2005)³⁵⁾は北京/W株群について全ゲノム配列を調べ、21個の多塩基配列異型性 (LSP) を同定した。そのLSPの中でRD 105欠損はすべての北京/W株で見られることから、RD 105欠損がこの株のマーカーとなりえ、その他にRD 105, RD 181, RD 150, RD 142の順に欠損が起こっていたと述べた。

Mokrousov Iらは2002年³⁶⁾、ロシア北西部ではancient型の北京系統株が見られ、それはこの地域でのendemicな感染で時代的には古い菌である、一方大部分の菌はmodern型北京系統株に属し、ancient型の北京系統株のNTF領域内へのIS 6110の挿入が起こっていることを示した。彼らはさらに2005年³⁷⁾、NTF領域へのIS 6110の挿入がないものがancient型、1個の挿入がmodern型、2個挿入されたものがW株であるという、北京系統株変異過程を明快に説明した (Fig. 7)。

なお古い結核菌をancestralと、変異を起こした後のmodernとに分ける分け方があり、北京系統株のancient型とmodern型と言葉が似ているため混同しやすいが、

前者ではその分岐はおそらく数万年前に起こっているもので、後者はこの数世紀の間に起こった現象であると思われる、同じ‘modern’と称しても内容的にかなり異なることを知っておくべきと思われる。北京系統株をatypical (=ancient) と typical (=modern) と呼称する著者もいてそのほうが混乱は少ないが、この呼称は現在あまり用いられていない。

この北京系統株のmodern型はベトナムなど東南アジアで高頻度に分離されると報告されているが、日本では沖縄県で分離株で検討がなされた。Millet Jら (2007)³⁸⁾のスポリゴタイプによる101株の分析で、その71.3%が北京系統株で、東アフリカ・インド系統株5.9%、Haarlem系統株4%、ラテン・地中海系統株2%、X1系統株1%、中央アジア系統株0%であったとし、多剤耐性結核菌が全く見られなかったことと患者の6割以上が60歳以上であったことから、沖縄では古い結核病巣の再燃による発病が主と思われると報告した。日本全国から集められた結核菌325株のMurase Yら (2008)³⁹⁾によるスポリゴタイプでも、北京株は73.8%にあったと報告している。Wada Tら (2009)⁴⁰⁾はBeijing/W family 403株をVNTRでクラスター分析し、IS 6110へのNTF region挿入の有無によりancientとmodernに分けたが、その結果では日本の北京/W結核菌の78.2%はancient北京系統株であり、モンゴル/中国からの結核菌でancient型29.2%、modern型70.8%であったのと大きく異なっていることが述べられている。その後の前田らの国際共同研究 (2008)⁴¹⁾でも、韓国の80分離株の72%がRD 181+のancient型北京系統株で、大阪75%、東京77%とほぼ同率を占めているのが示され、ancient型が北京で5%、香港で14%、ベトナムで25%、ロシアで5%とする他の報告との間に大きな差があることが明らかになっている (Table)。岩本⁴²⁾も同

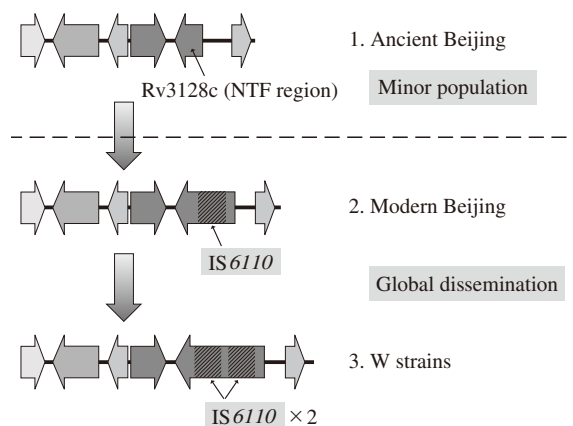


Fig. 7 北京系統株の3 sublineage発現の様式：ancientからNTF領域へのIS6110挿入によりmodern→W株へと変化してきた。

Table 北京系統株, ancient株と modern株の地域による頻度の差

	日本	北京	香港	ベトナム	ロシア
Ancient	80%	5%	14%	25%	5%
Modern	20%	95%	86%	75%	95%

	大阪	東京	韓国
Ancient	130 (75%)	87 (77%)	46 (72%)
Modern	45 (25%)	26 (23%)	18 (28%)

様な結果を報告し、岸田ら⁴³⁾も最近の千葉県分離の結核菌では、非北京株が26%を占め、その中ではインド・オセアニア系統株が20%、東アフリカ系統株が15%、欧米系統株が65%であったと報告している。

Rindi Lら (2009)⁴⁴⁾はイタリアとトルコから分離した結核菌を調べ、北京系統株は結核菌 progenitor から RD207の欠損から生じ、その後 RD105, RD181, RD150の順に欠損が起こり、さらに DNA修復酵素遺伝子 *mut4*, *mut2*の欠落と加わり、最後に RD142の欠陥に至ったとし、前出 Tsolakiらの報告とほぼ同様の結果を示している。

なお Mokrousov Iら³⁷⁾は、VNTR-MIRUによりロシア、シンガポール、ベトナム、バングラデシュ、南アフリカ、他アジア地区から集めた結核菌北京遺伝子型の系統発生樹を作成した。それとヒト Y染色体 DNA分類による人類の移動の歴史とを重ね合わせて考察している。そして、人類は有史前にアフリカ・中東からカスピ海周辺に向かい、それから北東に向かいベーリング海を経てアラスカに至って移動した人々では古い Nj型北京株 (ancient Beijingに相当) の感染が見られ、一方、カスピ海付近で東の北京方向に向かった人類の間で結核菌北京系統株では NTF regionの挿入が起こって ancient型から modern型に変異し、その modern型が中国および東南アジアでの人口増加とともに蔓延したと考えている。

なお、Kremer Kらはベトナムおよびオランダで分離された atypical (ancient) の北京系統株の頻度は、75歳以上の患者で若い患者より有意に高く、BCG接種歴のない例で有意に低いと報告してきたが、さらに2009年にはオランダ、ベトナム、香港、中国で分離された結核菌で BCG接種歴のある例で modern型北京系統株の感染が多いと報告⁴⁵⁾し、免疫との関連を示唆している。しかし、新しい modern型株が BCG接種歴ある若い世代により多く感染したと考えることも可能である。なお最近 Parwatiらは“北京系統株の世界蔓延に関わる機序”についての興味ある総説⁴⁶⁾を発表しているので、関心のある方は参照していただきたい。

4. まとめ

結核菌のルーツを探る試みは、結核菌全ゲノム解読がなされてから、その遺伝子変異を手がかりとして、この10年間で急速に進展した。SNPを調べることで、結核菌の最も古い株は約3.5万年前に、人体内発育に適した変異株として、環境中に棲息する類縁の非結核性抗酸菌群の中から出現したと推定された。そして人類発祥の地でもあるアフリカでその progenitorが発生し、東アフリカからインド洋沿海領域に、また中東の肥沃なメソポタミア地域に人によって運ばれていったと思われる。人類最古のメソポタミア文明が発達するとともに、都市化に伴う感染機会の大幅な増大と蔓延が起こり、世界に拡大していったことが推定される。

北京系統株はこの約1,000年の間での東アジアやヨーロッパでの人口の著明な増加と共に、伝染性が高まり、ancient型から modern型に変異し、ニューウェーブとなって東南アジア、ベトナム、上海、中国およびモンゴルへ伝染していったことが、最近の研究から推察される。日本、韓国、フィリピンではこの新しい感染の波の洗礼を受けていないかのごとくである。結核菌もウイルスと似て増殖を繰り返す間に、また抗結核剤による選択も加わって変異株の出現が多くなり、より伝染性の強い、抗結核剤に抵抗性の菌に変貌することで、生存を続けていくのかもしれないと想像することもできた。

現在世界で年間170万人の死亡を引き起こしている結核菌は、古くから世界中に伝播し人と共に生きてきた菌であり、その歴史から見ても世界からの根絶には世界規模での多大で地道で継続的な努力が必要であろう。そして、伝染する過程での菌の突然変異 (ウイルスなどで見られるような) を許して、より毒力と伝染性が強く治療が困難な菌への変貌が起こる前に撲滅しないと、結核の地球上からの根絶はより困難なものとなる可能性があると思われる。

参考資料と引用文献

- 1) 地球の歴史と人類の歴史. <http://tctv.ne.jp/koba-y/oaedp/tikyuu.html>
- 2) Phylogenetic Tree of the Life-j.png. <http://wikipedia.org/wiki>
- 3) Underhill PA, Passarino G, Lin AA, et al.: The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origins of modern human populations. *Ann Hum Genet.* 2001; 65: 43-62.
- 4) Morse D, Brothwell DR, Ucko PJ: Tuberculosis in ancient Egypt. *Am Rev Respir Dis.* 1964; 90: 524-541.
- 5) Zimmerman MR: Pulmonary and osseous tuberculosis in an Egyptian mummy. *Bull NY Acad Med.* 1979; 55: 604-608.

- 6) Zink A, Haas CJ, Reischl U, et al.: Molecular analysis of skeletal tuberculosis in an ancient Egyptian population. *J Med Microbiol.* 2001 ; 50 : 355–366.
- 7) Zink AR, Sola C, Reischl U, et al.: Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* complex DNAs from Egyptian mummies by spoligotyping. *J Clin Microbiol.* 2003 ; 41 : 359–367.
- 8) Taylor GM, Young DB, Mays SA: Genotypic analysis of the earliest known prehistoric case of tuberculosis in Britain. *J Clin Microbiol.* 2005 ; 43 : 2236–2240.
- 9) Haas CJ, Zink A, Molnar E, et al.: Molecular evidence for different stages of tuberculosis in ancient bone samples from Hungary. *Am J Phys Anthropol.* 2000 ; 113 : 293–304.
- 10) Allison MJ, Mendoza D, Pezzia A: Documentation of a case of tuberculosis in Pre-Columbian America. *Am Rev Respir Dis.* 1973 ; 107 : 985–991.
- 11) Hershkovitz I, Donoghue HD, Minnikin DE, et al.: Detection and molecular characterization of 9,000-year-old *Mycobacterium tuberculosis* from a Neolithic settlement in the eastern Mediterranean. *PLoS One.* 2008 ; 3 : e3426, 1–6.
- 12) Rothschild BM, Martin LD, Lev G, et al.: *Mycobacterium tuberculosis* complex DNA from an extinct bison dated 17,000 years before the present. *Clin Infect Dis.* 2001 ; 33 : 305–311.
- 13) 青木正和: 「結核の歴史, 日本の社会との関わり, その過去, 現在, 未来」. 講談社, 東京, 2003.
- 14) Suzuki T, Inoue T: Earliest evidence of spinal tuberculosis from the aneolithic Yayoi Period in Japan. *International Journal of Osteoarchaeology.* 2006 ; 17 : 392–402.
- 15) Suzuki T, Fujita H, Choi JG, et al.: New evidence of tuberculosis from prehistoric Korea-population movement and early evidence of tuberculosis in Far East Asia. *Am J Phys Anthropol.* 2008 ; 136 : 357–360.
- 16) Hughes AL, Friedman R, Murray M: Genomewide pattern of synonymous nucleotide substitution in two complete genomes of *Mycobacterium tuberculosis*. *Emerg Infect Dis.* 2002 ; 8 : 1342–1346.
- 17) Mostowy S, Cousins D, Brinkman J, et al.: Genomic deletions suggest a phylogeny for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J Infect Dis.* 2002 ; 186 : 74–80.
- 18) Brosch R, Gordon SV, Marmiesse M: A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Proc Nat Acad Sci USA.* 2002 ; 99 : 3684–3689.
- 19) Huard RC, de Oliveira Lazzarinini LC, Butler WR, et al.: PCR-based method to differentiate the subspecies of the *Mycobacterium tuberculosis* complex on the basis of genomic deletion. *J Clin Microbiol.* 2003 ; 41 : 1637–1650.
- 20) Baker L, Brown T, Maiden MC, et al.: Silent nucleotide polymorphisms and a phylogeny for *Mycobacterium tuberculosis*. *Emerg Infect Dis.* 2004 ; 10 : 1568–1577.
- 21) Huard RC, Fabre M, de Haas P, et al.: Novel genetic polymorphisms that further delineate the phylogeny of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J Bacteriol.* 2006 ; 188 : 4271–4287.
- 22) Gutierrez MC, Brisse S, Brosch R, et al.: Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog.* 2005 ; 1 : e5.
- 23) Crubézy E, Legal L, Fabas G, et al.: Pathogeny of archaic mycobacteria at the emergence of urban life in Egypt (3400 BC). *Infect Genet Evol.* 2006 ; 6 : 13–21.
- 24) Filliol I, Motiwala AS, Cavatore M, et al.: Global phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* based on single nucleotide polymorphism (SNP) analysis: insights into tuberculosis evolution, phylogenetic accuracy of other DNA fingerprinting systems. And recommendations for a minimal standard SNP set. *J Bacteriol.* 2006 ; 188 : 759–772.
- 25) Gagneux S, DeRiemer K, Van T, et al.: Variable host-pathogen compatibility in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006 ; 103 : 2869–2873.
- 26) Gutacker MM, Mathema B, Soini H, et al.: Single-nucleotide polymorphism-based population genetic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strains from 4 geographic sites. *J Infect Dis.* 2006 ; 193 : 121–127.
- 27) Gagneux S, Small M: Global phylogeography of *Mycobacterium tuberculosis* and implications for tuberculosis product development. *Lancet Infect Dis.* 2007 ; 7 : 328–337.
- 28) Wirth T, Hilderbrand F, Allix-Béguec C: Origin, spread and demography of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *PLoS Pathog.* 2008 ; 4 (9) : e1000160.
- 29) 松本 健: 四大文明「メソポタミア」. 日本放送出版協会, 東京, 2000.
- 30) 吉村作治, 後藤 健: 四大文明「エジプト」. 日本放送出版協会, 東京, 2000.
- 31) 鶴間和幸: 四大文明「中国」. 日本放送出版協会, 東京, 2000.
- 32) Hershberg R, Lipatov M, Small PM, et al.: High functional diversity in *Mycobacterium tuberculosis* driven by genetic drift and human demography. *PLoS Biol.* 2008 ; 6 (12) : e311.
- 33) Plikaytis BB, Marden JL, Crawford JT, et al.: Multiplex PCR assay specific for the multidrug-resistant strain W of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol.* 1994 ; 32 : 1542–1546.
- 34) Kurepina NE, Sreevatsan S, Plikaytis BB, et al.: Characterization of the phylogenetic distribution and chromosomal insertion sites of five IS6110 elements in *Mycobacterium tuberculosis*: non-random integration in the *dnaA–dnaN* region. *Tuberc Lung Dis.* 1998 ; 79 : 31–42.
- 35) Tsolaki AG, Gagneux S, Pym AS, et al.: Genomic deletions classify the Beijing/W strains as a distinct genetic lineage of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol.* 2005 ; 43 : 3185–3191.
- 36) Mokrousov I, Narvskaya O, Otten T, et al.: Phylogenetic reconstruction within *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype in northern Russia. *Res Microbiol.* 2002 ; 153 : 629–637.
- 37) Mokrousov I, Ly HM, Otten T, et al.: Origin and primary dispersal of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing geno-

- type: Clues from human phylogeography. *Genom Res.* 2005 ; 15 : 1357–1364.
- 38) Millet J, Miyagi-Shiohara C, Yamane N, et al.: Assessment of mycobacterial interspersed repetitive unit-QUB markers to further discriminate the Beijing genotype in a population-based study of the genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from Okinawa, Ryukyu islands, Japan. *J Clin Microbiol.* 2007 ; 45 : 3606–3615.
- 39) Murase Y, Mitarai S, Sugawara I, et al.: Promising loci of variable numbers of tandem repeats for typing Beijing family *Mycobacterium tuberculosis*. *J Med Microbiol.* 2008 ; 57 : 873–880.
- 40) Wada T, Iwamoto T, Maeda S: Genetic diversity of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family in East Asia revealed through refined population structure analysis. *FEMS Microbiol Letter.* 2009 ; 291 : 35–43.
- 41) 前田伸司：日中韓国際分子疫学の研究。結核予防会結核研究所平成20年度業績報告。2008 (personal communication)
- 42) 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。第84回日本結核病学会今村賞記念講演。結核。2009 ; 84 : 291.
- 43) 岸田一則, 横山栄二：千葉県で分離された非北京型結核菌のVNTR型による遺伝的特性について。第84回日本結核病学会総会。結核。2009 ; 84 : 436.
- 44) Rindi L, Lari N, Cuccu B, et al.: Evolutionary pathway of the Beijing lineage of *Mycobacterium tuberculosis* based on genomic deletions and *mutT* genes polymorphisms. *Infect Genet Evolution.* 2009 ; 9 : 48–53.
- 45) Kremer K, van der Wert MJ, Au BK, et al.: Vaccine-induced immunity circumvented by typical *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains. *Emerg Infect Dis.* 2009 ; 15 : 335–339.
- 46) Parwati I, von Crevel R, von Sookingen D: Possible underlying mechanism for successful emergence of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains. *the Lancet Infection.* 2010 ; 10 : 103–111.

Review Article

ARCHAEOLOGY OF TUBERCLE BACILLI AND TUBERCULOSIS

Kazuro IWAI, Shinji MAEDA, and Yoshirou MURASE

Abstract Accumulated information obtained in the 10 years since the clarification of the whole genome arrangement of tubercle bacilli has enabled us to presume a long history of tubercle bacilli from its first appearance on earth to the present epidemics in the world. It is presumed that tubercle bacilli appeared around 35,000 years ago through horizontal transfer mutation from a kind of environmental mycobacteria that could be tracked back 2,500,000 years, and expanded thereafter by 'bottleneck effects'. These mutated mycobacterial species adapted to humans, appearing in central Africa and then being carried to India-Oceanian and Middle East countries. The oldest human bone tuberculosis in a mummy of 9,000 years ago was found on the east coast of the Mediterranean Sea. Explosive transmission of tuberculosis was presumed to have progressed along with urbanized human life in the world-oldest Mesopotamian culture, followed by spreading to other areas, including East Asia, the Mediterranean region, Russia, and North Europe. The second epidemics, caused by a mutated Beijing family of the modern type, prevailed in central China

and Southeast Asian countries, following the marked population growth in this area during the next 1,000 years. The majority of Beijing family strains isolated in Japan and Korea are, however, found to be of the ancient type, differing from the isolates from continental China, which are mainly of the modern type. The results of these studies may cast a new light on the understanding of tuberculosis epidemiology and also clinical medicine.

Key words: Tubercle bacilli, Gene mutation, Mummy bone tuberculosis, Phylogenesis, Genogeography

Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association

Correspondence to: Kazuro Iwai, Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, 3-1-24, Matsuyama, Kiyose-shi, Tokyo 204-8533 Japan.
(E-mail: Iwai@jata.or.jp)