

# 次世代シーケンサー（NGS）を用いた結核菌ゲノム解析の検討

微生物部 ○新田 真依子、引地 恵一、成田 翼、水流 奈己  
宮原 加奈、三浦 美穂、吉野 修司

## 1 はじめに

結核は発展途上国を中心に世界的にまん延している。2022年、結核罹患率(人口10万対)は8.2であり、2021年に初めて達成した低まん延国の水準を維持したまま減少傾向にあるが、新登録結核患者数は年間1万人以上であり、今後は結核準制圧へと目標を切り替え、結核対策を行っていく必要がある。当所ではVNTR (Variable-number tandem repeats) 型別による結核菌の分子疫学解析を実施しており、継続的なデータの蓄積により施設間や株間でのデータ比較を容易にしている。しかし、VNTR解析は解析領域が少ないこと、検体によりPCR産物の正確なサイズ測定が不可能であることから、由来の異なる菌株が同一型として分類される可能性が指摘されている<sup>1,2)</sup>。一方、NGSを用いた結核菌ゲノム解析は識別能が優れており、株間のゲノム配列を比較し変異を明らかにすることで、感染伝播の方向を推測することが可能となる。なお、結核菌ゲノム解析はVNTR解析に比べ迅速性に欠けることなどから、必要に応じて結核菌ゲノム解析とVNTR解析を併用することで、より効果的な結核対策につながると考えられる<sup>3)</sup>。

本研究は、結核菌ゲノム解析を行う体制を整え、現行法であるVNTR解析の問題点を補うことで、精度の高い分子疫学解析データの提供を可能にすることを目的とする。

## 2 対象

2012年から2023年までに県内の医療機関から当所へ搬入された検体の中で、VNTR解析で18領域がすべて一致し、遺伝子的に近縁であることが推測される42事例97検体。また、1領域違いであるものの実地疫学調査で関連を疑う2事例4検体。

## 3 方法

「Mycobacterium tuberculosisの全ゲノム解析に関する標準作業手順書(ver.1.2)」<sup>4)</sup>を参考に、検体処理、ライブラリ調製を行う。すなわち、菌株を固形培地に継代して増菌し、DNA抽出は定法に従いフェノールクロロホルム抽出を行う。ライブラリ調製はQIAseq FX Library Kitを用いてDNA断片を調製後、アガロースゲル抽出を行う。シークエンスはiSeq100(Illumina社)を用い、得られたデータはゲノム解析用のwebベースプラットフォームにより解析する。また、当所に適したプロトコルを作成するとともに、データ解析の方法や結果の解釈、利用方法について検討を行う。

## 4 調査研究の効果等

結核菌ゲノム解析を行うことで、詳細で正確なデータを得ることが出来る。実地疫学調査やVNTR解析と組み合わせることで正確な近縁株の判定や、従来のVNTR解析では明らかにできなかった感染伝播経路の推測など、詳細なクラスター解析が可能となる。特に、VNTR解析で18領域がすべて一致したものの疫学的な関連が不明な事例については、「別由来の株が偶発的に一致したのか」あるいは「真の同一由来株であるが接点が潜在化しているのか」を判断でき、追加の疫学調査や対象の絞り込みを行うことで感染予防対策に貢献できる。

## 参考文献

- 1) 阿彦忠之. 結核の接触者健診と潜在性結核感染症の治療. 公衆衛生雑誌 2023;87:441-448.
- 2) 瀬戸順次, 和田崇之, 村瀬良朗 他. 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. 感染症学雑誌 2023;97:6-17.
- 3) 岩本朋忠. ゲノム解析時代を迎えた結核分子疫学の潮流. 公衆衛生雑誌 2023;87:434-440.
- 4) 結核研究所抗酸菌部. Mycobacterium tuberculosisの全ゲノム解読に関する標準作業手順書 (Version:no.1.2) 2023.