

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

衛生環境研究所 微生物部

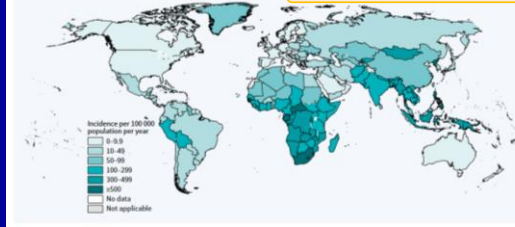
○新田真依子 引地恵一 成田翼
水流奈己 宮原加奈
三浦美穂 吉野修司

1

結核の流行

Estimated TB incidence rates, 2021

総人口の約4分の1が感染



出典: WHO GLOBAL TUBERCULOSIS REPORT 2022

日本 2021年 低まん延国水準達成
新登録結核患者数は**1万人以上**
(2022年: 10,235人)

2

結核分子疫学調査の意義

結核菌を遺伝子レベルで解析して調査

- ・隠れていたクラスターの発見
- ・意外な感染経路の探知



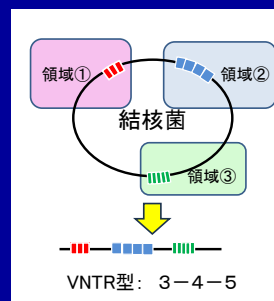
低まん延時代には重要

感染症法に基づく結核の接触者健康診断の手引き

3

VNTR解析(現行法)について 【VNTR】(Variable Numbers of Tandem Repeats)

結核菌が持つ反復配列領域を株間で比較



JATA 1 2

12領域

一致した場合

JATA 1 3 ~ 15
超可変領域を追加

18領域

4

VNTR解析(現行法)の特徴

長所

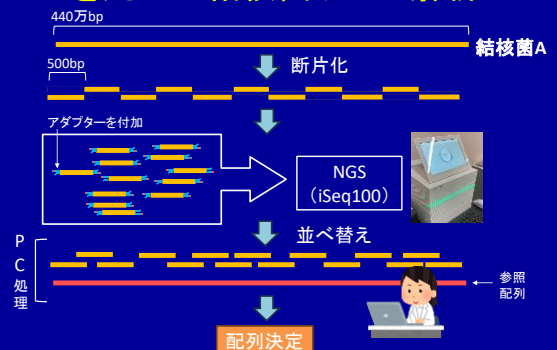
- ・低コスト
- ・データベース化が容易
→感染から発症までの期間が長くても
関連性を検討することが可能

短所

- ・異なる菌株が同一型として分類される可能性

5

次世代シーケンサー(NGS) を用いた結核菌ゲノム解析



6

ゲノム解析でわかること

感染経路の追跡

スーパースプレッダーの検知

未知の感染源を示唆

※矢印は感染伝播の方向、数字は株間のゲノム比較によるSNV数を示す

変異は次世代へ受け継がれて蓄積

・遺伝的な近さ
・感染伝播の方向性

平均変異速度: 1年間に約0.5塩基
岩本朋忠 全ゲノム解析時代を迎えた結核分子疫学の潮流 公衆衛生 2023 Vol.87

7

目的

1. 結核菌ゲノム検査体制の導入
 - ・当所で実施可能な**プロトコル**を作成
2. 精度の高い分子疫学調査
 - ・偶発的**一致**のリスクを回避
 - ・近縁株や感染経路を推定し、詳細に**クラスター**を解析

8

対象

VNTR解析 実績 (2012年~2023年)

年	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	計
VNTR (件)	2	40	69	119	66	86	27	51	31	43	20	10	564

- VNTR解析で**18領域一致**
98検体 (42事例)
- 18領域中17領域(あるいは12領域中11領域)が一致し、実地疫学調査にて**関連が疑われる事例**が発生した場合もゲノム解析実施予定
4検体 (2事例)

計 102検体

9

方法

培養

DNA抽出

ライブラリ調製

シーケンス

データ解析

~2か月

小川増地等で増菌

2~3日

フェノールクロロホルム抽出

2~3日

QIAseq FX Library Kit + アガロースゲル抽出

約500bpのDNA断片を作製・抽出

1~2日

iSeq100 (Illumina社)

~数日

国立感染症研究所 GenEpid-J

PC上で株間のDNA配列を比較

「Mycobacterium tuberculosisの全ゲノム解析に関する標準作業手順書(ver.1.2)」を基に実施

10

計画

- 令和5年度 : 所内プロトコルの作成
- 令和6年度 : VNTR法の結果と比較
- 令和7年度 : データの解釈(近縁株定義)及び効果的なデータ利用についての検討

11

調査研究の効果等

- ・VNTR法との組み合わせによる**精度の高い**検査結果の還元
- ・詳細な**クラスター**調査や感染伝播経路推定による感染予防対策への寄与

真のクラスター?

偶発的一致?

接点が潜在化?

12