

結核菌の分子疫学的解析



結核研究所 抗酸菌レファレンス部

結核菌情報科 科長 前田 伸司

結核菌は一見全く同じように見えますが、遺伝子(DNA)レベルで解析すると菌株ごとに様々な個性(遺伝型)があります。このような違いをうまく利用すれば分離された菌の区別が可能となり、感染源の限定、集団感染や院内感染の範囲の特定等に利用できます。日本では約10年前から、このような結核菌の型別が公衆衛生の現場に応用され、感染事例の裏づけや否定の証拠として利用されてきました。実際に用いられている型別法には、制限酵素断片長多型(RFLP)、スポリゴタイピング、反復配列多型(variable numbers of tandem repeats, VNTR)分析などがあります。特にVNTR分析法は、判定が迅速かつ容易でさらにデータ比較がしやすいことから、急速に普及が進んでいます。

生物のゲノム上に存在する一定のDNA単位(同じ塩基配列から構成されている)が連続して並ぶ領域(ミニサテライトと呼ばれている)において、繰り返しDNA単位が何個存在するかを調べるのがVNTR分析法です。本分析法は、法医学の分野で親子鑑定や個人特定のためのDNA鑑定に利用されている手法です。結核菌のゲノムDNA上にも、ヒトと同様にミニサテライト(VNTR領域)が存在し、その数は80箇所以上報告されています。このようなVNTR領域は変化を起しやすく、反復配列数は菌株によって異なることが知られています(図)。つまり、この反復配列単位数を菌株ごとに分析すれば、同じ株か異なる株かを知ることができます。また、反復配列単位数の変化頻度はVNTR領域によって異なっており、変化しにくい(安定な)VNTR領域の反復配列数が異なれば、比較して

いる株が異なる菌株である確率が高いと判断できます。逆に、変異しやすいVNTR領域でさえ反復数が一致するような場合は、同一菌株を調べている可能性が高いと判断できます。実際の分析では複数のVNTR領域を組み合わせることによって、結核菌の異同を総合的に判定します。

多くの利点と今後発展の可能性をあわせ持つVNTR法ですが、ゲノム上のどのVNTR領域を何箇所調べるかでその型別能力が大きく違ってきます。また、それぞれの国で広まっている結核菌の遺伝系統が異なることが多く、どのような組み合わせが最も適切な判定に結びつくのかは世界各地で異なります。特にわが国は東アジア地域に位置し、欧米諸国では珍しいタイプの結核菌株(北京型結核菌)が全体の70~80%の割合で検出されることから、フランスパスツール研究所のSupplyらが提唱している国際的標準分析法は、最適な分析システムではありません。現在、わが国では国内結核菌の型別のために当研究室で樹立したJATA(12)-VNTR分析システム(12箇所のVNTR領域を調べる)を標準型別法として提唱しています。そして、本分析システムを全国の衛生研究所等の機関に広めており、結核菌VNTR分析の普及を図っています。

分析対象とする領域を定めることにより全国的に統一した遺伝型別データの集積が可能となってきました。今後は、これまでは難しかった広域にわたる結核感染事例での疫学調査において、結核菌の分子疫学解析により得られた型別結果を積極的に利用することなどが期待されます。

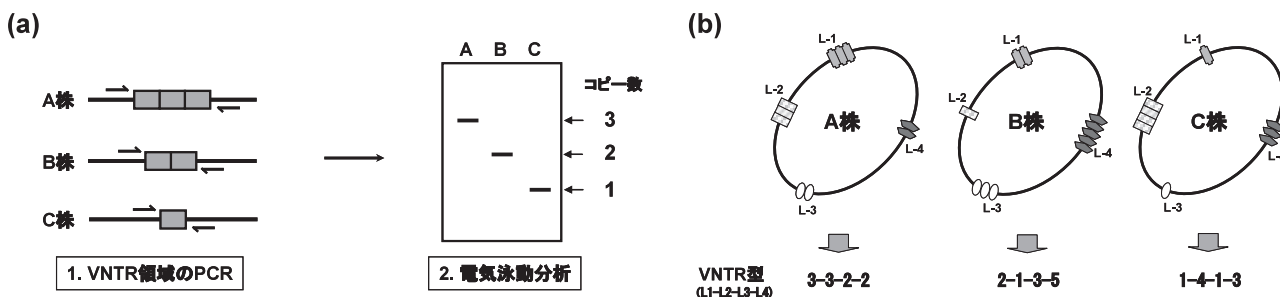


図 VNTRによる菌株の型別

(a) VNTR領域のDNAをPCRで増幅し、PCR産物の分子量から繰り返し数を算出する。

(b) 複数のVNTR領域を個別に解析し、反復数を算出する。各分離株は数字の羅列として表されるので、容易に比較できる。