

令和7年度 中間評価調書

中間 1	結核菌VNTR法の24領域解析法の検討	課題番号	24-05
研究目的	超多変領域を含む18領域を対象としたVNTR法で識別できない結核菌株のVNTR領域24領域を比較し、それらの株の異同を判定することで、北海道における結核菌の流行状況を把握することを目的とする。 また、24領域で同一遺伝子型を示す菌株については、全ゲノムを用いた一塩基変異(SNV)解析により識別することで、結核菌感染対策の一助とする。		
研究内容	道内の結核患者から分離された結核菌株に対し、キャピラリーシーケンサーを用い、24領域を対象としたVNTR法を行う。得られたVNTRパターンに基づき、菌株の異同判定及び遺伝系統解析を実施する。 24領域が一致した株については、結核研究所SOPに従ってゲノムDNAおよびライブラリーの調製、illumina MiSeqを用いたショートリードシーケンスを行い、SNV解析を実施する。		
研究期間	令和6～8年度	課題担当者	4人
関係施策行政検査	感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（平成10年10月）、北海道感染症予防計画（第5版）（平成30年3月）、結核菌分子疫学調査事業実施要領(平成26年6月)		

○ 研究ニーズ（背景、必要性、緊急性）

- 結核は結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*)による感染症であり、世界的に公衆衛生上の重要な問題となっている。感染症法における届出対象疾患の二類に分類され、診断後ただちに届出なければならない全数報告の疾患である。
- 北海道では2014年6月から結核菌分子疫学調査事業において、道立保健所管内に居住する結核患者から分離された結核菌株を収集し、JATA01-15の15領域(JATA13-15領域はJATA12領域が全て一致した場合のみ実施)を対象としたアガロースゲル電気泳動によるVNTR (Variable Number of Tandem Repeat; 反復配列多型) 法を用いた遺伝子型別結果を、保健所や行政担当課に報告してきた。また、行政検査として実施している15領域の他に、型別能力の高い超多変領域の3領域についてもVNTR法を実施し、データを蓄積してきた。
- しかし、届出時の疫学調査では患者間の関連が確認できないにもかかわらず、超多変領域を含む18領域を対象としたVNTR法で識別できない散发事例が、これまでに28パターン（73株）確認されている。
- そこで、本研究では、24領域を対象としたVNTR法で、これらの株の異同を判定し、遺伝的に近縁な菌株による事例かどうか検討する。また、24領域で同一遺伝子型を示す菌株については、全ゲノムを用いた一塩基変異(SNV)解析により識別する。
- 本研究により、結核菌の伝播状況に関する詳細な情報提供が可能になることから、必要性が高い課題と考える。

○ 道が取り組む必要性

- 本研究は道内の結核対策に寄与する課題である。道内における結核検査や対策は道が主体となって実施しており、本研究により、本道の事例対応能力の強化につながると考える。

○ 研究の進捗状況

年次等	主な目標（項目）	進捗状況
令和6年度	検体の選定、DNA抽出およびVNTR型別を行い、必要に応じ随時公表する。	令和5年以前に抽出した結核菌DNAのうち、18領域で同一遺伝子型を示した検体に対して24領域を対象としたVNTRによる遺伝子型別を実施したところ、異なる遺伝子型を示した菌株が複数確認された。 また、24領域で一致した検体に対してゲノム解析を行った。その結果、疫学的関連性のある菌株間ではSNVが検出されず、同一クローンであることが示唆された。一方、疫学的関連性の確認できない菌株間ではSNV数にばらつきがあり、偶発的なVNTR型の一致の可能性が高いと考えられた。
令和7～8年度	ゲノム解析を継続し、結果の取りまとめと発表を行う。	

○ 成果の活用策（活用の可能性）

- 分析結果の一致情報を保健所や行政担当課に提供することで、より効率的で精度の高い実地疫学調査が可能となると考えられる。
- 研究成果についてホームページ等を利用して情報提供する他、論文や学会発表として公表する。

	評価結果	説明	継続判定
所内評価	ⒶB・C	初年度に計画した検体の選定、DNA抽出およびVNTR型別に加え、ゲノム解析法も検討・実施し、データを収集することができた。	⓪・否
外部評価	S・ⒶB・C	検体の選定、DNA抽出およびVNTR型別に加えて、ゲノム解析法も検討・実施してデータを収集するなど、計画通りに進んでいる。	⓪・否
総合評価	ⒶB・C	VNTRによる遺伝子型別の実施、ゲノム解析等を実施しており、適切に実施している。	⓪・否