

審査の結果の要旨

氏名 村瀬 良朗

本研究はこれまで不明であった社会における結核菌感染経路の詳細な解明に重要な役割を演じると期待される迅速遺伝子タイピング法を確立するため、日本全国から集められた結核菌を用いて、まず既存の遺伝子タイピング法を評価し、続いて広域で結核菌感染経路の追跡を可能とする標準的 VNTR 法の確立を試みたものであり、以下にあげる結果を得ている。

1. 日本で分離される結核菌の遺伝的多様性を明らかにする目的で、**Spoligotyping** 法を用いた結核菌の遺伝子型分類をおこなった。その結果、全体の 73.8%が同一の遺伝子型である **Beijing family** で占められており、国外の国々と比較して日本で分離される結核菌の遺伝的多様性が限られていることを明らかにした。
2. **IS6110-RFLP** 法は既存の結核菌遺伝子タイピング法として最も標準的な方法として現在まで用いられている。**Beijing family** が高度に蔓延する日本において既存の標準的遺伝子タイピング法の識別力を評価する目的で、**RFLP** 法を用いた分析を実施した。その結果、**IS6110-RFLP** による十分な識別力が期待される菌株 (**IS6110**、6 コピー以上) の割合は全体の 94.2%であること、**RFLP** 法は日本で分離される **Beijing family** と **non-Beijing family** の双方に対して高い識別力を示すことを明らかにした。
3. **Beijing family** が高度に蔓延する日本においても **RFLP** 法が有効な識別法であることが示されたが、**RFLP** 法には、全国規模で迅速に解析結果を比較・共有することが困難であるという欠点がある。そこで、迅速な分析が可能であり、全国規模で解析結果の比較が容易な **VNTR** 法の評価を行った。まず、米国等で **RFLP** 法の代替法として標準的に導入されている **12 MIRU-VNTR** (**MIRU** と命名された **12 locus** を用いた分析法)と **Spoligotyping** を用いた迅速タイピング法を日本に導入することが可能であるかを検討した。分析の結果、**12 MIRU-VNTR + Spoligotyping** の識別力は **RFLP** 法と比較して大きく劣っており、**RFLP** 法の代替法として日本に導入することが困難であることを明らかにした。また、その原因として、**12 MIRU-VNTR + Spoligotyping** の識別力が特に **Beijing family** で低いことを示した。

4. RFLP 法の代替法として VNTR 法を導入するためには Beijing family に対する識別力を改善する必要があることが示されたので、過去の報告から Beijing family に対して高い識別力を示すことが期待された locus を中心に合計 35 locus を評価し、組み合わせることにより標準的 VNTR 法の確立を目指した。その結果、コピー数の正確な測定が容易で識別力が高い 12 locus (12 VNTR (JATA))を選択して組み合わせることにより、その識別力が RFLP を超えることを示した。

5. RFLP 法と VNTR 法による実際の識別結果の相関性を調べる目的で、疫学調査により集団発生が疑われた事例を用いて両者による識別結果を比較した。RFLP 法と 12 VNTR (JATA)の識別結果はすべての事例において一致しており、実際の感染源追跡調査に 12 VNTR (JATA)を導入することが有用であることを示した。

以上、本論文は、結核菌感染経路の解明に必要な結核菌遺伝子タイピング法についての研究であり、Beijing family が高度に蔓延している地域において高い識別力を示す標準的 VNTR 法を確立したものである。今後、12 VNTR (JATA)を用いた遺伝子タイピングを全国的に実施することにより、広域社会における結核菌感染経路の迅速な解明に貢献すると考えられ、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。