

技術の進歩と結核菌の検査

森 茂太郎

結核とは結核菌により引き起こされる重篤な感染症である。人類と結核との付き合いはこれまで新石器時代から始まったと考えられていた。しかし最新のゲノム解析の結果から、ヒトに対して病原性を示す結核菌は約7万年前に出現し、人類が世界中に移動するとともに広がっていったことが明らかとなってきた¹⁾。数多くの文芸作品にも見られてきたように、長らく不治の病として恐れられてきた結核であるが、BCGワクチンの接種や複数の抗菌薬を併用する治療法の確立などによって、その脅威は過去のものと思われるかもしれない。しかしながら、今なお世界中で年間約130万人が結核で亡くなっており、さらに最近では、他の細菌やウイルス由来の感染症と同様に、薬剤に耐性を示す結核菌の出現という大きな問題を抱えている。結核の治療には、イソニアジド (INH)、リファンピシン (RFP)、エタンブトール、ピラジナミド、ストレプトマイシンなどの抗菌薬が用いられるが、主にINHとRFPの2種類を含めた数種類の抗菌薬が併用されている。この結核の治療において重要なINHとRFPの両方に耐性を示す結核菌のことを多剤耐性結核菌と呼んでいる。また、その2剤に加えてさらに複数の抗菌薬にも耐性を示す超多剤耐性結核菌と呼ばれる結核菌も世界中に広がりを見せており、重大な問題となっている。そのため、効果的に結核の治療を行うためには、薬剤に対する感受性試験が非常に重要となっている。また、結核菌以外の抗酸菌が引き起こす非結核性抗酸菌症は、結核ほどの感染力はないものの、その多くは結核の治療で用いられている抗菌薬が使用できないことから、治療を行う上で結核菌と他の抗酸菌とを鑑別することも大事である。しかしながら、結核菌や多くの抗酸菌が他の一般的な細菌と比べて発育が遅い遅発菌であることが菌の鑑別や薬剤の感受性を調べる上で大きな問題となっている。

日本では以前より、培養検査においては主に抗酸菌用固形培地である小川培地が用いられているが、この培地上でコロニーを確認できるまで数週間から1か月を要する。そのため、固形培地を用いた培養検査で菌を鑑別する場合や薬剤感受性を調べる場合には1か月以上の時間がかかってしまう。そのため、生物工学的な技術の進歩にともなって、迅速で簡便な結核菌の検査法の開発が行われてきた。

まず開発されたのは液体培地を使用する培養法で、初期はアイソトープを使用する方法であったが、その後、培養に伴うO₂消費量をモニタリングする手法が開発された。一方、遺伝子工学の発展により、30年ほど前からDNA-DNAハイブリダイゼーションやPCR反応、

RNA増幅法などの、当時の新しい技術を利用して菌の遺伝子を調べる方法が開発されてきた。これらの手法は、迅速で簡便な結核菌の検査法の開発を大きく進歩させ、現在でも改良されながら結核菌の検査などに用いられている。また、遺伝子解析により遺伝子変異と薬剤耐性との関係についても明らかにされてきた。RFPの標的部位は*rpoB*遺伝子によってコードされているRNAポリメラーゼのβサブユニットであるが、この*rpoB*遺伝子上の特定領域における変異がRFP耐性に深く関わっていることが報告されている²⁾。この成果を利用して、RFPについては耐性遺伝子検査が耐性菌同定に利用可能となった。

さらに最近では、次世代シーケンサーの改良が進み簡便に全ゲノム解析が行われるようになってきたことを受けて、全ゲノム解析の結果に基づいた鑑別法や薬剤感受性試験法の開発が進められている。世界中で分離された47株の薬剤耐性結核菌を含む123株の結核菌の全ゲノムを解析した研究³⁾や、中国で分離された161株の結核菌の全ゲノムを解析した研究⁴⁾の結果などから、薬剤耐性と関わりのある新規遺伝子や遺伝子間領域が同定されてきている。その中には、*rpoB*遺伝子のように抗菌薬の作用機序に直接的に関わっている遺伝子の他にも、抗菌薬存在下の環境に適応するために結核菌が負担しているコストを補うことに関与している遺伝子も見いだされている³⁾。さらに、全ゲノム解析は他にも結核研究においてさまざまな知見を与えている。本稿の冒頭で紹介した結核の出現と伝播に関する新しい知見も全ゲノム解析の結果が基となっている¹⁾。

このように、生物工学的な技術の進歩にともなって、簡便な新しい結核菌の検査法が数多く開発されてきた。結核は感染者が発病する割合は低く、多くは発病には至らない。他の病気や加齢による免疫力の低下などがリスクファクターとして考えられているが、発病に至る詳細なメカニズムについてはまだ明らかになっていない。これまでは主に結核菌の検査法が開発されてきたが、これからは新しい技術の進歩によって宿主側の結核発症の要因が明らかとなり、宿主側の新しい検査法が開発されるかもしれない。その成果を利用することによって、個人ごとに最適な治療法が選択できるようになることや、発症を防ぐ予防法が開発されることが期待される。

- 1) Comas, I. *et al.*: *Nat. Genet.*, **45**, 1176 (2013).
- 2) Telenti, A. *et al.*: *Lancet*, **341**, 647 (1993).
- 3) Farhat, M. R. *et al.*: *Nat. Genet.*, **45**, 1183 (2013).
- 4) Zhang, H. *et al.*: *Nat. Genet.*, **45**, 1255 (2013).