

疫学情報 2017年8月2日分

http://www.amed.go.jp/news/release_20170720-02.html

東海大学、国立研究開発法人日本医療研究開発機構

細菌感染症の診断に応用可能な迅速なゲノム解析システムの開発に成功—細菌種の同定時間を大幅削減。ポータブル化により災害現場や感染症多発地域での活用にも期待—東海大学（所在地：神奈川県伊勢原市下糟屋 143、学長：山田 清志 [やまだ きよし]）医学部基礎医学系 教授 今西 規 [いまにし ただし] を中心とする研究グループは、ポータブル型の DNA シーケンサ「MinION」（Oxford Nanopore Technology 社製）に応用可能なゲノム解析システムを開発し、16S rRNA 遺伝子を PCR 増幅して配列決定することにより、細菌感染症試料に対する細菌の同定を 2 時間以内で行うことが可能であることを示しました。

従来から特定の細菌を検出するシステムはありましたが、このほど開発に成功した本システムは、ゲノム配列データベースに登録されている 8 万以上の細菌種・系統を特定できる能力を有している点が、従来のシステムとの大きな違いと言えます。

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の感染症研究国際展開戦略プログラム（J-GRID）等の支援により行われました。

なお、本研究成果は平成 29 年 7 月 18 日（火）午前 10 時（イギリス時間）、オンラインジャーナル『Scientific Reports』（DOI:10.1038/s41598-017-05772-5）に掲載されました。

本研究成果のポイント

- ・多くの医療機関では細菌感染症の原因菌判定には細菌培養法が使われており、結果が出るまでに 1 日から 2 日を要している
- ・東海大学では、ナノポア技術を使った新型の DNA 塩基配列決定装置と独自開発のソフトウェア群により、ポータブル型のゲノム解析システムを作製した
- ・実際に感染症患者由来の試料を解析したところ、DNA 抽出後から 2 時間以内に試料に含まれる細菌を同定できることを示した

研究の背景

細菌感染症は、現在もなお世界的に深刻な問題です。わが国においても、高齢化に伴い肺炎が死因の上位に位置し、細菌による食中毒も頻繁に発生しています。これらの疾患の原因となる細菌には、非常に多くの種類があります。

一方で、医療機関における細菌感染症の診断は、多くの場合に細菌培養法によって行われていますが、培養法による細菌種の判定には 1 日から 2 日を要し、さらには難培養性細菌の存在や培養条件の不適合などの要因が菌種同定をしばしば困難にします。そうした理由から、細菌感染症が疑われる患者には原因菌の特定を待たずに経験的に選択された抗菌薬を投与する 경우가多く、これが有効な薬剤投与の遅れや薬剤耐性菌出現の促進をもたらしていると考えられています。

研究の概要

本研究では、ポータブル型の DNA シーケンサ MinION とラップトップ型 PC2 台で構成されるゲノム解析システムを作成しました (図 1)。2 台の PC には異なる役割を与えてあり、流れ作業で迅速に解析を行うように設計しました。具体的には、1 台目の PC は MinION の制御と、その出力データを 2 台目の PC へ連続的にコピーする作業を実行します。そして、2 台目の PC で DNA 配列の詳細な解析を実行します。

説明図・1 枚目 (説明は図の下に記載)

【図 1】本研究で開発したポータブル型の細菌ゲノム解析システム。2 台のラップトップ型 PC と小型 DNA シーケンサ「MinION」で構成される。

このシステムを用いて、複数の細菌の混合 DNA に対して、どの程度正確に、またどの程度の時間で細菌の同定と組成の解析が可能であるかを調べました。その結果、DNA 試料が準備された状態から始めて 2 時間以内に、DNA 配列の読み取りとそこに含まれる主な細菌の同定を行えることがわかりました (図 2)。また、実際に膿胸患者から得た胸水の検体を本システムで解析したところ、原因と考えられる嫌気性菌を迅速に検出することができました。一方、細菌の組成については、独自に開発したゲノムデータベース「GenomeSync」と一般的な相同性探索手法である「BLAST」を用いた方法によって高精度に推定できることが示唆されましたが、計算時間が大幅にかかるため、さらに改良の余地があることも課題として認識しました。

説明図・2 枚目 (説明は図の下に記載)

【図 2】細菌種同定に要する時間の推定。Rapid 1D (5min) という方法を採用すると、PCR 反応に約 1 時間と、その後シーケンスの実行に 5 分、その後 PC での解析を含めて、全体で 2 時間以内に判定結果を出すことができる。

今後の展開

現在、薬剤耐性菌の蔓延が世界的な問題になっています。本システムをさらに発展させ、プラスミド配列を含む全ゲノム配列を対象としたポータブルゲノム解析システムを開発することができれば、細菌感染症の原因菌を正確に知ることが可能となり、適切な抗菌薬の選択や薬剤耐性菌の出現の抑制につながると考えられます。また、将来的に本システムが医療機関に普及していけば、正確かつ迅速な細菌感染症の診断に大きく貢献すると考えられます。さらに、本システムはポータブル型の DNA シーケンサ「MinION」およびラップトップ型 PC2 台だけで解析できることから、持ち運びが容易であり、大規模災害の現場など十分な検査設備のない地域や、感染症の多い熱帯地域での活躍にも期待が持たれます。

発表論文

Satomi Mitsuhashi†, Kirill Kryukov†, So Nakagawa†, Junko S. Takeuchi, Yoshiki Shiraishi, Koichiro Asano, and Tadashi Imanishi* (2017) A portable system for rapid bacterial composition analysis using a nanopore-based sequencer and laptop computer. Scientific Reports doi:10.1038/s41598-017-05772-5. †: equal contribution, *: corresponding author

研究予算

本研究は以下の研究予算の支援を受けて実施されました。

- ・国立研究開発法人 日本医療研究開発機構（AMED）感染症研究国際展開戦略プログラム（J-GRID）の支援による研究課題「迅速・正確な感染症診断を可能にする病原微生物同定システムの開発」（代表：今西 規、平成 27-29 年度）
- ・公益財団法人 大川情報通信基金 平成 27 年度研究助成の支援による研究課題「迅速な感染症診断のためのシーケンサ連動型ゲノム検索ソフトウェアの開発」（代表：今西 規）

<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000172201.pdf>

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に係る注意喚起について 健感発 0724 第 3 号

平成 29 年 7 月 24 日

厚生労働省健康局結核感染症課長

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）について、今般、発熱・衰弱等に加え血小板減少等の所見が見られた飼育ネコ及び飼育イヌの血液・糞便から SFTS ウイルスが検出された事例並びに体調不良のネコからの咬傷歴があるヒトが SFTS を発症し死亡した事例が確認されました。

これらの事例は、稀な事例ではありますが、発症したネコやイヌの体液等からヒトが感染することも否定できないことから、SFTS を含めた動物由来感染症の感染を防ぐために、体調不良の動物等と接する機会のある関係者に、体調不良の動物等を取り扱う際には PPE（手袋・防護衣等）により感染予防措置を講じるなどの対策を実施していただくよう注意喚起をお願いします。

また、今般の状況を踏まえ、「重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に関する Q&A」を改正し、獣医療従事者等の専門家に向けた感染予防対策についての記載を追加しましたので、御参照ください。

なお、別添 1 のとおり公益社団法人日本獣医師会及び公益社団法人日本医師会等に対し通知を发出し、別添 2 のとおり環境省自然環境局総務課動物愛護管理室に対し事務連絡を发出していることを申し添えます。

別添 1：「重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に係る注意喚起について」

（平成 29 年 7 月 24 日付け 厚生労働省健康局結核感染症課長通知）

別添 2：「重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に係る注意喚起について」

（平成 29 年 7 月 24 日付け 事務連絡）

http://www.fukushihoken.metro.tokyo.jp/hodo/saishin/O26_kansen.html

社会福祉施設等における腸管出血性大腸菌感染症の集団感染の防止について

平成 29 年 7 月 24 日

東京都福祉保健局

町田市の保育園において腸管出血性大腸菌感染症（O26）の集団感染が発生しました。

腸管出血性大腸菌感染症は感染力が強く、施設や家庭等でも容易に感染が拡大します。また、重症化することも少なくないため、十分な注意が必要です。

都では、乳幼児や高齢者等が集団生活を行う施設において、感染症や食中毒の発生に十分に注意し、手洗いの徹底や施設の衛生管理に万全を期すよう注意喚起を行うことといたしました。

都内の保育園の事例

★7月14日（金曜日）、医療機関より町田市保健所に、市内保育園に通園中の園児のO26患者発生届が提出されました。

★同保健所は、同施設を訪問し、状況調査と衛生指導を行うとともに、同園に通う園児及び職員等を対象とした健康調査を行っています。保健所の調査により、同施設で提供された給食を原因とする食中毒の可能性は **否定** されています。

★これまでのO26の感染者は10名で、このうち有症状者は7名（いずれも軽症）、となっています。感染者は園児及びその家族で、職員の感染者は確認されていません。

（平成29年7月24日16時現在）

感染防止のために注意すべき事項

★腸管出血性大腸菌感染症の感染経路は、経口感染です。菌に汚染された食品等を喫食することにより感染するほか、患者の便や菌のついたものに触れた後、手洗いを十分に行わなかった場合などに、人から人への感染を起こす可能性があります。

★食事前やトイレの後、オムツ交換等を行った後には、その都度、石鹸と流水による手洗いをきちんと行うことが重要です。菌に汚染した可能性のある場所は、適切な方法で消毒を行う必要があります。

★プールを利用する場合は、事前に利用者の健康確認を行い、腹痛、下痢などの症状がある場合には利用を控えることや、体を拭くタオルを共用しないなど注意が必要です。

<http://medical.nikkeibp.co.jp/leaf/mem/pub/hotnews/lancet/201708/552188.html>

髄膜炎菌ワクチンに淋菌感染症の予防効果

淋菌感染症に有効なワクチンの開発にはいまだ成功していない。が、サーベイランスデータは、キューバ、ニュージーランドとノルウェイの一部で使用されている MeNZB が淋菌感染症の発症率に影響することを示唆していた。B群髄膜炎菌（*Neisseria meningitidis*）と淋菌（*Neisseria gonorrhoeae*）の遺伝子配列の相同性は80～90%で、これらは病原性因子の多くを共有している。そこで著者らは、ほとんどの小児に MeNZB ワクチンが接種されているニュージーランドで、15～30歳の人々を対象に、このワクチンの淋菌感染症に対する有効性を評価する後ろ向きケースコントロール研究を実施した。

淋菌のみに感染していることが確認された患者をケース、クラミジアのみに感染していることが示された患者をコントロールとし、それらに占める予防接種を受けていた患者の割合を比較した。多変量ロジスティック回帰モデルを用いてオッズ比を推定し、その値を利

用してワクチンの有効率を算出した。

同国内 11 カ所の性医学クリニックを受診した患者から、同一人物の複数回受診例などを除き、ケース 1241 人（女性が 39%）とコントロール 1 万 2487 人（57%）、両方に感染していた 1002 人（56%）の計 1 万 4730 人の情報を予防接種歴などに関連づけた。

ケースの MeNZB 接種者は 511 人（41%）、コントロールでは 6424 人（51%）で、予防接種済みの患者の割合はコントロールに比べケースで有意に少なかった。年齢、人種、貧困度、居住地域、性別で調整したオッズ比は 0.69（95%信頼区間 0.61-0.79）で、淋菌感染症予防における MeNZB ワクチンの有効率は 31%（21-39%）になった。これらの結果から著者らは、MeNZB は淋菌感染症の診断を減らしており、このワクチンがある程度有効なことが示唆されたため、今後は髄膜炎菌と淋菌の両方を標的とするワクチンの開発が期待されると結論している。

原題は「Effectiveness of a group B outer membrane vesicle meningococcal vaccine against gonorrhoea in New Zealand: a retrospective case-control study」、概要は Lancet 誌のウェブサイトで見ることができる。