

平成 30 年 3 月 2 日

## 新開発！小児血流感染症の病原微生物診断法 ～次世代シーケンスを応用して～

名古屋大学大学院医学系研究科（研究科長・門松 健治）小児科学の伊藤 嘉規（いとう よしのり）准教授（責任著者）、川田 潤一（かわだ じゅんいち）講師、堀場 千尋（ほりば かずひろ）大学院生（筆頭著者）、医学部附属病院（病院長・石黒 直樹）先端医療・臨床研究支援センターの奥野 友介（おくの ゆうすけ）特任講師らの研究グループは、次世代シーケンス\*<sup>1</sup>技術を用いて、免疫不全状態の小児における血流感染症\*<sup>2</sup>の血液検体から、網羅的に病原微生物の遺伝子配列を検出することで、原因微生物を特定できることを確認しました。

病気やその治療によって免疫不全状態になった患者では、様々な病原体による感染症のリスクが高くなります。感染症が重篤になると血液中から原因微生物が検出されるようになります。また、長期に点滴治療を必要とする場合には、血管内にカテーテルが留置されるため、このカテーテルを経由して重症血流感染症が起こるリスクが増えます。このような重症感染症が疑われる場合には、通常、血液検体を培養して病原細菌を見つけたり、血液中から真菌の成分を検出したり、ウイルスの核酸を検出することで、病原微生物の診断をします。現在の手法では、幅広い微生物に対応するために複数の検査を並行して行う必要があり、検査のために採取される血液検体量も、小児では負担になる場合もあります。

次世代シーケンス技術は、ヒト由来、微生物由来に関わらず、血液中に存在しているすべての遺伝子の塩基配列を解読することができるため、既知の病原微生物の全てを網羅的に検出することが可能となります。本研究では、次世代シーケンスを応用し、血流感染症で病原細菌が判明している 12 症例を調べたところ、すべての症例で病原細菌の遺伝子が検出できました。このうち 2 例では、原因細菌が感染症発症前の検体からも検出されました。一方、血流感染症のうち原因不明であった 23 例中、3 例で原因病原体を特定できました（2 例は細菌、1 例はウイルス）。次世代シーケンスは、少量の血液検体から、幅広い病原体を一度に特定でき、血液検体からの微生物診断に役立つと考えられました。本研究成果は科学誌「Scientific Reports」（2018 年 2 月 28 日（英国時間）電子版）に掲載されました。

# 新開発！小児血流感染症の病原微生物診断法 ～次世代シーケンスを応用して～

## ポイント

- 次世代シーケンスを応用した病原微生物診断法を開発し、血液培養により病原細菌が判明している血流感染症と同じ細菌の遺伝子を検出できた。2例では、発症前の血液検体から病原細菌の遺伝子を検出した。
- 原因微生物が不明の23例中、3例で病原微生物を新たに特定した(細菌2例、ウイルス1例)。
- 次世代シーケンスは、網羅的な病原微生物診断法として有用な手法である。

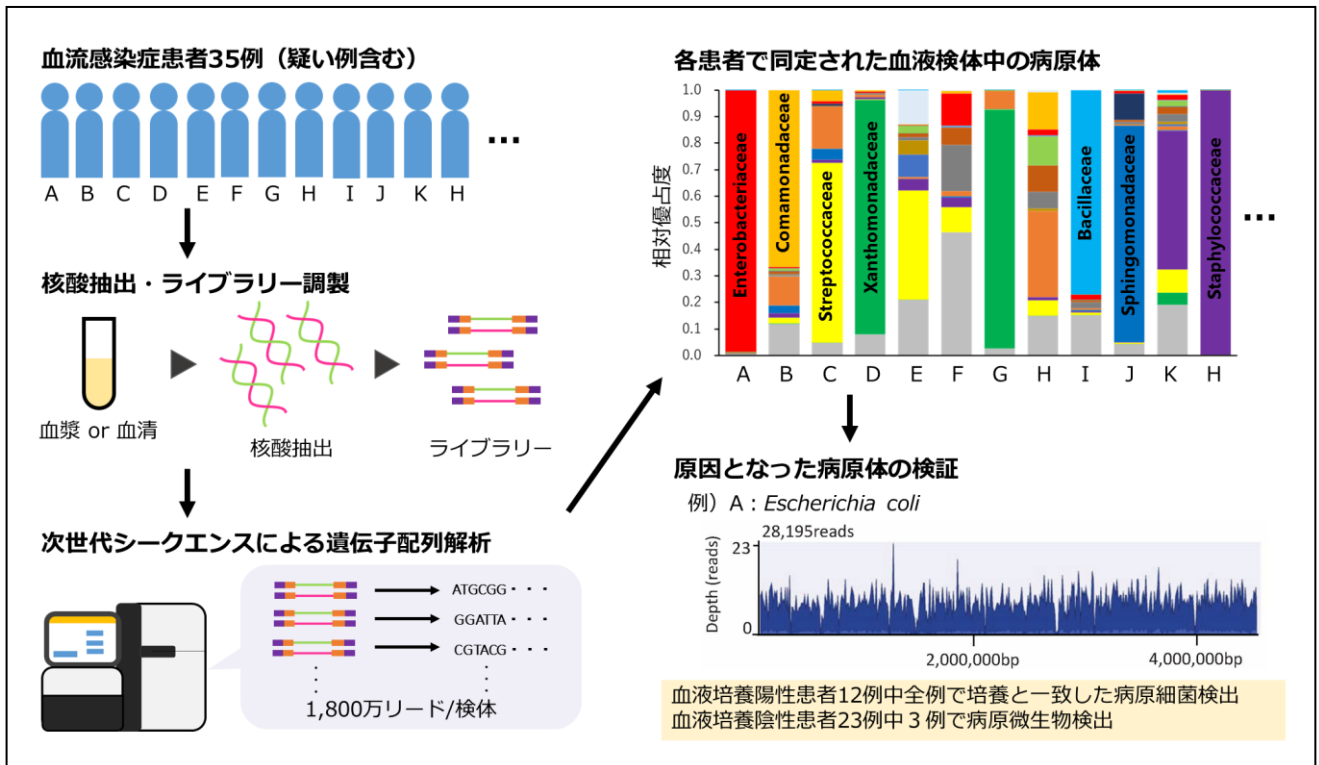
## 1. 背景

病気やその治療によって免疫不全状態になった患者では、様々な病原体による感染症のリスクが高くなります。感染症が重篤になると血液中から原因微生物が検出されるようになります。また、長期に点滴治療を必要とする場合には、血管内にカテーテルが留置されるため、このカテーテルを經由して重症血流感染症が起こるリスクが増えます。このような重症感染症が疑われる場合には、通常血液検体を培養して病原細菌を見つけたり、血液中から真菌の成分を検出したり、ウイルスの核酸を検出することで、病原微生物の診断をします。現在の手法では、幅広い微生物には対応するために複数の検査を並行して行いますが、微生物が同定できるのは半数程度に限られます。また、検査のために採取される血液検体量も、小児では負担になる場合もあります。

次世代シーケンス技術は、ヒト由来、微生物由来に関わらず、血液中に存在しているすべての遺伝子の塩基配列を解読することができるため、既知の病原微生物の全てを網羅的に検出することが可能となります。特に、細菌検出に必須の血液培養に比べ、培養が困難な細菌の診断も容易となり、真菌・ウイルスの同定も可能となります。単一の方法で、網羅的な病原微生物診断が可能になれば、重症感染症の診療に大変有用と考えられます。

## 2. 研究成果

本研究では、次世代シーケンスを応用し、血流感染症で病原細菌が判明している12症例の血液検体を解析しました。細菌に関して、血液培養では増殖した菌を原因菌と推定しますが、次世代シーケンスで調べた場合、多くの種類の細菌が血液中の量に応じて検出されました。12例中8例では、最も多くの遺伝子配列を検出した細菌と、血液培養で判定された細菌が一致し、すべての症例で病原細菌の遺伝子が検出できました。このうちの2例では、原因微生物が感染症発症前の血液からも検出されました。一方、血流感染症で原因が不明であった23例中、3例で原因病原体を特定できました(レジオネラ属菌、大腸菌、アデノウイルス)。さらに、次世代シーケンスのデータを解析して、病原微生物を特定する手法の改善を試みました。



### 3. 今後の展開

次世代シーケンスは、理論的には細菌、ウイルス、真菌などの既知の微生物全てを検出することが可能であり、さらに、遺伝子配列情報から薬剤耐性を解析することもできます。次世代シーケンスを血流感染症の診断法として臨床応用することにより、疾患の原因微生物が特定され、病態の解明や治療法の改善に貢献することが期待されます。

### 4. 用語説明

#### (1) 次世代シーケンス

大量の DNA 断片を並列にシーケンス（塩基配列の決定）することで、従来のシーケンス法を超えた大量の塩基配列を決定できる解析技術のことで、配列決定できた DNA 断片の数をリードと呼ばれる単位で数えます。少量の血液から、1000 万以上のリードを得ることができます。臨床応用は、がんや神経疾患における遺伝子解析が先行しています。この手法は、微生物の解析にも極めて有効であり、理論的には、少量の臨床検体から細菌・ウイルス・真菌等のすべての微生物の存在を定量的に解析できます。

#### (2) 血流感染症

広義には血液中に原因微生物が検出される重篤な感染症を意味します。長期に点滴治療を必要とする場合には、血管内にカテーテルが留置されるため、このカテーテルを経由して重症血流感染症が起こるリスクが増えます（カテーテル関連血流感染症）。原因として、細菌が多く、血液培養が主な診断方法ですが、病原微生物が特定されるのは 50% 程度と報告されています。

## 5. 発表雑誌

Kazuhiro Horiba<sup>1</sup>, Jun-ichi Kawada<sup>1</sup>, Yusuke Okuno<sup>1</sup>, Nobuyuki Tetsuka<sup>2</sup>, Takako Suzuki<sup>1</sup>, Shotaro Ando<sup>1</sup>, Yasuko Kamiya<sup>1</sup>, Yuka Torii<sup>1</sup>, Tetsuya Yagi<sup>2</sup>, Yoshiyuki Takahashi<sup>1</sup>, and Yoshinori Ito<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Pediatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

<sup>2</sup> Department of Infectious Disease, Nagoya University Hospital, Nagoya, Japan

" Comprehensive detection of pathogens in immunocompromised children with bloodstream infections by next-generation sequencing "

Scientific Reports (英国時間 2018 年 2 月 28 日付けの電子版に掲載)

DOI : 10.1038/s41598-018-22133-y

**English ver.**

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Scientific\\_R\\_20180302en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Scientific_R_20180302en.pdf)