



2018年9月19日放送

「感染症における遺伝子診断の実際と展望」

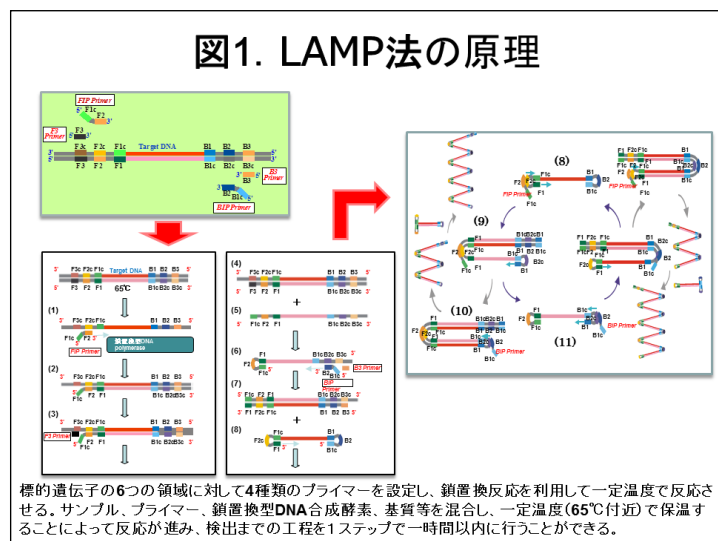
長崎大学大学院 病態解析・診断学分野教授 柳原 克紀

はじめに

薬剤耐性菌の蔓延や免疫不全宿主の増加に伴い、感染症の診療は難しくなってきました。原因微生物の正確かつ迅速な検出は、治療奏効率の向上につながります。たとえば、グラム染色は、初期の時点で原因微生物を類推することが可能であるため、抗菌薬選択の際に参考となり、長年にわたり広く利用されています。また、抗原検査も治療方針の決定に貢献できる迅速検査です。より早期に原因微生物をとらえることは、微生物検査において最も重要な事項の一つです。最近は科学技術の進歩に伴い、新規遺伝子検査機器が臨床応用されてきており、大いに期待されています。今回は、感染症における遺伝子診断の実際と展望についてお話しします。

LAMP 法

検出する方法としては、従来から PCR 法が広く使用されてきました。我が国で開発された Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法は迅速、簡易、正確な遺伝子増幅法であり、結核やマイコプラズマ感染症の診断に臨床応用されています。LAMP とは標的遺伝子の6つの領域に対して4種類のプライマーを設定し、鎖置換反応を利用して一定温度で反応させることを特徴とします。(図1)。同検査キットでは、喀痰、咽頭ぬぐい液



等を検体とし、検体処理を含めて検体採取から2時間以内に結果を得ることができますので、臨床現場へのニーズに対応できます。

増幅反応から検出までを同一チューブ内で行うため簡便であり、高い特異度と感度が報告されています。今後、LAMP法を用いた遺伝子診断は、広く臨床応用されるものと思われます。その他にも国内外で、新しい簡便な遺伝子検査技術の開発が進められており、期待されるところです。

新規遺伝子検査機器

検査技術の進歩だけでは、臨床応用は進みません。特別の解析機器や試薬などにかかるコスト面での課題や、遺伝子の抽出と増幅にかかる時間面での課題、特殊な知識と技術を持った人材が必要となるといった問題がありました。

近年、これらの障壁を乗り越える機器が開発されてきたことに加え、感染症遺伝子検査に対する理解も進んだため、遺伝子検査機器は急速に普及しています。また、世界的な耐性菌増加や、院内感染の問題を背景に、

「微生物を特定して的確な治療をする」という、根拠に基づいた治療を行う気運が高まってきたことも追い風になりました。このような意味でも、遺伝子検査は現代の医療ニーズに合致した診断技術として注目されています。私たちは、国内でも先駆けて新規遺伝子検査機器を積極的に取り入れ、性能だけでなく臨床現場での活用方法などを検証しました(図2)。

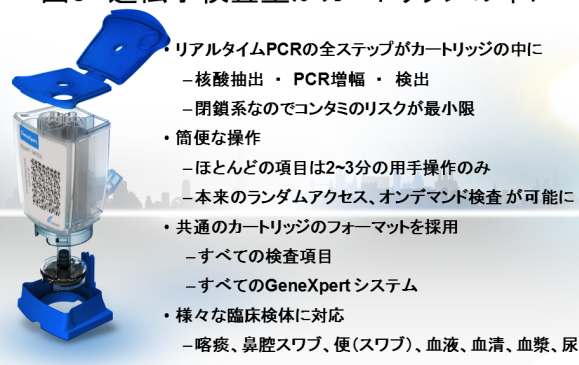
感染症における遺伝子解析機器の発展のポイントは小型化・簡便化・迅速化にあります。小型化が進んだことで省スペースが実現され、同じ解析機器を使いながら、“カートリッジ”の種類を変更することで検出ターゲットを変えるような方法をとるシステムも開発されました(図3)。また、実施者が神経をとがらせていた手技的な課題に対しても、“カートリッジ”

の中で遺伝子抽出～遺伝子増幅～検出の一連のプロセスを行うため、きわめて簡便になっています。遺伝子検査を利用して特定の微生物を検出する手法も多く開発されていますが、遺伝子検査だからこそ可能ともいえる特徴が、複数の微生物を網羅的に検出できる点にあります。例えば、感染性腸炎では、病原性大腸菌や、サルモネラ、カンピロバ

図2 新規遺伝子検査機器

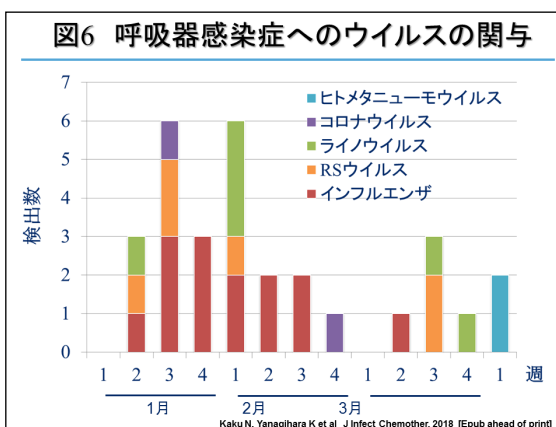
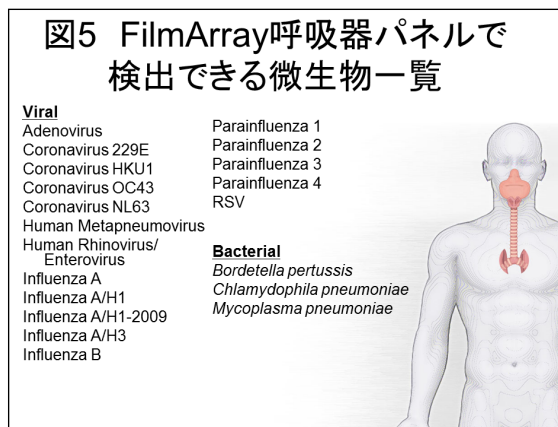
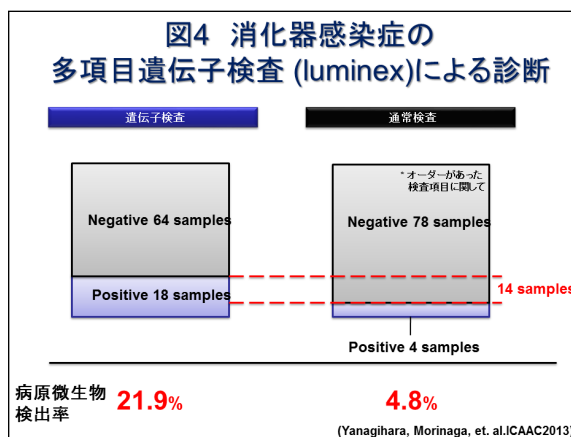


図3 遺伝子検査室がカートリッジの中に



クター、ノロウイルス、クロストリジウム・ディフィシル、寄生虫など、多彩な微生物が鑑別として挙げられますが、しばしば鑑別に難しいことがあります。

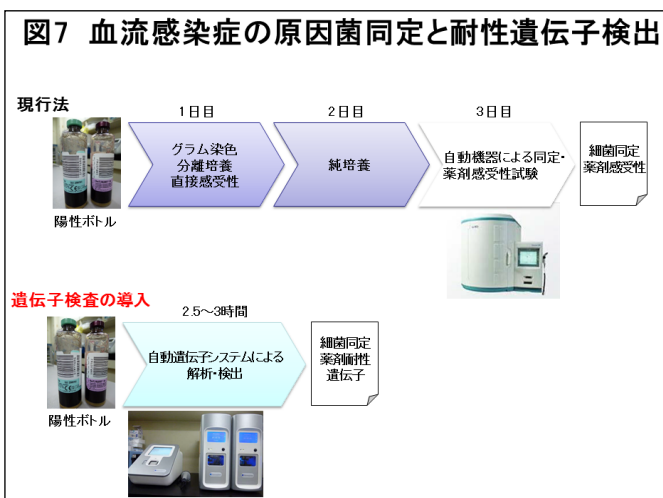
これまでは、熟練した感染症医が周辺情報をもとに診断に近づいてきましたが、網羅的遺伝子検査で解析してみると、従来法では検出できていなかった症例があったり、想定外の微生物が原因菌として検出される症例が見つかったりと、これまでの診断手法の盲点が明らかとなりました。(図4) 同じように呼吸器感染症でも、肺炎マイコプラズマや肺炎クラミジアなど非定型病原体に加え、インフルエンザウイルス、RSウイルスならびにヒトメタニューモウイルスなどのウイルスを含めた20項目を同時に検出できる検査機器が開発されています。(図5) 私たちが成人呼吸器感染症を対象にした臨床研究では、多種多様なウイルスが感染していることが明らかになりました。(図6) これは適切な抗菌薬療法に役立つだけでなく、臨床治験が進んでいるRSウイルスやヒトメタニューモウイルスの治療薬を処方する際にも有益な情報になるでしょう。



耐性菌治療での貢献

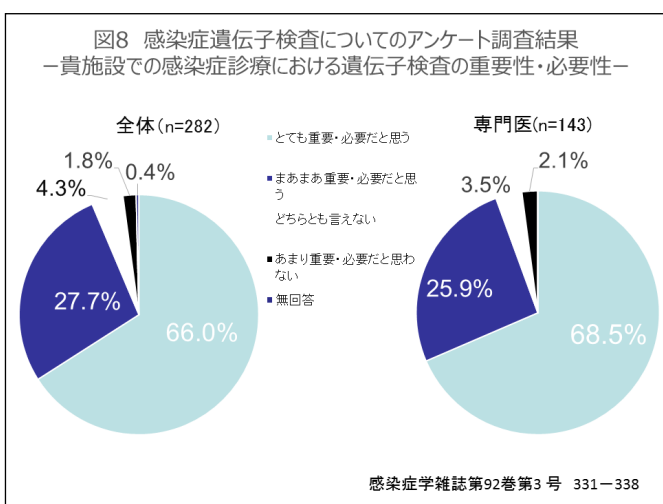
また、耐性菌治療の面からも貢献が期待されています。通常の検査で薬剤感受性を評価するためには、菌が発育してからすくなくともプラス1日が必要になりますが、主要な耐性機序は耐性遺伝子で規定されていますので、検出に遺伝子検査を利用することができます。最もインパクトが大きいのは血液培養陽性患者で、陽性となった時点で血液培養ボトルから直接検体を抜き取って解析することで、グラム陽性菌の場合では黄色ブドウ球菌や腸球菌などの頻度が高い菌種名に加えて MRSA のような耐性を持った菌株かどうか、グラム陰性菌の場合では主要な腸内細菌科細菌などの菌種名と薬剤耐性遺伝子

保有状況を 2 時間～2 時間半で知ることが可能です。(図 7) 薬剤耐性にかかわる情報を 1 日以上早く入手できるので、治療薬選択の判断を大幅に早めることができます。我々の検討でも、本検査法を用いることで、適切な抗菌薬の開始が早くなることがわかりました。この血液培養での遺伝子検査法は、2017 年に体外診断用医薬品として保険適用になったばかりで、今後の敗血症治療での活用が期待されます。



遺伝子検査の必要性・重要性

網羅的な解析手法が開発されたことで、新しい医療費の考え方も出てきました。遺伝子検査は、コスト面では確かに 1 件当たりの検査費用は従来法よりも高額になります。しかしながら、従来法で診断できなかった場合には、不適切な治療への投資、入院期間の長期化、新しい感染者の発生、さらには付加的な医療業務に必要な人的資源などが発生してしまう可能性があります。網羅的な遺伝子診断では、必要となる費用を抑える効果も指摘されており、このトータルコストの考え方はこれからの医療でも重要となる視点になると思われます。感染症分野における遺伝子学的手法の導入状況は、日本は遅れている立場にあります。欧米では、自施設あるいは専門の診断施設で遺伝子検査を行いながら感染症診療を行う環境が定着しています。また、シンガポールや韓国などのアジア諸国でも多種の機器を日常的に稼働しているなど、積極的に臨床で活用されています。日本感染症学会と日本臨床微生物学会は、共同で遺伝子検査の普及を目指した活動を行っています。感染症学会会員の医師を対象に、医療機関で実施する遺伝子検査についてアンケート調査を実施しました。90%以上が遺伝子検査の必要性や重要性を認識していました(図 8)。また、最も多く実施されている遺伝子検査は、結核菌や非結核性抗酸菌であることや項目としては、*Clostridium difficile* や薬剤耐性遺伝子の導入を希望することがわかりま



した。導入が難しい理由として、保険適応がないことやインフラ・人員不足が挙げられていました。これらの結果から、全自動機器の早期承認や保険適応の追加が強く望まれます。学会としては、感染症の遺伝子検査が諸外国並みになるように関係各所に働きかけたいと考えています。また、感染症関連の診療ガイドラインにも遺伝子検査について記載していく方針を打ち出しています。このように遺伝子検査にかかる期待は大きいですが、培養を中心とした従来検査に代わるものではありません。お互いの長所と短所を補い合うことが、質の高い新しい感染症診療へ発展できるものと考えています。施設によって、患者さんの状況や診療体制が異なることも認識すべきです。感染症診療に関わる医師と検査を行う臨床検査技師が相談して、施設毎の運用について決めていくことが大切になるでしょう。