

平成 26 年度 共同研究報告書

研究課題		既に起炎菌の同定と定量結果が判明している敗血症血液検体における、感染と癌に対する自然免疫応答の解析
研究区分		一般共同研究
研究代表者	所属	富山大学附属病院 検査部
	氏名	検査部副部長 仁井見 英樹
受け入れ教員名	氏名	高岡晃教 先生
研究目的		我々は独自開発した eukaryote-made thermostable DNA polymerase および Tm mapping 法（国際特許 EP1997886）により、敗血症の起炎菌を 3 時間以内に同定する検査法を開発した。また、血液検体中の起炎菌の定量検査法を現在開発しており、既に学内での試験運用を行っている。 本研究の目的は、敗血症における血漿中のサイトカインや白血球の自然免疫応答を解析することで、将来的に敗血症検査（or 癌検査）に有用となる免疫応答を見出すことである。これらの検体は臨床データと共に起炎菌の同定と定量の情報もあるため、敗血症の自然免疫応答の解析に有用な試料となり得る。
研究内容・成果		Tm mapping 法による検出菌同定の正確性を評価するために、以下の 3 つのテストを行った。 先ずデータベース登録に用いた 107 菌種の菌 DNA を用いて、ブラインド・テストでの同定を試みた。その結果、107 菌種すべてが match した。 次に、140 の培養コロニー（51 菌種）からそれぞれ DNA を抽出し、Tm mapping 法を用いて菌の同定を行い、sequencing との一致率を算出した。その結果、Difference Value が 0.5 より大きい 10 コロニーを除いた 130 コロニー中、match が 125 コロニー、broad match が 3 コロニー、mismatch が 2 コロニーであり、match と broad match を合わせた正答率は 98.5% であった。尚、broad match の 3 菌種は Staphylococcus 属であり、mismatch では全て複数菌の存在が認められた。 最後に、200 症例の敗血症疑い患者の血液検体からそれぞれ菌 DNA を抽出し、Tm mapping 法を用いて 3 時間以内での検出菌の迅速同定を行い、培養結果 or シークエンス結果との一致率を算出した。その結果、Difference Value が 0.5 より大きい 11 検体を除いた 59 検体中、match が 58 検体、broad match が 1 検体であり、Difference Value が 0.5 以下の検体では全てが一致した。 以上、迅速検査法として新たに開発した Tm mapping 法について、方法論と正確性の評価について先ず検討した。正確である限り、検査は迅速であればある程、治療に役立つ。重篤な感染症の患者に

	とって、迅速検査は直に救命につながる。現在、Tm mapping 法による同定・定量結果と共に、プレセプシン、プロカルシトニン、IL-6 の測定を同時に行っており、敗血症における血漿中のサイトカインや白血球の自然免疫応答を解析することで、将来的に敗血症検査に有用となる免疫応答を見出すことを検討途中である。今後は 100 検体の解析を目途にして、以上のデータをまとめる計画である。
成果	【学会報告】 ■発表者名 仁井見 英樹 ■発表タイトル Tm mapping 法：検体採取後 3 時間以内での感染症起炎菌迅速同定法 ■学会名 第 79 回日本インターフェロン・サイトカイン学会 ■開催場所 札幌市 北海道大学 遺伝子病制御研究所 ■開催日 2014 年 6 月 19 日～20 日 ■発表形態 ポスター発表
	【論文発表】 該当なし
	【プロジェクト】 該当なし
	【新聞報道】