

原因不明疾患の病原体検索（細菌）

微生物部 〇津路 優栗、成田 翼、新田 真依子、副田 菜々美
引地 恵一、福留 智子、矢野 浩司

1 はじめに

近年、感染症診療には次世代シーケンサー（NGS）の活用が期待されている。メタゲノム解析では菌種特有の配列が保存されている 16S 領域の特異的プライマーを用いて、調製した RNA をライブラリ化することで、感度・特異度に加え、網羅性を兼ね備えた検査が可能である。また、混合感染が疑われる症例や病原体不明症例への対応としても有用である¹⁾。

当研究所では、行政検査依頼で百日咳疑いの検体などが搬入されるが、陰性と判定される症例が多く存在する（図 1）。本研究では、百日咳疑いで検査陰性となった検体を中心とした原因不明な細菌性の病原体について、菌種特有の配列が保存されている 16S rDNA 遺伝子配列をターゲットとしたメタゲノム解析を行い、細菌性病原体の推定と疾患の解明を目的とする（図 2）。

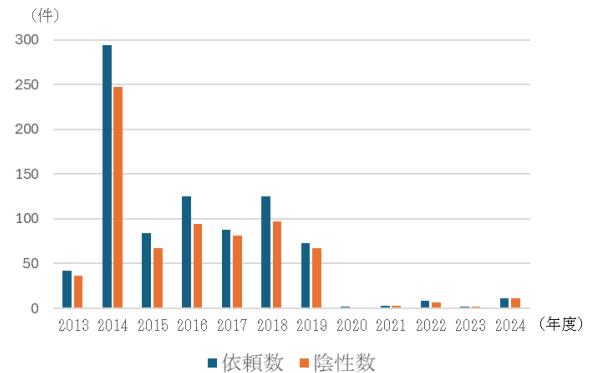


図 1：当所に搬入された百日咳疑い検体の検査陰性数

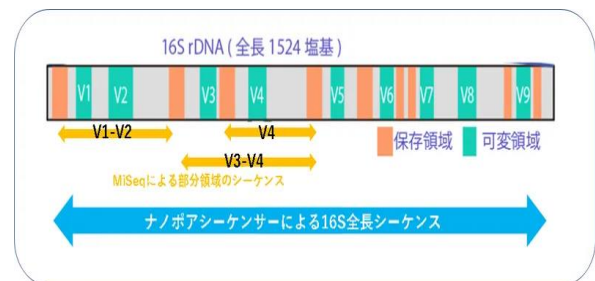


図 2：16S rDNA 遺伝子領域

2 対象

百日咳疑い検体は県内の医療機関から当研究所へ搬入された鼻腔拭い液や咽頭ぬぐい液で、検査陰性となった検体を使用する。また、宮崎県内において過去に呼吸器感染症やリケッチア疑いで当研究所に搬入されたが検査陰性で原因不明となった症例を対象とする。

3 方法

臨床検体を QIAGEN 社の DNeasy Blood&Tissue Kit を用いて DNA 抽出を行った後、Nanopore 社の 16S バーコーディングキットを用いてライブラリ調製を行う。シーケンスは Nanopore 社の MinION を用い、得られたデータは Nanopore 社が提供している EPI2ME 及び web ベースプラットフォームの Galaxy により解析する。

4 調査研究の効果等

原因不明疾患のゲノム解析で得られたデータとその臨床的意義とをすりあわせて検証し細菌種レベルで起因病原体を推定することで、診断や感染症対策の一助に貢献できるとともに、県民の健康福祉の向上につなげることができる。

参考文献

- 1) 黒田 誠. 公衆衛生および感染症診断に貢献する微生物ゲノム研究の変貌. モダンメディア 2016 ; 62(7) : 241-249.