

微生物検査薬／機器メーカーの視点から 感染症診断のパラダイムシフトを考える

たけ ぎわ とし ゆき
武 沢 敏 行
Toshiyuki TAKEZAWA

はじめに

常に様相を変え変貌している感染症との闘いはいつの時代でもあり、これを根絶することが人類の悲願の一つであるとの言は、議論の余地を持たない。

ところで、前世期の前半までは病原微生物、特に病原細菌の発見の時代と捉えられ、後の今日に至る半世紀は抗菌薬の発見と、その臨床応用に伴う感染症治療の時代と言って差し支えないであろう。

そして、抗菌薬療法の著しい発展が、高位のQOL (Quality of Life) を実現しつつ、人類の延命に貢献をしていることに、異論の無いことは明らかである。

さて抗菌薬療法の発展とともに、その負の産物ともいべき耐性菌が出現し、特に院内感染の原因菌として問題となっている。

さらに、日和見感染症、新興感染症、また再興感染症の存在という現実もあって、悲願の達成までの道のりは遠い。

このままならない現状の中で、今回のテーマである“患者さん中心の医療を実現するために”直接の治療薬を提供する訳ではないわれわれ微生物検査薬／機器メーカー（以後検査薬メーカー）にできることは何か、医療にかかわる一人の人間としての立場も踏まえ、現状に鑑みつつ、そして近未来も見据え考えてみようと思う。

I. 現在までに

微生物検査の目的を改めて述べるまでもなく、抗菌薬投与を含む患者さんへの適切な処置を実現するためにある。

そのために、まず起因菌を分離、特定する、すなわち感染症の原因菌と常在菌を見分けて（同定して）、原因菌（起因菌）の有する抗菌薬感受性（以後感受性）を明らかにする。

ところで、これら同定感受性検査を含む臨床微生物検査（微生物検査）は生化学検査等に比べると手間ひまが掛かり、過去には、まず汎用性の高い培地で分離培養を行い、コロニーを観察、染色後に顕微鏡観察による菌の形状確認、起因菌と思しきコロニーを、酵素基質を配した諸々の培地に接種、被検菌の性状を確認して、その結果を以て起因菌が同定されてきた。そして、そのような方法で同定された菌株が感受性検査に供された。

感受性の確認は、マクロ液体希釈法によるMIC法をスケールダウンしたマクロプレートを使用する微量液体希釈法、またはディスク法でなされたが、薬剤ごとのMIC（最少発育阻止濃度）の確認は手動でなされ、ディスク阻止円径の計測も含め、客観性に疑問符のつく場合もあった。

そこで、微生物検査の中心をなす起因菌の同定、感受性検査のために各診断薬メーカーから自動機器が提供され、多くの医療機関が導入、現在に至っている。

自動機器の導入によってこれら検査の省力化、迅速化、そしてCLSI¹⁾基準に則っての判定等標準化も図られて、自動機器の違いを越えて結果の比較を簡単に行えるようになり、施設ごとのデータを用いた疫学解析が容易となった。

弊社も全自動同定感受性検査システムBDフェニックス（以後フェニックス²⁾）を提供しており、検査に使用するパネルには菌を同定するための酵素基質と、感受性確認のための抗菌薬をCLSI等の解



積基準を含む濃度で配置して、同定と感受性検査の同時対応により、さらに簡易化されたシステムを特徴としている。

また、結果を解釈して、臨床におけるより適切な対応をサポートするためのエキスパートシステムも搭載して、市場から一定の評価を頂いている。

なお、敗血症を疑い、先ず菌血症の有無を確認するための血液培養、また結核菌の検出、その感受性の確認に関しても、手動による方法や固形培地の使用ではなく、自動機器で対応するに至っている。

さて、いよいよ微生物検査はスピードアップされた、迅速に結果を得られるようになったか？

いや、フェニックスであっても、検体採取から前培養を経て、最終の結果を得るまでに3日は掛かる“遅速検査”の一つであることに違いは無い。

確かに疫学解析は容易となったが、数日という時間は、感染症を疑う患者さんへの迅速な処置に対応しているとは、残念ながら言い難いものである。

では迅速に結果を得られる遺伝子レベルの検査で、現在の微生物検査、感受性検査のすべてをカバーできるのか。

耐性遺伝子や、その他の感受性、および性状に関連する遺伝子の振る舞いが明確とはなっていない現状では、否と言わざるを得ないのではなかろうか。

II. これから (1)

検体から起因菌の分離培養を求められるが、分離後の検査をさらに迅速化する方法が模索されてきた。

これに対応するために、本邦でも昨年あたりから、同定に質量分析装置が利用されるようになった。

微生物検査に応用される質量分析装置はMALDI-TOF^{3,4)}と呼ばれるもので、電荷を帯びさせたタンパクをフライトチューブ内で飛行させ、その飛行時間の差から分子サイズごとに分離、検出を試みるものである。

飛行時間はタンパクのサイズ、すなわちタンパク分子の有する質量電荷比 (m/z 比) に左右されるので、m/z 比を基にした菌種 (菌株) に特異的なフィンガープリントデータを入手し、適切なデータベースの構築に至れば、簡単操作で維持コストの安価な

微生物同定用機器の誕生となる。

ところで、現在のデータベースはリボゾーム由来タンパクの m/z 比の違いを基に作成されており、発展途上の感を否めない。

しかし、さらに、例えば誘導された酵素タンパクも含むものに仕上げる事ができれば、菌名同定にとどまらないより機能の拡張された、そして信頼性も高いシステムとなることは間違いなく、今後への期待は確かに大きい。

さて、以上のような現状に鑑みれば、微生物検査にかかわるわれわれも、タンパクレベルでの解析技術を入手するに至ったと言って、差し支えないであろう。

そして、迅速化とともに、検査システムの一体化も併せて図り、生化学検査の自動化ラインにも匹敵する微生物検査の自動化ライン (Lab Automation : Kiestra 社⁵⁾) も提供されるに至っている。

この新たに提供される自動化ラインには、モジュールとしての検査機器を順次追加できる仕様となっており、モジュールには分離、および純培養、並びにグラム染色を担うものもある。

したがって、同定感受性検査機器との連結も図れば、個人の技量差を排除し、機能が平準化された完全自動化と呼べる微生物検査ラインとなる。

このように、近未来には規模の差こそあれ、自動化された微生物検査ラインを、そこかしこで目にするようになるかも知れない。

ところで、これで患者さん中心の医療 (感染症治療) を実現するための、強力な一助たる微生物検査システムが確立されたと言えるのであろうか？

残念ながら、患者さんへ投与すべき適切な抗菌薬を決定するまでに、3日は掛かるという“遅速検査”に変わりはなく、臨床での迅速な処置に対応しているとは言い難い。

なぜか？それは、手動、自動の如何を問わず、必ず培養という操作に全体時間が律速されるからである。

III. 患者さん中心の医療を実現するために

さて、感染症治療の分野における患者さん中心の医療 (感染症治療) とは何か、ここで改めて考えて

みたい。

先に述べたごとく、微生物検査の目的は、抗菌薬投与を含む患者さんへの適切な処置を実現するためにある。

すなわち、感染症の起因菌を同定し、起因菌の感受性を明らかにすることに他ならない。

それは感染症の起因菌に関して、遅速検査ではない同定、感受性検査によって、単なる疫学データではない感受性検査結果を得ることとも言える。

具体的には、侵襲性の少ない方法で採取した少量の検体で多項目に対応し、且つ短時間で病態を反映した、正確な結果を得られる検査を指すことになる。

端的に述べれば、培養を必要としない微生物検査である。

そのような検査を実現できれば、診断、および治療の初期から、患者さんごとに、使用が合理的と考えられる抗菌薬投与が可能となり、結果として耐性菌の出現を予防しつつ、さらに医療コストも抑制できるのではなかろうか。

IV. これから (2)

微生物検査にかかわるわれわれも、タンパクレベルでの解析技術を入手するに至ったと述べた。

では、われわれはゲノムとポストゲノムどの世界にいるのか？

いや、どちらかではなく並行世界にいると考えるべきで、並存する両世界に足を踏み入れ、それぞれから得る新しい知見を基に、検査薬メーカーも製品の技術的な革新を成し遂げようとしている訳である。

さて新しい知見の中に、オーム (Ome) 科学に関するものも多く見られるようになり、その応用範囲が急速に広がりつつある。

オーム (Ome) とは、網羅的な解析を指す用語であるが、現在、遺伝子レベルのみならず、その下流にある発現産物等の解析も進みつつある (図1)。

ここで最下流に位置するものが、代謝産物を網羅的に解析しようと試みるメタボローム (すべての代謝産物を指す) であり、メタボロミクス (代謝反応の量的な解析) によって代謝産物を探索、特定することになる⁶⁾。

微生物分野においても、質量分析装置に連結された液体、およびガスクロマトグラフィー技術の進歩に伴って、菌種ごとの解析が進展し、多くの菌種、例えば黄色ブドウ球菌のゲノムを基にした数百の代謝産物が特定され、公開に至っている⁷⁾。

そして、これら代謝産物はゲノムを基にしているので、微生物の表現型を特徴付ける指標となり、遺

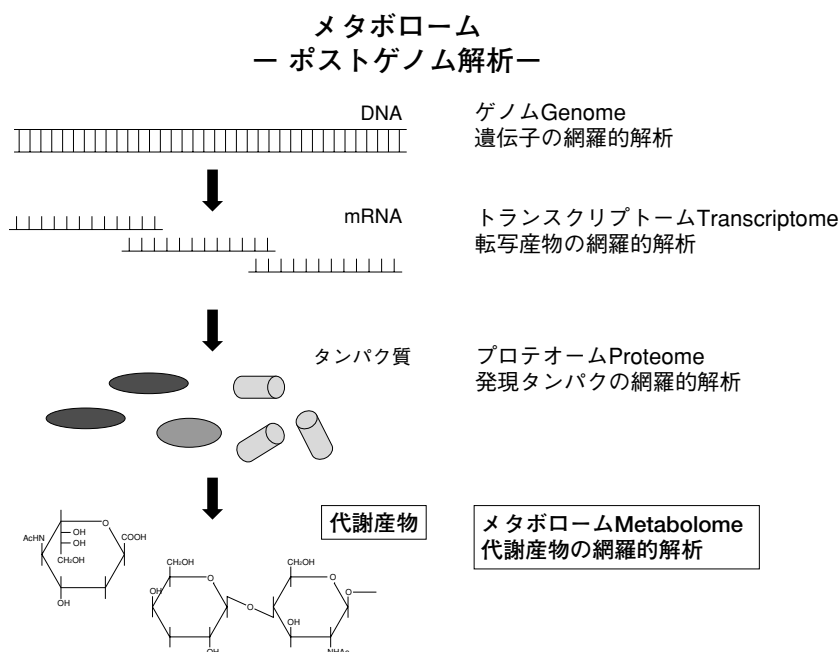


図1

伝子変異による代謝産物のプロファイルの変化が被検株の特徴、および性状の変化を表していると考えられることもできる。

したがって、臨床的に重要な多くの菌種に関するメタボロームが明らかとなれば、感染を疑われる患者さんから検体を採取し、その代謝プロファイルの確認によって起因菌の特定、および感受性情報の取得、併せて病態分析も不可能ではないと思われる。

実現すれば、まさに患者さん中心の医療（感染症治療）のために、検査薬メーカーとしての大きな貢献となる。

なお、もちろん提供される製品は高品質、高精度で、かつできる限り安価でなければならない。

実現のためには既存の技術も積極的に活用し、例えば検体のメタボロームの確認にはタンパクチップ技術を応用し、さらにRNA アプタマー⁸⁾を適応して、多項目一括測定を行うなど如何であろうか。

おわりに

検査薬メーカーも医療を担う一員であり、治療薬メーカーとともに、患者さん中心の医療（感染症治療）を実現するための努力を傾注する決意に、手前みそながら揺るぎはない。

まさに微生物検査のパラダイムシフトを目指して、革新的な製品の構想と実現にあたることになる。

さて感染症治療は、究極的には、人との共生においてその重要性が解き明かされつつあるマイクロバイオーム⁹⁾（全身の細菌叢、細菌ゲノムの総体）を、攪乱しない方法でなされるべきであろう。

感染症の根絶を最終の目的とするが、人は、自らの構成細胞の数十倍といわれるマイクロバイオームとともにあり、これが欠けての生存はあり得ない。あくまでも、共生する微生物との共存が大前提である。

参 照

- 1) 米国臨床検査標準委員会
<http://www.clsi.org/>
- 2) BD フェニックス
http://www.bdj.co.jp/micro/products/index_doutei.html
- 3) MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight)
MALDI-TOF Mass Spectrometer (マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析装置)
- 4) Bruker Daltonics
<http://www.bruker.jp/daltonics/>
- 5) KIESTRRA
http://www.kiestra.nl/pageid=19/Total_Lab_Automation.html
- 6) メタボローム (Metabolome) 解析
慶應義塾大学先端生命研究所
http://www.iab.keio.ac.jp/jp/component/option,com_frontpage/Itemid,1/
- 7) Durot M., et al. Genome-scale models of bacterial metabolism : reconstruction and applications FEMS Microbiol. Rev. **33** : 164-190, 2009.
- 8) RNA アプタマー (RNA aptamer)
University of Toronto RNA Aptamer Lab.
<http://bio349.biota.utoronto.ca/20069/bio349jerry1/aptameradvantages.html>
- 9) マイクロバイオーム (Microbiome)
日経サイエンス 2012年10月号
http://www.nikkei-science.com/201210_038.html
NIH : Human Microbiome Project
<https://commonfund.nih.gov/hmp/>