



2020年7月20日放送

「感染症の遺伝子検査」

東京医科大学 微生物学教授 大楠 清文

はじめに

本日は、感染症の診断と治療に活用されている遺伝子検査についてお話します。このところ、新型コロナウイルスの核酸増幅検査が、毎日のようにマスコミで報道されるにつれ、「PCR検査」が広く知られるようになりました。PCRは臨床検体に含まれる微量なDNAやRNAを探し当て、検出できるレベルまでに増幅する技術あるいは方法のことですので、正しくは「PCRを用いた核酸増幅検査」です。このPCR法は、検体から直接、微量な病原体の遺伝子を増幅・検出して、感染症の迅速診断と治療に利用されています。私は、これまでの約15年間、全国の医療施設で感染症の診断に困った症例について、1,400例以上の検体解析の依頼を受けて、遺伝子検査を実施してきました¹⁾。これらの多くの症例は、原因微生物を特定できており、診断と治療に少なからず貢献できたとの実感を持っております。

感染症診断において遺伝子検査を活用するケース

これまでに1,400例を超える臨床検体の解析を経験して、感染症の診断において、どのようなケースで遺伝子検査を活用すれば良いかをまとめてみました。すなわち、私に感染症の遺伝子診断を依頼してきた背景は、次の6つのカテゴリーに分類されます。まずは、抗菌薬が既に投与されており培養で診断できなかったケース、次にGram染色やZiehl-Neelsen染色で菌体が観察されているにもかかわらず、培養で菌が発育しなかったケース、3つ目が梅毒やWhipple病、らい病など培養ができない病原体による感染症の診断、その他、病院の検査室で培養検査が難しい真菌、リケッチア、ウイルス、原虫、寄生虫による感染

感染症診断において 遺伝子検査を活用するケース

- ・ 抗菌薬の先行投与後の病因診断
- ・ 染色鏡検で見えるが培養で生えてこない
- ・ 培養不可能か困難な病原体の検出・同定
- ・ 真菌感染症の診断
- ・ リケッチア、ウイルス感染症の診断
- ・ 原虫、寄生虫感染症の診断

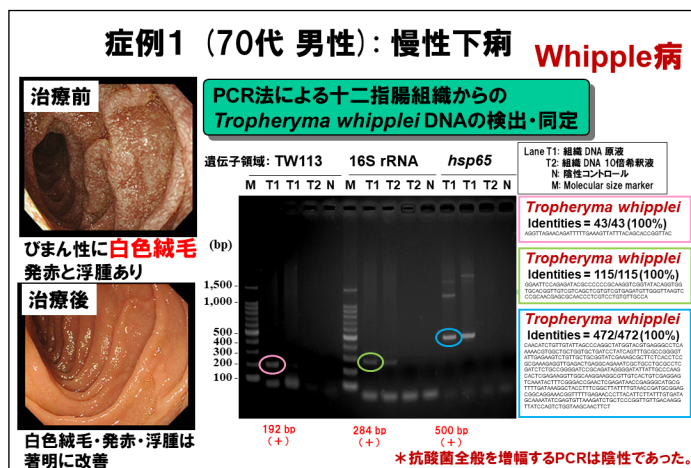
症の診断も依頼されることが多くありました。

それでは、遺伝子検査の活用のコツとノウハウを具体的に探るうえで、代表的な症例について、その患者背景と原因の微生物をご紹介します。

症例1 : Whipple病

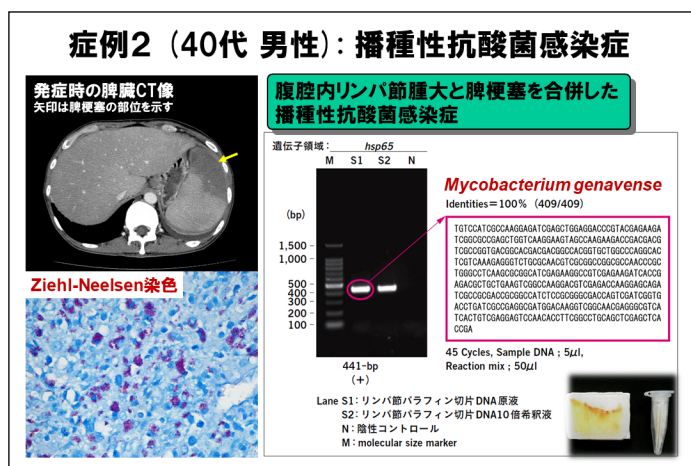
症例は沖縄県在住 HTLV-1 陽性の 70 代 男性²⁾。もともと栄養状態は良好で、ADL も自立。特に内服薬なしで外来通院していました。6 月から下痢が持続し、同時に低アルブミン血症、貧血も進行したため、上部消化管内視鏡を施行。びまん性に白色絨毛が目立つ所見から糞線虫症を疑って、十二指腸病理生検を提出するも特異的な所見は観察されませんでした。下部消化管内視鏡も施行しましたが特記すべき所見はなく、その後も症状は持続し、12 月には十二指腸下行脚でもびまん性に白色絨毛が目立ち、発赤、浮腫も認め、やはり糞線虫症を疑うも陰性でした。そこで、解析依頼があり、十二指腸病理生検の組織から DNA を抽出

した後、Whipple 病の病原体である *Tropheryma whipplei* の遺伝子 3 領域に特異的な PCR を行った結果、すべて陽性。増幅産物 DNA のシーケンス解析からも本菌種であることが確認されました。抗菌薬の投与開始後、下痢症状は速やかに改善し、低アルブミン血症や貧血の進行も認めず、治療開始後 30 日目の内視鏡検査では十二指腸の病変は著明に改善していました。



症例2 : 播種性抗酸菌感染症

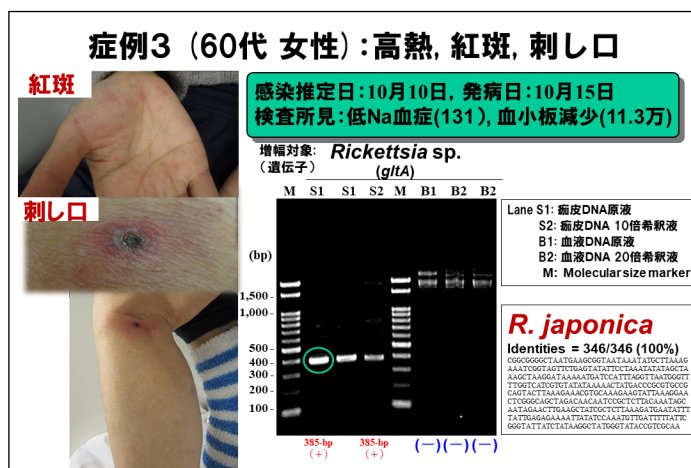
次の症例は 40 代の男性³⁾で、発熱と左頸部リンパ節腫脹を認め、リンパ節生検時に HIV 感染症が判明。CT 検査で腹腔内リンパ節腫大と肝脾腫を認め、播種性非結核性抗酸菌症が疑われたケースです。アジスロマイシン、エタンブトール、リファブチンで治療が開始され、症状は改善しましたが、その後、脾梗塞の



合併も認めました。結核と MAC の PCR はともに陰性。抗酸菌培養は 8 週後も陰性でした。リンパ節生検の生検体が保存されていなかったため、Ziehl-Neelsen 染色で抗酸菌が観察された病理標本のパラフィン切片を送っていただきました。このパラフィン切片から DNA を抽出した後、PCR とその増幅産物のシーケンス解析で *Mycobacterium genavense* であることを確定しました。本菌は抗酸菌培養に使用される小川培地に発育せず、液体培地でも通常の培養期間 6 週では検出できないので、*M. genavense* による感染症の診断は難しいのが実情です。

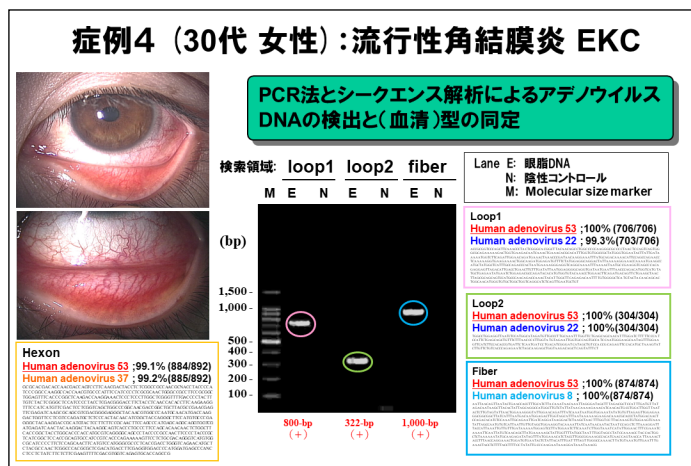
症例 3 : 日本紅斑熱

次の症例は、島根県在住の 60 代 女性で高熱、紅斑、刺し口の三徴候から日本紅斑熱が疑われたケースです。刺し口の痂皮部分がかなり大きく、発病が 10 月であったことから、つつが虫病との鑑別も考慮して、痂皮と末梢血液 (EDTA 加全血の buffy coat 分画) の検体が送られてきました。電気泳動像の左側のように、痂皮検体からはリケッチア属菌の DNA が増幅され、産物のシーケンス解析の結果、日本紅斑熱の病原体 *Rickettsia japonica* であることを確定しました。なお、泳動像の右側のように、血液検体からは本リケッチアの DNA を増幅できませんでしたので、PCR 法の検出感度は、それほど高くないこともご理解いただけるかと思います。



症例 4 : 流行性結膜炎

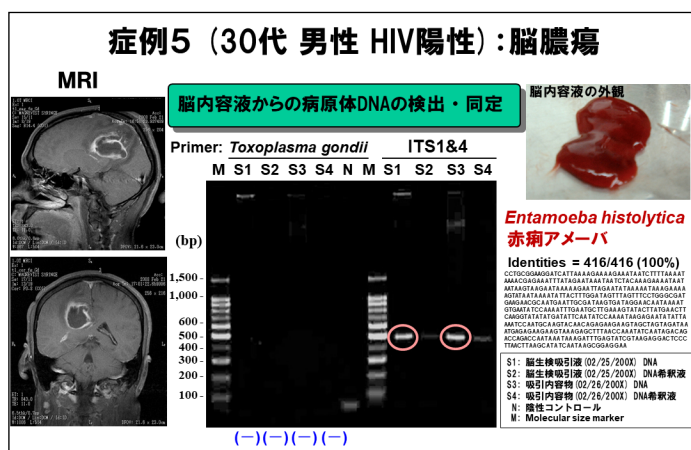
この症例は、大学病院耳鼻科外来勤務の看護師の女性⁴⁾。流行性角結膜炎 (EKC) の診断で、アデノウイルス検出の依頼がありました。眼脂から抽出した DNA を用いて、アデノウイルスを特異的に検出する PCR を実施した結果、陽性。看護師の子供が通う保育園で EKC の流行があり、子供も罹患していたこと



から、家族内伝播が疑われました。検体から直接に（血清）型を決定するべく、アデノウイルスの hexon、loop1、loop2、fiber 領域の DNA を各々増幅した後、シークエンス解析で塩基配列を決定しました。その結果、53 型であることが判明。この 53 型は異なる血清型間（37 型、22 型、8 型）で、遺伝子の組み換えが起こったりコンビナントタイプであることを証明できたケースです。

症例 5：赤痢アメーバ性脳膿瘍

症例 5 番目は、30 代 AIDS の男性⁵⁾。HIV の治療を開始して経過良好でしたが、頭痛と左の上下肢脱力のため、都内の病院に緊急入院、意識はほぼ清明、歩行困難でした。急速に病状が進行して、排膿術とドレナージを施行。脳浮腫は改善に乏しく、翌日に広汎減圧開頭術を施行し、人工呼吸器での管理となりました。入院時のトキソプラズマ IgG 抗体は 620 IU/ml に上昇しており、ゼリー状血液の PAS 染色も陽性であったことから、トキソプラズマに対する治療が開始されました。しかし、高度な脳腫脹のため、一部脳ヘルニアによる脳梗塞を併発、救命自体が危ぶまれる状況が続いたため、脳内容物からのトキソプラズマ検出を依頼されました。*Toxoplasma* 原虫を特異的に検出する PCR を実施したものの陰性。トキソプラズマに対する治療に乏しい状況を鑑みて、念のために、ITS 領域のブロード・レンジ PCR も同時に実施していましたが、増幅産物を認めたので、すぐに DNA の塩基配列を解析しました。その結果、赤痢アメーバであることが判明。検体到着の夜、電話で主治医に連絡。すぐに大量のメトロニダゾール投与に変更されました。治療が奏功し、人工呼吸器から離脱、その後、抗 HIV 薬も再開、日常生活可能な状態となり、退院しました。「トキソプラズマ検出の PCR が陰性でした」と報告しただけでは、患者を救命できなかったケースです。



症例 6：広東住血線虫症

最後の症例は、沖縄県在住の20代、米国海兵隊の男性⁶⁾です。アフリカマイマイを生で摂食した3日後から全身倦怠感が出現。次第に四肢体幹の疼痛、筋力低下があり、県内の病院に紹介入院となったケースです。髄液のギムザ染色で好酸球が多数観察され、生でアフリカマイマイを食べていたことから、広東住血線虫症が疑われました。発病初期の髄液からは本寄生虫のDNAを検出できませんでしたが、治療が進み、約10日経過後の髄液から広東住血線虫のDNAを検出・同定することができました。抗寄生虫薬の

投与によって、脳組織や髄腔内で破壊された虫体からDNAが髄液中に放出され、DNA量が多くなった段階でPCRが時系列的に陽性になったことを経験できた貴重な症例でした。

おわりに

以上、実際に経験した臨床検体の解析症例を紹介しながら、感染症診断における遺伝子検査の活用術についてご紹介しました。これらの症例の病因診断に至った切り札は、確かに遺伝子検査であったかもしれませんが、この診断プロセスの根底に、「感染症の診断と治療は、医師と微生物検査技師との緊密な情報交換による“協働”作業である」ということを感じ取ってもらえれば幸いです。何より、このハーモナイゼーションと種々の検査手段を最大限に活用することが、診断的価値としての貴重な検査結果に繋がるものと確信しています。

文献

- 1) 大楠清文, 江崎孝行: 感染症診断における遺伝子解析技術の適応. 日本臨床微生物学雑誌 18: 162-175, 2008
- 2) 大楠清文: 【消化管結核の診断と治療-最近の進歩】 消化管における抗酸菌感染症の細菌学的な診断法. 胃と腸 52(2): 191-201, 2017
- 3) Hosoda T, Sakamoto M, Ohkusu K: Splenic infarction complicated with immune reconstitution inflammatory syndrome due to disseminated *Mycobacterium genavense* infection in a patient infected with human immunodeficiency virus. *J Infect Chemother.* 25:1060-1064, 2019
- 4) 望月清文, 堅田利彦, 大楠清文, 金子久俊: 医療従事者に生じたアデノウイルス結膜炎の3例. 感染症学雑誌 84(4): 469-473, 2010
- 5) 宮地康高, 橋本英樹, 柳富子, 武田泰明, 北村成大, 大楠清文: 遺伝子解析が有用であった HIV 関連赤痢アメーバ性脳膿瘍の救命例. 日本エイズ学会 13(2): 92-98, 2011
- 6) McAuliffe L, Fortin Ensign S, Larson D, Bavaro M, Yetto J, Cathey M, Mukaigawara M, Narita M, Ohkusu K, Quast T, Volk C: Severe CNS angiostrongyliasis in a young marine: a case report and literature review. *Lancet Infect Dis.* S1473-3099(18)30434-1, 2019

番組ホームページは <http://medical.radionikkei.jp/kansenshotoday/> です。感染症に関するコンテンツを数多くそろえております。

