

研究課題名 臨床現場で利用可能な病原体遺伝子検出法の開発

1 研究の概要

感染症の診断において、病原体遺伝子を増幅して検出する PCR 法は検出感度、特異度ともに優れた有用な方法であり、多くの疾患の診断法として採用されている。中でもリアルタイム PCR 法は、特に検出感度が良く、蛍光色素により遺伝子増幅の有無をリアルタイムに検出可能である。しかしながら、PCR 反応は温度の上げ下げを伴うために装置が高額となり、リアルタイム PCR 装置は蛍光フィルター等も必要であることから特に高額となる。また、PCR 反応を行う前に検体の前処理や核酸抽出を行うため、一定の検査技術を要した人材が必要である。したがって、PCR 法は主に衛生研究所等の検査機関で実施されており、診療所等の臨床現場での迅速検査 (point of care testing; POCT) には不向きである。

感染力が強く、早期に診断して蔓延防止措置を行う必要のある麻疹や、急激に悪化して重篤な症状を示す重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) 等の感染症においては、感染初期の病原体が少ない時期にも確実に診断可能な検査法が求められる。そのため、これらの感染症を疑う場合は、衛生研究所において PCR 法を実施しているが、検体を採取してから衛生研究所に検体を搬送するまでに時間を要することになる。POCT として利用可能な遺伝子検出法により PCR 法と同等の感度でこれらの疾患を診断することが出来れば、より早期に適切な治療や感染拡大防止対策を開始することが出来るため、有用である。

本研究では、POCT として利用可能な LAMP 法 (ニッポンジーン社製装置)、流路チップリアルタイム PCR 法 (ゴーフォトン社製装置)、全自動リアルタイム PCR 法 (マルコム社製装置) を用いた病原体遺伝子検出法の開発を行う。対象疾患は、麻疹、風疹、SFTS、紅斑熱群リケッチア症とする。POCT として利用するためには、検体を直接 PCR 反応試薬に添加する direct 法、または簡易な処理で核酸を露出させる簡易抽出法を検討する必要がある。臨床検体に含まれる成分は PCR の増幅反応を阻害することがあるため、direct 法や簡易抽出法で遺伝子検出を行う場合には、臨床検体を用いて最適な検体量や検体処理法の検討が必要になる。

そこで、本研究では、ヒトから採取した臨床検体 (全血、血清、咽頭拭い液、尿等) に病原体の培養上清または感染細胞を添加した模擬検体を作製し、この模擬検体を用いて遺伝子検出法の条件検討や検出感度の検証を行う。模擬検体を用いた検証で有用な結果が得られた場合は、ヒトの患者検体を用い、開発した遺伝子検出法と PCR 法の検出感度の比較検討も実施する。

2 研究の方法

2-1 対象疾患

本研究で開発する遺伝子検出法の対象疾患は、麻疹、風疹、SFTS、紅斑熱群リケッチア症とする。

2-2 対象とする検体

研究対象者(ヒト)の臨床検体について、上記2-1の対象疾患の病原体に対する PCR 検査を実施して陰性であることを確認した後、上記2-1の疾患の病原体(培養上清または感染細胞)を様々な濃度で添加し、POCT 候補法の条件検討のための模擬検体とする。また、感染症発生動向調査において、上記2-1の対象疾患を疑って検査のため、過去および研究期間中に当所に提出されたヒト症例の検体(血液、咽頭拭い液、尿等)も対象とする。

2-3 模擬検体を用いた POCT 候補法の検討

上記2-2のヒト検体に、上記2-1の疾患の病原体を様々な濃度で添加した模擬検体を作製する。この模擬検体を用い、下記の遺伝子検出法の検出感度が最大となる direct 法または簡易抽出法の条件検討を行う。

- ・ LAMP 法(ニッポンジーン社製装置)
- ・流路チップリアルタイム PCR 法(ゴーフォトン社製装置)
- ・全自動リアルタイム PCR 法(マルコム社製装置)

2-4 臨床検体を用いた POCT 候補法の検討

・臨床検体を用い、上記2-3で検討した遺伝子検出法を実施し、抽出核酸を用いた PCR 法との検出感度を比較検討する。

2-5 期間

2026 年承認日～2031 年 3 月 31 日

3 研究の実施体制

責任者 富山県衛生研究所 ウイルス部 谷 英樹

協力者 富山県衛生研究所 ウイルス部 後藤里歌、黒田真弘、吉田琴羽、瀧田嵩久、
矢澤俊輔、佐賀由美子、福山 圭

4 倫理的配慮

4-1 個人情報等の取扱い

「富山県衛生研究所の保有する個人情報等の安全管理に関する規程」(平成 28 年 7 月 27 日作成、令和 4 年 4 月 1 日改定)に従う。検体は、当所において個人を特定できない番号を付与する。検体の採取日、年齢、性別、ワクチン接種歴を連結し、その他の個人情報(氏名、生年月日、住所等)は削除し、匿名化する。

4-2 研究対象者に生じる負担並びに予測されるリスク及び利益、これらの総合的評価並びに当該負担及びリスクを最小化する方法

【新規採取試料】

健康診断時に富山県衛生研究所病原体等安全管理規程第24条に基づく血清保存のために採血(約 5 mL)された職員の血液を用いるため、本研究における新たなリスクはない。

【既存採取試料】

既存試料については、研究対象者に肉体的な危険性や不利益を生ずることはない。また、当該検体を用いてヒトの遺伝情報の解析は行わない。

4-3 インフォームド・コンセントを受ける手続等(説明書及び同意書を含む。)

【新規採取試料】

本研究においてヒト血液は研究対象者より新たに採取するため、文書によるインフォームド・コンセントを取得する。研究の目的、方法、予想される負担およびリスク等について十分説明し、自由意思に基づく同意を得る。

【既存試料(行政検査の残存試料)】

本研究に使用する患者臨床検体は感染症法に基づく調査を目的に採取された後、保存された試料であり、研究対象者に対して検体採取に伴う危険は発生しない。(本研究は、法令の規定により実施される研究により既に取得している試料を用いる。)

同手続きの免除によって研究対象者の不利益にならない。

すでに採取された検体は、診断または感染拡大防止のための病原体検査を目的として検体採取が実施されているため、さかのぼって同意を得ることが困難である。

このため、「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」第4章第8の1の(2)の(エ)に該当するため、研究対象者が拒否できる機会を保障(オプトアウト)することでインフォームド・コンセントを受けることを要しないと考える。オプトアウトについて、研究目的および調査内容等に関する情報を当所のホームページに公開し、対象者から拒否の申し出があった場合には、これに対応する。

4-4 その他参考となるべき事項

本研究は、富山県衛生研究所倫理審査委員会の承認を得ている(令和8年6月22日、受付番号:R8-2)。

【問い合わせ先】

富山県衛生研究所 ウイルス部

ウイルス部長 谷 英樹

電話番号：0766-56-8143 (受付時間：平日 9:00～17:00)