

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 医療分野研究成果展開事業

産学連携医療イノベーション創出プログラム (ACT-MS)

(英語) Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfer

Acceleration Transformative research for Medical innovation (ACT-MS)

研究開発課題名：(日本語) 新たな起炎菌迅速同定・定量技術を基盤とし、菌数を敗血症の新規バイオマーカーとする検査システムの開発

(英語) Development of a novel rapid identification and quantification method of bacteria in a septic blood sample which can produce an effective biomarker for monitoring patient care

研究開発担当者

所属 役職 氏名：(日本語) 国立大学法人富山大学 大学院医学薬学研究部 (医学) 准教授 仁井見 英樹

(英語) National University Corporation, University of Toyama, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences for Education (Medicine), Associate Professor, Hideki Niimi

実施期間：平成28年11月 1日 ～ 平成29年 3月31日

分担研究

開発課題名：(日本語) **課題1** 「Tm mapping 法の先進医療化」

課題2 「真空採血管のコンタミの解決」

課題3 「菌数を敗血症のバイオマーカーとする定量法の実用化」

(英語) Research Task 1: The application of the Tm mapping method for approval of the Advanced Medical Technology

Research Task 2: Decontamination of bacterial DNA in blood collection tube

Research Task 3: Practicalization of a novel rapid method for quantifying bacteria in a septic blood sample which can produce an effective biomarker for monitoring patient care

1) 研究開発代表者

所属 役職 氏名：(日本語) 富山大学 大学院医学薬学研究部 (医学)

准教授 仁井見 英樹

(英 語) National University Corporation, University of Toyama,
Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences for
Education (Medicine),
Associate Professor, Hideki Niimi

II. 成果の概要 (総括研究報告)

重篤な敗血症の発症は一般的に認められ、しばしば致命的な状態になり得る。敗血症早期の適切な抗菌薬治療は、敗血症疑い患者の致死率を大幅に改善する結果につながる。しかし、抗菌薬治療を終える適切なタイミングを判断することは難しく、抗菌薬治療が十分かどうかを判断することさえ困難であることが現状である。これら抗菌薬の効き目や治療の止め時を正確に判断するためには、細菌感染症の重症度を正確に反映するバイオマーカーが必要である。現在、細菌感染症の重症度を反映するバイオマーカーとして使用されているものは、プロカルシトニン、プレセプシン、体温、白血球数、CRP (C-reactive protein) などである。これらのバイオマーカーは細菌感染症の重症度とある程度は相関するが、必ずしもその時点での重症度を正確に反映している訳ではない。

この問題を解決するため、仁井見英樹准教授 (富山大学 大学院医学薬学研究部 (医学)) を研究代表者とする研究グループは、三井化学 (株) の研究グループと共に、独自開発した技術 (真核生物を用いてリコンビナントに作成した耐熱性 DNA 合成酵素、および敗血症起炎菌迅速同定法: Tm mapping 法、等) を応用して、患者検体中の未知の敗血症起炎菌を迅速に同定かつ定量する新たな技術を開発した。この新技術を用いると、「患者検体中の起炎菌数」を正確に測定することが出来、菌数を細菌感染症の重症度を正確に判断するための新たなバイオマーカーとして用いることが出来るようになる。患者検体中の菌数とは、他のバイオマーカーのように「感染に対する宿主 (ヒト) 側の反応」を測定するのではなく、「感染菌そのものの情報」をダイレクトに測定するのである。

本年度の研究期間中、我々は25の敗血症患者検体中の起炎菌を同定かつ定量した。その結果、起炎菌定量結果 (起炎菌数) は必ずしもプレセプシン、体温、白血球数、CRP とは相関しないことが判明した。我々は次に起炎菌数の経時的な変化を調べた。その結果、起炎菌数の経時的な変化もまた、プレセプシン、体温、白血球数、CRP とは相関しなかった。特に抗菌薬治療開始24時間後、およ

び7 2時間後の血液中の起炎菌数は、想定以上に劇的に減少していることが確認された。

今回、開発した新たな検査法は、採血後 3.5 時間以内に患者検体中（血液中）の敗血症起炎菌の迅速な同定と定量とを可能とする。その結果、以下の可能性を示唆した。患者検体中（血液中）の起炎菌数を基にして、細菌感染症（敗血症）の重症度を正確に評価することが出来る可能性を示唆した。更に、血液中の起炎菌数の経時的な変化を用いることで、抗菌薬の効果を正確にモニターできる可能性を示唆した。その結果、抗菌薬の正確な止め時を知ることが出来る可能性をも示唆した。

Severe sepsis is a common and frequently fatal condition. Initial adequate antibiotic therapy results in a significant decrease in the crude mortality rate among patients suspected of sepsis. However, it is difficult to judge the best timing to stop the antibiotic therapy, or even whether the antibiotic therapy is adequate. In order to judge correctly, we need a biomarker to strictly reflect the severity of microbial infection. Current biomarkers to reflect the severity of microbial infection are Procalcitonin, Presepsin, body temperature (BT), white blood cells (WBC), C-reactive protein (CRP), etc. These biomarkers correlate with the severity of microbial infection to some extent, but do not always accurately reflect the severity at a particular point in time.

To solve this problem, we developed a novel rapid identification and quantification method of unknown bacteria in a clinical sample using the original technology (the eukaryote-made thermostable DNA polymerase and the melting temperature (T_m) mapping method, etc.). Using the novel method, “the bacterial concentration in a clinical sample” can be correctly measured as a novel biomarker to accurately judge the severity of microbial infection. The bacterial concentration is not a result of the host defense but direct information about the pathogen itself.

During this research period, we identified and quantified bacteria in 25 septic blood samples, and found that the quantification results were not always correlated with the results of Presepsin, BT, WBC and CRP. We subsequently examined the time-dependent changes of blood bacterial concentration, and found that the time-dependent changes of blood bacterial concentration were not correlated with those of Presepsin, BT, WBC and CRP. In particular, 24 to 72 hours after antibiotic treatments, blood bacterial concentrations were dramatically decreased.

The novel method enables the identification and quantification of bacteria in a clinical sample within 3.5 hours of whole blood collection. We indicated the possibility as follows: based on the blood bacterial concentration, we could estimate the accurate severity of microbial infection. Moreover, using the time-dependent change of blood bacterial concentration, we could monitor the accurate therapeutic effect. As a result, we could find the best timing to stop antibiotic treatment as well.

Ⅲ.成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 1 件、国際誌 0 件)

1. 仁井見英樹. Melting Temperature (Tm) mapping 法 : 検体採取後 3 時間以内での敗血症起炎菌迅速同定法. 臨床化学. 2017, 46(1), 47-54. 2016 年度学会賞受賞報告 (学術賞)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 新たな起炎菌迅速同定・定量技術を基盤とし、菌数を敗血症の新規バイオマーカーとする検査システムの開発. 口頭&ポスター, 仁井見英樹, とやま産学官金交流会 2016, 2016/11/30, 国内.
2. 敗血症起炎菌迅速同定法 (Tm mapping 法) の開発. 口頭, 仁井見英樹, 第 56 回日本臨床化学会年次学術集会 (熊本), 2016 年度学会賞受賞講演 (学術賞), 2016/12/3, 国内.
3. Tm mapping 法概要および複数機関の試験結果. 口頭, 仁井見英樹, 第 28 回日本臨床微生物学会総会・学術集会 (長崎), スポンサーセッション, 2017/1/21, 国内.
4. 敗血症起因菌迅速同定システム (Tm mapping 法) : 開発と臨床展開. 三井化学株式会社が第 28 回日本臨床微生物学会総会・学術集会 (長崎) において Tm mapping 法に関する 90 分のスポンサーセッションを開催. 2017/1/21, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 富山大学・三井化学(株) 平成 28 年度の AMED 「産学連携医療イノベーション創出プログラム」イノベーションセットアップスキームに採択. 仁井見英樹, 富山大学 News Release, 2016/10/19, 国内.
2. 三井化学 敗血症に関する新たな検査システムを事業化へ : 富山大との共同研究, AMED 産学連携医療イノベーション創出プログラムに採択. 仁井見英樹, 三井化学 News Release, 2016/10/19, 国内.
3. 三井化学、敗血症の原因菌を同定する新たな検査法を事業化へ. 仁井見英樹, 以下のネットニュースで配信 : 日経 BP, マイナビニュース, ニフティニュース, YOMIURI ONLINE, トレーダーズ・ウェブ, BIGLOBE ニュース, 化学工業日報, 47NEWS, goo ニュース, Sankei Biz. 2016/10/19, 国

内.

4. 日本医療研究開発機構 敗血症の原因菌検査キット 実用化事業に助成 富山大仁井見准教授ら研究. 仁井見英樹, 富山新聞, 2016/10/20.
5. 敗血症検査法 製品化へ 富山大大学院 企業と開発. 仁井見英樹, 北日本新聞, 2016/10/20.
6. 敗血症原因菌素早く特定 富山大グループ 検査法開発、製品化へ. 仁井見英樹, 北陸中日新聞, 2016/10/20.
7. 仁井見准教授が最高賞 日本臨床化学会の学術賞 敗血症原因を早期発見で. 仁井見英樹, 富山新聞, 2016/12/8.
8. 臨床化学会学術賞に 仁井見富山大准教授 敗血症の原因菌を迅速に検出・特定する新たな検査法を開発した実績が評価. 仁井見英樹, 北日本新聞, 2016/12/8.
9. 最前線の研究現場から 検査は医療を変えるー革新的な敗血症検査システムを開発. 仁井見英樹, 実業之富山, 2017, 72(1), 50-53.
10. 第28回日本臨床微生物学会総会・学術集会にて敗血症起炎菌迅速同定システム(Tm mapping 法)に関するセミナーを共催. 仁井見英樹, 以下のネットニュースで配信: SankeiBiz, excite ニュース, zakzak, NewsNavi, 日経 225 企業, 2017/1/16, 国内.

(4) 特許出願

なし