

CRISPR-Cas3 を用いた感染症迅速診断技術の開発

真下知士

東京大学医科学研究所 実験動物研究施設 先進動物ゲノム研究分野

〒108-8639 港区白金台 4-6-1

E-mail: mashimo@ims.u-tokyo.ac.jp

HP: <https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/animal-genetics>

【要 約】

近年、CRISPR-Cas システムを利用した核酸検出法（CRISPR-Dx）が、特異性と感度に優れた迅速診断法として注目を集めている。我々は、この CRISPR-Dx 技術を基盤として、CRISPR-Cas3 を用いた感染症診断、遺伝子診断、がん診断などの新たな検出技術を開発してきた。まず、CRISPR-Dx の原理、および既存の Cas12/Cas13 との比較を述べる。次に、Cas3 が有するコラテラル DNA 切断活性（標的認識後に近接する一本鎖 DNA を切断する）を利用した高感度検出技術 CONAN 法（Cas3 Operated Nucleic Acid detection）について紹介する。CONAN 法は、新型コロナウイルス感染症やインフルエンザ感染症に対する迅速かつ簡便な POCT（Point-of-Care Testing）診断法として応用可能である。さらに、外部電源を必要としない Kairo-CONAN を開発し、サル痘ウイルス DNA に対しても携帯性・現場対応性の高い診断システムを実現した。本研究は CRISPR-Cas3 を基盤とする次世代感染症診断技術の実現可能性を示している。

ポータブルリアルタイム PCR 装置を用いた 家畜感染症の病原体迅速診断と現場での応用について

増田恒幸¹⁾、山崎健太²⁾

- ¹⁾ 岡山理科大学獣医学部獣医学科
〒794-8555 愛媛県今治市いこいの丘 1-3
- ²⁾ 鳥取県倉吉家畜保健衛生所
〒682-0017 鳥取県倉吉市清谷町 2-132

【要 約】

人の感染症領域における臨床現場即時診断（POCT）として遺伝子検査が急速に普及してきており、複数の病原体を短時間で診断することが可能となっている。家畜の病原診断においても POCT は普及してきており、高病原性鳥インフルエンザの簡易診断に利用される抗原抗体反応を利用したイムノクロマト法や牛の呼吸器感染症を診断するリアルタイム PCR 法などが用いられている。一般的にイムノクロマト法は検査手技が簡単で誰にでも扱いやすく、検査場所を選ばずに実施できるが、検出感度や特異性が低い。一方、リアルタイム PCR 法は感度や特異性が高いが、大型かつ高額な装置が必要であり、検査手技が複雑なため、検査には専門的なスキルを持った技術者が必要かつ特定の施設でしか検査ができないという問題がある。*PicoGene*[®] PCR1100 は小型のポータブルリアルタイム PCR 装置であり、操作が簡便で検出感度も高い。また検査所要時間が 20 分程度と短く、迅速な疾病診断が可能である。本稿では家畜の呼吸器感染症として重要な病原体である牛ウイルス性下痢ウイルスと *Mycoplasma bovis* について、*PicoGene*[®] PCR1100 を用いた POCT について検証したので、その概要を報告する。

キーワード：臨床現場即時診断、ポータブル PCR、牛ウイルス性下痢ウイルス、*Mycoplasma bovis*

乳房炎迅速診断のためのグラム染色法と その標準化を目指した AI 画像解析技術の開発と応用

鈴木直樹¹⁾、上利尚大²⁾

¹⁾ 広島大学 酪農エコシステム技術開発センター
〒739-8528 広島県東広島市鏡山 1-4-4

²⁾ カーブジェン株式会社
〒150-0041 東京都渋谷区神南一丁目 5 番 13 号 ルート神南ビル 6 階

【要 約】

乳房炎はウシ乳腺組織に発症する炎症性疾患であり、微生物感染を主因として酪農経営に大きな経済的損失をもたらす。近年、薬剤耐性菌の出現が世界的な課題となる中、乳房炎治療においても抗菌薬の使用法の再考を迫られている。また、抗菌薬を本来不必要な症例に使用することは、不必要な廃棄乳をもたらすため酪農経営にとっても損失となる。そのため、迅速かつ正確な病原体の検出に基づく治療方針の決定が重要であるが、従来の培養法は結果判明までに時間を要し、初期治療では経験的治療を余儀なくされている。我々は、乳汁の遠心沈渣を用いたグラム染色法（乳グラム染色）を用い、培養を待たずに乳中の細菌を直接観察・分類する迅速診断技術を確立した。グラム染色は特別な初期投資なく実施できるため普及性は高い一方で、熟練した知識と経験が必要で属人性が高いという課題がある。これを解決するため、グラム染色工程の自動化装置と AI 菌推定ソフトウェアを開発し、迅速かつ標準化された細菌分類を実現した。これらの技術は医療機器承認を取得し、今後は産業動物臨床現場への応用拡大が期待される。乳グラム染色と AI 技術の組み合わせは、乳房炎診断の迅速化と、抗菌薬のより適正な使用の推進に寄与し、乳房炎がもたらす経済的・公衆衛生的課題の解決に貢献するものである。

キーワード：乳房炎、グラム染色、AI 画像解析

感染症診断に資する近年の POCT 技術と家畜感染症診断への応用可能性

三浦大明

東京農工大学 グローバルイノベーション研究院

〒184-8588 東京都小金井市中町 2-24-16

Tel: 042-388-7512

e-mail: daimei@go.tuat.ac.jp

【要 約】

臨床現場即時検査（POCT）においては、簡便・迅速・安価で機器に依存せず、誰でも実施可能な検査法が重要視されている。新型コロナウイルスの流行に伴ってイムノクロマトグラフィーをはじめとした POCT の有用性が改めて注目された。一方で、家畜感染症領域に目を向けると、動物検体はヒト検体と比較して倫理的ハードルが低く、研究開発が比較的しやすいにもかかわらず、POCT 技術開発は発展途上である。また、農場環境に由来する夾雑物を考慮しないといけないなど、ヒト感染症領域とは異なった課題をクリアする必要性が生まれてくる。ここでは、近年の感染症 POCT 診断技術を概説しつつ、近年我々が報告した新規ウイルス検出技術と、その家畜感染症研究への応用可能性について紹介する。近年の POCT 技術開発動向としては、デバイスの小型化や簡素化を行うことで、従来煩雑であった操作をより簡便にするなどのデバイス側の改良を中心とする研究と、そういった煩雑な操作を不要とするような新たな検出系を実現するための分子認識素子の研究という両軸で進められている。筆者らはこれまでに、タンパク質工学的手法を駆使することで、迅速簡便な検出を可能にする分子認識素子を開発し、それらの機能を十二分に発揮する検出システムを開発した。試薬を混合するのみで、SARS-CoV-2 やインフルエンザウイルスの検出に成功し、試薬噴霧後、スマートフォンのカメラで撮影することで汚染箇所の可視化も達成された。本技術もさることながら、従来までに研究されている技術は総じて、家畜感染症にも展開可能であり、今後実用性向上などの踏み込んだ研究展開が期待される。

キーワード：臨床現場即時検査、免疫学的検出、ウイルス、汚染箇所の可視化

ヒトにおける腸管感染症診療の実際と抗菌薬適正使用の推進について

樽本 憲人

所属：埼玉医科大学医学部感染症科・感染制御科

住所：〒350-0495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38

電話：049-276-2032 fax：049-276-1188

email：tarumoto@saitama-med.ac.jp

【要 約】

腸管感染症はヒトや動物で共通してみられる重要な疾患であり、公衆衛生上の大きな課題である。急性下痢症の大半はウイルスが原因とされ、食中毒ではノロウイルスについて *Clostridium perfringens* や *Campylobacter jejuni/coli* などの細菌が主要因であり、ノロウイルスは特に冬季に多い。診断においては問診が極めて重要であり、症状や食事歴から病原体や感染経路を推定し得る。検査は重症例や集団発生で実施され、便培養から新たな多項目 PCR 検査まで多様化している。治療は基本的に支持療法であり、抗菌薬や止痢薬の安易な使用は避けるべきとされる。一方、薬剤耐性菌は世界的脅威であり、2050 年には年間 1000 万人の死亡が予測される。WHO はグローバル・アクション・プランを策定し、日本もこれに基づき「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン 2016-2020」を策定、以後継続している。国内では抗菌薬適正使用支援加算や抗菌薬適正使用体制加算が導入され、病院ごとに抗菌薬管理チーム設置、院内教育、サーベイランスなどの取り組みが進んでいる。販売量調査では抗菌薬使用は一時減少したが、近年一部薬剤で再増加傾向がみられ、継続した啓発が必要である。腸管感染症診療と耐性菌対策は密接に関連しており、検査・治療の適正化、医療制度や診療報酬による支援を組み合わせた包括的対応の継続が重要であると考えられる。

キーワード：腸管感染症、抗菌薬適正使用、食中毒

豚群の推定診断における臨床検査の役割と抗菌剤効果の再現性 —宮崎県の細菌性腸管感染症を例に—

遠矢良平[†]、吉原啓介、嶋田誠司、谷口仁基、岩田朱莉、山元のり子、辻 厚史

所属機関：宮崎県農業共済組合 生産獣医療センター
住所：〒 889-1406 宮崎県児湯郡新富町大字新田 18802-3
[†]責任著者：遠矢良平
電話：0983-35-1116
FAX：0983-35-1137
E-mail：toya@nosai-miyazakiken.jp

【要 約】

宮崎県農業共済組合の生産獣医療センターでは、豚の細菌感染症に対し、問題志向型で臨床検査を積極的に活用できる仕組みがあり、推定診断から確定診断へとつなげることで、的確な抗菌剤の選択と治療効果の向上を図っている。農場で遭遇する腸管感染症の原因菌としては、*Escherichia coli*、*Clostridium perfringens*、*Salmonella enterica*、*Brachyspira* 属菌、*Lawsonia intracellularis* があり、それぞれに応じた検査法が用いられる。検査結果は推定診断精度を高めるだけでなく、将来的な発生時の対策にも活用される。一方で、検査結果が抗菌剤の効果と一致せず、再現性が低下する事例もみられる。今回報告する2事例では、飼料摂取量の制限もしくは低下や混合感染の影響が示された。私たちの診断・検査体制を踏まえると、①検査結果の解釈、②抗菌剤投薬方法、③発症の引き金となる要因の3点が、検査結果に対する抗菌剤効果の再現性に関与する可能性が考えられた。細菌感染症における臨床検査は、単に病原体の存在を確認するだけでなく、治療効果が得られなかった場合の原因究明にも有用であり、その活用には疫学的な背景、宿主要因および環境要因を考慮する必要がある。これらの要素を考慮することで、抗菌剤の適切な使用を支援し、投薬頻度が減れば、最終的には薬剤耐性対策に貢献するだろう。宮崎県における豚の獣医療から得られた知見が、将来の持続可能な家畜の衛生管理に役立てば幸いである。

キーワード：疫学の3要因、初期治療、慢性疾病、日和見感染症、問題志向型臨床検査

妊娠末期の黒毛和種繁殖牛への有機微量ミネラル剤給与が 子牛の消化器病に与える影響

川口正人

北海道農業共済組合 家畜部 獣医療研修センター 診療研修グループ

〒069-0806 北海道江別市新栄台92番地

電話番号 011-398-8808

FAX 番号 011-382-2782

Email honsyo_sinkeng@nosai-do.or.jp

妊娠末期の微量ミネラルの給与は新生子牛の消化器病の低減に寄与する。

【要 約】

微量ミネラルの効果は多岐にわたり、免疫応答、骨、筋肉、胎子成長や腸上皮細胞の健全性保持、抗酸化作用に関与することが知られている。黒毛和種新生子牛は免疫が未成熟であり、消化器病などの疾病リスクが高い。近年、黒毛和種においても妊娠末期の管理が重要視されてきている。しかし、妊娠末期の繁殖牛に微量ミネラルの給与が出生した子牛に影響を与える報告は少ない。そこで、妊娠末期の黒毛和種繁殖牛に亜鉛（Zn）、マンガン（Mn）、銅（Cu）、コバルト（Co）の有機微量ミネラルの有無が、出生した子牛にどのような影響がみられたか調査し、比較した2事例を報告する。2事例とも給与群では消化器病の発生率および点滴実施率の有意な低下がみられた。血液検査を実施した事例1では給与群から出生した子牛の総蛋白（TP）の上昇、免疫グロブリンG（IgG）および血清Brix値の上昇傾向がみられたことから、微量ミネラルの影響により繁殖牛が良質な初乳を産生し、かつ新生子牛は十分な移行免疫を獲得した結果であると示唆される。また、事例2ではニューキノロン系などの抗菌薬の使用回数の低減がみられた。妊娠末期の繁殖牛への微量ミネラル給与は新生子牛の抗病性を向上し、消化器病の発症率および重篤化を低減することで、生産性を向上させることにつながることを示唆された。また、消化器病の発生率が低下することで抗菌薬の使用回数も減少し、薬剤耐性菌対策にも有効であると考えられる。

キーワード：黒毛和種、妊娠末期、微量ミネラル、消化器病、耐性菌対策