

臨床検体から分離された侵襲性感染症原因菌の分子疫学解析と
薬剤耐性化の経年的推移

研 究 計 画 書

研究責任者

東京医科大学微生物学分野

中村 茂樹 (主任教授)

研究分担者

東京医科大学微生物学分野

大楠 清文 (教授)

宮崎 治子 (准教授)

高田 美佐子 (助手)

生方 公子 (客員研究員)

倫理審査委員会 承認：2021年03月12日 (承認番号 T2020-0407)

一部変更 承認：2023年12月07日

お問い合わせ先：〒160-8402 東京都新宿区新宿 6-1-1

TEL：03-3351-6141 (内線 242)

専用 e-mail：str-ipd@tokyo-med.ac.jp

1. 研究期間：開始 2021 年 3 月 11 日 ～ 終了(予定) 2026 年 3 月 31 日

2. 多施設共同研究の実施体制

- ・共同研究グループ名（特に名称なしの場合はその旨を記載）：
なし（全国の医療機関所属の臨床医より解析依頼を受けた菌株を対象とする）

3. 計画の種類：人を対象とする医学系研究計画

4. 計画の概要

4.1. 目的と方法

4.1.1 背景および本研究の科学的合理性の根拠：

ヒトに感染症を惹起する微生物は細菌・ウイルスなど多岐にわたり、それぞれの病原性のレベルも様々である。当研究室はヒトの予後に影響する病原性の高い細菌・ウイルスに関して遺伝子レベルでその詳細を明らかにできる検索手法とまれな細菌の同定技術を確立している。このため、全国各地の医療機関より侵襲性重症細菌感染症(通常、無菌的な髄液、胸水、血液等の検査材料から原因細菌が分離された感染症と定義される)から分離された病原細菌について、i)遺伝子レベルでの菌種の同定、ii)病原因子の確定、iii)遺伝子解析による薬剤耐性の解析、iv)世界の菌株と比較するための multilocus sequence typing (MLST) 等の精査依頼を受ける機会が多い。

検索依頼としては、肺炎、膿胸、敗血症、あるいは化膿性髄膜炎等を惹起し、致命率や後遺症を残しやすい頻度の高い細菌である①肺炎球菌、②溶血性レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*(GAS), *Streptococcus agalactiae* (GBS), *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (SDSE)を主たる対象とする。

これらの解析結果については、将来例数がある程度まとまった段階において学会発表と論文として公表する可能性があることから倫理審査を希望する。

4.1.2 目的・意義：

近年、微生物検査室を有する中規模以上の医療機関あるいは検査センターにおいては、機器による質量分析法による菌種・同定技術の普及、さらには簡便な菌種同定法も開発されつつある。しかし、それらの方法にはいずれも感度ならびに特異度に限界がみられる。

そのため、依頼者となる各医療機関の医師が当教室へ依頼することは、さらなる詳細が期待できる ①16S rRNA 解析による菌種の同定を行ってもらえること、②上記の病原細菌において明らかな病原因子を DNA レベルで解析してもらえること、③薬剤耐性遺伝子の有無を迅速に解析してもらえることである。当方から返却されるデータは、治療上の参考データとして大きな意義を有している。

一方、依頼を受ける側の私達にも、臨床的に重要な細菌についてデータを解析する機会を与えられ、それらを蓄積していくことで世界の同様の成績と比較でき、解析されたデータが将来論文として公表できればその意義は大きい。

4.1.3 方法：

各医療機関から私どもへ解析が依頼された後にどのようなステップを経て解析され、その結果が各医療機関へ報告されるのか、その概略を【別紙-1】に示す。

1) 各医療機関において依頼前に実施・確認されるべき事項

細菌感染症例から分離された細菌を当解析機関が受領するにあたり、次に示す事項を遵守していただく。

- ① 患者に対し、分離された細菌について自施設では実施できない解析項目があるため、それが可能である「東京医科大学微生物分野の研究室」へ依頼したい旨、担当医師が患者に対しインフォームド・コンセントを行う。その記載用紙は依頼施設に保管いただき、「菌株送付票」の「インフォームド・コンセント記載欄」へご記入いただく【別紙-2】。
- ② 入院時に既に「包括同意を取得」している場合には、その旨「菌株送付票」へ記載いただく。
- ③ 患者が乳幼児の場合、あるいは意思表示不可能な患者に対しては、医師が患者のご家族に対し「インフォームド・コンセント」を行い、同意を取得する。
- ④ 原則として、本来無菌的な検査材料、すなわち血液、胸水、髄液、関節液、閉鎖性膿汁等から分離され、かつ菌種として肺炎球菌あるいは溶血性レンサ球菌(GAS, GBS, SDSE)が疑われる菌株とする。
- ⑤ 後日、同意撤回を希望する患者に対しては、患者担当医あるいは直接その旨を当方に連絡いただく。

2) 菌株の輸送【別紙-3】

- ① 菌株輸送時の事故発生を完全に封じるため、依頼元の医療機関に対し、当研究室であらかじめ準備した「バイオハザード輸送用器材」を送付する。器材は追跡システム可能なものである。
- ② 依頼元の医療機関は指定された方法に従って菌株を準備し発送する。
- ③ 発送時には必ず「別紙-2」を同封していただく。
- ④ 同時に、必ず「メールあるいは電話にて発送した旨を当研究室へ連絡」いただく。
- ⑤ 到着後には「菌株を受領したこと」をメールまたは電話にて連絡する。

3) 依頼細菌の解析項目

- ① 依頼された細菌は、各菌種が特異的に有している酵素遺伝子を保持しているか否かをDNA解析により決定する(文献 1)。それでも菌種が特定できない場合は、16S rRNAの解析により菌種を同定する。
- ② 菌種同定後、肺炎球菌については病原性に関わる莢膜型(肺炎球菌は100種の莢膜型別)、GBSでは10種の莢膜型別を実施する。GASとSDSEについては菌体表層に存

在する病原性に関わる M タンパクをコードする *emm* 遺伝子解析(いずれも 100 種以上)を行う。その他に薬剤耐性遺伝子の有無を迅速に解析する【別紙-4】。

- ③ 解析結果は【別紙-5 または別紙-6】にて依頼元に返信する。
- ④ その際、得られた結果を将来疫学研究へ利用する可能性に関する応諾書【別紙-7】を取得していただく。併せて、アンケート用紙【別紙-8】もご回答いただく。
ただし、応諾していただくか否かは、原則として依頼元の任意事項とする。

4.2 研究実施期間：研究実施許可日 ～ 2026 年 3 月 31 日まで (5 年間)

4.3 実施場所

東京医科大学微生物学分野 BSL2 実験室

4.4 研究に関する情報公開の方法（複数可）

講座のホームページに掲示

5 研究対象者の選定・依頼と協力の詳細

5.1 適格基準

選択基準：

- ・不特定の医療機関(依頼元医療機関(A))から東京医科大学微生物学分野・当教室(B)に対し、「侵襲性感染症が疑われた患者の無菌検査材料から前述した種類の細菌が分離されたので精査いただきたいとの依頼があったこと。この場合の無菌検査材料とは、血液、胸水、髄液、関節液、深部組織などを指す。

除外基準：

- ・無菌検査材料ではない検体 (喀痰や上咽頭ぬぐい液、開放膿汁など)から分離された上述した種類の細菌は対象外とする。
- ・髄液や血液など直接の検査材料は対象外とする。

5.2 協力の詳細（研究対象者に求める協力の具体的内容）

① 検査材料採取日, ② 年齢, ③ 性別, ④ 受診科, ⑤ 疾患名, ⑥ 菌株分離検査材料, ⑦ 分離株の詳細解析を他施設に依頼する件に対するインフォームド・コンセント(IC)。

6 計画が準拠する倫理ガイドライン

「ヘルシンキ宣言」および人を対象とする医学系研究に関する倫理指針

7 負担およびリスクと利益

7.1 研究対象者の負担（経済的負担を含む）と予測されるリスク、それらを最小化する対策
負担なし

7.1.1 重篤有害事象が発生した際の対応・補償について

分離された菌株のみを扱う研究のため該当せず

7.2 研究対象者に予測される利益（研究協力費等を含む）

当該研究は、依頼元医療機関(A)に所属する検査室において実施された通常業務に相当する微生物検査によって平素無菌的な検査材料から分離された細菌に対し、さらに分子レベルでの精査を迅速に行うものである。本方法によって原因細菌が確定し、さらに当該細菌が保持する薬剤耐性遺伝子や病原因子が明らかにできれば、その解析結果は治療の補助的役割を果たし、研究対象者にとっては利益となる。

7.3 社会的に予測される危険性と利益

依頼元医療機関(A)の微生物検査法によっては菌種名が不明であったものが当研究室の精査によって菌種や薬剤耐性遺伝子、病原因子が確定でき、それらが当研究室に集積されることは、わが国分子疫学データとして学会や論文を通して公表可能となり、わが国のみならず世界の同様の疫学データと比較できるという利益がある。

7.4 研究対象者等及びその関係者からの相談等への対応方法

研究対象者は連結不化匿名化された状態で担当医を介して当研究室へ解析が依頼される。従って研究対象者の担当医から直接的な相談はあるかもしれないが、研究対象者からの相談は発生しない。仮にそのような事案が発生した場合には、研究代表者である中村茂樹（主任教授）が対応する。

8 個人情報保護する方法

本研究では、依頼元医療機関(A)において連結可能・匿名化された後に当研究室(B)へ菌株が送られてくる。このため研究対象者への明らかな不利益はない。また、将来依頼菌株が集積された後にまとめて疫学研究として発表することはあり得ると考えるが、その点についてはあらかじめ患者からインフォームド・コンセント(IC)を取得いただく。

9 インフォームド・コンセント (IC)

9.1. 既存の試料・情報を利用する研究

他機関の既存サンプル・データを、自機関へ受領
匿名化サンプル・データを連結情報なしで受領【提供元での IC 取得確認、オプトアウトを行う】

本研究で扱う微生物は、日常診療の一環として患者から採取した検体より分離されたものを用いること、研究対象者(患者)の担当医(主治医)を介した依頼検体である。従って、依頼側の各医療機関においては連結可能・匿名化され、IC 取得が実施されている。髄液などのルーチン検査の残余サンプルの依頼時には、IC が取得されていることを確認する。依頼される側の東京医科大学微生物学分野においては、匿名化された検体のみを扱うので、IC は必要としない。

10 研究資金の調達方法

学内資金 (教室費の一部)および民間助成金 (申請中)

10.1 研究機関および研究者等の本研究に係る利益相反についての特記事項：なし

11 研究終了後の試料・情報の扱い

11.1 試料・情報の廃棄方法、匿名化の方法

・廃棄対象となるデータ・サンプル：

終了後の菌株は -80°C に保存し、研究終了後にはオートクレーブにて滅菌後、廃棄する。

・廃棄する方法 (匿名化徹底の方法)：

すでに匿名化されているが、施設名などの記載があればラベルを剥がしてから医療廃棄物として処理する。

11.2 試料・情報 (連結表を含む) の終了後の保管 (必要性, 方法, 廃棄時の匿名化)

研究期間終了後、疫学研究として論文化された時点でシュレツダーにかけ廃棄する。アンケート用紙は、研究終了報告日から5年または最終の研究結果報告日から3年を目途に鍵付き戸棚に保管する。サンプルについては -80°C に保存、アンケート用紙処分時と同時期に廃棄する。

・データの保管方法：

研究責任者、または研究責任者が指名する者が保管 (保管者を具体的に記載)：微生物学分野 生方公子 (代行者 高田 美佐子, 大楠 清文)

・サンプルの保管方法：

研究責任者が指名する者が保管：保管者 微生物学分野 生方公子(代行者 高田 美佐子, 大楠 清文)

11.3 将来の別研究への利用または他機関への提供の可能性：なし

12.研究実施体制

12.1 研究責任者

東京医科大学微生物学分野・主任教授 中村 茂樹

12.2 研究分担者

・菌株の収集・菌種解析・保管 教授 大楠 清文

・分子疫学解析 准教授 宮崎 治子

・血清型別・耐性遺伝子解析等 助手 高田 美佐子

・臨床疫学解析 客員研究員 生方 公子