

京都大学	博士 (医学)	氏名	中野 哲志
論文題目	Development and evaluation of MALDI-TOF MS-based serotyping for <i>Streptococcus pneumoniae</i> (MALDI-TOF MS を用いた肺炎球菌莢膜型決定法の開発およびその性能評価)		
(論文内容の要旨)			
<p>肺炎球菌の莢膜型はワクチンによる予防効果や抗菌薬耐性と強く関連するため、その決定は臨床疫学上重要である。従来、血清を用いた膨化・凝集試験を用いて莢膜型決定が行われてきた。本研究ではマトリックス支援レーザー脱離イオン化法による質量分析 (以下 MALDI-TOF MS) を用いた肺炎球菌莢膜型決定法の構築を目的とした。</p> <p>全国サーベイランス等で収集した肺炎球菌 574 株を用い、MALDI-TOF MS (Bruker 社) により各株のマスマスペクトルを取得した。これらのマスマスペクトルを用いて、Main spectra (MSP) 法と ClinProTools (CPT) 法で肺炎球菌の莢膜型が識別できるか検討した。MSP は複数のマスマスペクトルに共通するピークの特徴を一つのデータとして表現したものである。CPT は複数のマスマスペクトルを利用して独自のパターン認識アルゴリズムで特定の集団を識別するモデルを構築する、マスマスペクトル解析ソフトウェアである。</p> <p>検討①: 1)MSP 法: 全 574 株を用いて主要な 10 莢膜型 (3, 6B, 15A, 15BC, 19A, 19F, 23A, 24BF, 35B, 38) およびそれ以外の莢膜型について、それらを特徴づける MSP を作成し、データベース化した。これを用いて、全 574 株のマスマスペクトルがどの莢膜型の MSP に分類されるか検討した。2)CPT 法: 主要な 10 莢膜型を識別するモデルを構築し、全 574 株のマスマスペクトルがどの莢膜型に分類されるか検討した。MSP 法、CPT 法のそれぞれで、主要な莢膜型の同定感度、特異度を求めた。</p> <p>結果①: 10 種類の主要な莢膜型には 407 株 (全体の 70.9%) が該当した。MSP 法では 10 莢膜型全体の同定感度、特異度はそれぞれ 77.9%、75.4%であった。CPT 法ではそれぞれ 84.0%、82.0%であった。</p> <p>検討②: 検討①では MSP・モデル作成に使用した株と、それらの性能評価に用いた株とが同一であり、新規株に対する性能は不明であった。そこで、最も分離数が多かった 3 種類の莢膜型 (3, 15A, 19A) について、新規株に対する性能評価を行った。全 574 株を、MSP データベース作成・モデル構築に用いる 461 株 (作成群: 莢膜型 3, 15A, 19A 株の各々の半数とそれ以外の莢膜型の株全て) と、性能評価に用いる 113 株 (評価群: 莢膜型 3, 15A, 19A 株の残りの半数) とに分けた。作成群を用いて構築した MSP データベースと CPT モデルを使用して、評価群の同定感度、特異度を求めた。</p> <p>結果②: MSP 法では同定感度、特異度はそれぞれ、莢膜型 [3: 96.7%、100%]、[15A: 88.9%、100%]、[19A: 76.8%、100%] であった。CPT 法では莢膜型 [3: 96.7%、100%]、[15A: 81.5%、100%]、[19A: 50.0%、96.5%] であった。</p> <p>本研究では、肺炎球菌莢膜型決定における MALDI-TOF MS の感度は 50.0-96.7%とばらつきがあったが、特異度は 96.5-100%と高値を示した。新規株に対する性能評価は 3 種類の莢膜型についてしか行われておらず、今後、他の莢膜型の新規株についての性能評価が必要である。MSP データベース、CPT モデルの拡充により同定性能のさらなる向上が期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、MALDI-TOF MS を用いた肺炎球菌莢膜型決定法の構築を目的としたものである。市中分離された様々な血清型の肺炎球菌 574 株を用いて、Main spectra (MSP) 法と ClinProTools (CPT) 法により莢膜型同定を行い、膨化試験の結果と比較した。まず全株を用い主要 10 莢膜型のモデル作成と性能評価を行った。MSP 法と CPT 法の感度/特異度は各々 77.9%/75.4%と 84.0%/82.0%であった。次に全株をモデル作成群 461 株と、性能評価群 113 株に分け、莢膜型 3,15A,19A の新規株に対する性能評価を行った。MSP 法では感度/特異度はそれぞれ、莢膜型 3 では 96.7%/100%、15A では 88.9%/100%、19A では 76.8%/100%であった。CPT 法では莢膜型 3 では 96.7%/100%、15A では 81.5%/100%、19A では 50.0%/96.5%であった。このように、肺炎球菌莢膜型決定における MALDI-TOF MS の感度は 50.0-96.7%、特異度は 96.5-100%であった。MSP データベース、CPT モデルの拡充により同定性能のさらなる向上が期待される。

以上の研究は肺炎球菌のサーベイランスおよびワクチン開発を容易にすることに貢献し、質量分析法が臨床細菌検査学に応用できるという汎用性の実証に寄与する所が多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 1 月 29 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。