

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：32409

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19427

研究課題名(和文) 定量的PCR法を用いたCOPD患者の増悪と肺炎発症メカニズムの検討

研究課題名(英文) Examination of exacerbation of patients with COPD and pneumonitis mechanism using quantitative PCR method

研究代表者

嶺崎 祥平 (Minezaki, Shohei)

埼玉医科大学・医学部・助教

研究者番号：90648007

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：急性増悪時、安定時のCOPD患者の喀痰を用い、半定量PCR法で35種の病原微生物の検出を試み、バイオマーカー、質問票を用いて、COPD増悪の危険因子の検索を行った。結果、喀痰培養と喀痰半定量PCRを併せると、COPD増悪群で17/24例(70.8%)、COPD安定群で12/30例(40%)と従来の検査より高頻度で病原微生物を検出したが、下気道の菌の定着は、増悪や症状との関連を指摘できず、全例でウイルスは喀痰から検出しなかった。安定群において、エントリー時のCATスコアはFSSG、誤嚥リスク、気腫化スコアと相関した。CATスコアの変動は気腫化スコアと、増悪頻度は誤嚥リスクスコアと相関した。

研究成果の概要(英文)：We tried to detect 35 pathogenic microorganisms by semi-quantitative PCR method using sputum of patients with COPD during acute exacerbation and stability, and searched for risk factors for COPD exacerbation using various biomarkers and questionnaires. As a result, when sputum culture and sputum semi-quantitative PCR were combined, 17/24 cases (70.8%) in the COPD exacerbation group and 12/30 cases (40%) in the COPD stable group were detected more frequently than the conventional test. In the stable group, The CAT score at entry was correlated with FSSG, aspiration risk, emphysema score. CAT score variation correlated with emphysema score and exacerbation frequency correlated with aspiration risk score.

研究分野：COPD

キーワード：COPD増悪因子

1. 研究開始当初の背景

COPD の増悪は肺機能の悪化と QOL の低下に関連し、予後に多大な影響を与える。増悪の原因は主に細菌、ウイルス感染であるが、従来の喀痰培養や抗原・抗体検査では、原因微生物を同定しえない場合が多く、臨床的な増悪の危険因子も明らかになっておらず、増悪が多いことのみが増悪の予測因子とされている。

2. 研究の目的

本研究室で開発された喀痰半定量 PCR(HIRA-TAN 法)は炎症細胞を主体としたヒト細胞由来 DNA をコントロールとし、多数の気道の病原微生物を同時に、半定量的に評価する方法である(Table 1)。今回、COPD 患者の喀痰を用い、この半定量 PCR 法で 25 種の病原微生物の検出を試みた。また、各種バイオマーカー、質問票を用いて、COPD 増悪の危険因子の検索を行った。

Table 1

半定量PCR法の検出標的(標的遺伝子)

00 Homo sapiens, Internal Control	19 Mycobacterium avium, NCO
01 Streptococcus pneumoniae, CO	20 Mycobacterium kansasii, NCO
02 Haemophilus influenzae, CO	21 Pneumocystis jirovecii, NCO
03 Moraxella catarrhalis, CO	22 Nocardia spp., NCO
04 Pseudomonas aeruginosa, CO	23 Coxiella burnetii, NCO
05 Klebsiella pneumoniae, CO	24 Aspergillus fumigatus, NCO
06 Acinetobacter baumannii, CO	25 Aspergillus spp. NCO
07 Escherichia coli, CO	26 Influenza virus A, NCO
08 Staphylococcus aureus, MSSA, CO	27 Influenza virus B, NCO
09 Staphylococcus aureus, MRSA, CO	28 human metapneumovirus, NCO
10 Stenotrophomonas maltophilia, CO	29 RS virus, NCO
11 Mycoplasma pneumoniae, NCO	30 human Rhinovirus, NCO
12 Chlamydia pneumoniae, NCO	31 Parainfluenza virus serotype1, NCO
13 Chlamydia pneumoniae, NCO	32 Parainfluenza virus serotype2, NCO
14 Bordetella pertussis, NCO	33 Parainfluenza virus serotype3, NCO
15 Legionella spp., NCO	34 Adenovirus, NCO
16 Legionella pneumophila, NCO	35 Influenza virus H1N1, NCO
17 Mycobacterium Tuberculosis, NCO	36 Influenza virus H3N2, NCO
18 Mycobacterium intracellulare, NCO	

CO: 定着型病原体, NCO: 非定着病原体

3. 研究の方法

COPD 急性増悪群:

40 才以上で 10Pack-years 以上の喫煙歴があり、気道感染が原因で当科に入院した患者を対象とした。退院時に肺機能検査を施行し、1 秒率 70% 未満を COPD 増悪群とし、入院中、退院 1 カ月後に外来で喀痰検査(培養、HIRA-TAN)血液検査(CRP, プロカルシトニン, Chlamydia pneumoniae (CP) IgG, IgA, バイオマーカー用血清を含む)を施行、評価を行った。

COPD 安定群:

当科外来通院中で増悪による入院歴のない COPD 患者を COPD 安定群としてエントリーし、喀痰検査(培養、HIRA-TAN)血液検査、肺機能検査等を施行した。%FEV1, 気腫化スコア(1: 気腫面積 25% 以下, 2: 25-50%, 3: 50-75%, 4: 75% 以上), Frequency Scale for Symptoms of GERD(FSSG)スコアにて胃食道逆流の評価、誤嚥リスク質問票(Table 2)にて誤嚥リスクの評価を行い、CAT スコア、観察期間の CAT スコア変動など、症状の臨床指標や増悪頻度との関連について検討した。

Table 2

誤嚥リスクスコア

- ・ 誤嚥性肺炎の既往がある
- ・ 食事摂取時にむせこみがある
- ・ 脳血管障害の既往がある
- ・ 認知症がある
- ・ 向精神薬、睡眠薬を服用している
- ・ 意識障害、傾眠、ふらつき、呂律不良がある
- ・ 前傾姿勢、後屈伸展位、他、姿勢以上がある
- ・ 自歯が 40% 以上欠損している
- ・ 歯のかみ合わせ異常、口内乾燥などの口腔異常がある
- ・ 経管栄養を行っている
- ・ 胃切除の既往、逆流性食道炎の既往がある

4. 研究成果

患者背景を Table3 に、検出した病原微生物のデータを Table4 に示した。喀痰培養か喀痰半定量 PCR の何れかで病原微生物を検出した症例は、COPD 増悪群で 17/24 例(70.8%)、COPD 安定群で 12/30 例(40%)であった。PCR と培養で病原微生物が一致した例は、増悪群で 5 例、安定群で 1 例であった。菌検出の有無と各種臨床指標は関連しなかった。安定群において(Table 5)、エントリー時の CAT スコアは FSSG、誤嚥リスクスコア、気腫化スコアと相関した。また、CAT スコアの変動は気腫化スコアと相関した。増悪頻度は誤嚥リスクスコアと相関した(Figure1)。

Table 3

	Total	Bacteria+	Bacteria-
n	54	29	25
COPD 安定群	30	12	18
COPD 増悪群	24	17	7
age	73.9±7.9	73.7±9.2	76.0±6.7
Male/Female	48/6	25/4	23/2
current/ex-smoker	5/49	3/26	2/23
Pack-years	58.3±29.9	61.0±36.3	55.7±25.3
%FEV1	63.1±23.0	57.7±19.7	65.1±25.0
GOLD I/II/III/IV	15/23/12/4	5/13/8/3	10/10/4/1
Emphysema	1.8±1.1	1.9±0.9	1.7±0.9

Bacteria+は培養か PCR で病原微生物が検出された症例

	Total n=54	COPD 増悪群 n=24	COPD 安定群 n=30
CRP	4.23±6.58	8.20±7.39**	0.23±0.19
Procarcitonin	0.32±0.99	0.72±1.48*	0.05±0.02
Sputum culture+(%)	20.3	37.5	6.6
HIRATAN+(%)	44.4	58.3	33.3
Bacteria detected(%)	53.7	70.8	40.0
CP IgG+(%)	74	90	68
CP IgA+(%)	58	50	60

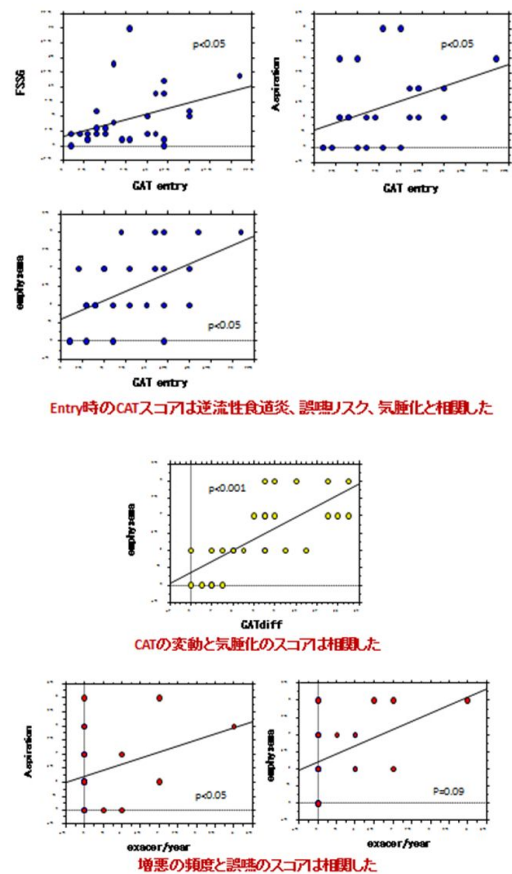
Table 4

COPD 増悪群			
HIRATAN		Culture	
<i>H. Influenza</i>	6	<i>H. Influenza</i>	2
<i>M. Catarrhalis</i>	3	<i>K. Pneumonia</i>	2
<i>S. Pneumonia</i>	3	<i>S. Maltophilia</i>	2
<i>E. Coli</i>	3	<i>M. Avium</i>	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	<i>M. Catarrhalis</i>	1
<i>K. Pneumonia</i>	1	MRSA	1
MRSA	1	<i>enterobacter</i>	1
<i>Aspergillus spp</i>	1		
Detected	14/24	Detected	9/24
COPD 安定群			
HIRATAN		Culture	
<i>H. Influenza</i>	7	<i>K. Pneumonia</i>	1
<i>M. Catarrhalis</i>	2	<i>S. pneumonia</i>	1
<i>S. Pneumonia</i>	1		
Detected	10/30	Detected	2/30

Table 5 COPD 安静群

	Bacteria+	Bacteria-	p
n	12	18	
age	72.0±7.3	71.7±7.9	0.91
M/F	10 /2	18 /0	
emphysema	1.7±0.9	1.3 ±1.0	0.29
CAT entry	9.6±5.3	7.4 ±5.0	0.29
CAT diff	8.1±3.4	5.9 ±5.0	0.22
exacerbation/y	0.50 ±1.12	0.42±0.73	0.8
CRP	0.21±0.17	0.26±0.25	0.78
procarcitonin	0.05±0.01	0.05±0.02	0.78
TNF-	22.3±72.4	4.5±5.9	0.37
adiponectin	14.6±8.3	11.5±9.9	0.4
culture+	16.6%	0%	
HIRATAN+	91.6%	0%	
FSSG	4.1±4.9	5.1±5.4	0.62
aspiration score	1.36±1.12	1.38±1.31	0.98

Figure 1



5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計1件)

嶺崎祥平, COPD 患者における定量的 PCR 法を用いた急性増悪と肺炎発症時の原因微生物の検討, 第 57 回日本呼吸器学会学術講演会, 平成 29 年 4 月 22 日, 東京国際フォーラム(東京都・千代田区)

6. 研究組織

(1)研究代表者

嶺崎 祥平 (Minezaki Shohei)

埼玉医科大学・医学部・助教

研究者番号: 90648007