

令和元年5月29日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10807

研究課題名(和文) 整形外科術後感染症早期診断に向けた手術侵襲による全身性炎症反応の病態解明

研究課題名(英文) What is the difference between postoperative systemic inflammatory response syndrome and surgical site infection in orthopaedic surgery?

研究代表者

小塚 知明 (Koakutsu, Tomoaki)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：90534173

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：新しい敗血症診断マーカーであるプレセプシン(PSEP)の整形外科周術期動態を調査した。

術後非感染例におけるPSEPの中央値は術前126、術直後171、術翌日194、術後1週147pg/mL、術後1週における95パーセンタイル値は297pg/mLで、術後感染例では高値(>300pg/mL)を示した。PSEPの術後感染症早期診断における有用性が示された。

ダメージ関連分子パターンの一つであるミトコンドリアDNA(mtDNA)の整形外科周術期動態を調査した。術後非感染例におけるmtDNAの中央値は術前0.08、術直後0.21、術翌日0.11、術後1週0.12µg/mLで、術直後のみ有意に高値であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人工関節・脊椎固定器械などインプラントを多用する整形外科手術において、術後創傷感染症の早期診断は重要であるが、生体に手術侵襲が加わると感染を合併していなくても全身性炎症反応が生じるため、容易ではない。本研究では、新しい敗血症診断マーカーであるプレセプシンの整形外科予定手術における周術期動態を調査し、基準値を策定するとともに、プレセプシンが術後創傷感染症の早期診断に有用なバイオマーカーであることを明らかにした。

また、細胞死によって細胞外に遊離して炎症を惹起するダメージ関連分子パターンであるミトコンドリアDNAが、手術侵襲により術直後に高値を示し、術翌日には術前レベルに低下することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Perioperative kinetics of presepsin (PSEP), as a novel diagnostic biomarker for bacterial sepsis and mitochondrial DNA (mtDNA), as a damage-associated molecular pattern in patients undergoing spinal surgery were measured. In patients without postoperative infection, the median PSEP value was 126, 171, 194, and 147 pg/mL, the median mtDNA level was 0.08, 0.21, 0.11, and 0.12 µg/mL, before, immediately after, 1 day after, and 1 week after surgery, respectively. Compared with the preoperative value, mtDNA was significantly higher immediately after surgery, and return to the preoperative level 1 day after surgery. The estimated reference value for 95 percentile of PSEP in patients without postoperative infection was 297 pg/mL 1 week after surgery. In patients with postoperative infection, higher PSEP levels (>300pg/mL) were observed 1 week after surgery. The PSEP value of 300pg/mL 1 week after surgery might be used as a novel indicator for suspected postoperative infection.

研究分野：整形外科学、救急医学

キーワード：バイオマーカー 合併症 早期診断 感染症 侵襲 プレセプシン 脊椎 手術

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 術後創傷感染症 (Surgical site infection: SSI) は、対応が遅れると根治が困難となることがあり、特にインプラントを用いる整形外科手術後に於いては早期診断が重要である。しかし、手術侵襲後には感染を合併していなくても全身性炎症反応 (Systemic inflammatory response syndrome: SIRS) を生じ得るため、SSI の早期診断は必ずしも容易ではない。

(2) 従来、炎症・感染症診断マーカーとして白血球数・分画、C 反応性蛋白、プロカルシトニンなどが用いられてきた。しかし、感染のない手術侵襲後にも測定値が上昇、あるいは感染症の軽快後も高値が持続して、SSI の診断と病態把握における特異度は低く、必ずしも診療上有益な情報を得ることが出来なかった。SSI を早期に診断できる新しいマーカーが確立されれば治療成績の向上が期待できる。さらに、治療的アプローチの全く異なる手術侵襲による SIRS と感染症による SIRS を的確に鑑別出来れば、臨床上極めて有用である。

2. 研究の目的

(1) 整形外科領域の予定手術症例に対して、新しい敗血症診断マーカーとして報告されたプレセプシン (Presepsin: PSEP) と従来の炎症・感染症診断マーカーを経時的に測定し、術後非感染例における各マーカーの基準値を策定するとともに、術後創傷感染症早期診断に有用なマーカーを同定し、新しい基準による術後創傷感染症診断指針を構築すること。

(2) 整形外科領域の予定手術症例に対して、細胞壊死によって細胞内から放出されるミトコンドリア構成成分をはじめとする alarmins を経時的に測定し、新たな視点から手術侵襲を評価すること。さらに、重症外傷例・敗血症例と比較することによって、手術侵襲による SIRS と感染症による SIRS の病態の相違を明らかにすること。

3. 研究の方法

(1) 脊椎外科定期手術症例を対象として、術前から術後 7 日目までの周術期に経時的に採血する。院内中央検査室において、従来の炎症・感染症マーカーとして用いられてきた白血球数・分画、C 反応性蛋白 (C-reactive protein: CRP)、プロカルシトニン (Procalcitonin: PCT)、血清アミロイド A 蛋白 (Serum amyloid A: SAA) を測定し、PSEP 迅速測定装置 PATHFAST (株式会社 LSI メディエンス) を用いて PSEP を測定する。SSI の診断は、Centers for Disease Control and Prevention (CDC) のガイドラインに従って判定する。即ち、非 instrumentation 手術例は術後 30 日、instrumentation 手術例は術後 1 年までに SSI を生じることなく経過したものを術後非感染例とする。術後非感染例における動態を統計学的に解析し、SSI 合併例と比較することによって、各時期における基準値ならびに新たな SSI 早期診断基準を作成する。

(2) (1) で採取した血液のうち 10mL を直ちに 4℃、3000rpm で 10 分間遠心分離して血漿をマイクロスピッツ 4 本に分注、-80℃ で凍結保存する。解凍後、QIAamp DNA Blood Mini Kit (株式会社キアゲン) を用い DNA を抽出した後、StepOnePlus リアルタイム PCR システム (ライフテックノロジーズジャパン株式会社) を用いてミトコンドリア DNA (Mitochondrial DNA: mtDNA) を定量する。High mobility group box-1 protein (HMGB-1) などのその他の alarmins は、院内中央検査室もしくは外注検査で測定する。手術侵襲の程度の指標として、術中出血量、手術時間を記録する。測定した mtDNA をはじめとする alarmins の動態と手術侵襲の程度との相関を統計学的に解析するとともに、重症外傷例 (The Abbreviated Injury Scale; AIS 3)、重症敗血症例と比較することにより、各病態の違いを検討する。

4. 研究成果

(1) 術後感染のなかった初期 115 例の PSEP 中央値 (四分位範囲) は、術前 126 (98-155)、術直後 171 (125-269)、術翌日 194 (148-259)、術後 1 週 147 (115-182) pg/dL であった。Kruskal-Wallis 検定 (post hoc test: Dunn 検定による群間比較) の結果、術前と比べ術直後・術翌日で有意に上昇し ($p < 0.001$)、術後 1 週で術前レベルまで低下した。従来の炎症・感染症マーカーとして頻用されている CRP は、術前 0.1 (0.1-0.2)、術直後 0.1 (0.1-0.3)、術翌日 1.6 (0.7-3.4)、術後 1 週 1.2 (0.8-2.6) mg/dL で、術後非感染例における術後 1 週でも、術前と比べ有意に高値であった。PSEP は従来のマーカーと比べ、最も早い正常化を示した。術後非感染例の PSEP 95 パーセンタイル値は、術前 229、術直後 620、術翌日 396、術後 1 週 297 pg/dL で、術後感染を生じた 3 例の術後 1 週 PSEP 値はより高値 (642, 1030, 317 pg/dL) であった。PSEP は感染を伴わない手術侵襲により変動し細菌感染に特異的なマーカーとは言えないこと、術後 1 週における PSEP カットオフ値 300pg/dL は術後感染診断に有用な指標となり得ることが明らかになった。以上の結果を複数の国内学会で発表し、英語論文一編が掲載された。研究期間終了までに計 364 例がエントリーしており、全例が術後 1 年を経過して SSI の有無が確定した後に、統計学的解析を行う予定である。

(2) 術後感染症を生じなかった初期 116 例の mtDNA 中央値 (四分位範囲) は、術前 0.08 (0.02-0.20) 術直後 0.21 (0.06-0.58) 術翌日 0.11 (0.04-0.29) 術後 1 週 0.12 (0.03-0.34) $\mu\text{g/mL}$ であった。Kruskal-Wallis 検定 (post hoc test: Dunn 検定による群間比較) の結果、術前と比べ術直後のみが有意に高値を示し、術翌日には術前レベルまで低下した。重症外傷 35 例における mtDNA 中央値 (四分位範囲) は、受傷日 0.44 (0.12-1.19)、受傷翌日 0.14 (0.04-0.37) 受傷後 1 週 0.21 (0.07-0.53) $\mu\text{g/mL}$ で、受傷当日のみが有意に高値を示した。重症敗血症 33 例における mtDNA 中央値 (四分位範囲) は、入院当日 0.21 (0.08-0.93) 入院翌日 0.16 (0.03-0.68) 入院後 1 週 0.16 (0.03-0.41) $\mu\text{g/mL}$ で、有意な変動を示さなかった。予定手術例では、重症敗血症例とは異なり、重症外傷例と同様の動態を示した (図 1)。以上の結果を複数の国内学会で発表した。研究期間終了までに計 364 例がエントリーしているが、リアルタイム PCR で用いた mtDNA 既知濃度の経年劣化による誤差の発生が懸念され、既知濃度検体を新たに作成のうえ再検した後に、統計学的解析を行う予定である。

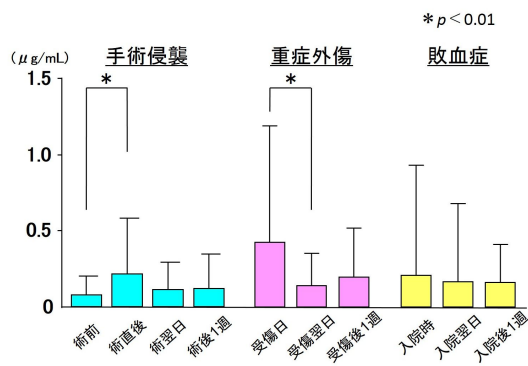


図1 各病態におけるミトコンドリアDNAの動態

(3) 術後感染症を生じなかった初期 116 例の HMGB-1 中央値 (四分位範囲) は、術前 4.4 (2.7-6.7) 術直後 5.2 (3.9-7.0) 術翌日 5.1 (2.8-9.4) 術後 1 週 4.9 (2.6-6.6) ng/mL で、術後上昇傾向が認められたものの、統計学的に有意な変化は認められなかった。測定したその他の alarmins においても、有意な変化は認められなかった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

Koakutsu T., Sato T, Aizawa T, Itoi E, Kushimoto S.: Postoperative changes in presepsin level and values predictive of surgical site infection after spinal surgery. A single-center, prospective observational study. Spine (Phila Pa 1976) 43(8): 578-584, 2018. (査読有)
DOI: 10.1097/BRS.0000000000002376

[学会発表] (計 7 件)

小坏知明、佐藤哲哉、相澤俊峰、井樋栄二、久志本成樹：プレセプシンの整形外科周術期における動態と基準値策定の試み - 単一施設前向き観察研究 - . 第 91 回日本整形外科学会学術総会、2018

小坏知明、山田充啓、相澤俊峰、橋本功、井樋栄二、久志本成樹：脊椎外科周術期におけるダメージ関連分子パターンの動態 - 術後創傷感染症と手術侵襲による炎症反応はどう違うのか? - . 第 46 回日本脊椎脊髄病学会、2017

小坏知明、山田充啓、相澤俊峰、橋本功、井樋栄二、久志本成樹：術後創傷感染症と手術侵襲による炎症反応はどう違うのか - ダメージ関連分子パターンに着目した検討 - . 第 90 回日本整形外科学会学術総会、2017

小坏知明：脊椎手術におけるプレセプシンの周術期動態と基準値策定 - 新しい術後感染症診断マーカーとしての有用性 - . 第 40 回日本骨・関節感染症学会、2017

小坏知明、佐藤哲哉、桑原功行、工藤大介、相澤俊峰、橋本功、井樋栄二、久志本成樹：脊椎外科周術期におけるプレセプシンの動態 - 術後創傷感染症早期診断における有用性 - . 第 45 回日本脊椎脊髄病学会、2016

小坏知明、佐藤哲哉、桑原功行、工藤大介、相澤俊峰、橋本功、井樋栄二、久志本成樹：脊椎手術後のプレセプシン値の推移 - 術後創傷感染症早期診断における有用性 - . 第 89 回日本整形外科学会学術総会、2016

小坏知明、山田充啓、井樋栄二、久志本成樹：整形外科周術期における mitochondrial DNA の動態. 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会、2016

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：久志本 成樹

ローマ字氏名：KUSHIMOTO SHIGEKI

所属研究機関名：東北大学大学院

部局名：医学系研究科 外科病態学講座 救急医学分野

職名：教授

研究者番号（8桁）：50195434

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。