

令和 2 年 5 月 23 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16779

研究課題名（和文）骨盤内膿瘍に対するMRスペクトロスコピーとNGSを用いた新たな診断治療法の構築

研究課題名（英文）Exploratory research for new methodology of diagnosis and treatments of gynecological pelvic abscess using MR Spectroscopy and Identification of bacteria species by NGS.

研究代表者

野上 侑哉（Nogami, Yuya）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・共同研究員

研究者番号：90574294

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）：骨盤内膿瘍は深部にあるため、培養検査が行ないにくく、検査のないまま治療が始められることが多い。そのまま改善する例もあるが、一定期間経過をみて改善がなければ、穿刺など侵襲的処置が必要となり、結果的に治療期間が延長するため、治療開始時に始めから穿刺の要否が予想できればメリットがある。また培養検査が行なえても、先行抗菌薬の影響や培養されにくい菌などあり、原因菌がわからないことも多い。治療開始時のMRSから予想できないか検討した。リンパ嚢胞感染症例に限れば穿刺の要否が予想しうる可能性が示唆された。菌種の予想は難しかった。菌種同定にNGSを用いると、培養検査では不明であった原因菌が全症例で同定できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

リンパ嚢胞感染においてMRSの有用性の可能性が示唆された。婦人科癌術後の合併症で致命的ではないが、癌が治癒した患者でもQOL低下の原因になる。その治療戦略改善は意義深い。婦人科癌治療数が多い施設以外では症例集積は難しく、当施設にて本研究を行ったことで有用なデータとなった。膿瘍の起原菌はその特性から培養検査では同定が難しく、NGSの有用性が示唆された。他領域も含め、今後の研究にも活かされる。

研究成果の概要（英文）：Pelvic abscesses are challenging to puncture because of its location in deep pelvis and the treatments are started without culture examination in most cases. Some cases are improved conservatively. Otherwise, invasive procedure such as drainage will be needed after expectant management, and it results in prolongation of duration of therapy. The examination which can predict the necessity of drainage in start will give merits. Even when the culture test was performed, causative bacteria are still unknown in some cases, because of proceeding antibiotics and culture difficulty of anaerobic bacteria.

We investigated that the necessity of drainage and bacteria species are predictable or not using MRS. In lymphocele infection cases, necessity of drainage was indicated to be predictable. It was difficult to predict bacteria species. Identification bacteria species using NGS could revealed the causative bacteria in all cases, even in case which culture test was false negative.

研究分野：婦人科感染症

キーワード：骨盤内膿瘍 MRS リンパ嚢胞感染 NGS

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

婦人科骨盤内膿瘍は子宮留膿症、卵巣嚢腫感染などを含み、日常診療において、比較的遭遇する一般的な感染症である。また婦人科癌治療後においては、治療後合併症として、リンパ嚢胞感染が起こることがあり、骨盤内膿瘍に準じて治療されることがある。現状の婦人科骨盤内膿瘍の治療は、その他の骨盤内膿瘍に準じた治療が推奨されているが、これまでリンパ嚢胞感染を含んだ婦人科骨盤内膿瘍を対象とした研究は少なく、消化管からの感染に起因する膿瘍とは病因や起因菌、適した治療戦略が異なる可能性がある。推奨されているドレナージは、膿瘍が骨盤内深部に発生するため、適応の判断は慎重を要し、また起因菌が異なれば、推奨される抗菌薬も異なる可能性もある。婦人科骨盤内膿瘍に特化した治療戦略の確立が求められている。

一般的に感染症の診療において、抗菌薬の選択は臨床的状況、感染部位、推定起因菌から決定され、培養結果から変更されうるが、骨盤深部感染症では培養のための検体採取が困難な場合もある。通常、抗菌薬投与による保存的加療が先行し、それにより改善がない場合に手術や穿刺によるドレナージが施行される戦略が取られることが多い。保存的加療で改善された症例では問題がないが、改善なく、穿刺となった症例では結果的に治療期間が延長する。また膿瘍の主なターゲットとなる嫌気性菌は培養検査での感度が低く、さらに、抗菌薬治療後の検体採取では、その他の菌も検出されないことも多い。治療開始時にドレナージの必要性が予想しうる方法や、起因菌に関する情報が得られる手段が求められている。

### 2. 研究の目的

臨床で利用している MRI 検査では、装置内の電磁場環境を変化させることにより、水素原子(プロトン)から発生する電波を受信して画像を作成する。プロトンから発生する電波の周波数は、自由水のプロトンと、蛋白など他の分子に連結したプロトンでは、同じ磁場環境にあっても異なる。この周波数のずれを利用して、プロトンが連結している物質の特定や、その量を推定することができる。本方法は MR spectroscopy (MRS) と呼ばれ、頭部領域では、腫瘍放射線治療後の壊死と再発の鑑別などに臨床応用されている。同様に周波数にずれによるピークパターンから乳酸の存在も推定され、嫌気性代謝、即ち、嫌気性菌の関与が推定されうる。なお、MRS 計測用の撮像法は、MR 装置メーカーから臨床使用可能なシーケンスとして供給され、既に本邦で普及している機種が多くで利用可能な技術である。婦人科骨盤内膿瘍において、この技術を用い、膿瘍内の代謝環境を推定することで、治療開始時から、手術や穿刺の必要性が予想しうるのか、起因菌の推定に有益な情報が得られるのかを検証する。

また起因菌に関しては、近年、次世代シーケンサー (NGS) を用い、膿瘍の内容液を検体として、16S ribosomal RNA gene から菌名を同定し、死菌からの検出や多菌種の菌叢を解析する方法が確立されている。起因菌同定に培養検査だけでなく、この技術を用い、真の起因菌を明らかにする。

### 3. 研究の方法

慶應義塾大学病院産婦人科にて治療される婦人科骨盤内膿瘍の患者に対し、口頭での説明に加え、文書での同意取得後、治療開始時の画像検査としての MRI 撮像時に MRS を追加して信号を収集した。通常の臨床判断に従って、治療を継続し、ドレナージを必要となった症例では、膿瘍内容液を、通常の培養検査に出すとともに、NGS の解析用に -80 で保存しておく。

#### (1) MRS の臨床的有用性の検討

MRS 信号のピークパターンと、熱型、炎症までの改善までかかった日数や、ドレナージの有無、抗菌

薬の選択や培養検査結果、NGS 結果などの臨床経過を検討することで、適切なドレナージの適応や抗菌薬の選択などの臨床的判断への有用性を検討する。例えば、特定のパターンを認めた場合には、抗菌薬のみの保存的療法での改善率が低いため、積極的に手術や経皮的穿刺でのドレナージを考慮するといったようなパターンを見いだせないか検討する。

## (2) NGS を用いた真の起因菌の検索

通常の培養検査だけでなく、保存検体を用い、NGS にて、16S ribosomal RNA gene から菌名を同定する。死菌からの検出や多菌種の菌叢を解析する方法であり、これまで不明であった真の起因菌を検索する。

## 4. 研究成果

約 1 年間の症例集積期間で、16 例がリクルートされ、卵管膿瘍 4 例、卵巣子宮内膜症性嚢胞感染 1 例、術後ダグラス窩膿瘍 2 例、リンパ嚢胞感染 9 例が対象となった。MRS 信号は、10 例で H<sub>2</sub>O のピークのみが検出され(図 1)、6 例で水以外のピークを検出し(図 2)、代謝物の蓄積が示唆された。信号のパターンからは 6 例中 5 例は脂質の信号と考えられ、1 例は乳酸の信号と考えられた。13 例で手術または穿刺ドレナージが施行され、膿瘍内容液が採取され、のちに NGS による菌叢解析にて起因菌の菌種が同定された。図 1

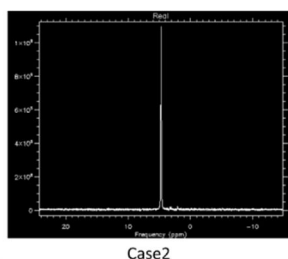
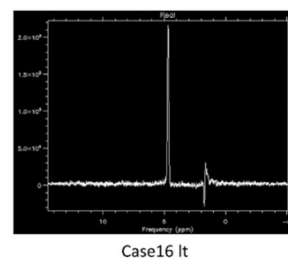


図 2



### (1) MRS の臨床的有用性の検討

ドレナージの要否の予想において、全症例での解析では、MRS 信号での有用性は示されなかった。リンパ嚢胞感染症例に限って解析すると、MRS 信号において、H<sub>2</sub>O 以外の信号を認めた 2 例はともにドレナージなく、改善し、H<sub>2</sub>O の信号のみであった 7 例は、うち 6 例がドレナージを要している。少ない症例のため、有意差は証明できなかったが、ドレナージの要否を予想しうる傾向が認められた(p=0.083、図 3)。

起因菌の同定に関しては、菌の代謝性(好気性、通性嫌気性、偏性嫌気性)に分類し、MRS 信号との関連につき、解析したが、有用な傾向は認められなかった(p=0.521、図 4)。

図 3

MRS 信号	穿刺	
	+	-
++ / +	0	2
-	6	1

図 4

MRS 信号	主要菌の代謝性		
	好気性	通性嫌気性	偏性嫌気性
++ / +	0	2	2
-	2	7	3

成果は第 71 回日本産科婦人科学会学術集會にて発表し、英文誌に投稿中である。

### (2) NGS を用いた真の起因菌の検索

13 例で手術または穿刺ドレナージが行われた。病変が両側性であった症例を 3 例含み、16 部位からの検体を用い、NGS による菌叢解析にて、起因菌を同定した。通常培養検査で陽性となったのは 11 例であったが、NGS の解析では 16 部位全てが陽性となり、通常培養では同定できていなかった菌も含まれた。膿瘍症例に対し、NGS による菌叢解析での起因菌同定の有用性が示された。リンパ嚢胞感染に対し、NGS による菌叢解析での起因菌同定の報告はこれまでなく、(1)とは別に、第 93 回日本感染

症学会学術講演会にて発表し、英文誌に投稿、掲載された。ただし、ドレナージされ、起因菌同定されたリンパ嚢胞感染症例は 6 例のみであり、起因菌の分布という意義では症例が少ないため、今後さらなる集積を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nogami Yuya, Banno Kouji, Adachi Masataka, Kunitomi Haruko, Kobayashi Yusuke, Tominaga Eiichiro, Aoki Daisuke	4. 巻 2019
2. 論文標題 Profiling of the Causative Bacteria in Infected Lymphocysts after Lymphadenectomy for Gynecologic Cancer by Pyrosequencing the 16S Ribosomal RNA Gene Using Next-Generation Sequencing Technology	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology	6. 最初と最後の頁 1~5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2019/9326285	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 野上侑哉、阪埜浩司、青木大輔
2. 発表標題 16s ribosomal RNAの次世代シーケンスによる菌叢解析を用いた婦人科癌術後のリンパ嚢胞感染の起因菌の同定
3. 学会等名 第93回日本感染症学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野上侑哉、阪埜浩司、辻浩介、小林佑介、富永英一郎、奥田茂男、田中守、青木大輔
2. 発表標題 次世代シーケンスによる菌叢解析での起因菌同定を用いた婦人科骨盤内膿瘍に対するMR spectroscopyの臨床的有用性の検討
3. 学会等名 第71回日本産科婦人科学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	阪埜 浩司  (BANNO KOUJI)		
研究協力者	奥田 茂男  (OKUDA SHIGE0)		