

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16856

研究課題名（和文）気管切開児における下気道細菌感染症の臨床的・血液学的特徴の解明

研究課題名（英文）Clinical and hematological characterization of lower respiratory tract bacterial infections in children with tracheostomy

研究代表者

南川 将吾（Minamikawa, Shogo）

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：10772634

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、気道症状を呈する気管切開術を施行児29例において、下気道の細菌感染症と非細菌感染症との臨床的特徴の差異を解析した。気管切開児を対象とした喀痰培養検査では既報と同様に、多くの症例において常在菌を有していることが示唆された。同時に行った網羅的リアルタイムPCR検査においても、常在菌と起因菌の鑑別は困難であったが、ウイルス検索の結果は一部で鑑別の判断材料になり得た。血液検査マーカーにおいては古典的マーカーが一定の有用性を示すことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

気管切開児における下気道感染症は細菌感染症の判断が非常に困難かつ、多くの耐性化した常在菌により、広域抗菌薬が頻用される。しかし、これらの例の中にはウイルス感染や胃食道逆流症などの非細菌感染症例も数多くいると推定され、抗菌薬使用の適正化のためにも、気管切開児における細菌感染症の診断方法の確立が急務である。本研究では、網羅的リアルタイムPCR検査は気管切開児に対しての有用性は限定的であることを明らかとし、血液マーカーの有効性を示したことで、今後の感染症診療においての1つの指標となりえる。

研究成果の概要（英文）：This study analyzed the differences in clinical characteristics between bacterial and nonbacterial infections of the lower respiratory tract in 29 children undergoing tracheostomy with airway symptoms. Sputum culture examination of tracheostomized children suggested that many of them had commensal bacteria, as previously reported. In the comprehensive real-time PCR test performed, it was difficult to differentiate the indigenous bacteria from the causative organisms, but the results of the viral search could be useful for differential diagnosis in some of the cases. In the blood test markers, classical markers were found to be useful.

研究分野：小児感染症学

キーワード：気管切開 下気道感染症 リアルタイムPCR

1. 研究開始当初の背景

小児における気管切開術は未熟児や脳性麻痺などの基礎疾患を持つ重症児に対して施行され、近年その患者数は急速に増加している。気切児の多くは胃食道逆流症や気道感染により頻繁に下気道症状を呈して入院加療となるが、これらの児は意思疎通が困難な例が多く、気道分泌物が常にあるため呼吸音などの身体所見の評価も困難を極める。喀痰採取・培養検査は容易ではあるが、緑膿菌を中心とした複数の菌種が気道内に定着していることが多く、培養検査も確実な指標とはならない⁽¹⁾。そのため、気切児が下気道症状を呈した際には、細菌感染症の有無を診断することが非常に困難であり、結果的に緑膿菌などをカバーした広域抗菌薬が頻用されているが、不適切な抗菌薬使用例が頻発していると推測される。

近年、遺伝学的検査を用いた細菌感染症とウイルス感染症の診断鑑別法の有用性が注目されている。特に multiplex real-time PCR panel (以下パネル) は下気道感染症の原因となる多種のウイルス・細菌を網羅的に高感度で検出可能であり、コピー数の差を利用して常在菌と病原菌の差別化も可能であると示唆されている。そのため、遺伝学的検査を利用した診断を元に、健常小児における下気道細菌感染症の指標として、胸痛や発熱、努力呼吸や低酸素血症といった病歴・身体所見の他に、C 反応タンパク (CRP) やプロカルシトニン (PCT) などの既存マーカーに対する一定の有用性が再確認された。さらに、TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand (TRAIL)、Plasma Interferon- Inducible Protein (IP-10) などの新規バイオマーカーは、既存の指標と組み合わせることで感度 86.7%、特異度 91.1%、陽性的中率 60.5%、陰性的中率 97.8% となり、下気道細菌感染症に対して強力な鑑別能力を有すると報告されている⁽²⁾。

一方で、気切児においてはこれら病歴や身体所見、バイオマーカーについての有用性が検討された報告は未だ存在せず、パネルによる下気道感染症診断についても検討されていない。健常児とは全く異なる基礎疾患や身体的特徴、常在菌を持つ気切児において、これらの指標が健常児と同様に有用であるかは未だ不明であり、抗菌薬適正使用の観点から検討が急務と考えられた。

2. 研究の目的

(1) 遺伝学的検査による細菌感染とウイルス感染の判定を行っている

近年の感染症研究について頻用されている遺伝学的検査は臨床症状および血液学的指標のみを用いた診断法と比較して、細菌性下気道感染症の診断において非常に高い精度を有している。一方で、高い検出力による無症候性の病原菌検出が問題となるが、これらは検出菌の定量評価によって判別可能と報告されている。そのため、気切児に対しても十分に有用であると考えられる。しかし、実際の小児急性期病院においてパネルによる下気道細菌感染症を診断する検討は未だ少なく、気切児に対しての報告は存在しないため、本研究はこの点において新規性を有する。

(2) 新規のバイオマーカーを含めた細菌感染の指標を網羅的に検索する

新規バイオマーカーと古典的マーカーの併用が健常小児の下気道細菌感染症診断に非常に有効との報告がある。TRAIL、IP-10 などの新規マーカーを市販の ELISA kit にて解析し、既存マーカーである CRP、PCT、白血球数、好中球比率などを患者データより抽出する。これらを合わせて細菌感染症群と非細菌感染症群で比較検討する。

3. 研究の方法

研究は以下の手順で行った。

1. 下気道症状にて入院した気切児において、喀痰を用いたパネルを用いた各種細菌とウイルスの検出を行う。また、気管切開口からの喀痰培養も行う。研究中に新型コロナウイルスのパンデミックが発生したため、コロナウイルスに対する PCR または抗原検査も同時に行った。
2. 対象児について、バイタルサインや臨床症状・身体所見も抽出する。
3. 来院時の血液検査結果やその残血清を用いて白血球数、好中球比率、CRP、PCT の測定を行う。また、残血清を用いて市販の ELISA kit にて TRAIL と IP-10 の測定を行う。
4. パネルによって分類された細菌感染群と非細菌感染群について、得られたデータの比較検討を行い、両群の特徴と差異を明らかにする

4. 研究成果

(1) 気管切開児における喀痰培養・パネル検査について

今回行った喀痰培養検査ならびにパネル検査では下気道細菌感染症群、非細菌感染症群、いず

れにおいてもほとんどの症例で喀痰から細菌を検出した(表1)。多くの症例で緑膿菌や耐性菌を含む2-6種類の複数菌種を認め、抗緑膿菌薬や感受性に合致した抗菌薬は使用せず治療完了できたことから、これらの多くは常在菌を見ていると考えられた。

一部症例における喀痰培養は、以前の検体には認められなかった1菌種の有意な増加を認める例があり、細菌感染症の診断に有用であった。しかし、パネルによる細菌のDNA半定量検査では、その良好な検出感度が影響してか、いずれの菌種も多量の検出となり臨床判断には適さなかった。

一方で、パネル検査によるウイルス検出は常在とは考えにくいウイルスの同定も可能であり、強い診断材料となる例もあった。

(2)検査マーカーの有用性について

気管切開児の細菌感染症の診断は培養検査やパネル検査を行っても困難な例が多かった。最終的には抗菌薬使用の有無やその反応性、臨床経過なども総合的に判断して細菌感染症群と非細菌感染症群の診断とした。

これらの2群間において、一般的な細菌感染症の指標とされている白血球数、好中球比率、好中球数、CRP、プロカルシトニン(PCT)について比較した。一般的に有用とされている白血球数は全く差異を認めなかった。この原因として、今回対象となった症例は気管切開児であり、ほとんどの例が非常に重度の障害を持つ児であり、かつ遺伝性疾患を中心とした重度の背景疾患を有していた。骨髄機能低下を疑うような血球減少を呈している児もおり、細菌感染症においても白血球数増加の反応が乏しかったと考えられた。一方で、好中球比率、CRP、PCTにおいては強い有用性が示唆された。特殊な背景をもつ気管切開児においてもこれら一般的な血液マーカーは有用であり、細菌感染症の診断には培養検査やウイルス検査と合わせて臨床診断していく必要がある。

今後更に新規マーカーについてもその有用性を確認していく予定である。

表1. 喀痰培養検査とパネル検査の結果

検出した菌またはウイルス	喀痰培養		パネル	
	検出数	(%)	検出数	(%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	(52)	18	(62)
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	(45)	16	(55)
<i>Streptococcus viridans</i>	10	(34)	0	(0)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	10	(34)	15	(52)
<i>Corynebacterium spp.</i>	6	(21)	0	(0)
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	5	(17)	8	(28)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5	(17)	1	(3)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2	(7)	3	(10)
<i>Neisseria spp.</i>	2	(7)	0	(0)
<i>Candida spp.</i>	2	(7)	0	(0)
<i>Proteus spp.</i>	2	(7)	0	(0)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	(7)	0	(0)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	(0)	2	(7)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	(0)	2	(7)
<i>Escherichia coli</i>	0	(0)	3	(10)
<i>Human Rhinovirus / Enterovirus</i>			8	(28)
<i>Coronavirus*</i>			3	(10)
<i>Human Metapneumovirus</i>			2	(7)
<i>Parainfluenza Virus</i>			2	(7)
<i>Adenovirus</i>			1	(3)

*SARS-CoV-2を除く

表2. 細菌感染症群と非細菌感染症群における血液検査マーカー

	細菌感染症群		非細菌感染症群		P値
	中央値	(四分位範囲)	中央値	(四分位範囲)	
白血球数 (10 ² /uL)	97	(60-131)	94	(67-110)	0.98
好中球比率 (%)	84.8	(78.0-88.8)	61.8	(53.4-73.1)	0.04
好中球数	82.9	(47.5-110.1)	55.3	(40.5-80.0)	0.26
CRP	10.7	(5.1-17.3)	0.6	(0.2-1.3)	<0.01
PCT	1.7	(0.3-4.0)	0.06	(0.05-0.14)	0.02

引用文献

(1) Cline JM, et al. Surveillance tracheal aspirate cultures do not reliably predict bacteria cultured at the time of an acute respiratory infection in children with tracheostomy tubes. Chest. 2012 Mar;141(3):625-631.

(2) van Houten CB, et al. A host-protein based assay to differentiate between bacterial and viral infections in preschool children (OPPORTUNITY): a double-blind, multicentre, validation study. Lancet Infect Dis. 2017 Apr;17(4):431-440.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Iketani K, Minamikawa S, Sakata M, Ishida Y, Nakagishi Y	4. 巻 68
2. 論文標題 A Case with Iron Deficiency Anemia Developed Aplastic Crisis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Kobe J Med Sci	6. 最初と最後の頁 E1-E4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

1. 著者名 Asagai Y, Minamikawa S, Ueshima E, Aida Y, Nakagishi Y	4. 巻 64
2. 論文標題 Sciatic neuropathy caused by forced stretching exercise.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pediatr Int	6. 最初と最後の頁 e15387
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ped.15387.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Minamikawa S, Ueshima E, Yokoi A, Ishida Y, Nakagishi Y.	4. 巻 64
2. 論文標題 Conservative treatment for an anterior cutaneous nerve entrapment syndrome case.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pediatr Int	6. 最初と最後の頁 e14715
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ped.14715.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	飯島 一誠 (IIJIMA KAZUMOTO)		

6. 研究組織（つづき）

	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	野津 寛大 (NOZU KANDAI)		
研究協力者	田中 亮二郎 (TANAKA RYOUJIRO)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関