

令和 元年 6 月 26 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10911

研究課題名(和文)人工関節周囲感染における新しい診断ツールの開発

研究課題名(英文)Development of new diagnostic tool in Periprosthetic Joint Infection

研究代表者

雪澤 洋平 (YUKIZAWA, YOHEI)

横浜市立大学・附属市民総合医療センター・講師

研究者番号：30622352

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：人工関節周囲感染(PJI)は人工関節において最も重大な合併症の一つであり、診断および治療に難渋することが多い。本研究では簡便性と汎用性に長けた新しい診断ツールの有用性を検討した。すなわち顆粒球エラスターゼ検査における診断能力については特異性が高いことが判明し、外来や手術中の補助診断として有用性があることが分かった。また、全自動遺伝子解析装置も非常に優れた診断能力と汎用性を有していることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

顆粒球エラスターゼ検査は高い特異性を持った検査であったが、感度は低く改善の余地があった。しかしながら顆粒球エラスターゼ検査は関節液、組織、膿瘍、インプラント表面から検体の採取が可能であり、手技が簡便で迅速性に長けており、安価である。また特異度が高いため、外来や術中において、簡便な補助的診断法の一つとして有用性は高いと考えられた。また、本研究では全自動遺伝子解析装置の有用性も認めた。本来熟練した技術を要するPCR法に代わる検査法として、汎用性の高い診断ツールとなると予想された。

研究成果の概要(英文)：Periprosthetic joint infection (PJI) remains one of the most serious complications of total joint arthroplasty and its accurate diagnosis is still challenging. The present study showed granulocyte elastase swab stick test and a fully-automated rapid genetic analyzer ensure a high precision with high versatility.

研究分野：整形外科

キーワード：整形外科 人工関節 感染

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

1. 研究開始当初の背景

人工関節置換術後のインプラント感染は、診断に難渋することも多い。近年、海外の報告によると関節液の分析は人工関節周囲感染の診断に重要な役割を持つと報告されている。本研究は人工関節置換術施行時及び人工関節術後周囲感染が疑われる症例に対して術前、手術中に関節穿刺により関節液の採取を行い、関節液中の白血球数や白血球由来のプロテアーゼ、白血球分画、加水分解酵素、サイトカインを計測し、人工関節周囲感染の診断の確立および術中に施行可能な診断ツールを開発することを目的とし、術前および術後迅速診断として一般に普及しやすい検査体系を確立することを目指す。

人工関節置換術は破壊された関節機能を再建する治療法として良好な成績を修めている。わが国における下肢人工関節の件数は2013年において膝関節81300件、股関節53500件と報告され、今後も高齢化に伴って需要が増加すると予測される。発展を遂げ続けている人工関節ではあるが、人工関節周囲感染は診断・治療に難渋する重篤な合併症であり、依然として約1%の頻度で発生している。人工関節周囲感染に対する治療は容易でない。外科的治療や長期間におよぶ化学療法そして入院を要し、治療方針を決定するためには正確な診断が必須となるのだ。2013年にInternational Consensus Meetingが開催され人工関節周囲感染の診断基準が提唱された。一定のコンセンサスが得られた基準の1つと言える。しかし弱毒性の起炎菌による不顕性感染などではこれらのクライテリアに届かない感染例も珍しくはなく、さらなる補助検査が必要であることは間違いない。われわれはこれまでリアルタイムPCR法を用いた細菌のDNA検出や18F-Fluoride PET検査を用いたインプラント周囲感染の診断法を臨床応用し、迅速かつ高い診断能力を示してきた。そして細菌培養検査や血液検査などその他の臨床所見も合わせて複合的に診断・評価し、治療方針を決定してきた。しかしこれらの検査には特殊な機器および高度な技術が必要であり、一部の限られた施設でのみ実施されているのが現状である。今後人工関節周囲感染の分野で求められるのは、正確かつ簡便な手技で普及性のある診断ツールを開発することである。

2. 研究の目的

人工関節置換術後のインプラント感染は、診断に難渋することも多い。近年、海外の報告によると関節液の分析は人工関節周囲感染の診断に重要な役割を持つと報告されている。

本研究は人工関節置換術施行時及び人工関節術後周囲感染が疑われる症例に対して術前、手術中に関節穿刺により関節液の採取を行い、関節液中の白血球数や白血球由来のプロテアーゼ、白血球分画、加水分解酵素、サイトカインを計測し、人工関節周囲感染の診断の確立および術中に施行可能な診断ツールを開発することを目的とし、術前および術後迅速診断として一般に普及しやすい検査体系を確立することを目指す。

また、引き続きPCRによる感染症例のデータを集積し、世界的に使用されている診断規準とPCRの関係性を明らかにし、全自動遺伝子解析装置の有用性について検討した。PCRには熟練した手技が必要不可欠だが、我々は熟練した手技を必要としない誰でも施行可能な全自動遺伝子解析装置の有用性を検討した。

3. 研究の方法

平成28～29年度までの二年間に当科を受診した手術を予定されている人工関節周囲感染、または変形性関節症の患者で研究の目的に同意をした患者を対象とした。関節液検査として人工関節周囲感染の疑い例は術前にレントゲン透視下に関節穿刺を行い、関節液分析(白血球数、白血球分画、白血球エステラーゼ、顆粒球エラスターゼ)、細菌培養、PCRを行い起炎菌の同定を行った。手術施行時には再度関節液を採取し同様の検査を行うと同時に、組織の病理検査を行った。

また、全自動遺伝子解析装置の導入をするにあたり現行のリアルタイムPCRに使用した検体お

よびDNA抽出液を使用しmecA遺伝子検出用の試薬を用い結果に乖離がないかを確認した。また16SrRNA検出用のプライマーを用いてDNA抽出から結果の判定までのPCRの自動化ができるか検討した。さらにこの2種類のプライマーを用いて検出限界を検討し臨床応用できるか検討した。

4．研究成果

顆粒球エラストーゼ検査は迅速性および簡便性だけでなく、高い特異度を合わせ持った検査であった。しかしながら感度は低く改善の余地があった。しかしながら顆粒球エラストーゼ検査は関節液、組織、膿瘍、インプラント表面から検体の採取が可能であり、血液が混入した場合でも判定が可能である。さらに、顆粒球エラストーゼ検査はスワブで検体を採取するため、関節液検査のように遠心分離の必要性もなく、手技が簡便であり迅速性に長けており、安価である。また特異度は高く外来や術中において、簡便な補助的診断法の一つとして有用性は高いと考える。PJIを含む整形外科領域感染症における診断ツールの一つとして、今後の臨床応用が期待される。

また、MecA遺伝子検出は自動判定を含む検体から直接全自動で判定することができた。また検出限界においても現行法と差異がなく臨床応用できるレベルであった。PCRには本来熟練した手技が必要不可欠である。しかしわれわれは熟練した手技を必要としない誰でも施行可能である全自動遺伝子解析装置の有用性に関して証明することができた。今後は16SrRNAの検出および自動でグラム染色性状の判別の検討を進めていく。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Masaki Kawamura, Naomi Kobayashi, Yutaka Inaba, Hyonmin Choe, Taro Tezuka, So Kubota, Tomoyuki Saito: A new multiplex real-time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of periprosthetic joint infection. *Modern Rheumatology*, Mar 8:1-7, 2017

川村正樹 小林直実 稲葉 裕 崔 賢民 手塚太郎 友山瑛人 齋藤知行：整形外科科感染症診断における顆粒球エラストーゼキットの有用性，日本骨・関節感染症学会雑誌，31，32-35，2017

〔学会発表〕(計 22 件)

川村正樹，稲葉 裕，小林直実，池 裕之，手塚太郎，齋藤知行：multiplex リアルタイム PCR の人工関節周囲感染(PJI)診断における有用性，日本人工関節学会，福岡，2015．2．

Kawamura M. Inaba Y. Kobayashi N. Miyamae Y. Ike H. Tezuka T. Kubota S and Saito T: The Usefulness of New Multiplex Real-Time PCR in Diagnosing Periprosthetic Joint Infection, *Orthopaedic Research Society*, Las Vegas, 2015. 3.

川村正樹 稲葉 裕 小林直実 宮前祐之 池 裕之 手塚太郎 久保田聡 齋藤知行：人工関節周囲感染(PJI)診断における新たな multiplex リアルタイム PCR の有用性，日本整形外科学会，神戸，2015，5．

川村正樹 稲葉 裕 小林直実 崔 賢民 宮前祐之 池 裕之 手塚太郎 久保田聡 齋藤知行：人工関節周囲感染診断における multiplex リアルタイム PCR の有用性，日本骨関節感染症学会，高知，2015，7。

Kawamura M. Inaba Y. Kobayashi N. Yukizawa Y. Choe H. Tezuka T. Kubota S. Matsuda Y and Saito T: Application of granulocyte elastase swab stick test in diagnosing periprosthetic joint infection, Orthopaedic Research Society, Florida, 2016, 3.

川村正樹 小林直実 稲葉 裕 雪澤洋平 崔 賢民 久保田聡 松田蓉子 齋藤知行：人工関節周囲感染診断における顆粒球エラスターゼテストの応用，日本整形外科学会，横浜，2016，5。

川村正樹、稲葉 裕、小林直実、崔 賢民、手塚太郎、久保田聡、齋藤知行：大腿骨近位部骨折患者の転帰に影響を及ぼす因子，日本整形外科学会，横浜，2016，5。

川村正樹 小林直実 稲葉 裕 崔 賢民 宮前祐之 久保田聡 齋藤知行：人工関節周囲感染を中心とする整形外科領域感染症における Multiplex リアルタイム PCR の有用性，日本骨関節感染症学会，岡山，2016，7。

川村正樹 稲葉 裕 小林直実 崔 賢民 手塚太郎 久保田聡 小林大悟 境 貴史 齋藤知行：人工関節周囲感染診断における顆粒球エラスターゼテストの有用性，日本整形外科学基礎学会，福岡，2016，10。

川村正樹 稲葉 裕 小林直実 崔 賢民 手塚太郎 久保田聡 小林大悟 境 貴史 齋藤知行：人工股関節周囲感染における関節液中 CRP の有用性，日本股関節学会，大阪，2016，11。

Kawamura. M, Kobayashi. N, Inaba. Y, Tomoyama. A, Choe. H, Tezuka. T, Kubota. S, Kobayashi. D, Saito. T: The usefulness of synovial fluid C-reactive protein for periprosthetic hip joint infection, Orthopaedic Research Society, San Diego, 2017, 3.

Kawamura. M, Kobayashi. N, Inaba. Y, Tomoyama. A, Choe. H, Tezuka. T, Kubota. S, Kobayashi. D, Saito. T: Application of granulocyte elastase swab stick test in diagnosing periprosthetic joint infection, Orthopaedic Research Society, San Diego, 2017, 3.

川村正樹 稲葉 裕 小林直実 崔 賢民 手塚太郎 小林大悟 渡部慎太郎 東平翔太 土肥健人 齋藤知行：人工股関節周囲感染診断における関節液中 CRP 値の有用性，日本整形外科学会，仙台，2017，5。

川村正樹 稲葉 裕 小林直実 崔 賢民 手塚太郎 小林大悟 渡部慎太郎 東平翔太 土肥健人 齋藤知行：整形外科領域感染症における顆粒球エラスターゼテストの有用性，日本骨関節感染症学会，東京，2017，6．

友山瑛人、小林直実、稲葉 裕、崔 賢民、矢島 智志、山崎悦子、齋藤知行、整形外科領域感染における増菌培養の意義、第 41 回日本骨関節感染症学会 大阪 2018

友山瑛人、小林直実、稲葉 裕、矢島智志、山崎悦子、齋藤知行、過去 5 年間に於ける整形外科領域無菌材料における分離菌種の検討、第 29 回神奈川県臨床検査医学会大会 横浜 2018

Profile of minimum inhibitory concentration of Staphylococcus species in orthopaedics infection

A Tomoyama, N Kobayashi, Y Inaba, H Choe, H Ike, D Kobayashi, S Watanabe, S Higashihiro, E Yamazaki, T Saito, EORS, Ireland 2018

渡部慎太郎、小林直実、崔 賢民、池 裕之、東平翔太、稲葉 裕 友山瑛人、山崎悦子、整形外科領域感染症における増菌培養陽性症例の臨床的背景、日本整形外科学会学術総会、横浜、2019、5

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等：なし

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：稲葉 裕

ローマ字氏名：Inaba Yutaka

所属研究機関名：横浜市立大学

部局名：整形外科

職名：教授

研究者番号(8桁)：40336574

研究分担者氏名：小林 直実

ローマ字氏名：Kobayashi Naomi

所属研究機関名：横浜市立大学

部局名：整形外科

職名：准教授

研究者番号(8桁): 20453045

(2)研究協力者

研究協力者氏名：川村 正樹

ローマ字氏名：Kawamura Masaki

研究協力者氏名：渡部 慎太郎

ローマ字氏名：Watanabe Shintaro

研究協力者氏名：友山 瑛人

ローマ字氏名：Tomoyama Akito

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。