

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：32645

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K16583

研究課題名(和文)感染に起因する術後膵液瘻発生メカニズムの解明と感染制御の確立

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism of postoperative pancreatic fistula caused by infection and establishment of infection control

研究代表者

瀧下 智恵 (Takishita, Chie)

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号：60774544

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：近年増加傾向にある胆膵疾患に対する膵頭十二指腸切除術において重要な合併症である膵液瘻の発生はいまだに10～20%と高率である。その原因として膵空腸吻合部から膵液が漏れることに加え、腹水の細菌感染が関連していることが推測された。

今回、手術後に腹水中の細菌を調べたところ術前の胆道ドレナージや胆道感染が関連していることが示唆された。術前胆汁細菌培養結果と術後腹水細菌培養結果から細菌の抗生剤感受性結果が変化することや適切な抗生剤を周術期に使用することで腹水感染を予防し膵液瘻を減少させる可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今後も増加していくことが予想される胆膵疾患における膵頭十二指腸切除術の重要な合併症である膵液瘻の原因検索、対策を講じることが重要である。手術手技は当然のことながら周術期の管理も重要であり膵液瘻には術後腹水細菌感染が関連しており、術後腹水中の細菌を調べることで周術期に適切な抗生剤を使用することで膵液瘻を減少させる可能性が示唆された。

周術期感染制御による膵液瘻防止策は、これまでにない新たなストラテジーであり、これらの結果は、外科医にとって、今後の膵切除術後合併症対策を行っていく上で、極めて重要なデータになり今後も引き続きデータの集積・解析が必要と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Pancreaticoduodenectomy for biliopancreatic diseases has been on the increase in recent years, and the incidence of pancreatic fistula, an important complication, is still as high as 10-20%. The cause of this complication is thought to be related to bacterial infection of the ascites fluid in addition to leakage of pancreatic juice from the pancreatic jejunal anastomosis.

In this study, we examined the bacteria in the ascitic fluid after surgery, and suggested that preoperative biliary drainage and biliary infection were related. The results of preoperative and postoperative biliary bacteria cultures suggested that the antibiotic susceptibility of bacteria may change and that perioperative use of appropriate antibiotics may prevent ascites infection and reduce pancreatic fistulas.

研究分野：膵臓

キーワード：細菌感染 膵液瘻

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 膵癌、胆道癌患者の増加に伴い膵頭十二指腸切除を代表とする膵切除術は近年増加傾向にあるがその合併症である膵液瘻の発生頻度は未だ約 10-20%と高率である。一旦膵液瘻が発生すると腹腔内出血など致死的な合併症へと発展することもある。膵液瘻防止策として様々な再建法が開発されてきたが、未だ最善の方法が確立されていないのが現状であった。このため、膵液瘻発生率を減少させるには新たな治療戦略が必要と思われた。

(2) 膵液瘻は国際基準 (ISGPF) としてドレーン排液中のアミラーゼ値が血清の 3 倍以上の状態を Grade A、細菌感染が併発しドレーン交換などの処置が必要な状態を Grade B、出血など重篤な状態に陥った状態を Grade C に分類されている。ここで臨床的に問題となるのは Grade B 以上であり、Grade A から Grade B に移行させない対策が重要である。術前の胆道感染や術後長期留置したドレーンの Biofilm 形成によるドレーン感染 Grade B の膵液瘻発生と関連すると報告され細菌感染に起因する膵液瘻の発生の可能性が指摘されていた。

(3) 我々は膵頭十二指腸切除術 101 例において術後 1,3,5,7 日目にドレーン排液より採取した腹水培養 (増菌培養) を行い Grade B 発生との関連を検討した。POD1 に 23 例 (22.8%)、POD3 に 27 例 (26.7%) で腹水中より菌を検出し、その菌検出群と非検出群にドレーンアミラーゼ値は相関せず、縫合不全に起因しない細菌感染が考えられた。Grade B; 13 例では POD1 に 7 例 (53.6%)、POD3 に 11 例 (84.6%) において菌を検出し、そのすべての菌が膵液瘻発生後の検出菌と同一であった。一方、Grade A での菌の検出率は POD1 に 1 例 (7.7%)、POD3 に 1 例 (7.7%) と Grade B と比較し有意に低率でありまた多変量解析による Grade B 危険因子の検討では POD1 の腹水中菌の検出が独立した危険因子であった。POD 1 に検出された細菌は *Enterococcus faecalis*: 9 例、*Enterobacter cloacae*: 5 例、*P. aeruginosa*: 5 例、*Enterococcus faecium*: 8 例と多くが腸内細菌で、87.6% がセフェム系抗菌薬耐性であり感受性のある抗生剤はカルバペネム系 (IPM)、ニューキノロン系 (LVFX)、バンコマイシンであった。よって Grade B の膵液瘻は膵液の漏出に加え術直後から腹水中に存在する細菌が増殖し発症する例が多く存在すると考えられる (図 3)。またその細菌の多くがセフェム系抗菌薬に耐性であり、術後早期に腹水中の菌を同定しカルバペネム系 (IPM) やバンコマイシンなど感受性の高い抗生剤を投与し感染制御することで Grade B 膵液瘻発生率を低下できる可能性が考えられた。

また、カルバペネム系抗菌薬に耐性を有する細菌はカルバペネマーゼを産生し耐性を獲得して

いることが多いが、カルバペネマーゼ産生菌であっても、カルバペネム系抗菌薬であるメロペネムの感受性試験において必ずしも耐性と判定されないことがある。これはメロペネムの最小発育阻止濃度（MIC）が 0.5 ~ >64  $\mu\text{g}/\text{mg}$  と細菌株によって様々であることによる（松井、鈴木, IASR, 2014）。よって抗菌薬感受性試験のみではなく細菌株の亜型を遺伝子学的に同定することが重要であり、より正確な抗菌薬の使用が可能となると考えられた。さらに術後腹水中に存在する菌がどこから由来したものが判明すれば、これを術前に予め制御することで臍液瘻発生を減少させる可能性があると考えられた。

## 2. 研究の目的

臍頭十二指腸切除術など臍切除後の合併症である臍液瘻の発生は、様々な再建法の改善にもかかわらず、未だその発生頻度は 10 ~ 20% と高率である。このため、発生率を減少させるには新たな治療戦略が必要と思われる。近年、細菌感染と臍液瘻発生との関連性が指摘され、臍液瘻の発生原因として手技的な要因による縫合不全以外に、術後の感染に起因し臍液瘻が発生している可能性が考えられている。本研究では、細菌感染が臍液瘻発生に至るメカニズムの解明ならびに、臍液瘻の原因菌種を同定することで可能となる周術期感染制御システムの確立を目指す。

## 3. 研究の方法

### (1) 臍頭十二指腸切除術後、腹水中細菌の早期検出システムの構築

臍頭十二指腸切除術後の腹水排泄の培養および PCR 検査を行い、感染に起因する臍液瘻発生と関連性の高い細菌（*E. Faecalis*, *E. cloacae*, *P. aeruginosa*, *E. faecium*）の亜型を含めた術後早期検出システムを構築する。

### (2) 術後腹水中に存在する細菌がどこから由来するかの検討

術前もしくは術中に採取した十二指腸液、胆汁ならびに開腹後、閉腹前に行った腹腔内洗浄水の細菌培養を行い、術後腹水より検出された細菌との関連性を検討し、臍液瘻発生と関連する細菌がどこから由来しているのか検索する。

### (3) 臍液漏出の際の細菌増殖に至るメカニズムの解明

術後ドレーンより採取した腹水を培地とし in vitro にて各細菌（*E. Faecalis*, *E. cloacae*, *P. aeruginosa*, *E. faecium*）を 37℃, 16 時間、細菌培養し、Abs560nm の測定にて菌の増殖を評価する。各細菌は ATCC より入手する。その増殖率と下記の因子との関連性を検索し、臍液漏出の際、細菌増殖に至るメカニズムを解明する。

## 4. 研究成果

(1) 膵液瘻と腹腔内感染，術前胆管炎の関連を調べ  
 るべく膵頭十二指腸切除例を行った症例におけ  
 る術後腹水培養結果および術前胆汁ドレナージ  
 並びに胆汁培養の関連を検討すると，術前胆管  
 炎をおこした症例は腹水中の Bacterial  
 contamination や術後膵液瘻が有意に多く入院  
 期間も延長していることがわかった(図 1) .術前  
 胆汁培養では、Enterococcus faecalis の検出率  
 (39.2% vs 9.3% P < 0.01

vs 9.3% P < .01) およびその他の腸球菌 (27.5% vs  
 9.3% P < .01)は、術前胆管炎を起こした群では、起

こらなかった群に比べ、有意に高かった . 術後腹水の培養では、Enterococcus

faecalis (27.2% vs 8.6% P < .01)および Enterococcus faecium(17.4% vs 3.7% P < .01)  
 の検出率は、術前胆管炎を起こした群で有意に高くなった(図 2)。

他の細菌種の検出率には両群で  
 有意差はなかった。これらより  
 術前胆管炎を検討することで術  
 後の腹水感染・膵液瘻の予防，  
 さらには入院期間の短縮が得ら  
 れる可能性が示唆されることが  
 わかった . また，術前に胆道ド  
 レナージを行った症例において

胆汁培養の結果と術後腹水中の培養の関連に関して検討すると，Enterococcus が多く術前  
 胆汁培養と術後ドレーン排液培養でも同様の細菌が検出されていた .

(2) 細菌の菌種の分布の比較のため，膵体尾部切除術における腹水培養結果に対しても検討した  
 が，膵頭十二指腸切除術では術後 1 日目からに腹水培養で菌が検出される頻度が高いのに対  
 し膵体尾部切除術の腹水培養では、術後 1 日目でドレーン排液から菌の検出を認めなかつ  
 た . しかしながら膵液瘻を起こした症例では日毎に菌の検出率が増加していた . 菌種に関し  
 ては膵体尾部切除術で検出された菌は皮膚常在菌( staphylococcus )が 57%と最も多く検出  
 され，腸内細菌は (Enterococcus, Enterobacter, E coli ) は 14%であり膵頭十二指腸切  
 除術とは大きく異なっていることが判明した .

	POC+ (n = 92)	POC- (n = 267)	P-value
Age (y) ≥70	50 (54.3%)	129 (48.3%)	.33
Sex (male)	65 (70.3%)	162 (60.7%)	.1
Non-Pancreatic cancer	45 (48.9%)	120 (44.9%)	.51
Serum Alb level (≤3.7 g/dL)	61 (66.3%)	104 (39.0%)	<.01
Body mass index (≥21.2 kg/m <sup>2</sup> )	44 (47.8%)	135 (50.6%)	.65
Diabetes mellitus	22 (23.9%)	78 (29.2%)	.35
Preoperative biliary drainage	92 (100%)	104 (39.0%)	<.01
Soft pancreas	49 (53.3%)	145 (54.3%)	.86
Operation time (≥376 min)	50 (54.3%)	129 (48.3%)	.32
Intraoperative bleeding (≥396 mL)	55 (59.8%)	126 (47.2%)	.04
Serum CRP level on POD 3 (≥11.8 mg/L)	56 (60.9%)	125 (46.8%)	.02
D-Amy level on POD 3 (≥171 U/L)	50 (54.3%)	129 (48.7%)	.35
Ascitic bacterial contamination	52 (58.4%)	77 (30.1%)	<.01
Postoperative infectious complication	36 (39.1%)	61 (22.8%)	<.01
Wound infection	15 (16.3%)	20 (7.5%)	.02
Grade B/C POPF	28 (30.4%)	35 (13.1%)	<.01
Intra-abdominal abscess	5 (5.4%)	9 (3.4%)	.38
GI or bile leakage	1 (1.1%)	9 (3.4%)	.25
Postoperative hospital stay (>16 d)	65 (70.7%)	126 (47.2%)	<.01

Abbreviations: CRP, C-reactive protein; D-Amy, amylase concentration in the drainage fluid; GI, gastrointestinal; POC, preoperative cholangitis; POD, postoperative day; POPF, postoperative pancreatic fistula.

	Bile culture			Drainage fluid culture		
	POC (n = 51)	Non-POC (n = 43)	P-value	POC (n = 92)	Non-POC (n = 267)	P-value
Non-bacterial detection	4 (7.8%)	17 (39.5%)	<.01	40 (43.4%)	190 (71.2%)	<.01
Enterococcus faecalis	20 (39.2%)	4 (9.3%)	<.01	25 (27.2%)	23 (8.6%)	<.01
Enterococcus faecium	10 (19.6%)	3 (7.0%)	.08	16 (17.4%)	10 (3.7%)	<.01
Other Enterococcus species	14 (27.5%)	4 (9.3%)	.03	5 (5.4%)	13 (4.9%)	.83
Enterobacter cloacae	12 (23.5%)	5 (11.6%)	.14	1 (1.1%)	5 (1.9%)	.61
Enterobacter aerogenes	1 (2.0%)	2 (4.7%)	.46	1 (1.1%)	1 (0.4%)	.43
Pseudomonas aeruginosa	3 (5.9%)	1 (2.3%)	.39	2 (2.2%)	5 (1.9%)	.86
Escherichia coli	8 (15.7%)	7 (16.3%)	.94	2 (2.2%)	1 (0.4%)	.1
Klebsiella species	19 (37.3%)	9 (20.9%)	.08	2 (2.2%)	1 (0.4%)	.1
Staphylococcus species	7 (13.7%)	2 (4.7%)	.14	5 (5.4%)	11 (4.1%)	.6
Corynebacterium	3 (5.9%)	0 (0%)	.11	4 (4.3%)	9 (3.4%)	.62
Candida	4 (7.8%)	2 (4.7%)	.53	0 (0%)	5 (1.9%)	.19
Streptococcus species	12 (23.5%)	6 (14%)	.24	0 (0%)	0 (0%)	1
Other	10 (19.6%)	11 (25.6%)	.49	2 (2.2%)	7 (2.6%)	.81

Abbreviation: POC, preoperative cholangitis.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Masanori Akashi	4. 巻 27
2. 論文標題 Preoperative cholangitis is associated with increased surgical site infection following pancreaticoduodenectomy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Hepatobiliary Pancreat Sci.	6. 最初と最後の頁 640-647
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jhbp.783	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 Hiroaki Osakabe	4. 巻 51
2. 論文標題 Causative bacteria associated with a clinically relevant postoperative pancreatic fistula infection after distal pancreatectomy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 1813-1818
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00595-021-02287-5	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Chie Takishita
2. 発表標題 The relationship between perioperative bacterial infection and postoperative pancreatic fistula in pancreatectomy.
3. 学会等名 The 32nd Meeting of Japanese Society of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery (国際学会)
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------