

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 12 日現在

機関番号：15101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18843

研究課題名(和文) 白内障術後眼内炎対策の戦略的分子解析

研究課題名(英文) Strategic Molecular Analysis to prevent Endophthalmitis after Cataract Surgery

研究代表者

佐々木 慎一 (SASAKI, Shin-ichi)

鳥取大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30745849

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：白内障術後眼内炎は、眼科手術において最も忌むべき合併症である。しかしその発症頻度は0.04%と非常に稀であり、その機序や予防対策を至適化することは困難である。眼内炎予防対策は多岐に渡る。術前抗菌薬点眼、術中抗菌薬点滴、術終了時においては抗菌薬結膜下注射や前房内投与が施行されている。本研究ではそのメリット、デメリットの詳細を明らかにするとともに、術中ヨード洗浄の有効性を検証した。さらに、欧米では広く行われている抗菌薬前房内投与の眼内炎予防効果を検証した。特にバンコマイシン前房投与後に起こり得る出血性閉塞性網膜血管炎の発症機序として、抗菌薬とホストの免疫反応により起こる機序を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

白内障手術は広く行われているが、その併発症として術後眼内炎が重篤な合併症として知られている。そこで眼内炎の予防措置を講じる上で、どういった手法が有用であるかを評価した。予防措置の新たな提案として、術中ヨード洗浄の検証を行い、簡便かつ有用に行うことを示した。また、予防措置として有望な方法として抗菌薬の前房内投与を明らかにした。さらに前房内投与を行う上で、まれであるが重篤な合併症としての網膜血管炎がいかにして起こり得るかを明らかにした。これにより、将来のより有効かつ簡便な手法の確立に向けて、重要な知見を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：Postoperative endophthalmitis is a serious complication after cataract surgery. However, its frequency of occurrence is extremely rare, and is difficult to understand its mechanism and develop preventive measures. To prevent endophthalmitis, preoperative antibacterial eye drops, intraoperative antibacterial drops, subconjunctival injections of antibiotics, and intravitreal injections of antibiotics at the end of surgery are currently used. In this study, we clarified the advantages and disadvantages of these methods. We also examined effectiveness of intraoperative iodine washing. To prevent postoperative endophthalmitis, intracameral injection of antibiotics are widely used in the United States or Europe. However, intracameral injection has been reported for hemorrhagic occlusive retinal vasculitis (HORV) as rare but vision threatening complications. We revealed that HORV may be caused by inflammatory response to antibiotics and an immune reaction to the infected microbe.

研究分野：眼科学

キーワード：白内障術後眼内炎 出血性閉塞性網膜血管炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

白内障術後眼内炎は、眼科手術において最も忌むべき合併症である。しかしその発症頻度は0.04%と非常に稀であり、その機序や予防対策を至適化することは困難である。眼内炎予防対策は多岐に渡るが、そのメリット、デメリットの詳細は明らかでない。

また、白内障術野は高度に清潔であるために、通常培養では菌が検出できない。このため、16S rDNA 定量 PCR による汎細菌量定量が有効と想定される。これにより、予防対策の至適化が可能と考えられる。

例えば、近年増大している抗菌薬への耐性化を念頭にした場合、ヨードによる殺菌は妥当性が高いと思われる。しかし実際にはいつ、いかにヨードを使用するかが問題となる。さらに、眼内炎予防対策の至適化を模索するためには、これまでの眼内炎予防法を、包括的に評価する必要があるが、十分な検討がまだ行われていない。

これまで、眼内炎の予防のみならず、治療には抗菌薬の前房内あるいは硝子体投与が施行されてきた。また、眼内炎発症率抑制の観点からは、抗菌薬の前房内投与が有効であるとの認識が広まりつつある。しかし、バンコマイシンを含め、前房内抗菌薬投与に伴う出血性閉塞性網膜血管炎(HORV)などの重篤な合併症リスクが明らかになっている。

しかし、眼科領域で使用される抗菌薬がどのようなメカニズムでHORVあるいは類似の病態を引き起こすのかわかっていない。そこで、直接毒性のみならず、炎症惹起性を有しているのかを明らかにすることが必要である。これまで認識されていなかった機序の包括的解析を試み、より妥当性の高い抗菌薬の提案が可能と考えられる。

2. 研究の目的

- (1) 眼内炎予防対策によって、術前、術中、術後の眼表面細菌汚染が質的、量的にいかに変容するかを、細菌叢変化面から解析し、推奨プロトコールの提案につなげる。
- (2) 眼内に投与された抗菌薬の眼内組織への毒性および炎症惹起性を、出血性閉塞性網膜血管炎(HORV)の発症機序解明の観点から明らかにする。

3. 研究の方法

本研究は眼内炎予防対策の至適化のための方策を構築するため、術前滅菌法、術中ヨード洗浄、抗菌薬前房内投与に主たるフォーカスをおく。眼内炎予防対策は、多くの手法が報告されている。しかし、評価が施行された地域により眼内炎の発症頻度や起因菌も異なる。眼内炎発症の予防効果の優劣は、大規模データを対象にネットワークメタ解析を用いて評価を行う。これにより各手法のエビデンスの強さを評価する。

平行して、予防対策の至適化あるいは詳細評価が必要な眼内炎予防対策の効果を検証する。実際に施行可能なNとして解析するため、術野の汚染度を指標とする。術前、術中、術後の評価を細菌培養、16S rDNA 定量による汚染評価を行う。

探索的アプローチとして、薬剤毒性及び炎症惹起反応がいかに抗菌薬により誘導されるかを検証する。ヒト初代網膜血管内皮細胞を用いて評価し、副反応の発症機序を探索する。

抗菌薬は前房内投与に用いられるモキシフロキサシン(MFLX)、バンコマイシン(VCM)、セフロキシム(CXM)を検証対象とする。毒性は、出血性閉塞性網膜血管炎(HORV)を念頭に網膜血管障害を主眼として解析を行う。抗菌薬毒性は、エチジウムホモダイマー1 取り込み及びエステラーゼ活性を指標に評価する。

また、炎症惹起作用は、炎症性サイトカインをプロテオームベースで探索し、障害誘導経路の候補を同定する。あわせて、毒性評価には抗菌薬硝子体注射マウスモデルを用い、毒性の評価さらには、障害細胞の同定も平行して行う。これにより、HORV を含めた副反応として炎症惹起の責任経路の同定を試みる。

4. 研究成果

眼内炎予防対策として、術前抗菌薬点眼、術中抗菌薬点滴、術終了時においては抗菌薬結膜下注射や前房内投与が施行されている。これらの眼内炎予防効果の優劣を検討した。既報の文献を用いて、術前抗菌薬全身投与、抗菌薬結膜下注射、前房内抗菌薬投与、術前抗菌薬点眼の眼内炎予防効果をネットワークメタ解析により評価した。その結果、セフロキシム(CXM)やモキシフロキサシン(MFLX)を用いた抗菌薬前房内投与のみが対照群に比べて有意にすぐれていた。一方、セフロキシム前房内投与は、術前抗菌薬点眼より優れた傾向を示した。その他、術前抗菌薬点眼は、対照群に比べて優れた傾向を示したが、その効果、抗菌薬結膜下注射や術前抗菌薬全身投与と同等であった。

一方、抗菌薬の継続使用は、耐性菌の出現が危惧される。例えば、眼内炎に関連する菌種として、結膜のう内からの検出菌は、*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Coagulase negative staphylococcus* が主体となっていた。感受性試験の結果、キノロン剤への耐性化がすすんでいることが判明した。

そこで、抗菌薬に頼らず術野を滅菌する手法(timely iodine 法)を開発した。これは、術中にヨードを用いて術野を滅菌する手法である。一方、本邦では従来術前抗菌薬点眼法がもちいられている。そこで、timely iodine 法の有効性を検証するため、timely iodine 法と、術前抗菌薬点眼法の滅菌効果を与えることができるかどうかの検証を行った。その結果、timely iodine 法は、術前抗菌薬点眼法と同等の効果がえられた。このことは、timely iodine 法のみで十分な滅菌効果がえられることを示していた。

ネットワークメタ解析においては、抗菌薬前房内投与がもっともすぐれている効果となっている。そこで、抗菌薬を眼内に投与した場合の毒性及び炎症惹起効果を検証した。まず、代表的な抗菌薬として MFLX, CXM, VCM の網膜血管内皮に対する濃度依存性細胞毒性を明らかにした。次に炎症反応のプロファイリングをプロテオーム解析により行った。その結果、VCM や CXM において、濃度依存性に代表的な炎症性ケモカインであるインターロイキン-8(IL-8)の誘導を認められた。

HORV の発症には、眼内への細菌感染併発が想定される。そこでホストによる細菌認識機序として、細菌認識におけるパターン認識レセプター (PRR) による副刺激経路の関与を検証した。その結果、VCM や CXM による IL-8 産生は、PRR の一つである Nucleotide Binding Oligomerization Domain Containing 1(NOD1)のリガンド (L-alanyl- -D-glutamyl-meso-diaminopimelic acid (Tri-DAP)) により増強した。つまり、VCM によりひきおこされる HORV は、抗菌薬自体による作用に加え、併発した細菌感染をホストが認識し、排除しようとする経路によりは発症する機序が示唆された。これらの詳細な解析により、それぞれの抗菌薬のメリット、デメリットに加え、使用に際する安全濃度域を明らかにすることができた。

以上より、眼内炎予防プロトコールとしては、耐性菌の可能性を考慮すると抗菌薬前房内投与に加え、timely iodine 法を使用するのが妥当と思われる。今後、多施設の結果を用いてさらなる検証を予定している。

一方、感染性が疑われて手術や抗菌薬投与加療が行われた症例を対象に前房内の細菌量の評価を行った。術後眼内炎の場合、抗菌薬投与後のことが多く、培養で同定されないことも多い。このため 16S r-RNA PCR を用いて評価する手法を確立した。一方、正常者においても 16S r-RNA は微量であるが検出される。このため、適切なカットオフ値、また、眼内炎として判定される菌量レベル、さらには徹底的な抗菌薬の投与が必要なレベルの確立に向けて検証をすすめていく。これにより眼内炎疑い例を含めより適切なマネージメントの確立につながると考えている。

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 Matsuura Kazuki, Miyazaki Dai, Sasaki Shin-ichi, Inoue Yoshitsugu, Sasaki Yumi, Shimizu Yumiko | 4. 巻 64 |
| 2. 論文標題 Conjunctival bacterial flora and antimicrobial susceptibility in bacterial pathogens isolated prior to cataract surgery | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Japanese Journal of Ophthalmology | 6. 最初と最後の頁 423 ~ 428 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10384-020-00746-z | 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 Matsuura Kazuki, Miyazaki Dai, Sasaki Shin-ichi, Inoue Yoshitsugu, Sasaki Yumi, Shimizu Yumiko | 4. 巻 64 |
| 2. 論文標題 Effectiveness of intraoperative iodine in cataract surgery: cleanliness of the surgical field without preoperative topical antibiotics | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Japanese Journal of Ophthalmology | 6. 最初と最後の頁 37 ~ 44 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10384-019-00703-5 | 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 - |

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 Miyake Hitomi, Miyazaki Dai, Shimizu Yumiko, Sasaki Shin-ichi, Baba Takashi, Inoue Yoshitsugu, Matsuura Kazuki | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Toxicities of and inflammatory responses to moxifloxacin, cefuroxime, and vancomycin on retinal vascular cells | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-46236-2 | 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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|