

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16777

研究課題名(和文) 婦人科感染症のNGSを用いた真の起因菌の解析による新たな治療戦略の基盤的研究

研究課題名(英文) NGS-based analysis of the true causative bacteria of gynecological infections as a basis for new therapeutic strategies.

研究代表者

野上 侑哉 (NOGAMI, Yuya)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・助教

研究者番号：90574294

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：婦人科感染症患者44名から56検体を収集した。42検体をNGSを用いた16SrRNAによる菌叢解析に提出した。疾患別では、リンパ嚢胞感染が24検体、子宮留膿腫が9検体、腹腔内膿瘍が9検体である。また血液培養検体を8例分保存している。COVID19の流行により、想定患者数に期間内に到達しなかったが、リンパ嚢胞感染に関しては、30例を目途に解析する予定である。リンパ浮腫をベースとした蜂窩織炎患者の血液培養検体が保存されている。起因菌として、B群溶連菌が多いのが特徴であるが、その特性を調べる予定である。子宮頸癌合併の子宮留膿腫の起因菌分布もこれまで報告はない。症例を追加し、解析していく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

NGSを含めた新規解析方法により、菌の同定などが可能になってきているが、婦人科感染症は、感染症領域での検討がまだまだ乏しい。新規技術を用いた新しい知見の模索により、新しい予防、診断、治療戦略のシーズとなりえる可能性がある。また婦人科悪性腫瘍治療後の合併症として、生じる感染症は、症例数の多い専門施設でしか集積が難しい。本研究期間内に一定数の検体が収集、解析できたことは、大きな意義があり、今後の研究に活かされる。

研究成果の概要(英文)：Fifty-six specimens were collected from 44 patients with gynecological infections. 42 specimens were submitted to 16SrRNA-based bacterial flora analysis using NGS. By disease, 24 specimens were from infected lymphocysts, 9 specimens were from pyometra, and 9 specimens were from intra-abdominal abscess. Due to the COVID19 pandemic, the number of patients did not reach the expected number in this period. We plan to analyze 30 cases in total and to report, as for infected lymphocysts. Blood culture specimens from patients with lymphedema-based cellulitis have been stored. Group B streptococci are the most common causative organisms, and we plan to investigate the characteristics of these organisms. The distribution of causative organisms in pyometra associated with cervical cancer has not been reported so far. We plan to add more cases and analyze them.

研究分野：婦人科感染症

キーワード：骨盤内膿瘍 菌叢解析 リンパ嚢胞感染 侵襲性溶連菌感染症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

婦人科領域における感染症は、子宮、子宮付属器、尿路など骨盤内臓器の一般的な細菌感染症から、淋菌、クラミジア感染症などの性感染症まで多岐にわたる。感染臓器も外性器、内性器にとどまらず、クラミジア感染による骨盤内腹膜炎など広い範囲に影響を及ぼすものも多い。稀な疾患ではあるが、子宮内装具に関連した骨盤内放線菌感染症なども挙げられる。

膿瘍性疾患としては、子宮留膿症や卵管卵巣膿瘍などが含まれる。また婦人科癌の治療において、リンパ節郭清を伴った手術や骨盤に対する放射線治療によって、リンパ流が鬱滞し、リンパ嚢胞を形成することが知られている。その存在自体は、臨床では問題にならないが、時に腸管、尿管を圧迫することで通過障害の原因となることや、嚢胞に感染を合併し、骨盤内膿瘍となることで加療が必要になることがある。婦人科骨盤内膿瘍の加療は、他領域の膿瘍性疾患と同様、ドレナージ、抗菌薬投与を原則とするが、骨盤内深部存在するという特性から、経皮的穿刺のリスクが高い。また抗菌薬投与のみで軽快する例もあり、穿刺、手術によるドレナージの適応の判断は慎重を要する。多くの場合、抗菌薬による保存的加療を先行し、改善しない場合に、穿刺、手術によるドレナージが行われるといった戦略が取られる。ドレナージが行われた場合は、膿瘍内容の通常培養での起病菌同定が試みられるが、先行抗菌薬の影響や、嫌気性菌自体の同定感度の低さから、起病菌が同定されないことも多い。これまで報告された通常培養検査での起病菌の分布は真の起病菌の分布を反映していない可能性がある。またそれにより決定された起病菌同定前に使用される経験的抗菌薬選択は、的確ではない可能性がある。他領域の膿瘍においても同様の課題を抱えているが、それに対し新世代シーケンサー (Next-Generation Sequencer : NGS) により菌叢解析を行なう研究が多く行われている。

婦人科癌治療のリンパ節郭清の術後後遺症として、リンパ嚢胞以外にリンパ浮腫が挙げられる。リンパ浮腫も易感染性を示し、蜂窩織炎を起こす。通常、蜂窩織炎などの皮膚軟部組織感染症の起病菌は、皮膚に保菌されている黄色ブドウ球菌や A 群 溶血性レンサ球菌などが多いが、婦人科癌術後のリンパ浮腫をベースとして起こる蜂窩織炎は、腸管内や腔内に保菌されていることの多い B 群 溶血性レンサ球菌 (GBS) が多いことが報告されている。婦人科癌術後合併症の感染症の起病菌としての GBS に対して詳細な検討は行われていない。

このように、NGS を含めた新規解析方法により、菌の同定や、菌の荚膜型でのタイピングが可能になってきた。婦人科感染症は、一般的に、また婦人科癌術後合併症として、広く存在しているのにも関わらず、感染症領域での検討がまだまだ乏しい分野と言える。特に、近年発達した新規技術を用いての検討の余地は多く残されている。

## 2. 研究の目的

菌の 16S ribosomal RNA は菌特有の配列を持ち、以前より菌種の同定に用いられてきた。新世代シーケンサー (Next-Generation Sequencer : NGS) により、多菌種を早急に同定することができ、菌叢解析を行うことができるようになった。従来の通常培養検査では感度の問題があるが、PCR、NGS を用いることで、死菌であっても同定することが可能であり、治療の影響が少なく、真の起病菌が同定しうる。現在の培養検査結果を得る前に経験的に使用される抗菌薬の推奨は、通常培養検査から得た起病菌の分布や、消化管関連膿瘍も含めた骨盤内膿瘍の研究の知見から決定されているが、本研究から迫る真の起病菌は、それとは異

なっている可能性があり、より適した経験的抗菌薬選択に寄与しうる等の意義がある。

そのほかにも、新規技術による検討を行うことで、high-risk 症例の抽出や抗菌薬の予防投与やワクチンなどによる予防的対応の是非など、今後の新たな戦略を想起するのに、役立つ新しい知見が得られる可能性がある。

### 3. 研究の方法

時間断面研究であり、研究対象者は、本施設において、婦人科感染症に対し、加療する患者のうち、培養検体が採取された患者である。婦人科感染症に対し、培養検体の採取が行われた場合、その余剰検体を保存しておき、NGS による解析やタイピングなどを行う。

診療録から年齢、検査の結果、診断名、臨床経過、既往症、既往治療歴（癌種、進行期、手術内容など）などの臨床情報を収集し、解析する。

### 4. 研究成果

婦人科骨盤内膿瘍の患者 44 名をリクルートし、56 検体を収集した。このうち、42 検体を NGS を用いた 16SrRNA による菌叢解析を行った。疾患別では、リンパ嚢胞感染の嚢胞内容液が 24 検体、子宮留膿腫などの子宮内腔からの検体が 9 検体、卵巣膿瘍やダグラス窩膿瘍などの腹腔内からの検体が 9 検体である。また血液培養検体が 8 症例分、未解析で保存されている。

(1) 婦人科癌治療としてのリンパ節郭清後に生じたリンパ嚢胞感染の真の起因菌の分布  
リンパ嚢胞感染の嚢胞内容液 24 検体を提出し、PCR にて DNA 増幅がされなかったなどの理由にて解析不能であったものが、8 検体あった。解析できた症例において、一般培養では起同定できなかった菌が NGS にて同定できたものは、5 検体あった。解析できなかった症例はすべて、一般培養でも同定できていない。真の起因菌も分布の模索という意義において、NGS はより高感度をしてめている。今後、30 例を目途に解析し報告する予定としている。

(2) リンパ節郭清後のリンパ浮腫をベースとした蜂窩織炎の起因菌として GBS の特徴の解析

リンパ節郭清後のリンパ浮腫をベースとした蜂窩織炎患者の血液培養検体が保存されている。一般的な蜂窩織炎に比べ、起因菌として、腸内、膈内の常在菌の B 群溶連菌が多いのが特徴である。その GBS の分類上の特性を調べる予定である。

#### (3) 子宮頸癌治療前に子宮留膿腫の解析

子宮頸癌患者では、腫瘍による頸管の閉塞のため子宮内腔に膿の貯留が見られることが多くあり、治療中に侵襲によりその菌が全身にまわり、敗血症を呈する例がある。その子宮頸癌合併の子宮留膿腫の起因菌分布もこれまで報告されたことはない。7 症例の検体を解析に提出し、全例解析結果が得られた。今後、症例を追加し、解析していく予定である。

#### (4) 放線菌症の解析

子宮内避妊具の長期装着に関連し、子宮内からの骨盤内放線菌症 (*Actinomyces israelii* による感染症) 発生することが知られている。ただし、放線菌は培養での同定が困難であり、組織診や細胞診での放線菌を思われる菌塊や臨床状況から診断されることも多い。今回 3 検体は骨盤放線菌症の患者からの検体であった。当該症例も細胞診での菌塊像からの推定診

断のみであった。NGSによる菌叢解析での菌種同定により、放線菌が同定され、新たな診断方法の例示となることが期待されたが、当該症例の検体からは *Actinomyces israelii* は同定されなかった。別の種の *Actinomyces* 属の菌は同定されており、放線菌症と包括的に診断されているもののなかに *Actinomyces israelii* 以外によるものが存在することが示唆された。今後も症例を重ね、検討したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------