

9. 特定疾患の微生物学的原因究明に関する研究

研究分担者：竹末 芳生 兵庫医科大学感染制御学

研究協力者：大毛 宏喜 広島大学病態制御医科学講座外科

研究要旨：【①手術部位感染対策】炎症性腸疾患（IBD）手術が手術部位感染発症のリスクになるかについて検討した。IBD手術389例（潰瘍性大腸炎（UC）173例、クローン病（CD）122例）、大腸癌手術267例を対象とした。SSI発症率は潰瘍性大腸炎14.5%、クローン病13.9%、大腸癌10.9%で差を認めなかった。多変量解析でIBD手術はSSIの独立した危険因子ではなかった（OR=1.62;95% CI=0.94-2.80）。しかし腹腔内感染を除いた切開創SSIは、IBD11.9%（UC12.7%、CD10.7%）、大腸癌4.9%と有意差を認め（ $p=0.003$ ）、多変量解析でもIBD手術は独立した皮切部SSIのリスク因子であった（OR=2.59; 95% CI=1.34-5.03）。【②回腸囊炎の細菌学的検討】潰瘍性大腸炎術後の回腸囊炎発症メカニズムを解明する目的で、細菌学的な検討を行う。対象は回腸囊炎症例で、回腸囊内の便サンプルを採取し、*Desulfovibrio*属の同定を行う。

A. 研究目的

炎症性腸疾患（IBD）手術は一般的に術後感染が高率とされている。その原因としてIBDにおける低栄養、ステロイド、免疫抑制剤使用などの易感染状態が関与することが推察されるが、それ以外に高率な穿孔などの汚染・感染手術の関与もあげられる。今回準清潔手術を対象として、IBD手術は一般大腸癌手術と比較したとして手術部位感染が高率かについて検討を行った。

また回腸囊炎の発症原因として可能性の高い硫化水素産生菌をターゲットに、症例からの便サンプルを採取し、菌の同定を行うこととした。

B. 研究方法

2006年3月から2007年12月までの兵庫医科大学で手術を行ったIBD手術389例（潰瘍性大腸炎（UC）173例、クローン病（CD）122例）、大腸癌手術267例患者を対象とした。除外基準は汚染創（contaminated wound）、感染創（dirty/infected wound）、結腸・直腸切除を伴わない手術とした。SSIの診断はNational Nosocomial Infec-

tion Surveillance (NNIS) systemを用い、術後30日目まで経過観察した。またSSIは切開創と腹腔内感染の臓器・体腔感染に分けて検討した。

回腸囊炎の細菌学的検討は、前向きな検討とし、活動性の回腸囊炎症例を対象に、回腸囊内便サンプルを採取する。主要な硫化水素産生菌として疑われている*Desulfovibrio*属の同定を行い、さらに治療に用いられているmetronidazoleおよびciprofloxacinに対する感受性を評価する。

C. 研究結果

全体のSSI率は大腸癌手術では10.9%、IBD手術では14.2%（潰瘍性大腸炎（UC）14.5%、クローン病（CD）13.9%）でいずれも有意差を認めなかった。切開創SSIは大腸癌4.9%、IBD11.9%（UC12.7%、CD10.7%）であり、有意にIBDで高率であった（ $p<0.01$ ）。直腸手術に限定すると、クローン病で有意にSSIが高率であった（図）。単変量で選択された因子と投入し多変量解析をおこなった（全体SSIは9因子、切開創SSIは7因子）。またIBDとステロイド投与（86.1%）、人工肛門と直腸手術（86.3%）

は併存することが高率で、交絡因子の影響をなくすため、人工肛門とステロイドを除外した解析も合わせて行った(表)多変量解析に選択した全因子の検討では、切開創と臓器・体腔を合わせた全体の SSI 並びに切開創 SSI において IBD は独立した危険因子ではなかったが、交絡の影響を除いた検討では切開創 SSI の独立した危険因子であった。

回腸囊炎の細菌学的な検討は、現在院内の IBD にて承認され、今後症例の集積を行う予定である。

D. 考察

従来、IBD 手術はその宿主特異性、汚染、感染手術が高率であることから、術後感染率が高率であるとされてきた。今回の研究は後者の因子を除外し、準清潔手術のみを対象として IBD は易感染性という宿主特異性から SSI の危険因子となりうるかについて検討した。対象は大腸癌手術としたが、近年直腸癌に対し、術前放射線治療も行われるため臓器・体腔感染が高率となる傾向がある。そのこともありそれ以外の切開創 SSI において、IBD 手術と大腸癌手術で有意の差が生じたと推察した。また従来 IBD 手術とくに UC 手術は結腸全摘、回腸囊肛門吻合と縫合不全などの合併症が多く、それにより SSI が高率となったが、当施設は日本で最も手術数が多く、手技も安定しており、技術面の影響により全体の SSI が高率とならなかった。

E. 結論

準清潔手術において、IBD 手術は切開創 SSI の独立した危険因子であった。

F. 健康危険情報 特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

Uchino M, Ikeuchi H, Tsuchida T, Nakajima K, Tomita N, Takesue Y: Surgical site infection following surgery for inflammatory bowel disease in patients with clean-contaminated wounds. World J Surg accepted in press

2. 学会発表

Uchino H et al: Surgical site infection (SSI) following surgery for inflammatory bowel disease. 48 annual meeting, Intescience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2008, Washington DC

Uchino H et al: Surgical site infection following surgery for inflammatory bowel disease. Result of prospective surveillance. American Society of Colon and Rectal Surgeons 2008, Boston

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1. 直腸手術におけるSSI率

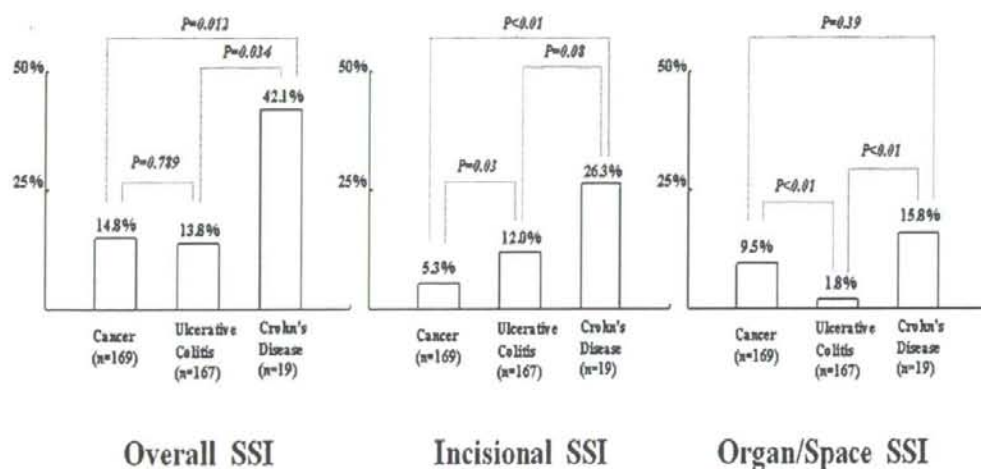


表1. 多変量解析によるSSIの危険因子

	因子	P値	OR値 比(95% CI)
切開創&臓器・体腔	術前入院 >6日	.047	1.73 (1.01-2.98)
	人工肛門	<.001	3.41 (1.95-5.95)
	交絡除外		
	ASA ≥ 3	.033	2.04 (1.06-3.93)
	直腸	.006	2.35 (1.28-4.31)
	IBD	.082	1.62 (0.94-2.80)
	切開創	人工肛門	<.001
交絡除外			
IBD		.005	2.60 (1.34-5.03)

10. IgA 腎症と感染症

分担研究者：河野 茂 長崎大学大学院感染免疫学講座 教授

研究協力者：古巢 朗 長崎大学医学部・歯学部附属病院第二内科 講師
掛屋 弘 長崎大学医学部・歯学部附属病院第二内科 講師
西野 友哉 長崎大学医学部・歯学部附属病院血液浄化療法部 助教
小畑 陽子 長崎大学医学部・歯学部附属病院医師育成キャリア支援室 助教
金子 幸弘 国立感染症研究所 生物活性物質部
瀬藤 光利 浜松医科大学 分子解剖学研究部門 教授
早坂 孝宏 浜松医科大学 分子解剖学研究部門 特任助教

研究要旨 IgA 腎症の腎組織に沈着している物質とその分布を質量顕微鏡を用いて明らかにし、IgA 腎症の病態と病原微生物との関連を検討する。IgA 腎症モデルマウスに TLR9 リガンドである CpG-ODN を投与し、腎組織を採取した。コントロールマウスと比較し、モデルマウスにおいて腎組織内に分布が異なる物質の存在が明らかとなった。今後は、その沈着物質の詳細を検討すると同時に、ヒト腎組織の症例数を増やし解析を進める予定である。

A. 研究目的

慢性腎臓病の国内における患者数は1,000 万人以上と推定される中、日本の維持透析患者数は 27 万人を超え、毎年約 1 万人ずつ増加している現状にある。近年、慢性腎臓病が糖尿病・高血圧・高脂血症と並ぶ心血管疾患の危険因子であることが明らかとなり、慢性腎臓病への対策を講じることが透析導入患者数の増加に歯止めをかけると共に心血管疾患の発症を防止することにも繋がり、大変意義深いものと考えられる。この慢性腎臓病の代表的な原疾患のひとつとしては、慢性糸球体腎炎があげられる。IgA 腎症に代表される慢性糸球体腎炎において、その発症・進展機序の多くは

慢性糸球体腎炎のうちわが国でもっとも頻度が高い IgA 腎症については、慢性扁桃炎合併例が多いこと、感染を契機に症状の悪化が見られることといった背景から、病原微生物の病態への関与が示唆されている。実際に、これまでの報告では、関与する抗原として各種細菌、ウイルス、食物、自己抗原などいろいろなものが報告されているが、特異的な抗原は未だ同定されていない。

また、IgA 腎症は、メサンギウム領域に deposit と呼ばれる免疫複合体が沈着することを特徴とするが、その免疫複合体を形成する物質についての詳細な検討はなされていない。これを明らかにすることは IgA 腎症の病因解明に結びつくものと思われ、

今後の発症・進展予防対策を講じる上で大変重要であると考えられる。

今回我々は、従来の光学顕微鏡による形態観察と同時に生体分子の分布をみる事が可能な質量顕微鏡を使用し、IgA 腎症の腎組織に沈着している物質を明らかにし、病態および病原微生物との関連を検討した。

B. 研究方法

1. IgA 腎症モデルマウスでの検討

a. 自然発症の IgA 腎症様病態を呈するヒト IgA 腎症モデルマウスである若年好発性高 IgA 血症マウス (HIGA マウス) に対して、TLR9 リガンドである CpG-ODN(10 μ g) を 1 週間に 1 回、3 週間にわたって鼻腔投与し、尿蛋白量および腎組織障害を検討した。

b. CpG-ODN 投与を行った HIGA マウスとコントロールマウスの腎組織における生体分子の分布を質量顕微鏡を用いて比較検討した。

2. ヒト腎生検組織での検討

長崎大学大学院倫理委員会にて 2008 年 12 月承認後、腎疾患の診断・治療のため腎生検が必要と主治医が判断した患者で、腎生検および本研究への同意を得たものを対象とし、承諾書を取得した。腎生検時に採取された腎組織の一部を液体窒素で凍結後、 -80°C で保存し、解析に備えている。凍結保存された腎組織より、質量顕微鏡用の切片を作成し、質量顕微鏡を設置している浜松医大 瀬藤研究室へ郵送し、解析を行う予定である。

(倫理面への配慮)動物実験にあたっては、長崎大学実験動物計画委員会の承認を得て、動物愛護の指針にもとづいて行った。本研究に同意が得られた症例はコード番号を情報管理者が割り当て、以後はその番号にて扱っており、患者同意書および腎生検申込書は、カルテと同じセキュリティレベルとして長崎大学第二内科に保管している。コード番号と患者名との連結は、情報管理者のみが可能とすることとした。

C. 研究成果

1. IgA 腎症モデルマウスでの検討

a. HIGA マウスに CpG-ODN を投与したところ、コントロールマウスと比較し、尿蛋白の増加傾向と腎組織における糸球体メサンギウム細胞の増殖と基質の増加、尿細管の萎縮を認めた。(図 1)

b. 質量顕微鏡での検討結果

コントロールマウスと HIGA マウスの腎組織を質量顕微鏡で検討した結果、図 2 に示す質量電荷比 868.7, 665.4, 856.8 など 20 ほどのピークが見られ、分布に差があることが確認された。現在、これらの物質の詳細について検討中である。

D. 考察

ヒト IgA 腎症腎組織における沈着物質と病原微生物との関連を明らかにすることが目的であるが、その前実験として IgA 腎症モデルマウスを使用し、質量顕微鏡による検討を行った。モデルマウス腎組織において、コントロールマウスと比較し性質の異

なる物質が沈着し、その分布にも差を認めることが明らかとなった。このことより、分布に差のある物質が何らかの IgA 腎症の病態に関与している可能性が示唆された。

E. 今後の予定

今後は質量顕微鏡を用いて、正常の腎組織ではどのような生体分子分布のパターンが得られるか、IgA 腎症もしくはそのモデルマウスで異なるパターンがみられるか、その中で、IgA 腎症のみに見られるピークがあれば、微生物由来である可能性など沈着物質の詳細を、モデルマウスの数を増やしながらか検討する。更に、本来の目的であるヒト IgA 腎症腎組織における検討については、2008 年 12 月の長崎大学大学院倫理審査委員会において本研究の承認が得られ、同意が得られた患者より腎生検組織の採取を開始したところである。引き続き症例数を増やしながらか、ヒト腎生検組織での解析を開始する予定である。

F. 健康危機情報：特になし。

G. 研究発表

論文.

1. Kurashige T, Abe K, Furusu A, Miyazaki M, Obata Y, Xia Z, Nakazawa M, Nakazawa Y, Funakoshi S, Harada T, Koji T, Kohno S: Renoprotective effect of azelnidipine in rats. *Biol Pharm Bull.* 31: 2237-44, 2008
2. Shinzato T, Abe K, Furusu A, Harada T, Shinzato K, Miyazaki M, Kohno S: Serum pro-hepcidin level and iron homeostasis in Japanese dialysis patients with

erythropoietin (EPO)- resistant anemia. *Med Sci Monit.* 14: CR431-7, 2008

3. Abe-Yoshio Y, Abe K, Miyazaki M, Furusu A, Nishino T, Harada T, Koji T, Kohno S: Involvement of bone marrow-derived endothelial progenitor cells in glomerular capillary repair in habu snake venom-induced glomerulonephritis. *Virchows Arch.* 453: 97-106, 2008
4. Shinzato T, Furusu A, Nishino T, Abe K, Kanda T, Maeda T, Kohno S: Cowfish (Umisuzume, *Lactoria diaphana*) poisoning with rhabdomyolysis. *Intern. Med.* 47: 853-6, 2008
5. Nishioka Y, Miyazaki M, Abe K, Furusu A, Harada T, Ozono Y, Taguchi T, Koji T, Kohno S: Regeneration of peritoneal mesothelium in a rat model of peritoneal fibrosis. *Ren Fail.* 30: 97-105, 2008
6. Xia Z, Abe K, Furusu A, Miyazaki M, Obata Y, Tabata Y, Koji T, Kohno S: Suppression of renal tubulointerstitial fibrosis by small interfering RNA targeting heat shock protein 47. *Am J Nephrol.* 28: 34-46, 2008

学会発表. なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

図1 PAS染色

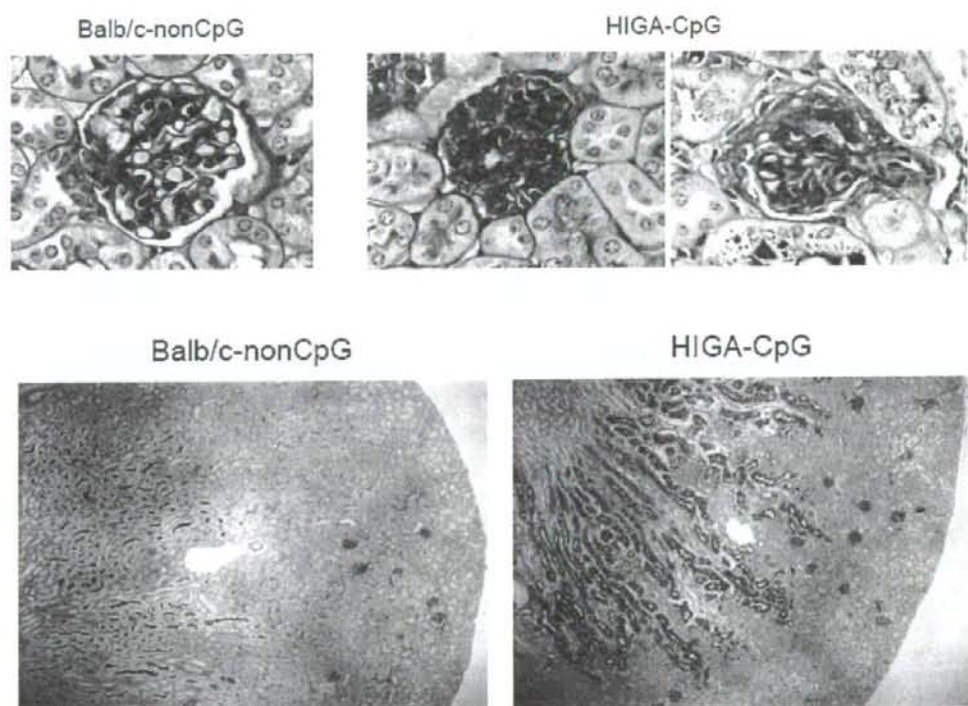


図2 質量顕微鏡での結果

