

【18】

| | |
|---------|--|
| 氏 名 | 博 多 研 文 <small>はか た けん ぶん</small> |
| 学位の種類 | 博士（医学） |
| 学位記番号 | 甲第635号 |
| 学位授与の日付 | 平成26年3月5日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項 (口腔外科学) |
| 学位論文題目 | 感染性心内膜炎発症における口腔内細菌の関与 |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 菱 沼 昭 (副査) 教授 井 上 晃 男 教授 福 田 宏 嗣 |

論 文 内 容 の 要 旨

【背 景】

感染性心内膜炎（Infective Endocarditis：IE）は、弁膜や心内膜、大血管内膜に細菌集簇を含む疣腫を形成する全身性敗血症性疾患である。血管内への細菌の侵入経路の多くは口腔と考えられ、American Heart Association（AHA）あるいはThe Japanese Circulation Society（JCS）のガイドラインにおいても口腔管理の重要性ならびに口腔内観血処置を行う場合は、処置1時間前にペニシリン系抗菌薬の大量投与が推奨されている。しかしながら、IEと口腔細菌との関わりや抗菌薬選択の根拠、投与量決定の根拠は明確ではない。

【目 的】

本研究は、IE発症における口腔内細菌の関与を明らかにし、AHAあるいはJCSのガイドラインで推奨されている口腔観血的処置前の、IE予防処置が妥当であるかを明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】

1、対象と検討項目

- 1) 2000年1月から2010年12月までに獨協医科大学病院においてIEと診断された患者47症例を対象に、血中細菌の同定とその薬剤感受性およびIE発症原因について検索した。
- 2) 2012年1月から3月までに当科外来を受診したIE患者あるいはIE発症リスク患者27症例を対象に、口腔細菌の同定とその薬剤感受性を検索した。

3) 2006年1月から2013年3月までにIEを発症した患者9症例の血中細菌と口腔細菌遺伝子配列を検索し、そのクローナリティーを比較検討した。この9症例に対しては、検出された細菌の遺伝子検索を行うために院内倫理委員会の承認を得て、インフォームドコンセントを得られた患者に行った。

2、方法

- 1) 細菌培養：口腔細菌は、口腔内のぬぐい試験を行い当院細菌検査室にて培養し、グラム染色、コロニーの形態から α -溶血性連鎖球菌とブドウ球菌の純培養を行い、生化学的性状を検索し菌種を同定した。
- 2) 血液中の細菌は、IE発症患者の血液を無菌的に採取し、菌の生育の有無を確認し、認められた場合は血液寒天培地に検体を接種した後、炭酸ガス培養法にて培養を行い、菌の同定を行った。
- 3) 薬剤感受性試験：*Staphylococcus*属、*Streptococcus*属に関しては、ドライプレート栄研、それ以外の細菌については、MicroScan[®]を使用した。
- 4) 遺伝子解析：Broad-range PCR法を使用し種々の細菌に共通な16S rRNAの保存領域にプライマーを設定しPCRを施行した。

【結 果】

- 1、IE患者47名の血中から検出された細菌のうち口腔内に常在すると言われている菌種である*Streptococcus*属、*Staphylococcus*属、*Enterococcus*属が87.1%を占めた。その薬剤感受性はペニシリン系薬剤に対して75.0%が感受性を示した。また、IE発症の原因となりうる因子として、口腔内感染巣を有する患者が61.5%、抗菌薬予防投与なしで口腔内観血処置が施行されていた患者が17.0%認められた。
- 2、IE患者あるいはIE発症リスク患者の口腔細菌は、*Streptococcus*属が最も多く検出され、以下、*Neisseria*属、*Micrococcus*属、*Staphylococcus*属であった。これらのうち、*Streptococcus*属、*Staphylococcus*属に対して薬剤感受性を検討したところ、92.3%はペニシリン系薬剤に対して感受性を示した。なお、IE発症リスク患者の口腔内観血的処置に際し、IE予防として術前に抗菌薬投与を施行したところ、これらの症例でIEを発症した症例は認められなかった。
- 3、IE患者9名における血中細菌と口腔細菌の16S rRNAの遺伝子配列の検索の結果、血中から検出・同定された細菌は全て口腔に存在する*Staphylococcus epidermidis*と*Streptococcus mitis group*であった。血中細菌と口腔細菌の遺伝子配列は1症例で100%一致し、3症例においては遺伝子配列の100%の一致は見られなかったものの細菌種グループまでは一致した。

【考 察】

本研究において、IE患者の血液培養から検出された細菌の87.1%は口腔内に常在すると言われている菌種で、口腔内感染巣の存在ならびにIE予防未施行での口腔内観血的処置はIE発症の原因であることが明らかになった。また、IE患者あるいはIE発症リスク患者から検出された口腔連鎖球菌とブドウ球菌は、アンピシリン、ベンジルペニシリンに対してそれぞれ92.3%の感受性を示していた。これらの結果より、IE発症の予防には、AHA、JCSのガイドラインに示されている徹底した口腔ケアな

らびに抗菌薬予防投与下に口腔内観血的処置を施行することは重要であると考えられた。

しかしながら、その一方でペニシリン系薬剤に対し7～8%は耐性を示すことも明らかになり、IE発症高頻度患者群にはペニシリン系薬剤耐性菌に効果を示す薬剤として第三世代セフェム系薬剤の併用も考慮しなければならないと思われた。

IE発症患者の口腔細菌あるいは血液中から培養された細菌の16S rRNA遺伝子の配列を検索したところ、口腔細菌と血中細菌が同一のクローンである可能性が高いと考えられたのは、1症例のみであり、3症例では細菌種までは一致したが、遺伝子配列は100%の一致は見られなかった。その理由として口腔内の細菌はポリクローン（あるいはオリゴクローン）で存在しており、分離培養の過程で単クローンのみが選択されたためと考えられ、培養された細菌をクローン化することなく、同一菌種あるいは同一菌属と考えられる細菌を複数個まとめて培養することにより、多クローンあるいはオリゴクローンの細菌で異なった部位に存在する細菌の同一性の検索が必要と思われた。

IEリスク因子の軽減のために口腔ケアならびに、抗菌薬予防投与下に口腔内観血的処置を施行することは重要であると考えられた。

【結 論】

IE発症の原因菌として口腔連鎖球菌とブドウ球菌が関与しており、IE発症の予防には、徹底した口腔内感染巣の除去と口腔ケア、口腔内観血処置時には大量のペニシリン系薬剤の前投与が有効であることが確認できた。しかし、耐性菌も増加していることより、IE発症高リスク患者には抗菌薬の投与に際し、ペニシリン耐性菌に効果を示す薬剤の併用を考慮する必要があると思われた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

【論文概要】

申請論文は、本邦の感染性心内膜炎（infective endocarditis：IE）発症における口腔内細菌の関与を明確にし、AHAあるいはJCSのガイドラインで推奨されているIE予防処置が妥当であるかどうかを明らかにすることを目的としている。IE患者、IE発症リスク患者を対象に①IE患者における血中細菌の同定ならびにその薬剤感受性とIE発症原因の検索②IE患者ならびにIE発症リスク患者における口腔内細菌の同定と薬剤感受性の検索③IE患者の血中ならびに口腔内細菌のクローナリティーの検討を行っている。結果、IE患者の血液培養から検出された細菌の87.1%は口腔内常在菌で、検出菌はペニシリン系抗菌薬に対して75%の感受性を示した。また、IEの発症原因として、口腔内感染巣を有した症例が44.7%、IE予防処置なしで口腔内処置が施行された症例が17%認められた。IE患者とIE発症リスク患者の口腔内細菌のうち*Streptococcus*属と*Staphylococcus*属は、ペニシリン系抗菌薬に92.3%の感受性を示した。クリンダマイシン系抗菌薬の耐性菌は7.4%であったが、マクロライド系抗菌薬では耐性菌が42.4%認められた。IE患者の血中細菌と口腔内細菌のクローナリティーは、1症例で16S rRNA配列が100%一致したが、3症例では細菌種は一致したものの遺伝子配列では一致しなかった。その理由として、口腔内の細菌は多クローンで存在しており、分離培養の過程で単クローンのみが選択されたためと考えられた。これらの結果より、IE発症の原因菌として口腔内細菌が関与

しており、IE発症の予防には口腔内感染巣の除去と口腔ケア、また、口腔内観血処置時には大量のペニシリン系薬剤の前投与が有効であるが、耐性菌への考慮が必要であると結論した。

【研究方法の妥当性】

申請論文では、血中ならびに口腔内細菌を従来からの培養方法で検索し、その後に薬剤感受性試験を判定し、また、血中ならびに口腔内細菌のクローナリティーをBroad-range PCR法を用いて検討している。研究目的を明確に設定し、IEに関連する細菌の薬剤感受性と口腔内細菌の関与を客観的に評価している。以上より、本研究方法は妥当なものである。

【研究結果の新奇性・独創性】

IE発症における口腔内細菌の関与に関する報告はあるものの、遺伝子レベルでの検索ならびにIE予防における抗菌薬選択について詳細な研究はなされていない。本研究では、IE発症における口腔内細菌の関与を細菌学的な観点のみならず、16S rRNAを用いた遺伝子レベルでも検索し、IE予防における血中と口腔内細菌の両観点からIEにおける口腔内細菌の関与ならびにペニシリン系抗菌薬の有効性を検討した初めての研究である。この点において本研究は新奇性・独創性に優れた研究と評価できる。

【結論の妥当性】

申請論文では、IE予防に対する抗菌薬選択の根拠と口腔内細菌の関与を、血中ならびに口腔内細菌を確立した方法で同定し、その薬剤感受性を検討している。さらに血中と口腔内細菌のクローナリティーをBroad-range PCR法を用いて検討している。そこから導き出された結論は、論理的に矛盾するものでなく関連領域における知見を踏まえても妥当なものである。

【当該分野における位置付け】

申請論文は、IE発症と口腔内細菌との関わり、観血的処置時におけるIE予防のための抗菌薬選択の根拠を明らかにすることを目的としている。結果として、IE発症における口腔内細菌の関与と口腔ケアの重要性ならびに観血的処置時のIE予防としてペニシリン系抗菌薬の有効性を明らかにし、IEの発症予防に寄与する大変意義深い研究として評価できる。

【申請者の研究能力】

申請者は口腔外科学、細菌学ならびに分子生物学的な理論を学び実践した上で、研究計画および方法を立案した後に、適切に本研究を遂行し貴重な知見を得ており、申請者の研究能力は評価できるものとする。

【学位授与の可否】

本論文は独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって、博士(医学)の学位授与に相応しいと判定した。

(主論文公表誌)

Dokkyo Journal of Medical Sciences

41 : 103-113, 2014