

# 2103 細菌感染症画像診断を目的とした 緑膿菌と黄色ブドウ球菌への放射性医薬品集積評価

永井 有沙

(指導教員：川井 恵一 教授、水谷 明日香 助教)

要旨：従来の細菌感染症診断では、診断を確定するまでに時間を要するため、症状の進行が急激で重症化による死亡率が高い劇症型感染症は、より迅速な診断法の開発が望まれている。本研究グループでは、現在の細菌培養法に代わる診断法として、標識アミノ酸が細菌の対数増殖期で特徴的に高集積を示すことを利用した細菌感染症画像診断の可能性を示してきた。本研究では細菌感染症画像診断に対する新たなアプローチとして、すでに臨床利用されている放射性医薬品の応用を検討した。今回は、薬剤耐性や院内感染が問題になっている緑膿菌と黄色ブドウ球菌からそれぞれ2株を選択した。増殖活性と集積量の関連性を調べるため、菌株ごとの培養時間を誘導期、対数増殖期、定常期に設定して各放射性医薬品の集積性を評価した結果、一部の放射性医薬品が細菌に高集積を示した。中でも最大の集積を示した  $^{123}\text{I}$ -BMIPP は、菌種や菌株によらず誘導期から対数増殖期にかけて細菌への集積量が増加した。一方、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -GSA は緑膿菌では菌数の増加と集積量の関連性が菌株によって異なり、黄色ブドウ球菌においては菌株間で集積の程度が大きく異なった。それに対して  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -フチン酸では、菌株ではなく緑膿菌と黄色ブドウ球菌といった菌種によって集積量が増加した。以上より、細菌感染症の画像診断において集積の傾向が異なる放射性医薬品を応用でき、感染部位の特定のみならず、菌種、菌株の鑑別診断に繋がる可能性が示された。

## I. はじめに

現在、細菌感染症診断法として一般的に用いられている細菌培養法では、病変と疑われる部位から検体を採取し、細菌の培養、同定検査を行うことで細菌感染症を診断している。しかし、細菌の培養における増殖能は菌ごとに異なり、最短でも1日以上時間を要することから、診断を確定するまでに時間を要する。特に劇症型レンサ球菌感染症などは、症状の進行が急激であり、重症化による死亡率が高いため、より迅速な診断法の開発が望まれている。そこで現在の細菌培養法に代わる診断法として、より迅速に細菌感染の有無を確定できると期待されている画像診断法<sup>2)</sup>に着目した。画像診断は非侵襲的で比較的時間がかからないといった利点があることに加えて、全身撮像により感染部位の特定が可能であるため、治療後のフォローアップとしての用途も期待できる。細菌は培養を開始すると、誘導期、対数増殖期、定常期と増殖期が進行していく (Fig. 1)。本研究グループでは細菌の増殖活性と集積の関連性に着目し、細菌が盛んに増殖する対数増殖期において標識アミノ酸が特徴的に高集積を示すことを明らかにし、標識アミノ酸の細菌感染症画像診断への応用を検討してきた<sup>3)</sup>。そこで本研究では、細菌感染症画像診断に対する新しいアプローチとして即座に臨床応用できる SPECT 用放射性医薬品を用い、薬剤耐性や院内感染が問題になっている緑膿菌と黄色ブドウ球菌への各 SPECT 放射性医薬品の集積と増殖期との関連を、菌種、菌株間で比較検討した。

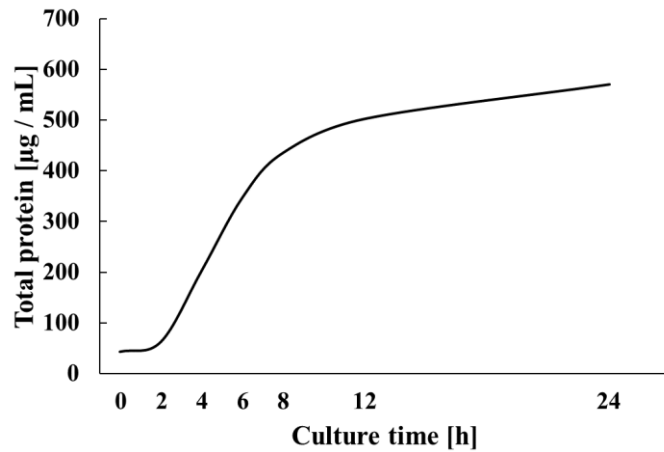


Fig. 1 細菌の増殖曲線

## II. 緑膿菌と黄色ブドウ球菌の増殖曲線

### A) 検討方法

検討対象とする細菌には、日和見感染の代表的な細菌であり近年薬剤耐性菌が非常に問題になっている緑膿菌<sup>4)</sup>と、健康な人の10-20%が保菌しているといわれるほど広く生息している常在菌であり<sup>5)</sup>院内感染の最大の原因細菌であるMRSAを種類に持つ黄色ブドウ球菌が重要であると考え、緑膿菌SR24株、PA01株と黄色ブドウ球菌SR3637株、ATCC29213株の2株ずつ選択した。なお、緑膿菌SR24株および黄色ブドウ球菌SR3637株は塩野義製薬株式会社から譲渡された臨床分離株である。前々培養、前培養の培地としてTodd's hewitt broth (Becton, Dickinson and company)に、0.2% yeast extract (Becton, Dickinson and company)を添加したTHY培地を用いた。37℃、好気条件下で、前々培養は9時間、前培養は14時間振盪培養した。本培養では培養培地である5mLのアミノ酸不含Dulbecco's modified Eagle's medium (D-MEM, 富士フィルム和光純薬)に前培養菌液を加え、播種直後に可視分光光度計 (GENESYS 20, Thermo scientific)で濁度を測定した。その後、160 rpm, 37℃で振盪培養し、1時間おきに取り出して同様に濁度を測定した。

### B) 結果と考察

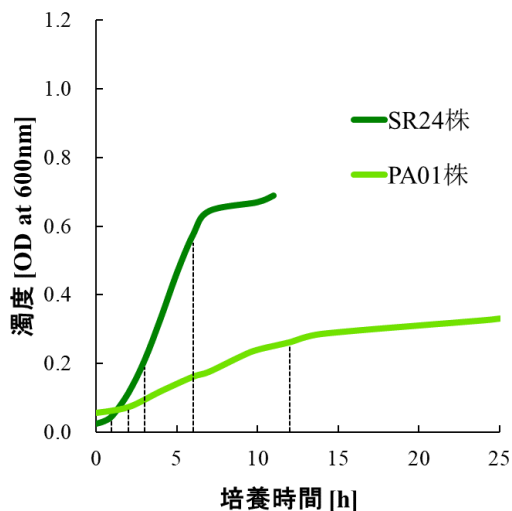


Fig. 2 緑膿菌の増殖曲線

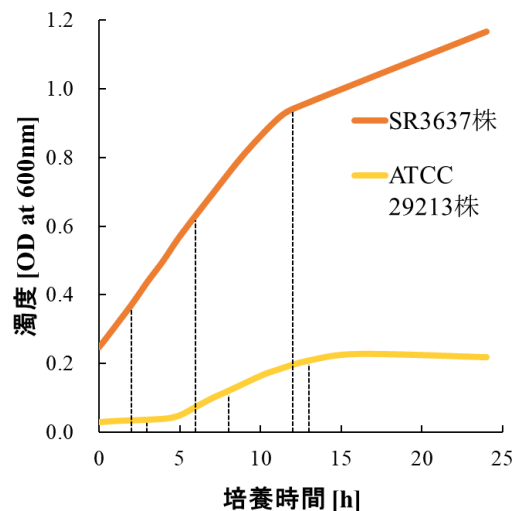


Fig. 3 黄色ブドウ球菌の増殖曲線

Fig. 2, 3 に濁度を指標とした緑膿菌と黄色ブドウ球菌の菌株ごとの増殖曲線を示す。これらの結果から、SPECT 用放射性医薬品の細菌への経時的集積実験での培養時間は、誘導期、対数増殖期、定常期として、緑膿菌 SR24 株では 1, 3, 6 時間、PA01 株では 2, 6, 12 時間、黄色ブドウ球菌 SR3637 株では 2, 6, 12 時間、ATCC29213 株では 3, 8, 13 時間をそれぞれ設定した。

### III. SPECT 用放射性医薬品の細菌への経時的集積実験

#### A) 検討方法

細菌にはIIで選択した、緑膿菌 SR24 株、PA01 株と黄色ブドウ球菌 SR3637 株、ATCC29213 株を用い、前々培養、前培養を行った。本培養では培養培地である 5 mL のアミノ酸不含 D-MEM に前培養菌液を加え、160 rpm, 37 °C で振盪培養した。それぞれの増殖活性と集積量の関連性を調べるため、菌の培養時間は II-B で設定した誘導期、対数増殖期、定常期の 3 点とした。各培養時間経過後、臨床でよく用いられる 9 種類の SPECT 用放射性医薬品を投与し、37 °C の温浴中で穏やかに浸透しながら、5 分間取り込ませ、7000 G, 4 °C で 10 分間遠心分離した後、上清を除き、ペレットをほぐして 0.1 N NaOH 水溶液 (Nacalai tesque) を 1.0 mL 加えて細菌を溶解し、オートウェル  $\gamma$  カウンタ (AccuFLEX ARC-7010, Aloka medical) で細菌に集積した放射能を測定した。

#### B) 結果と考察

細菌への経時的集積実験を行った結果、15-(4- $^{123}\text{I}$ -iodophenyl)-3(R,S)-methyl-penta-decanoic acid ( $^{123}\text{I}$ -BMIPP),  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -dimercaptosuccinic-acid-galactosyl-human-serum-albumin ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -GSA),  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -phytate ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -フチン酸) の 3 製剤が細菌に高集積を示した。これら 3 製剤の緑膿菌と黄色ブドウ球菌への集積を Fig. 4-6 に示す。 $^{123}\text{I}$ -BMIPP は、集積実験で検討した 9 製剤の中でも顕著な高集積を示した。Fig. 4 に示すように、緑膿菌と黄色ブドウ球菌では菌株に関わらず、誘導期から対数増殖期にかけて細菌の集積が増加し、定常期でも高集積を保ち、増殖曲線に類似した集積の増加傾向が認められた。この結果より、 $^{123}\text{I}$ -BMIPP は菌種や菌株によらず一定の高集積が得られるため、増殖活性を反映した感染部位の特定に適しており、感染スクリーニング検査や感染判明後のフォローアップに応用できると考えられた。

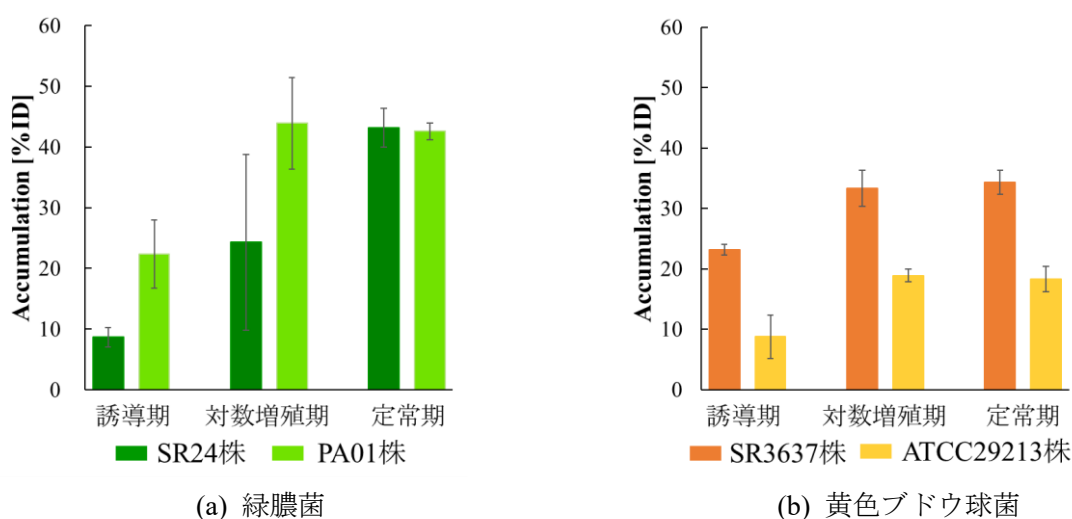


Fig. 4  $^{123}\text{I}$ -BMIPP のモデル細菌への集積

一方、 $^{99m}\text{Tc}$ -GSA は緑膿菌 SR24 株において菌の増加に伴って集積が増加したのに対し、PA01 株においては菌の増加に伴って集積が減少した (Fig. 5 (a))。黄色ブドウ球菌では、ATCC29213 株において菌数が増えるにつれて  $^{99m}\text{Tc}$ -GSA の集積が減少したが、SR3637 株では常に集積が 1.0 % 未満であり、菌株間で集積の程度が異なるという結果が得られた (Fig. 5 (b))。以上のことから、 $^{99m}\text{Tc}$ -GSA は菌株間の鑑別診断に応用できる可能性が示された。

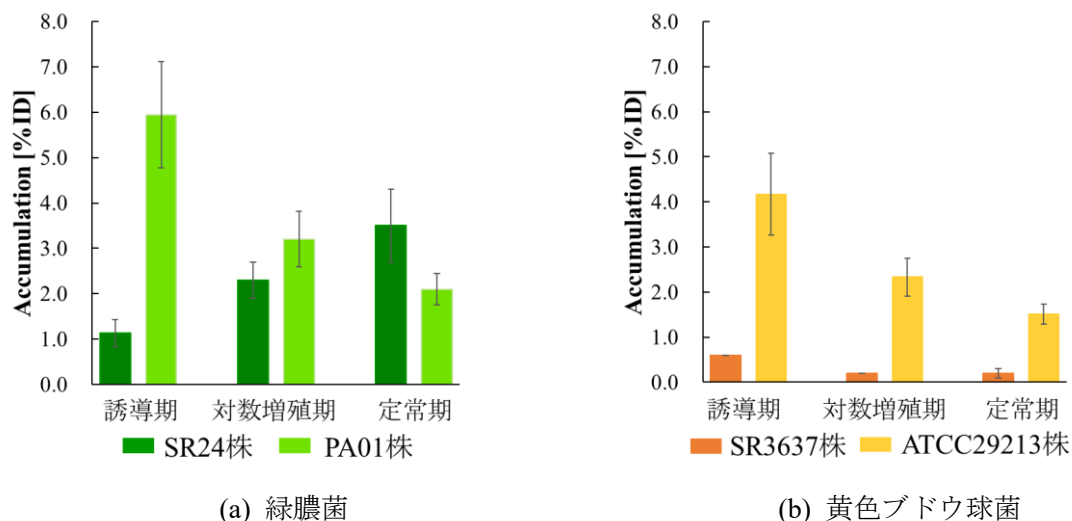


Fig. 5  $^{99m}\text{Tc}$ -GSA のモデル細菌への集積

また、 $^{99m}\text{Tc}$ -フチン酸では、Fig. 6 より緑膿菌と黄色ブドウ球菌のどちらにおいても増殖活性との関連性が見られず、常に一定以上の集積が得られたが、 $^{99m}\text{Tc}$ -GSA とは異なり、菌株ではなく緑膿菌と黄色ブドウ球菌といった菌種によって集積の程度が異なった。この結果より、 $^{99m}\text{Tc}$ -フチン酸は菌種間の鑑別診断に応用できる可能性が示された。

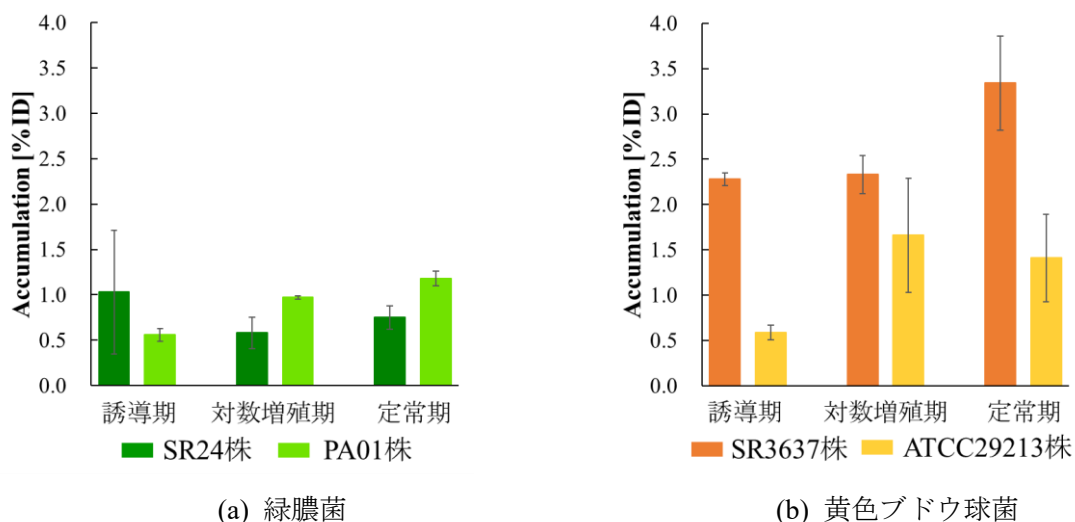


Fig. 6  $^{99m}\text{Tc}$ -フチン酸のモデル細菌への集積

#### IV. 結語

緑膿菌と黄色ブドウ球菌への放射性医薬品集積を比較した結果、SPECT用放射性医薬品ごとに異なる集積傾向が確認できた。以上のことから、細菌感染症の画像診断においてSPECT用放射性医薬品を応用でき、感染部位の特定のみならず、菌種、菌株の鑑別診断に繋がる可能性が示された。

#### V. 謝辞

本研究を終えるにあたりご指導くださいました川井恵一教授、小林正和准教授、水谷明日香助教、検査技術科学岡本研究室と本研究室の方々に心より御礼申し上げます。

#### VI. 参考文献

- 1) Stevens DL. Invasive group A streptococcus infections. *Clin Infect Dis*. 14(1): 2-11; 1992.
- 2) Berrevoets MAH, Kouijzer IJE, Aarntzen EHJG, et al. <sup>18</sup>F-FDG PET/CT optimizes treatment in staphylococcus aureus bacteremia and is associated with reduced mortality. *J Nucl Med*. 58(9): 1504-1510; 2017.
- 3) 湯浅 善恵. 細菌とヒト体細胞との間におけるアミノ酸光学異性体の集積能の相違に関する検討. 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科保健学専攻修士論文. 2019.
- 4) 嶋田 高広, 松村 到. 緑膿菌の免疫回避機構. *日本臨床免疫学会会誌*. 37(1): 33-41; 2014.
- 5) Lowy FD. Staphylococcus aureus infections. *N Engl J Med*. 339(8): 520-532; 1998.