

症例報告

16S リボゾーマル RNA 遺伝子解析により *Porphyromonas* と *Fusobacterium* との混合感染が示唆された硬膜下膿瘍の 1 例相場 彩子¹⁾ 渡邊 由佳¹⁾ 小鷹 昌明^{1)*} 中村 利生²⁾ 平田 幸一¹⁾

要旨：症例は 24 歳女性である。急性の発熱と頭痛、意識障害にて入院した。齲歯から続発した前頭洞炎、および上顎洞炎、さらに硬膜下膿瘍へと進展した細菌性髄膜脳炎と診断したが、脳脊髄液や膿瘍からの塗抹染色検査では起因菌は検出できず、培養でも同定することができなかった。16S リボゾーマル RNA の遺伝子解析により、口腔内常在菌である *Porphyromonas* と *Fusobacterium* とが同定された。緊急開頭による洗浄術をおこない、より適切な抗菌薬を選択することができた。硬膜下膿瘍はときに急激に拡大するため、外科療法の機会を逸することのないよう留意するとともに、細菌の同定においては、迅速な結果の期待できる遺伝子解析を積極的に活用すべきと考えられた。

(臨床神経 2010;50:311-314)

Key words：硬膜下膿瘍、副鼻腔炎、*Porphyromonas*、*Fusobacterium*、16S リボゾーマル RNA 遺伝子解析

はじめに

中枢神経感染症は、ときに進行が速く致死的経過をきたすことがあり、外科手術の機会を逸さないよう留意するとともに、病原微生物を同定することが抗菌薬の選択にきわめて重要である¹⁾²⁾。しかしながら、通常の塗抹・培養法では菌種が同定できない例もあり、治療に難渋するばあひも少なくない。われわれは、重篤化した硬膜下膿瘍、およびそれともなう細菌性髄膜脳炎の患者で、塗抹染色検査と培養検査とにおいて起因菌の同定ができずに 16S リボゾーマル RNA (16S rRNA) 遺伝子解析をもちいて菌種を同定し、より適切な抗菌薬を選択できた症例を経験した。今後、迅速な結果の期待できる遺伝子解析による細菌同定法の実践的な運用を拡大すべきと考えたので報告する。

症 例

症例：24 歳、女性

主訴：発熱、意識障害

既往歴：小児期に気管支喘息、現在は服薬なし。

現病歴 (Fig. 1)：某年 4 月 5 日から 38℃ の発熱があり、近医内科から処方された総合感冒薬と解熱薬とを服用していた。10 日頃より右眼の奥が痛み、高熱も続くため近医脳神経外科を受診した。頭部 CT 上、右上顎洞に副鼻腔炎をみとめた

ため、塩酸セフカペンピボキシル (経口セフェム系薬) を処方され帰宅した。その後も解熱せず、頭痛が増強し、嘔吐が出現したため、再度近医の内科を受診した。項部硬直を指摘され、16 日当院神経内科へ救急搬送された。

入院時現症：体温 39.8℃、脈拍 93/分・整、血圧 158/80 mmHg。右頬部は軽度腫脹し、叩打痛をみとめた。右上顎第 2 大臼歯と第 3 大臼歯を中心に高度な齲歯が確認された。頸部リンパ節は触知せず、呼吸音も正常で、心雑音はなかった。意識レベルは傾眠状態で、項部硬直と Kernig 徴候とが陽性であった。脳神経領域に麻痺はなく、うっ血乳頭はなかった。運動系では、筋力低下や腱反射の亢進・低下はなく、感覚・自律神経系にも異常はなかった。

入院時検査所見：末梢血検査では、WBC 14,000/μl (好中球 83.6%)、CRP 31.89mg/dl と高度な炎症反応がみられ、脳脊髄液検査では、外観はキサントクロミー、初圧 330mmHg、細胞数 226/μl (多核球 159/μl)、糖 48mg/dl (同時血糖 114mg/dl) であった。頭部 MRI T₁ 強調画像がドリニウム造影像において、左前頭葉から側頭葉の脳表、半球間裂と小脳テントへと連続する髄膜の増強効果をみとめた。内部は低信号域を示し、硬膜下膿瘍の存在が示唆された (Fig. 2A)。副鼻腔内の所見として、前頭洞炎と上顎洞炎とが確認できた。脳脊髄液や血液、副鼻腔内視鏡下生検からえられた膿瘍の塗抹標本によるグラム染色では、起因菌は検出できず、嫌気性培養をふくむ後の培養でも同定することができなかった。

入院後経過：身体所見、および頭部 MRI 所見、脳脊髄液所

*Corresponding author: 獨協医科大学神経内科 [〒321-0293 栃木県下都賀郡壬生町北小林 880]

¹⁾ 獨協医科大学神経内科²⁾ リハビリテーション天草病院脳神経内科

(受付日：2009 年 11 月 11 日)

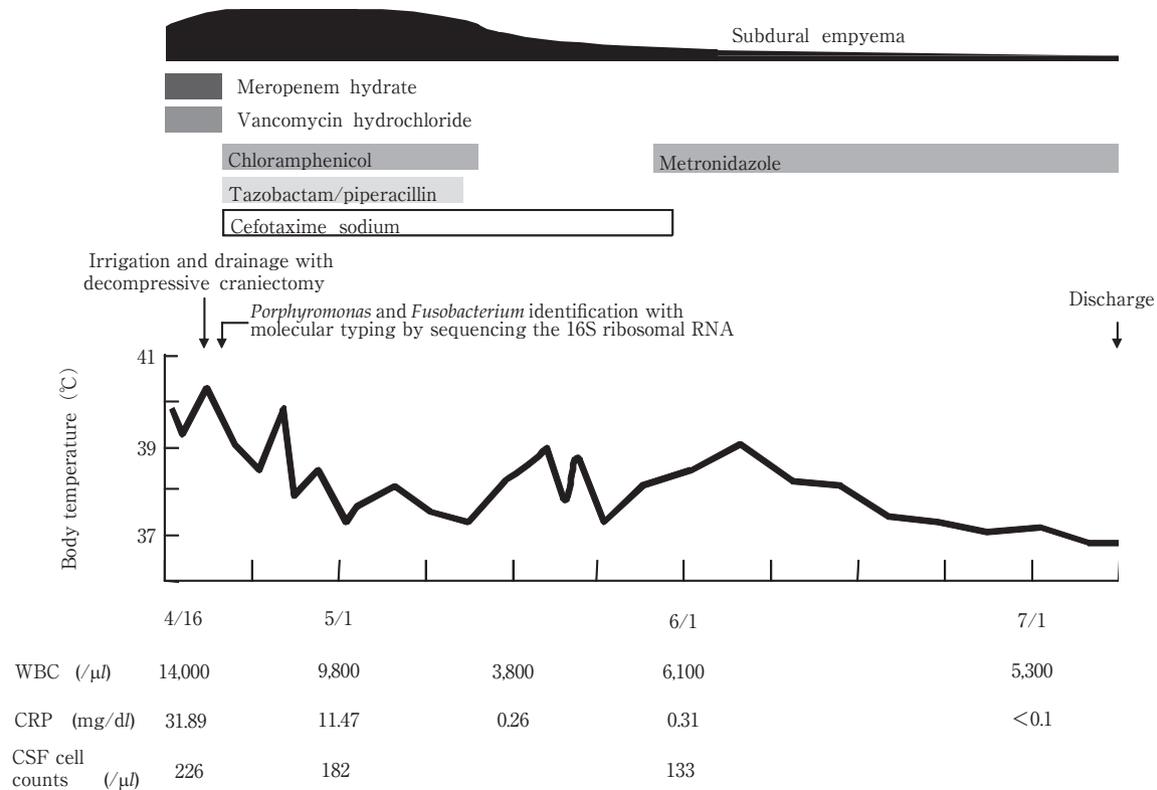


Fig. 1 Clinical course.

見より、齶菌から副鼻腔炎を経て波及した硬膜下膿瘍と、それにもなう細菌性髄膜脳炎と診断された。メロペネム三水化物（カルバペネム系薬）6g/日と塩酸バンコマイシン（ペプチド系薬）3g/日にて治療を開始したが、4月19日に体温は40°Cに上昇し、運動性失語が出現した。頭部MRIの再検をおこない、左大脳半球の浮腫と膿瘍の拡大とをみとめた。このため緊急開頭による外減圧と排膿洗浄とを施行し、同時に右副鼻腔開窓術をおこなった。手術中、硬膜下に形成された黄緑粘調の膿瘍が確認され、採取した膿瘍および副鼻腔からの膿汁をもちいて細菌学的検査を再検したが、塗抹染色ならびに培養においても起因菌を同定することができなかった。

このため、16S rRNA 遺伝子解析をもちいて菌の同定を試みた。膿瘍および鼻汁よりえられた検体からDNAを抽出し、PCRにて16S rRNAの増幅をおこなった。精製後、遺伝子解析装置により16S rRNAの塩基配列を読み取り、インターネットを通してBLAST (basic local alignment search tool)³⁾のデータベースをもちいて相同性を検索した。結果として、16S rRNA 遺伝子の塩基配列は、*Porphyromonas* と *Fusobacterium* とに99% 相同した。

嫌気性菌を標的にクロラムフェニコール1.5g/日を追加し、タゾバクタムナトリウム・ピララシリンナトリウム配合 (TAZ/PIPC) (β -ラクタマーゼ阻害薬配合剤)7.5g/日、セフトキシムナトリウム (CTX) (第三世代セフェム系薬)3g/日に切りかえた。開頭減圧術直後より運動性失語は改善した。その後、TAZ/PIPCを原因とする薬疹が現れたので、CTXのみを

継続した。徐々に発熱と頭痛は軽減し、5月26日からメトロニダゾール (1g/日) を追加し、28日の脳脊髄液では、細胞数は182/ μl まで低下した。左側頭部を中心とする頭痛は残存したが、アセトアミノフェンの服用で対処できるようになったため、7月8日、自宅に退院した。翌年の4月11日、頭部MRIの再検では硬膜下膿瘍は軽減し (Fig. 2B)、3年経過した時点においても再燃はみられていない。

考 察

副鼻腔炎に関連した硬膜下膿瘍は、副鼻腔から還流を受ける粘膜静脈に生じた敗血症性血栓性静脈炎が逆行性に頭蓋内に広がるか、副鼻腔に隣接する骨髄炎から隣接する脳領域へと炎症が波及することで発生する⁴⁾。本症例の感染経路は齶菌から副鼻腔炎へ、その後硬膜下膿瘍、髄膜脳炎へと直接浸潤したことが推測された。硬膜下膿瘍は比較的まれな疾患であり、頭蓋内感染症の15%にみられる⁵⁾。ときに急激な経過をたどり予後不良となるため、適切な抗菌薬とともに脳外科的な緊急治療 (ドレナージや開頭術) によって膿瘍を直ちに除去することが薦められている¹⁾²⁾。本症例においても、起因菌の同定とその抗菌薬の選択作業と並行して、緊急開頭手術による外減圧と排膿洗浄とをおこなうことで、後遺症なく救命しえた。内科的治療にもかかわらず意識障害が悪化したり、膿瘍拡大をみとめたりした症例では時期を逸さない外科治療の重要性を改めて強調したい。

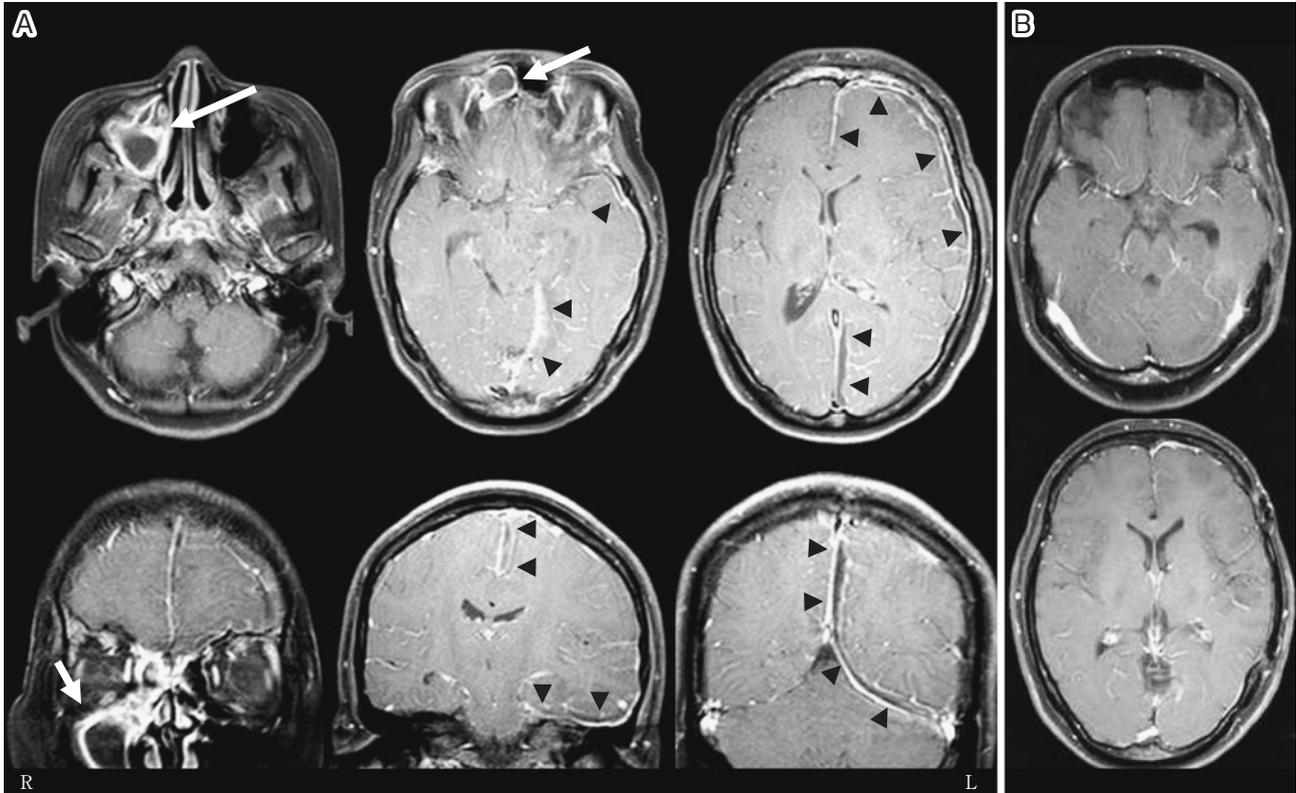


Fig. 2 MRI findings of the subdural empyema before and after treatment.

Gadolinium-enhanced T1-weighted images (TR = 735 msec, TE = 15 msec) obtained at admission (A) and 3 months of irrigation, drainage and antibiotic therapy (B) shows significant reductions in contrast enhancement in the left frontal to temporal lobes leptomeninges and interhemispheric fissure (arrowheads) and sinusitis (arrows), and resolution of the subdural empyema.

本症例では、培養にて同定できなかった起因菌を、細菌の 16S rRNA 遺伝子の塩基配列を決定したうえで相同性検索をおこなうことにより微生物種を推定できたことも特記できる。*Porphyromonas* と *Fusobacterium* とは口腔内常在菌であり、両者は嫌気性の菌列病関連細菌である。若年者における硬膜下膿瘍の原因には副鼻腔炎が多く、嫌気性あるいは微好気性連鎖球菌、とくに *Streptococcus milleri* group (*S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius* の 3 菌種の総称) の感染で発症する例が多い⁴⁾。しかしながら、齲歯からの進展では、嫌気性菌をふくむ多種の細菌の混合感染もみられ²⁾⁶⁾、本症例では 2 菌の混合感染であることがわかった。

細菌性髄膜炎のばあい、嫌気性菌を強くうたがわなければ、積極的な選択培地による嫌気性培養をおこなうことは少なく、本症例においても通常の嫌気性培養法では起因菌の同定ができなかった。実際に、硬膜下膿瘍では 3 分の 1 近くの症例で培養結果が陰性になることがあり、十分な嫌気培養が困難なことが指摘されている¹⁾。理由として、嫌気性菌検査は、①大気に触れると急速に死滅する菌種が多いため迅速な処理が必要である、②ヒトの常在菌叢を構成する菌種が多いため分離菌を同定しても臨床的意義を判断できない、③分離培養に時間を要する菌種が多いため検査結果がえられるまでに時間

を要する、④分離培養や同定に高価な試薬が必要なため検査に経費がかかる、⑤分離や同定が困難な菌種が多い、などがある⁷⁾。培養には通常 4~7 日の期間がかかり、とくに臨床の現場においては、初期治療に間に合わないことが問題となるが、遺伝子解析は同定までの期間を 1~2 日に短縮することができる。

16S rRNA 遺伝子解析とは、DNA 塩基配列に基づいて単離菌株の同定をおこなう方法である⁸⁾。単離菌体から DNA を抽出し、rRNA 遺伝子を PCR にて増幅する。その後、PCR 増幅産物の塩基配列を解析し、データベースとの照合をおこない、相同性を検索することで細菌の検出や種の違いを識別する。rRNA はリボソームを構成する RNA であり、RNA としては生体内でもっとも大量に存在し、原核生物の rRNA では 23S, 16S, 5S の 3 種がある。16S rRNA は約 1,540 の塩基対から構成され、適当なサイズであることや保存領域や可変領域のデータベースも充実していることから、塩基配列を解読しやすく相同性解析に繁用されている。遺伝子検索により早く起因菌が同定できれば、広域スペクトルを有する抗菌薬でない、より適切な薬剤が選択できる。さらに、薬剤感受性はしらべられないものの、抗菌薬使用後も解析が可能であり、すでに抗菌薬の投与を受けている患者において良い適応がある。

Fusobacterium や *Porphyromonas* の治療には、嫌気性グラム陰性桿菌を標的においた第三世代セファロsporin系薬やメトロニダゾールが望ましいとされており¹⁾²⁾、本症例においても開頭による排膿洗浄に加えてTAZ/PIPC, CTX, CP, メトロニダゾールの併用療法にて改善した。歯列病のあるばあいには、口腔内常在菌の *Fusobacterium* や *Porphyromonas* などの嫌気性菌の同定がとくに重要であり、その際には16S rRNA 遺伝子解析が迅速性のうえでは有用である。緊急性の高い重篤な中枢神経感染症や抗菌薬の開始された症例では積極的におこなうべきであり、今後、幅広い実用性を期待したい。

謝辞：16S rRNA 遺伝子解析を施行いただいた、獨協医科大学感染防止対策課の吉田 敦先生、ならびに獨協医科大学臨床検査医学の菱沼 昭先生に深謝いたします。

文 献

1) Roos KL, Tyler KL. Meningitis, encephalitis, brain abscess, and empyema. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, et al, editors. Harrison's principles of internal medicine. 17th ed. New York, USA: 2008. p. 2621-2641.

- 2) Tunkel AR. Subdural empyema, epidural abscess, and suppurative intracranial thrombophlebitis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 6th ed. Philadelphia, USA: 2005. p. 1164-1171.
- 3) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi> (2007年4月21日)
- 4) Bernardini GL. Focal infections. In: Rowland LP, editors. Merritt's neurology. 11th ed. Philadelphia, USA: 2005. p. 167-175.
- 5) Nathoo N, Nadvi SS, van Dellen JR, et al. Intracranial subdural empyemas in the era of computed tomography. A review of 699 cases. Neurosurgery 1999;44:529-535.
- 6) Brook I. Sinusitis of odontogenic origin. Otolaryngol Head Neck Surg 2006;135:349-355.
- 7) 菅野治重. 嫌気性菌感染症の病原体検査の問題点と将来展望. モダンメディア 2007;53:307-314.
- 8) 江崎孝行. 細菌の分類と同定. 平松啓一, 中込 治, 編. 標準微生物学. 東京: 医学書院; 2009. p. 131-141.

Abstract

A case of subdural empyema caused by *Porphyromonas* and *Fusobacterium* identified by 16S ribosomal RNA gene sequence analysis

Saiko Aiba, M.D.¹⁾, Yuka Watanabe, M.D.¹⁾, Masaaki Odaka, M.D., Ph.D.¹⁾,
Toshiki Nakamura, M.D., Ph.D.²⁾ and Koichi Hirata, M.D., Ph.D.¹⁾

¹⁾Department of Neurology, Dokkyo Medical University

²⁾Department of Neurology, Rehabilitation Amakusa Hospital

A 24-year-old woman presented subdural empyema developing from sinusitis caused by *Porphyromonas* and *Fusobacterium* infection. She experienced fever and progressive headache with gradually worsening symptoms. Neurological examination revealed drowsiness and neck stiffness. A CSF examination detected pleocytosis and a low glucose level. Gadolinium-enhanced T₁-weighted images from brain MRI showed thickening enhancement at the leptomeninges in the left frontal to temporal lobes and interhemispheric fissure with edema. Based on the diagnosis of bacterial meningoencephalitis and subdural empyema developing from sinusitis primary to odontogenic infection, she received antibacterial chemotherapy with meropenem hydrate and vancomycin hydrochloride, after which motor aphasia and consciousness disturbance occurred. No bacteria were isolated from a trans-sphenoidal biopsy specimen and CSF culture. Molecular typing also was performed by sequencing the 16S ribosomal RNA intergenic spacer region, and *Porphyromonas* and *Fusobacterium* were identified. She was given cephalosporin and metronidazol, after which her neurological symptoms and signs gradually lessened. Physicians need to be aware that patients may develop subdural empyema subsequent to sinusitis associated with *Porphyromonas* and *Fusobacterium* infection and that amplification and sequence analysis of partial bacterial 16S ribosomal RNA gene should be examined when no bacteria is identified by culture.

(Clin Neurol 2010;50:311-314)

Key words: subdural empyema, sinusitis, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, 16S ribosomal RNA gene analysis