

20020625

厚生科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

## 髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検出方法の研究

平成12～14年度 総合研究報告書

平成14年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 益川邦彦（平成14年度）

主任研究者 山井志朗（平成12・13年度）

平成15（2003）年3月

# 目 次

I. 総合研究報告		
髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検出方法の研究	山井志朗 (平成 12・13 年度)	1
主任研究者	神奈川県衛生研究所細菌病理部長	
主任研究者	神奈川県衛生研究所長	益川邦彦 (平成 14 年度)
II. 平成 14 年度総括報告		
髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検出方法の研究		13
主任研究者	神奈川県衛生研究所長	益川邦彦
III. 分担研究報告		
1. 2000 年から 2003 年までに日本国内の健常者及び患者から単離された 髄膜炎菌の MLST 法を用いた分子疫学的分類に関する研究		21
国立感染症研究所細菌第一部長	渡辺治雄	
2. 1974 年から 2003 年までに日本国内で分離・保存された髄膜炎菌株の MLST 法を用いた分子疫学的分類に関する研究		31
国立感染症研究所細菌第一部長	渡辺治雄	
3. PCR 法による髄液からの髄膜炎菌病原体の遺伝子検出の検討		45
聖マリアンナ医科大学微生物学教室教授	中島秀喜	
4. 髄膜炎菌性髄膜炎検査法の発生動向調査及び検出方法の研究		53
愛媛県立衛生環境研究所長	井上博雄	
5. 髄膜炎菌の国際間比較研究		67
長崎大学熱帯医学研究所教授	永武 毅	
6. 髄膜炎菌の薬剤感受性に関する検討		71
横浜市立市民病院感染症部長	相楽裕子	
7. 髄膜炎菌検査法に関する外部精度管理調査		81
神奈川県衛生研究所長	益川邦彦	
IV. 研究の刊行に関する一覧表		85

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検出方法の研究  
総合研究報告書

主任研究者 山井志朗 神奈川県衛生研究所細菌病理部長（平成 12・13 年度）  
益川邦彦 神奈川県衛生研究所長（平成 14 年度）

研究要旨

平成 12 年度から平成 14 年度まで、細菌性髄膜炎の主要な原因細菌である髄膜炎菌の国内での発生・保有状況の把握、検査法の普及と検査並びに監視体制の確立、診断・治療法の検討を主体として、患者発生という健康危機管理状況に柔軟に対応できる体制づくりを目的として研究を行った。本研究では、検査法の検討とマニュアルの作成、検査法の研修会の開催、健康保菌者調査並びに型別法の検討、分離菌株の MLST の解析、髄膜炎菌鑑別法の検討、診断法の検討、薬剤感受性の測定と治療法の検討、医療機関への髄膜炎菌感染症に関するアンケート調査、海外（アジアおよびアフリカ）における髄膜炎に関する調査等を行った。

分担研究者

渡邊治雄 国立感染症研究所細菌第一部長  
嶋田甚五郎 聖マリアンナ医科大学微生物学教室教授  
中島秀喜 聖マリアンナ医科大学微生物学教室教授  
井上博雄 愛媛県立衛生環境研究所長  
永武 毅 長崎大学熱帯医学研究所教授  
相楽裕子 横浜市立市民病院感染症部長  
春田恒和 神戸市立中央市民病院感染症科部長

A. 研究目的

髄膜炎菌性髄膜炎を始めとする髄膜炎菌感染症は、たとえ医療環境が整備された国にあっても、致命率が 5～15%に達する、生命を脅かす可能性の高い感染症である。髄膜炎菌は世界中に分布しており、世界各地で流行性に患者が発生している。例えば、いわゆる髄膜炎ベルトと呼ばれているアフリカ中部地域では、A 群髄膜炎菌により約 7～14 年の間隔で大規模な流行がある。メ

ッカ巡礼者に発生した髄膜炎菌感染症の流行には、W135 群の髄膜炎菌が関与していた。1970 年代から 1980 年代に北欧を中心に発生した流行では、ET-5 というタイプの B 群髄膜炎菌が関与していた。

わが国においては、髄膜炎菌感染症は以前は流行性髄膜炎として猛威を振るっていた感染症であった。近年では医療技術の進歩や治療法の普及などにより患者は激減している。しかし、海外の状況から国内で大

規模な流行が発生する可能性を否定することはできない。

本研究は、海外で多数発生しており、国内においても過去において多数発生していた髄膜炎菌性髄膜炎の症例が、近年において国内での症例報告数が少ない原因を探るとともに、検査法を検討して標準的な検査法を確立し、これを地方衛生研究所に普及し、流行の発生と耐性菌出現等に対する監視体制を確立して現行の感染症発生動向調査事業において正確な情報の収集が可能となる体制の強化を図ることを目的として研究を進めた。また、わが国における患者の病型の分布や健康保菌者の実態を把握し、感染症発生の潜在的な可能性を探り、さらに、耐性化の状況を調査して治療に必要な情報の提供を行った。髄膜炎菌感染症患者および保菌者からの分離菌の疫学マーカーや病原性等の性状を解析することにより、これまでに得られなかった髄膜炎菌性髄膜炎に関する基礎的データを蓄積して、流行発生の可能性やワクチン導入の必要性を探ることも目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 検査法の普及

地方衛生研究所は地域の衛生行政における科学的・技術的中核機関としての機能を有し、感染症発生動向調査事業あるいは広く感染症に係る衛生行政においては病原体を解析するといった重要な役割を担っている。本研究では、全国の地方衛生研究所を中心とした髄膜炎菌の検査体制を確立することを目的として、導入することが適切と考えられる髄膜炎菌の標準的な検査法を検討した上で検査法マニュアルを作成した。これを用いて、地方衛生研究所の細菌検査担当者を対象にした検査法の普及のための

研修会を全国4カ所で開催した。さらに、疫学的解析に必要な血清群別用血清の国内における安定的な供給を目的として、その作製を試みた。

### 1) 検査法の検討とマニュアルの作成

地方衛生研究所において標準的に採用できる髄膜炎菌検査法（鑑別法、型別法、保存法等）を検討した。検討は、成書、研修用テキスト、各種マニュアルを参考にし、実際に検査を進める際に容易に導入可能な方法を採用するように努めた。

検討した検査法に基づいてマニュアルを作成し、受講者に配付して研修会で使用した。

### 2) 検査法の研修会の開催

全国の地方衛生研究所への検査法の普及と検査体制の確立を目的として、地方衛生研究所の細菌検査担当者を対象にした研修会を開催した。研修会は2日間の日程で、全国4カ所で開催した。研修会の講師は本研究班の研究者および協力研究者が務め、開催地へ出向いた。研修には上記の検査法マニュアルを使用し、マニュアルの評価を同時に行った。

### 3) 血清群別用血清の作製

髄膜炎菌の標準株を用いてウサギを免疫し、群別用血清の作製を試みた。血清の力価と特異性の確認はスライド凝集反応により行い、免疫に使用した菌株と分離株を用いて、各血清のスライド凝集反応による反応性を確認した。血清の交差性は免疫に用いた菌株の菌体を血清と混合して非特異凝集素を除去した。

## 2. 保菌者調査

### 1) 健康保菌者調査

わが国における髄膜炎菌感染の現状把握は不十分であり、特に細菌学的監視体制の強化が求められている。そこで、検査法の普及を図るとともに特に健康保菌者の実態把握を行い、流行予防に資することを目的として、3年間にわたり調査を実施した。山形県衛生研究所、福島県衛生公害研究所、神奈川県衛生研究所、石川県保健環境センター、岡山県環境保健センター、香川県衛生研究所、愛媛県立衛生環境研究所、長崎県衛生公害研究所、大分県衛生環境研究センターおよび沖縄県衛生環境研究所の10地方衛生研究所が調査を実施した。調査は小児から高年齢層までの幅広い年齢層を対象としたが、特に高校、短大、大学等の青年層を中心にした。調査対象者に協力を求め、咽頭粘液を採取して調査材料とした。調査の対象菌種は、髄膜炎菌とともに比較する目的で細菌性髄膜炎の主要原因菌であるインフルエンザ菌および肺炎球菌を含むレンサ球菌とした。

咽頭粘液の採取に先立ち、研究の目的と得られたデータの扱いについて説明し、インフォームドコンセントとして協力者が「調査協力承諾書」に署名したものを回収した。承諾書が得られた協力者から咽頭粘液を滅菌綿棒で採取した。髄膜炎菌の分離・同定は、各ブロックで行なわれた研修会での方法に準じて行った。

### 2) 呼吸器感染症患者保菌者調査

抗生物質の薬剤感受性調査において、一次医療機関である診療所および小規模医院を来院した呼吸器感染症患者の鼻咽頭検体から各種病原菌を分離し、薬剤感受性を調査している。この調査事業で採取された検体を用いて髄膜炎菌の分離を試み、呼吸器感染症患者における髄膜炎菌の保有状況を

調査した。

神戸市環境保健研究所および大分県衛生環境研究センターでは、内科あるいは小児科を受診した呼吸器感染症患者の同意を得た上で、患者の鼻咽頭検体から髄膜炎菌の分離を試みた。これにより呼吸器感染症患者における髄膜炎菌の保有状況を調査し、潜在的な髄膜炎菌感染症患者の存在を探った。

### 3. 病態の分布等に関するアンケート調査

患者の病態、病型の発生状況や分布を調査する目的で、救急告示病院で内科あるいは神経内科を設置する一般病床が100床以上の病院(2257施設)に対し、細菌性髄膜炎患者および髄膜炎菌の検出状況をアンケートにより調査し、解析を行った。

### 4. 診断法の検討

患者の髄液および血液からPCR法で髄膜炎菌の遺伝子を検出することにより髄膜炎菌感染症の診断を行うための基礎的検討を行った。髄液や血液中のPCR法の阻害物質を除去するために用いる前処理法の有効性を検討した。

### 5. 病院における監視体制の検討

髄膜炎菌患者サーベイとして、聖マリアンナ医科大学付属病院の神経内科、小児科および救命救急において、平成12年6月から平成13年3月までに髄膜炎で入院した患者を精査した。

### 6. 疫学マーカーの検討

髄膜炎菌感染症に関する疫学調査、流行株の解析、健康者の保菌状況の解析等には

疫学マーカーは不可欠である。髄膜炎菌の疫学マーカーには群別、Serotyping、Serosubtyping、Multilocus Enzyme Electrophoresis (MLEE)、Multilocus Sequence Typing (MLST)が主として用いられている。当研究班では、疫学調査における詳細な解析のために、MLST および Serotyping、Serosubtyping の導入を図った。

#### 1) MLST

解析システムの確立を目的として、平成13年度に分子疫学的マーカーとして近年開発された MLST の導入を試みた。基準株と健康保菌者由来株を用い、MLST 解析のために設置されたホームページに記載されている方法に準じ、実施法を改良しながら行った。髄膜炎菌のハウスキーピング酵素に関与する7つの遺伝子座の特定の配列部分の配列を解析し、得られた結果をホームページ上のデータベースに入力すると該当する ST (シークエンスタイプ) が知らされるようになっていく。

保存菌株192株について MLST 解析を行った。さらに MLST 解析のためのシークエンスの解読を委託により行い、研究班で結果の解析を行った。

#### 2) Serotyping および serosubtyping

血清型別法を実施できる体制を確立することを目的としてその導入を行い、収集株における血清型の分布や流行株等の検出状況を探った。神奈川県衛生研究所の髄膜炎菌収集・保存株のうち、1979年から1998年に分離された B 群の48株(臨床分離株35株、保菌者由来株13株)を用いた。型別用のモノクローナル抗体を用い、所定の方法でタイピングした。

#### 7. 髄膜炎菌感染症発生の要因に関する解析

髄膜炎菌感染症例由来の分離保存株の中から患者家族由来株に注目し、患者由来株と家族由来株の血清群、serotype と serosubtype および薬剤感受性値を比較して患者発生と家族の菌保有との関係を調べた。

#### 8. 薬剤感受性値の測定

本研究は、収集株の各種抗生剤に対する感受性値を測定し、耐性菌の存在や感受性の低下の動向を調べ、髄膜炎菌感染症の治療が確実に行われるための情報の収集を目的とした。

感受性値測定の対象とした薬剤は Benzylpenicillin (PCG)、Ampicillin (ABPC)、Cefazolin (CEZ)、Cefuroxime (CXM)、Cefotaxime (CTX)、Nalidixic acid (NA)、Norfloxacin (NFLX)、Tetracycline (TC)、Erythromycin (EM)、Chloramphenicol (CP)、Rifampicin (RFP)、Sulfamethoxazole (SMX)、Sulfamethoxazole/Trimethoprim (ST) とした。感受性値は、National Committee for Clinical Laboratory Standards が定める方法に準じて最小発育阻止濃度を測定した。

#### 9. 髄膜炎菌感染症の薬剤による治療に関する検討

平成12年度に行った髄膜炎菌の薬剤感受性値の測定の結果では、薬剤耐性菌や感受性低下株の存在が明らかとなった。そこで、血清群別、検出年代別および菌株由来別に感受性値の比較を行い、さらに髄膜炎菌感染症患者に対する抗生物質による治療法の検討を行った。

## 10. 髄膜炎菌の分類・鑑別に関する研究

髄膜炎菌の分類あるいは鑑別に重要なポイントとなる  $\gamma$ -glutamyl aminopeptidase を産生しないために誤同定されてしまった株が保菌者調査で見出されたため、保存菌株 230 株中の同様の変異を有する菌株の存在を調べた。さらに、 $\gamma$ -glutamyl aminopeptidase 関連遺伝子の変異を調べた。

### 11. 髄膜炎菌の国際間比較

急性呼吸器感染症の共同研究拠点として整備協力してきた世界各地の大学、研究施設を中心に髄膜炎菌サーベイランス事業の展開に着手した。タイ国などにおいて施設内流行や国境地帯での流行情報が得られているので、小児を中心とする保菌状況の調査を行った。

#### (倫理面への配慮)

本研究において、健康者および呼吸器感染症患者からの髄膜炎菌の分離を試みた。これらの調査の対象者に対して、咽頭粘液検体の採取時に研究の目的を明らかにし、研究協力に対する同意が得られた上で検体を採取した。調査への協力者の個人情報は一切外部に漏れることがないように厳重に扱った。さらに、呼吸器感染症患者の保菌調査では個人を特定できる情報は本研究には提供されていない。

菌株が由来する患者や保菌者について、個人が特定されるような情報は一切公表しないなど、対象者に不利益になるようなことがないように十分に配慮した。

## C. 研究結果

### 1. 検査法の普及

#### 1) 検査法の検討とマニュアルの作成

地方衛生研究所における検査体制の確立のために検査法を導入するという観点に立ち、成書、国立公衆衛生院で使用するテキスト、WHO と CDC が作成した検査法マニュアルおよび CDC ホームページ上の *Neisseria* 属菌検査法等を参考にして、標準的な方法として用いることができる検査法を検討した。

検査法の検討に基づいて、髄膜炎菌を含めた病原性 *Neisseria* 属菌を中心に、*Neisseria* 属菌検査法のマニュアルを作成した。マニュアルは解説編と実技編からなり、解説編では検査法の詳細を記述し、実技編では検査時に検査担当者が使いやすいように流れ図で検査の進め方を示した。

#### 2) *Neisseria* 属菌検査法の研修会の開催

地域（ブロック）毎に、全国の 4 ヶ所で研修会を開催した。開催場所と日程は、福島県衛生環境研究所（北海道・東北・新潟地区）では平成 12 年 11 月 16～17 日、石川県保健環境センター（東海・北陸地区）では平成 12 年 11 月 30 日～12 月 1 日、愛媛県立衛生環境研究所（中国・四国地区）では平成 12 年 11 月 9～10 日、大分県衛生環境センター（九州・沖縄地区）では平成 12 年 11 月 7～8 日であった。全国の 31 地方衛生研究所の合計 41 名の検査担当者が参加した。

研修会の中で、受講生から検査法、検査の進め方、検査の判定方法あるいはマニュアルの内容に関する質問が寄せられた。これらを参考にして、マニュアルの内容に加筆し、修正を加えた。

#### 3) 群別用血清の作製

スライド凝集反応により作製された各群

用の血清の反応性を調べたところ、反応性に差が見られた。試作した血清よりもさらに高力価の血清の作製が必要であることが示唆された。

## 2. 保菌者調査

### 1) 健康保菌者調査

平成 12 年度は、福島県（対象者 79 名：男性 32 名、女性 47 名）、神奈川県（対象者 1,157 名：男性 287 名、女性 870 名）、石川県（対象者 213 名：男性 24 名、女性 189 名）、香川県（対象者 55 名：男性 30 名、女性 25 名）、愛媛県（対象者 137 名：男性 32 名、女性 105 名）および大分県（対象者 70 名：男性 53 名、女性 17 名）の大学生等の 20 歳前後の年齢層を中心とした健康者合計 1,711 名（男性 458 名、女性 1,253 名）を対象にして、髄膜炎菌の保有状況を調査した。神奈川県で 3 名（0.3%）、愛媛県で 2 名（1.5%）、合わせてから 5 名（0.3%）から髄膜炎菌が検出された。神奈川県と愛媛県以外の地域での調査では髄膜炎菌は検出されなかった。

同時に検出を試みた *Haemophilus influenzae* および A 群、B 群、C 群、D 群、G 群あるいは F 群に属する *Streptococcus* sp の検出率はそれぞれ 1.2% と 10.0% であった。

平成 13 年度では、対象者は学生が主体で他に職員、在住外国人、幼少児、高齢者であった。総数 2,623 名（男 847 名、女 1,392 名、不明 384 名）のうち青年層（16～30 歳）1,794 名（男 504 名、女 1,108 名、不明 182 名）と 68% を占めた。神奈川の調査では青年層 609 名中 8 名、1.3%、愛媛の調査では青年層 473 名中 5 名、1.1% の保菌率であった。

集団別に見ると、A 大学 379 名中 4 名

（1.1%）、B 大学 82 名中 4 名（4.9%）、M 大学生 161 名中 2 名（1.2%）と一つの集団内で複数の保菌者がいて同一集団内での感染伝播が示唆された。また、M 大学生の 1 人は中国人名であった。

幼少児は神奈川・山形、高齢者については愛媛・沖縄で調査されたが保菌者は見出されなかった。

同時に検出を試みた *Haemophilus influenzae* および A 群、B 群、C 群、D 群、G 群あるいは F 群に属する *Streptococcus* sp の検出率はそれぞれ 0.9～21.3% と 0.9～20% であった。

平成 14 年度は、対象は大学生等青年集団が大半であるが、社会人、老健入所者であった。対象者の総数は 1,533 名（男 581 名、女 952 名）であり、このうち青年層（16～30 歳）は 1,269 名（男 440 名、女 829 名）で、全体の 82.8% を占めた。福島県の調査では 94 名中 1 名（1.1%）から、神奈川県調査では 172 名中 1 名（0.6%）から、愛媛県の調査では 506 名中 4 名（0.8%）から、沖縄県の調査では 85 名中 2 名（2.4%）から髄膜炎菌が検出された。

幼少児は大分県において、高齢者については山形県と沖縄県において調査の対象としたが、髄膜炎菌は検出できなかった。

同時に検出を試みた *Haemophilus influenzae* および A 群、B 群、C 群、D 群、G 群あるいは F 群に属する *Streptococcus* sp の検出率はそれぞれ 13.1% と 9.8% であった。

本調査の 3 年間の結果をまとめると、調査対象者の総数は 5,867 名（男 1,886 名、女 3,597 名、不明 384 名）で、26 名（0.4%）から髄膜炎菌が検出された。



## 2) 呼吸器感染症患者保菌者調査

診療所あるいは小規模医院を受診した患者から採取された 1,200 件の検体からは髄膜炎菌は検出されなかった。

神戸市および大分県において内科あるいは小児科を受診した患者から採取された 2,211 名の検体のうち救急外科病棟の 40 歳患者 1 名のみから髄膜炎菌が検出された。

## 3. 病態の分布等に関するアンケート調査

アンケートを依頼した 2,257 施設のうち、607 施設より回答があり、このうち 273 施設において過去に細菌性髄膜炎の症例を経験したとした。これには 105 例の髄膜炎菌感染症例と 214 例の髄膜炎菌検出例が含まれていた。髄膜炎菌感染症の 105 例のうち髄膜炎は 84 症例 (80.0%)、敗血症・DIC が 15 例 (14.3%)、呼吸器疾患が 3 例 (2.9%)、さらに尿道炎、剖検例、弁膜症が各 1 例 (1%) であった。髄膜炎菌が検出された 214 検体の内訳は髄液が 101 検体 (47.2%)、血液が 23 検体 (10.7%)、他に喀痰、咽頭、鼻腔、尿・尿道、膣分泌物、関節液、耳漏などからの検出が 90 例 (42.1%) であった。

## 4. 診断法の検討

平成 13 年度の検討に用いた PCR システムは、*N. meningitidis* と他の髄膜炎原因菌とを鑑別することができた。市販の前処理法であるアンプダイレクト法により、血液は 1 µl を検査の対象とするのが限界であったが、髄液は 10 µl まで検査することが可能であった。

平成 14 年度に、髄液からの髄膜炎菌の PCR 法による検出を検討したところ、髄液を希釈することで検出感度を上げることが可能であった。PCR buffer あるいはアンプ

ダイレクトによる希釈を行っても検出感度に差は見られなかった。

## 5. 病院における監視体制の検討

髄膜炎菌による髄膜炎患者は来院しなかったが、肺炎と敗血症を主徴として救命救急に搬入された患者の血液培養から髄膜炎菌が検出された。髄膜炎菌は入院時に実施した血液培養より検出された。

## 6. 疫学マーカーの検討

### 1) MLST

既に MLST の型が同定済の基準株を用いて、適切な結果が得られるかを解析するとともに、公開されている型別法の手順の簡略化を図った。その結果、7 遺伝子座を対象にした PCR 法を同時に行える条件を見出した。この条件により基準株を解析したところ、ST の正しい結果が得られた。

保存株の MLST を解析したところ、MLST のうち ST-23 complex の占める割合が最も高かったが、ほとんどが保菌者由来であった。次いで、ST-44 が約 20%、ST-32 と ST-198 が約 5% であった。

### 2) Serotyping および serosubtyping

収集株 48 株は serotype が 8 パターン、serosubtype が 17 パターンあり、組み合わせで 27 パターンが得られた。各パターンに判定された株数は 1~7 株であり、NG:NT:P1.15 が 7 株、NG:15:P1.6 が 4 株、B:NT:- と B:NT:P1.5,2 が 3 株であった。NG:NT:P1.15 を表現型とする株と同一クローンに由来すると考えられる B:NT:P1.15 を示す株の合わせて 8 株は、1982 年から 1990 年に都内、都下および千葉県 の 3 医療機関で分離された。

ET-5 complex に属する株が示すタイプ

である B:15:P1.7、B:15:P1.7,16 および B:NT:P1.7 を示した 4 株は National Institute of Public Health, Norway で MLEE により解析した結果、ET-5 complex であった。

#### 7. 髄膜炎菌感染症発生の要因に関する解析

髄膜炎菌感染症の 89 症例のうち 15 症例において患者の家族から分離した髄膜炎菌株が保存されていた。患者由来株と家族由来株の血清群、serotype および薬剤感受性値を比較して患者発生と家族の菌保有との関係を調べた。15 症例中 2 例は患者由来株は保存されておらず、13 例について解析した。13 例中 9 例 (69.2%) は患者由来株と患者の家族に由来する株が同一である可能性が高かった。

#### 8. 薬剤感受性値測定

PCG、ABPC、CEZ および EM に感受性が低下した株があり、PCG では 30.7%、EM では 4.8% が中等度耐性であった。さらに 7 株が TC に対して耐性であった。SMX では約 70% の株が耐性を示した。

CXM、CTX、NFLX、CP、RFP に対してはいずれの株も感受性であった。

#### 9. 髄膜炎菌感染症の薬剤による治療に関する検討

PCG に対する感受性の低下が見られ、髄膜炎菌性髄膜炎に対し PCG を第一選択とするには薬剤感受性の確認が必要と考えられた。今後ペニシリン系薬への耐性化が一段と進行すれば、CTX が第一選択となる可能性があることがみいだされた。

#### 10. 髄膜炎菌の分類・鑑別に関する研究

保存菌株 230 株中 4 株において  $\gamma$ -glutamyl aminopeptidase の活性が検出されなかった。このうち 3 株は生化学的性状のプロファイルから明らかに髄膜炎菌であった。関連遺伝子について PCR による増幅を試みたところ、2 株はコントロールと同じ長さのバンドが観察されたことから点変異があることが推測された。また 1 株はバンドが観察されなかったことから、プライマー部分の点変異あるいは欠損変異があるものと思われた。

#### 11. 髄膜炎菌の国際間比較

バングラディッシュにおいて小児髄膜炎の実態、抗菌化学療法等について報告した。タイやベトナムでは菌株の収集を行った。トルコとウガンダでは検査態勢の整備を行った。

タイ、バングラディッシュ、ベトナムはすでに ARI 起炎菌の多数の菌株と髄膜炎菌株が収集保存し、血清型、耐性遺伝子などの国際共同調査研究を展開した。チェンマイ大学医学部と共同でミャンマー国境地帯 (Khobdong Amphoe Phang) と市内 (Piengluang Amphoe Vienghang) の 2 ヶ所で小児の咽頭培養を実施したが、髄膜炎菌は検出されなかった。

#### D. 考察

本研究は、検査法を検討して標準的な検査法を確立し、これを地方衛生研究所に普及し、流行の発生と耐性菌出現等に対する監視体制を確立して現行の感染症発生動向調査事業において正確な情報の収集が可能となる体制の強化を図ることを目的とした。また、わが国における患者の病型の分布や

健康保菌者の実態を把握し、感染症発生の潜在的な可能性を探ってきた。さらに、耐性化の状況を調査して治療に必要な情報の提供を行い、分離菌の疫学マーカーや病原性等の性状を解析することにより、これまでに得られなかった髄膜炎菌性髄膜炎に関する基礎的データを蓄積して、流行発生の可能性やワクチン導入の必要性を探った。

髄膜炎菌感染症の検査体制および監視体制の強化を行うために、地方衛生研究所を対象にした検査法の普及を行ったが、その理由として以下の項目が挙げられる。

- (1) 衛生研究所は地方の技術的・科学的中核と位置付けられており、各種感染症の検査や疫学調査、対策に関してレファレンス機能を有する。
- (2) 菌株の収集・保存に関して中心的役割を担う可能性があり、そのための高度な技術を必要とする。
- (3) 後述の保菌者調査など、疫学調査を実施する機能を有している。
- (4) 上記の理由に対して、衛生研究所の感染症に関する業務の多くは下痢症であり、髄膜炎菌の検査法などに関しては種々の支援が必要である。

本研究により、地方衛生研究所における検査体制の強化を図り、検査法の普及を試みたが、健康保菌者調査の結果や外部精度管理調査の結果から、地方衛生研究所に髄膜炎菌の検査法は十分に普及・定着したものと考えられる。しかし、さらなる検査技術の定着と向上には、定期的な外部精度管理や検査技術に関する支援が不可欠である。

本研究では、わが国でこれまでほとんど調査が行われていなかった髄膜炎菌の健康保菌者調査を3年間にわたり全国で実施した。その結果、調査対象者5,867名のうち26名(0.4%)から髄膜炎菌を検出した。

この保有率は欧米諸国の10~30%と比較して非常に低い数値であった。MLSTの解析では、流行株と呼ばれるタイプの株が比較的高率に検出されているものの、健康者における保菌率が非常に低いことから、直ちにワクチンの導入を検討しなければならない状況にはないことが明らかとなった。しかし、今後、海外からの移入などによりMLSTの分布状況や健康者における保菌率は変化する可能性は否定できない。髄膜炎菌感染症の流行・発生動向を監視するために、恒常的なMLSTなどの疫学マーカーの解析や定期的な健康者における保菌状況の調査が必要と考えられる。

MLSTおよびserotypingといった髄膜炎菌の疫学マーカーは国内で分離された菌株について、これまでまったく解析されていなかった。本研究において、わが国の髄膜炎菌の疫学マーカーの解析を初めて行った。その結果、ST-44 complexやST-32 complexといった海外の流行の起因菌として知られているタイプと同じタイプに属する菌株が高率に存在していたことが明らかになった。これは、海外の流行がわが国にも波及している可能性があることを示唆していた。これらのことから、国内においても規模の大きい流行が年余にわたって発生する可能性があることが危惧される。

髄膜炎菌感染症は、感染症法の4類感染症(全数把握)に規定されている。その診断基準は「髄液からの菌の分離・同定」となっている。現行の基準に従えば、髄膜炎菌感染症の診断上は20%が、菌の検出に基づけば約50%が報告されていない可能性がある。すなわち、平成12年度から平成13年度に実施した髄膜炎菌感染症の病態の分布に関する調査では、髄膜炎は80.0%、敗血症・DICが14.3%、呼吸器疾患が2.9%と

分布していた。また、髄膜炎菌が検出された 214 検体の内訳は髄液が 47.2%、血液が 10.7%、その他が 42.1%であった。

感染症法の診断基準では「菌の分離・同定」となっているが、抗生物質投与後は菌が分離されない可能性が高い。また、髄膜炎菌の培養による鑑別には日数を要する。PCR 法などの遺伝子レベルの検出を用いて髄膜炎菌の特定の塩基配列を検出することで、死菌であっても迅速に診断することが可能である。今後、PCR 法による診断によっても届出が可能となるような検討も行われなければならないものと思われる。

患者と患者の家族に由来する髄膜炎菌を解析したところ、症例数は少ないものの、高い割合で患者由来株と家族由来株が同一である可能性が高かった。わが国においても髄膜炎菌感染症の発生に家族の菌保有者が重要な役割を演じている可能性を示唆するものであり、感染の拡大の予防において非常に重要なポイントとなると考えられる。すなわち、家族の潜在的な髄膜炎菌保有者が感染源となり、他の家族に菌株を伝播してその一部が発症するものと推測される。したがって、髄膜炎菌感染症の患者が発生した場合には、患者の家族を対象にした髄膜炎菌保有調査を積極的に実施することで菌保有者を確定することができる。これは菌保有者の発症を予防することのみならず、髄膜炎菌の伝播を防ぎ、新たな患者の発生を予防するために極めて重要であると考えられる。

過去に分離された髄膜炎菌の薬剤感受性を調べたところ、PCG などに対する感受性の低下や TC 耐性菌の存在が明らかとなった。薬剤に対するこうした変化は、治療効果に直接影響する。低感受性株や耐性株に感

染した患者に対して投薬しても効果が不十分となり、症例によっては治療が遅れて生命が脅かされる危険もある。髄膜炎菌感染症患者から分離される菌株を継続的に収集・保存し、上述の疫学マーカーとともに、薬剤感受性の動向を監視することが必要と考えられる。

$\gamma$ -glutamyl aminopeptidase は髄膜炎菌を含む類縁菌では髄膜炎菌にしか存在しないため、その酵素活性を指標にした髄膜炎菌の簡易診断法が確立され、既にメーカーよりキットとして市販されている。しかし、当該酵素の欠損した株が低率ではあるが存在していることが明らかとなった。簡易診断法による鑑別は、迅速性などの観点から普及すべき検査法ではあるが、正しく鑑別されない菌株があることを認識し、生化学的性状などにより確認することが求められる。

航空路の発展などにより、海外からの人の流入や国内から海外へ出る人がますます増加し、流出入が短時間に行われている。したがって、感染症を含めた海外の出来事は、即時にわが国に波及・影響することを容易に想像することができる。国内で分離された菌株の MLST などの解析は重要であるとともに、海外における感染症の解析を行うことは、対策として先手を打つといった方策を立てる上で極めて重要である。

## E. 結論

本研究では、髄膜炎菌感染症に関する発生动向調査ならびに検出方法の検討を主題目として、髄膜炎菌検査法の標準化、髄膜炎菌感染症の健常者における保菌状況、分離菌株の型別、薬剤感受性、髄膜炎菌感染

症患者の病態分布などについて、3年間にわたり解析・検討を重ねてきた。これらの調査ならびに研究の結果、いくつかの問題点が指摘された。平成11年度に施行された感染症法の見直しが現在進められていることから、研究班として以下のような提言を行う。

1) 感染症発生動向調査事業における髄膜炎菌性髄膜炎の名称の変更および医師から都道府県知事等への届出のための基準の見直し

現行の調査事業では、疾患の名称が「髄膜炎菌性髄膜炎」であり、また、基準は「髄液からの菌の分離・同定」となっており、髄膜炎症状を呈する髄膜炎菌感染症患者のみを報告することとなっている。名称を「髄膜炎菌感染症」とし、基準は「髄液、血液あるいはその他の感染部位からの菌の分離・同定」とする。

本研究において、髄膜炎菌感染症の患者の病態の分布を調査したところ、髄膜炎80%に対し、敗血症・DICは15%、呼吸器疾患などその他が6%を占めていた。さらに、髄膜炎菌が検出された部位は髄液が47%、血液が11%、その他（咽頭、喀痰、鼻腔、尿道等）が42%であった。現行の基準では、髄膜炎菌感染症の症例のうち15~20%あるいはそれ以上が報告されていない可能性があることが強く危惧される。

2) 病原菌株の収集と保存

医療機関あるいは関係諸機関において髄膜炎菌等の病原体が分離された場合には、地方衛生研究所および国立感染症研究所等において収集・保存されることが望まれる。

現行の発生動向調査では患者情報の収集のみが求められており、病原体の

情報を収集できるのは腸管出血性大腸菌と *Salmonella Enteritidis* のみとなっている。その他の疾患の原因病原体の収集・保存は求められておらず、感染症の流行や集団発生などの解析が困難となっている。

髄膜炎菌と同様に他の菌種においてもその性状を調べることにより、注意すべき強毒株等の公衆衛生における対策上重要な情報が得られる。その点からも、必要な病原体の保存、収集の規定が、改訂される感染症法に盛り込まれることを切に希望する。

例えば髄膜炎菌感染症は、流行性髄膜炎と呼ばれているように、流行性に発生することが大きな特徴となっている。本研究において、保存株の型別を行ったところ、海外において報告されている、流行株となりうるタイプが含まれていた。具体的にはST-44 complex（髄膜炎ベルト地帯に関連した病原株）が22%、ST-32 complex（B群流行株）が5%であった。

3) 健常者における保菌状況の定期的な調査

髄膜炎菌の健常者（10代後半から30代前半）における保菌状況を定期的に3~5年ごとに調査することが望まれる。

髄膜炎菌感染症の流行性の発生は、健常者における保菌状況を指標とすることができるとされている。保有する菌のタイプにより多少異なるが保菌率が10-30%であれば、ワクチンの導入を検討すべきとする意見がある。本研究での調査全体における健常者の保菌率は0.5%前後であったために、直ちにワクチンの導入を検討しなければならない状況にはないことが明らかとなった。しかし、集団によっては5%の

保有率を示した。患者発生や流行の予測のために、患者発生の解析とともに、健常者における定期的な保菌状況調査が必要である。

2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

#### F. 研究発表

1. 永武 毅：感染症の診断・治療ガイドライン. 4 類感染症 髄膜炎菌性髄膜炎. 日本医師会雑誌 130-133,246-249,1999

2. 松本慶蔵、大石和徳、永武 毅：髄膜炎菌感染症. 化学療法の領域 17(4)147-154, 2001

3. Hideyuki Takahashi, Hiroshi Tanaka, Hiroo Inouye, Toshiro Kuroki, Yuko Watanabe, Shiro Yamai, and Haruo Watanabe: Isolation and characterization of a *Neisseria meningitidis* strain from healthy carrier that is deficient in g-glutamyl aminopeptidase activity. J. Clin. Microbiol.: 40, 3035-3037, 2002.

4. Hideyuki Takahashi, Toshiro Kuroki, Yuko Watanabe, Shiro Yamai and Haruo Watanabe: Identification of tet(B), encoding high-level tetracycline resistance, in *Neisseria meningitidis*. Antimicrob. Agents Chemother. 46: 4045-4046, 2002.

#### G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検出方法の研究  
平成 14 年度総括研究報告書

主任研究者 益川邦彦 神奈川県衛生研究所長

研究要旨

平成 12 年度および平成 13 年度と同様に、細菌性髄膜炎の主要な原因細菌である髄膜炎菌の国内での発生・保有状況の把握、検査法の普及と検査並びに監視体制の確立、診断・治療法の検討を主体として、患者発生という健康危機管理状況に柔軟に対応できる体制づくりを目的として研究を行った。平成 14 年度は継続して保菌者調査を実施するとともに、外部精度管理の手法を検討して調査を担当した地方衛生研究所を対象にした外部精度管理調査を行った。さらに、分離株の MLST の解析、治療法の検討、診断法の検討、海外（アジアおよびアフリカ）における髄膜炎調査等を行った。

分担研究者

渡邊治雄	国立感染症研究所細菌第一部長
中島秀喜	聖マリアンナ医科大学教授
井上博雄	愛媛県立衛生環境研究所長
永武 毅	長崎大学熱帯医学研究所教授
相楽裕子	横浜市立市民病院感染症部長

A. 研究目的

本研究は、次のような目的を掲げて行った。検査法を検討して標準的な検査法を確立し、これを地方衛生研究所に普及し、流行の発生と耐性菌出現等に対する監視体制を確立して現行の感染症発生動向調査事業において正確な情報の収集が可能となる体制の強化を図る。また、わが国における患者の病型の分布や健康保菌者の実態を把握し、感染症発生の潜在的な可能性を探る。さらに、耐性化の状況を調査して治療に必要な情報の提供を行う。分離菌の疫学マーカーや病原性等の性状を解析することにより、これまでに得られなかった髄膜炎菌性髄膜炎に関する基礎的データを蓄積して、流行発生の可能性やワクチン導入の必要性を探ることとした。

B. 研究方法

1. 保菌者調査

細菌学的監視体制の強化のために検査法の普及を図ることとともに、健康保菌者の実態把握を行い、流行予防に資することを目的とした。山形県衛生研究所、福島県衛生公害研究所、神奈川県衛生研究所、石川県保健環境センター、岡山県環境保健センター、香川県衛生研究所、愛媛県立衛生環境研究所、大分県衛生環境研究センターおよび沖縄県衛生環境研究所の 9 地方衛生研究所が調査を実施した。調査は小児から高年齢層までの幅広い年齢層を対象としたが、特に短大や大学等の青年層を中心にした。

調査対象者に協力を求め、咽頭粘液を採取して調査材料とした。調査の対象菌種は、髄膜炎菌とともに、比較する目的で細菌性

髄膜炎の主要原因菌であるインフルエンザ菌および肺炎球菌を含むレンサ球菌とした。

咽頭粘液の採取に先立ち、研究の目的と得られたデータの扱いについて説明し、インフォームドコンセントとして協力者が「調査協力承諾書」に署名したものを回収した。承諾書が得られた協力者から咽頭粘液を滅菌綿棒で採取した。髄膜炎菌の分離・同定は、各ブロックで行なわれた研修会での方法に準じて行った。

さらに、耳鼻咽喉科の協力を得て、外科的に摘出された扁桃に剖面を入れて、扁桃内部の菌検索を行った。

## 2. 髄膜炎菌を対象とした外部精度管理調査

外部精度管理用試料は、咽頭スワブ擬似検体を3試料作製した。擬似検体とするために、健康保菌者調査においてMTM培地上の発育した *Neisseria* 属ではない3菌種の3株を採取し、保存したおき、混在菌として使用した。3株のうち、2株はグラム陰性桿菌であり、1株はグラム陽性球菌であった。

外部精度管理に使用した髄膜炎菌と *Neisseria lactamica* はゼラチン・ディスク法で $-80^{\circ}\text{C}$ で保存し、必要に応じて Kellogg 培地で培養して用いた。

擬似試料は3種類の検体を作製した。1つは上記の混在菌3株のみを混合した。残りの2試料には上記の3株と髄膜炎菌あるいは *N. lactamica* を混合した。1回目の外部精度管理では、菌株をPBSに浮遊し、その0.05mlを滅菌綿棒に染み込ませた。菌混合液を付着させた綿棒は $-40^{\circ}\text{C}$ に保存し、冷凍状態で各地方衛生研究所に配付した。

2回目の調査では、ゼラチン・ディスク法によりディスクを作製して試料とした。1試料は *Neisseria* 属ではない上記の混在

菌3菌株のみとし、残りの2試料は髄膜炎菌あるいは *N. lactamica* を *Neisseria* 属ではない上記の混在菌3菌株と混合した。各地方衛生研究所へは、各試料のディスクの2枚ずつを冷蔵で配付した。

## 3. 診断法の検討 (PCR法による髄膜炎菌遺伝子の検出)

患者の髄液からPCR法で髄膜炎菌の遺伝子を検出することによる髄膜炎菌感染症の診断を行うための基礎的検討を行った。保存菌株6株を、保存されている患者由来の髄液に浮遊させ、PCR法を検討して特異DNAの検出を試みた。アンプダイレクト法を使用して、反応阻害物質の除去による反応感度を検討した。

## 4. 疫学マーカーの検討 (MLSTの解析)

髄膜炎菌の保存菌株235株について、常法にのっとりMLSTの解析を行った。すなわち、必須酵素に関与する7遺伝子の特定部位のDNA配列を解読し、MLSTのホームページ (<http://neisseria.org/nm/typing/mlst/>) に参照して各遺伝子座と Sequence Type (ST) の同定を行なった。

## 5. 髄膜炎菌感染症の薬剤感受性に関する検討

髄膜炎菌保存株166株の各種抗生物質に対する最小発育阻止濃度を測定した。測定法はNCCLSの方法に準じた。測定に用いた薬剤は、penicillin G (PCG)、ampicillin (ABPC)、cefazolin (CEZ)、cefuroxime (CXM)、cefotaxime (CTX)、nalidixic acid (NA)、norfloxacin (NFLX)、tetracycline (TC)、erythromycin (EM)、chloramphenicol (CP)、rifampicin (RFP)、sulfamethoxazole (SMX)、SMX/TMP (ST)



の 13 薬剤であった。測定結果から、治療に用いる抗生物質について検討した。

## 6. 髄膜炎菌の国際間比較

タイ国チェンマイ大学医学部、バングラディッシュ国ダッカ小児病院、ベトナム国国立公衆衛生疫学研究所での検査体制を整えた。各国における小児の咽頭培養により髄膜炎菌と同時に ARI の起炎菌についての保菌調査を開始することにし、ミャンマー国境地帯とチェンマイ市において実施した。

## C. 研究結果

### 1. 保菌者調査

調査の対象は、学生（大学生、短大生、専門学校生等）を中心にした青年層と社会人および幼小児や高齢層の 1,533 名（男 581 名、女 952 名）であり、このうち青年層（16～30 歳）は 1,269 名（男 440 名、女 829 名）で、全体の 82.8% を占めた。このうち 8 名（0.5%）から髄膜炎菌が検出された。福島県の調査では 94 名中 1 名（1.1%）から、神奈川県調査では 172 名中 1 名（0.6%）から、愛媛県調査では 506 名中 4 名（0.8%）から、沖縄県調査では 85 名中 2 名（2.4%）から髄膜炎菌が検出された。幼少児は大分県において、高齢者については山形県と沖縄県において調査の対象としたが、髄膜炎菌は検出できなかった。

52 検体の扁桃の内部の菌検索では、髄膜炎菌は検出されなかったが、*N. lactamica* が 1 例から検出された。

### 2. 髄膜炎菌を対象とした外部精度管理調査

外部精度管理用試料として、菌浮遊液を綿棒に染み込ませた試料とゼラチン・ディ

スク法で作製した試料の 2 種類を試験したが、ゼラチン・ディスク法による試料において良好な結果が得られた。

調査内参加した 8 地方衛生研究所からは、すべて正しい回答が得られた。

### 3. 診断法の検討（PCR 法による髄膜炎菌遺伝子の検出）

使用した PCR 法は精製水中に  $5 \times 10^1$  cfu/ml の髄膜炎菌があれば検出が可能であった。保存した髄液に保存菌株を浮遊させ、浮遊液を精製水で希釈して PCR 法を試みたところ、希釈していない原液では感度は  $10^6$  cfu/ml であるのに対し、精製水で希釈してもアンプリダイレクトで希釈しても、10 倍希釈髄液では  $10^5$  cfu/ml で検出が可能であった。100 倍希釈髄液では PCR buffer で希釈すると  $10^5$  cfu/ml 間で検出可能であったが、アンプリダイレクトで希釈すると  $10^4$  cfu/ml で検出された。1,000 倍希釈髄液では PCR buffer でもアンプリダイレクトでも  $10^2$  cfu/ml で検出が可能であった。濁りの強い髄液では、PCR buffer で希釈した 100 倍希釈髄液では  $10^4$  cfu/ml までしか検出できなかったが、アンプリダイレクトで希釈すると  $10^4$  cfu/ml でも検出できなかった。

### 4. 疫学マーカーの検討（MLST の解析）

MLST のうち、ST-23 complex の占める割合が最も高く、次いで、ST-44 complex (lineage III) が約 20%、ST-32 complex (ET-5 complex) と ST-198 complex が約 5% であった。ST-11 complex (ET-37 complex) も少数ながら見出された。

## 5. 髄膜炎菌感染症の薬剤感受性に関する検討

代表的な抗生物質の結果は以下のとおりであった。PCG では、MIC は 0.016～0.5mg/ml に分布し、MIC<sub>50</sub> 値は 0.063mg/ml、MIC<sub>90</sub> 値は 0.125mg/ml であった。CTX では、MIC は <0.004～0.008mg/ml に分布し、MIC<sub>50</sub> 値 0.004mg/ml、MIC<sub>90</sub> 値は 0.008mg/ml と極めて低かった。NFLX では、MIC は 0.016～0.032mg/ml に分布し、MIC<sub>50</sub> 値は 0.016mg/ml、MIC<sub>90</sub> 値は 0.032mg/ml であった。RFP では、MIC は 0.004～0.5mg/ml に分布し、MIC<sub>50</sub> 値は 0.032mg/ml、MIC<sub>90</sub> 値は 0.25mg/ml であった。

## 6. 髄膜炎菌の国際間比較

タイ、バングラディッシュ、ベトナムはすでに ARI 起炎菌の多数の菌株と髄膜炎菌株が収集・保存されており、血清型、耐性遺伝子などの国際共同調査研究を展開した。チェンマイ大学医学部と共同でミャンマー国境地帯 (Khubdong Amphoe Phang) と市内 (Piengluang Amphoe Vienghang) の 2ヶ所で小児の咽頭培養を実施したが、髄膜炎菌は検出されなかった。

## D. 考察

本年度は、健康保菌者調査、外部精度管理、診断法の検討、疫学マーカーの解析、薬剤による治療法の検討および髄膜炎の海外との比較研究を実施した。

健康保菌者調査は、さらなる検査法の普及ならびに定着を図るとともに、特に健康保菌者の実態把握を行って、流行予防および監視に資することを目的とした。今年度は 1,533 人を対象に保菌者調査を行ったところ、8 人から髄膜炎菌が検出され、全体の検出率は 0.5% と過去 2 年間の調査とほぼ

同じ検出率となった。

外部精度管理調査は、髄膜炎菌のように培養に特別の培地を必要とし、輸送・保存が比較的難しい細菌に適した外部精度管理手法を検討するとともに、検査技術が普及・定着したことを確認することを目的とした。精度管理用試料の作製および配付方法については、ゼラチン・ディスク法を用いることで髄膜炎菌を含む試料の使用が可能となった。本研究において、健康保菌者調査を行った地方衛生研究所を対象にしたところ、すべての衛生研究所から正しい回答が得られた。このことから、本研究において髄膜炎菌検査法のマニュアルを作成し、研修会を開催して髄膜炎菌の検査技術の普及を試みたが、これらの効果が十分に発揮され、検査技術は定着しているものと考えられた。

診断法の検討は、PCR 法の特異性を確認するとともに、反応阻害物質の存在下でも PCR 反応が可能とされているアンプリダイレクト法による検出感度の違いを検討した。症例によっては、抗生物質の投与後に髄膜炎菌の検出を試みられることがある。抗生物質投与後は菌の検出は困難である可能性が高く、したがって髄膜炎菌感染症として認識されなくなる。このような症例では、PCR 法により髄膜炎菌の遺伝子を検出することで診断されることが期待される。本調査では、保存菌株と保存髄液を用いて調べたところ、PCR 法の検出感度は 5 × 10<sup>3</sup> cfu/ml と感度が高いことが確認された。アンプリダイレクト法の効果は確認されなかった。したがって、患者の髄液を PCR buffer で希釈して用いることで、診断法として十分に活用が可能であることが確認された。

疫学マーカーの解析は MLST を採用し

て行ったが、これにより世界的レベルでの疫学的情報の照合が可能となり、世界的に髄膜炎菌性髄膜炎の流行を発生させている起炎菌の発見とその公衆衛生学的な警告や対応を可能とすることを目的とした。MLST 法による分子タイピングの結果、過去に海外の流行の起炎菌となった ST-44 complex (Lineage-III)、ST-32 complex (ET-5complex)、ST-11 (ET-37 complex) に属する菌株が見いだされた。その他に ST-11 に属する菌株があった。

いわゆる流行株が患者のみならず、健康者からも検出されており、このことから今後とも定期的な保菌調査を実施して、流行株の保有状況を精査する必要があると思われる。

MLST の解析の結果、解析の対象とした分離株の MLST により、1) 海外由来株、2) 海外由来国内派生株、3) 日本固有株とその派生株の 3 種類に分けられ、現時点において日本国内に潜在している髄膜炎菌は、これらがモザイク状に存在していることが推測された。

薬剤感受性に関する検討では、全国の患者および保菌者から検出された髄膜炎菌に対する各種抗菌薬の試験管内抗菌力を測定した。さらに抗菌力の結果を由来別（患者あるいは保菌者）、検出年代別、血清型別に比較するとともに、結果に基づいて髄膜炎菌感染症の抗生物質による治療について考察を加えた。従来、髄膜炎菌性髄膜炎に対しては PCG が第一選択薬とされてきたが、本調査の成績をみると、髄膜炎菌性髄膜炎に対し PCG を第一選択とするには薬剤感受性の確認が必要と考えられる。今後ペニシリン系薬への耐性化が一段と進行すれば、CTX が第一選択となる可能性がある。髄膜炎菌性髄膜炎の治療に際しては、感受性株であれば PCG を第一選択薬とし、ペニシリンアレルギーを有する症例や非感受性株

の場合には CTX などの第三世代セフェム薬が推奨される。ほかに、ceftriaxone (CTRX)、ceftazidime (CAZ) も推奨されている。保菌者に対する除菌の選択薬としては成人では CPMX をはじめとするフルオロキノロン薬、小児では RFP を投与すれば、高い除菌率を期待できる。CTRX の単回筋注も欧米などでは推奨されている。

髄膜炎菌の海外との比較研究では、年間を通じた髄膜炎菌の検出と保存を開始すると共に、アジアにおける本菌の咽頭付着状況を調査研究することを目的としてアジア各地域での共同研究を行った。髄膜炎菌が強毒菌であることから、宿主条件により安易に重症感染症の原因菌となることを考えると、本菌のサーベランスおよび日本国内のみならずアジア、アフリカなどでの流行情報の収集が必要と考える。他の ARI 病原細菌などで世界共通に耐性激増が進行していることから日本の国際貢献としても重要な意義がある。

## E. 結論

本研究では、髄膜炎菌感染症に関する発生動向調査ならびに検出方法の検討を主題目として、髄膜炎菌検査法の標準化、髄膜炎菌感染症の健常者における保菌状況、分離菌株の型別、薬剤感受性、髄膜炎菌感染症患者の病態分布などについて、3 年間にわたり解析・検討を重ねてきた。これらの調査ならびに研究の結果、いくつかの問題点が指摘された。平成 11 年度に施行された感染症法の見直しが現在進められていることから、以下のような提言を行う。

- 1) 感染症発生動向調査事業における髄膜炎菌性髄膜炎の名称の変更および医師から都道府県知事等への届出のための基準の見直し

現行の調査事業では、疾患の名称が「髄膜炎菌性髄膜炎」であり、また、基準は「髄液からの菌の分離・同定」となっており、髄膜炎症状を呈する髄膜炎菌感染症患者のみを報告することとなっている。名称を「髄膜炎菌感染症」とし、基準は「髄液、血液あるいはその他の感染部位からの菌の分離・同定」とする。

本研究において、髄膜炎菌感染症の患者の病態の分布を調査したところ、髄膜炎 80%に対し、敗血症・DIC は 15%、呼吸器疾患などその他が 6%を占めていた。さらに、髄膜炎菌が検出された部位は髄液が 47%、血液が 11%、その他（咽頭、喀痰、鼻腔、尿道等）が 42%であった。現行の基準では、髄膜炎菌感染症の症例のうち 15～20%あるいはそれ以上が報告されていない可能性があることが強く危惧される。

## 2) 病原菌株の収集と保存

医療機関あるいは関係諸機関において髄膜炎菌等の病原体が分離された場合には、地方衛生研究所および国立感染症研究所等において収集・保存されることが望まれる。

現行の発生動向調査では患者情報の収集のみが求められており、病原体の情報を収集できるのは腸管出血性大腸菌と *Salmonella* Enteritidis のみとなっている。その他の疾患の原因病原体の収集・保存は求められておらず、感染症の流行や集団発生などの解析が困難となっている。

髄膜炎菌と同様に他の菌種においてもその性状を調べることにより、注意すべき強毒株等の公衆衛生における対策上重要な情報が得られる。その点からも、必要な病原体の保存、収集の規定が、改訂される感染症法に盛り込まれることを切に希望する。

例えば髄膜炎菌感染症は、流行性髄膜炎と呼ばれているように、流行性に発生することが大きな特徴となっている。本研究において、保存株の型別を行ったところ、海

外において報告されている、流行株となりうるタイプが含まれていた。具体的には ST-44 complex（髄膜炎ベルト地帯に関連した病原株）が 22%、ST-32 complex（B 群流行株）が 5%であった。

## 3) 健常者における保菌状況の定期的な調査

髄膜炎菌の健常者（10 代後半から 30 代前半）における保菌状況を定期的に 3～5 年ごとに調査することが望まれる。

髄膜炎菌感染症の流行性の発生は、健常者における保菌状況を指標とすることができるとされている。保有する菌のタイプにより多少異なるが保菌率が 10-30%であれば、ワクチンの導入を検討すべきとする意見がある。本研究での調査全体における健常者の保菌率は 0.5%前後であったために、直ちにワクチンの導入を検討しなければならない状況にはないことが明らかとなった。しかし、集団によっては 5%の保有率を示した。患者発生や流行の予測のために、患者発生の解析とともに、健常者における定期的な保菌状況調査が必要である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

1 . Hideyuki Takahashi, Hiroshi Tanaka, Hiroo Inouye, Toshiro Kuroki, Yuko Watanabe, Shiro Yamai, and Haruo Watanabe: Isolation and characterization of a *Neisseria meningitidis* strain from healthy carrier that is deficient in g-glutamyl aminopeptidase activity. J. Clin. Microbiol.: 40, 3035-3037, 2002.