

持するのか、また、それらの遺伝子をどのように獲得してきたのかを明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 全ゲノム塩基配列の決定とアノテーション

454 Life Sciences (ロシュ・ダイアグノスティックス(株)) を用いて pyro-sequencing 法で決定した。その後、Sanger 法にて contig を繋いだ。アノテーションは CRITICA, Glimmer2, tRNAScan, BLAST プログラムおよび MiGAP (<http://migap.lifesciencedb.jp/>) サイトを利用した。

## C. 研究成果

### 1) ゲノム概要

図 1 に各株のゲノムの環状地図を示した。3 株のゲノムの概要を表 1 に、近縁菌種との比較を表 2 に示した。ゲノムサイズは、2.1 ~ 2.2 Mbp, ORF 数が約 2,000 と他の *Streptococcus* 属菌種と同様であった。

図 2 に各株の ORF のホモロジーを比較した。同じ菌種でありながら、ブタ由来 L1 株では、ヒト由来株とホモロジーのない ORF が多く、独自のゲノム構造であることをうかがわせる。ブタ由来株は、ヒト由来株では保持している *slo* (ストレプトリジン O) などの病原性遺伝子の一部を持たない。また、ウイルスや侵入した遺伝因子から捕獲された短い配列である CRISPR (cluster of regularly interspaced short palindromic repeats) 配列が、GG5\_124 株では 1 つ (repeat 数 18), RE378 株では 2 つ (repeat 数 7 と 13) 検出されたにもかかわらず、ブタ由来株の L1 株では明らかな CRISPR 配列は認められなかった。

### 2) ゲノム比較と病原性遺伝子の相同性

表 2 に他の *Streptococcus* 属菌種のゲノムとの比較を示した。全ゲノムの mega BLAST 解析では、GAS ゲノムと cover 率で 61~63%

と最も高い相同性があったが、*S. agalactiae* (GBS) とはわずか 16% の相同性しか認めなかった。

GAS では数十の病原性因子が報告されているが、SDSE においては、GAS のスーパー抗原は保持しないものの、ストレプトキナーゼ、C5a ペプチダーゼ、M タンパクなど、多くの因子を保持していた (表 3)。

## D. 考察と結論

SDSE は、2000 年頃から劇症型感染症が報告され、 $\beta$  溶血性レンサ球菌の中でも *S. pyogenes* (GAS) および *S. agalactiae* (GBS) と並んで、近年注目されている。 $\beta$  溶血性レンサ球菌の侵襲性疾患は 3 菌種とも敗血症例が最も多いが、SDSE は GAS と同様に化膿性疾患が多いことが特徴で、髄膜炎例が多い GBS とは一線を画している。しかも本菌による疾患は、GAS と比較しても予後不良例が有意に多かった。

16S rRNA 遺伝子の相同性からは、SDSE は GAS と比較して GBS より近いという報告がすでになされていたが、本菌のゲノム解析が行われていなかったことから、病原性因子についての報告は少ない。SDSE が何故 GAS と同様の侵襲性感染症を起こすようになったのか、その原因解明の一端として行ったゲノム解析であったが、全ゲノムの相同性として GBS ではなく、GAS と最も似ていたことは、本菌が GAS と同様の侵襲性感染を示す理由の一因が解明されたものと考えられる。病原性遺伝子においても、スーパー抗原などを除く GAS の病原性因子のほぼ 75% を持つことが明らかになった。

また、菌株によっては線毛合成遺伝子など、他の *Streptococcus* 属菌種から由来していると考えられる遺伝子群を獲得しているものもあり、本菌種の進化の上で *Streptococcus* 属間での遺伝子の水平伝播があることをうかがわせる。CRISPR 配列より、ブタ由来株

よりヒト由来株の方が明らかに外来遺伝子の獲得が多く、SDSE がいかにヒトに適応して病原性を獲得してきたかという意味で、進化的に興味深い。

SDSE のゲノム解析は、本菌種が GAS と同様の劇症型感染症を起こすような因子を獲得保持していることを示し、本菌種の疾患動向に注意すべきであると考ええる。

最後に、SDSE の侵襲性疾患を正確に捉えている医療関係者は現時点でも少なく、また菌自体の知名度も低いことは憂慮すべきことであり、今後も啓蒙活動の必要性があることを強調したい。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Sunaoshi K, Murayama SY, Adachi K, Yagoshi M, Okuzumi K, Chiba N, Morozumi M, Ubukata K : Molecular *emm* genotyping and antibiotic susceptibility of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* isolated from invasive and non-invasive infections. J Med Microbiol, 59:82-88, 2010
2. Chiba N, Murayama SY, Morozumi M, Nakayama E, Okada T, Iwata S, Sunakawa K, and Ubukata K. Rapid detection of causative eight pathogens for diagnosis of bacterial meningitis by real-time PCR. J Infect Chemother. 2009; 15: 92-98.
3. Murayama SY, Seki C, Sakata H, Sunaoshi K, Nakayama E, Iwata S, Sunakawa K, Ubukata K. and the Invasive Streptococcal Disease Working Group. Capsular type and antibiotic resistance in *Streptococcus agalactiae* isolates from patients, ranging from Newborns to the Elderly, with invasive infections. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53: 2650-2653.
4. Takahashi T, Sunaoshi K, Sunakawa K, Fujishima S, Watanabe H, and **Ubukata K.** Clinical aspects of invasive infections with *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis* in Japan: differences with respect to *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus agalactiae*. Clin Microbiol Infect. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.03047.x
5. Chiba N, Morozumi M, Sunaoshi K, Takahashi S, Takano M, Komori T, Sunakawa K, **Ubukata K.** and the IPD surveillance Study Group. Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal disease in Japan. Epidemiol Infect. 2010; 138: 61-8.
6. Yoshino M, Murayama SY, Sunaoshi K, Wajima T, Takahashi M, Masaki J, Kurokawa I, and **Ubukata K.** Nonhemolytic *Streptococcus pyogenes* isolates that lack large regions of the sag operon mediating streptolysin S production. J Clin Microbiol. 2010; 48: 635-8.
7. Takahashi T, Asami R, Tanabe K, Hirono Y, Nozawa Y, Chiba N, and **Ubukata K.** Clinical aspects of invasive infection with *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* in elderly patients. J Infect Chemother. 2010 Jan 6. [Epub ahead of print]
8. **生方公子** : 我が国における細菌性髄膜炎の現況とその迅速診断の必要性。神経内科学会誌, 2009; 14:1-8.
9. **生方公子** : 感染症の原因微生物別に小児感染症を考える。β 溶血性レンサ球菌。化学療法の領域, 2009; 25: 142-148.
10. 諸角美由紀, **生方公子** : Real-time PCR 法を活用した細菌学的検索。臨床と微生物 2010; 37: 9-15.

## 2. 学会発表

1. Murayama SY, Sunaoshi K, Miyoshi-Akiyama T, Simomura Y, Kirikae T, **Ubukata K**, Sunakawa K. Complete genome sequence of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* strain RE378 isolated from patient with invasive infection. 109<sup>th</sup> ASM General Meeting 2009.5.17-21, Philadelphia, USA.
2. Miyoshi-Akiyama T, Okumura K, Shimomura Y, Murayama SY, Yagi J, **Ubukata K**, Kirikae T. Origin of streptococcal superantigens based on mass genome comparison among *Streptococcus pyogenes* and *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. 109<sup>th</sup> ASM General Meeting 2009.5.17-21, Philadelphia, USA.
3. 岡田圭祐, 村山琮明, 生方公子 : ヒト侵襲性感染症および動物由来 *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* の病原性に関する遺伝子領域の解析。第 58 回日本感染症学会東日本地方学会・第 56 回日本化学療法学会東日本支部総会, 2009.10.30
4. 村山琮明 : ゲノム解析からみた *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* の病原性。第 21 回日本臨床微生物学会総会, シンポジウム III, 2010.01.31
5. 岡田圭祐, 村山琮明, 砂押克彦, 生方公子 : ヒト侵襲性感染症およびブタ由来 *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* の病原性に関する遺伝子領域の解析。第 56 回日本化学療法学会東日本支部総会, 共催シンポジウム, 2009.10.30
6. 村山琮明, 秋山 徹, 下村有美, 切替照雄, 岡田圭祐, 生方公子 : Complete genome sequence of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* strain RE378. 第 83 回日本細菌学会総会, 2010.3.27-29

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

表 1 SDSE 3 株のゲノム概要

Features	Strains		
	GGs_124	RE378	L1
RefSeq	NC_012891		
Accession No.	AP010935	AP011114	AP011625
Serotype	<i>stG480.0</i>	<i>stG6792.3</i>	<i>stL2764.0</i>
Length of sequence	2,106,340	2,151,145	2,206,284
G+C content	39.58%	39.49%	39.48%
Open Reading frames	2094	2097	2376
Ribosome binding site	1955	1945	2122
RNA	ribosomal RNA	5	5
	transfer RNA	52	51
Host	human	human	swine
Disease	STSS	MOF by septicemia	lymphadenitis

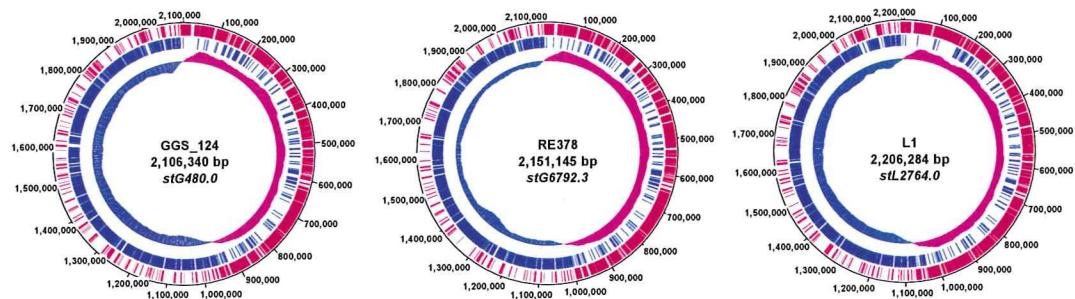


図 1 SDSE の環状マップ

外側から、塩基のスケール (bp) , 時計方向の推定 ORF, 反時計方向の推定 ORF および GC skew を示す。

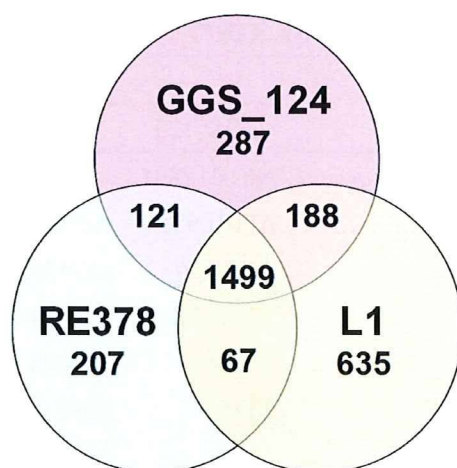


図2 SDSE 3株の ORF ホモロジーの比較

表2 SDSE RE378 と他の *Streptococcus* 属菌種ゲノムとの比較

菌種	解析された ゲノム数	ゲノムサイズ (Mbp)	GC%	Cover* (%)
SDSE	3	2.11 - 2.21	39	—
<i>S. pyogenes</i> (GAS)	13	1.82 - 1.94	38	61- 63
<i>S. equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>	2	2.15 - 2.03	41	29
<i>S. agalactiae</i> (GBS)	3	2.13 - 2.21	35	15
<i>S. thermophilus</i>	3	1.80 - 1.86	39	10
<i>S. pneumoniae</i>	11	2.04 - 2.25	39	9
<i>S. suis</i>	5	2.01 - 2.05	41	9
<i>S. sanguinis</i>	1	2.39	43	6

\*mega BLAST による cover 率

表3 GASで推定された病原性因子のSDSEにおける有無

機能	病原因子	遺伝子	GAS	ヒト SDSE	ブタ SDSE
付着因子 免疫回避	Fibronectin binding protein	<i>fbp</i>	+	+	+
	Laminin binding protein	<i>lmb</i>	+	+	+
	M protein	<i>emm</i>	+	+	+
	Myosin-cross reactive streptococcal antigen		+	+	+
	Streptococcal C5a peptidaseA	<i>scpA</i>	+	+	-
	Streptococcal C5a peptidaseB	<i>scpB</i>	-	△	+
	StreptokinaseA	<i>ska</i>	+	+	-
	StreptokinaseC	<i>skc</i>	-	+	+
	hyaluronidase	<i>hyl</i>	+	+	+
毒素・プロ テアーゼ	Streptolysin O	<i>slo</i>	+	+	-
	Streptolysin S	<i>sag</i>	+	+	+
	Hemolysin	<i>hly</i>	+	+	+
調節因子	M protein transacting positive regulation	<i>mga</i>	+	+	+
		<i>covR/S</i>	+	+	+
	Regulatory component of protein F	<i>rofA</i>	+	+	+
付着因子 免疫回避	extracellular matrix-binding protein	<i>epf</i>	+	-	-
	Hyaluronate synthetase	<i>hasA</i>	+	-	-
	Erythrogenic toxin B	<i>speB</i>	+	-	-
	Inhibitor of complement mediated lysis	<i>sic</i>	+	△	-
	Collagen-like protein		+	-	-
毒素・プロ テアーゼ	Mitogenic factor MF1, MF2, MF3	<i>mf, mf2, mf3</i>	+	-	-
	Erythrogenic toxin I	<i>speI</i>	+	-	-
	Erythrogenic toxin H	<i>speH</i>	+	-	-
	Mitogenic exotoxin Z	<i>smeZ</i>	+	-	-
	Streptococcal pyrogenic exotoxin type G	<i>speG</i>	+	-	-
調節因子	SpeB protease transcription regulator	<i>ropB</i>	+	-	-

小児の血液・髄液から分離された *Streptococcus pneumoniae* の血清型、  
薬剤感受性および耐性遺伝子に関する研究

研究分担者 坂田 宏 旭川厚生病院小児科 主任部長

**研究要旨** 2005年11月から2009年10月までの4年間に当院および北海道内の協力施設で診療した小児の血液または髄液から分離された *S.pneumoniae* 42株について、血清型、耐性遺伝子、主な注射用抗菌薬に対する最小発育阻止濃度(MIC)と最小殺菌濃度(MBC)を検討した。血清型は6Bが最も多く11株(26.8%)、ついで19Fが9株(22.0%)、23Fが6株(14.8%)であった。肺炎球菌7価ワクチンに含まれる株は31株(75.6%)であった。PCGのMICによる分類ではPSSP16株(38.1%)、PISP13株(31.0%)、PRSP13株(31.0%)、耐性遺伝子の分類ではgPSSP5株(11.9%)、gPISP15株(36.7%)、gPRSP22株(52.4%)であった。ampicillin(ABPC)、cefotaxime(CTX)、ceftriaxone(CTR)、meropenem(MEPM)、panipenem(PAPM)、vancomycin(VCM)に対するMIC<sub>90</sub>はそれぞれ4μg/ml、2μg/ml、1μg/ml、0.5μg/ml、0.12μg/ml、0.5μg/mlでPAPMが最も優れていた。MBC<sub>90</sub>も同様に4μg/ml、2μg/ml、2μg/ml、0.5μg/ml、0.12μg/ml、0.5μg/mlでPAPMが最も低かった。

#### A. 研究目的

*Streptococcus pneumoniae* は、小児において髄膜炎、肺炎、中耳炎などの疾患の主要な原因菌である。中でも、髄膜炎、菌血症、肺炎、関節炎、腹膜炎は侵襲性肺炎球菌感染症(invasive pneumococcal infection, IPI)として一つの疾患単位としてまとめられることが多い。これらは時に予後が不良な結果に結びつくことから、小児期の重要な疾患である。その感染防止対策として、世界的にはワクチンが採用されている。*S. pneumoniae* に対しては4, 6B, 9V, 18C, 19F, 22, 23Fの7種の血清型に対するワクチン(7-valent pneumococcal conjugate vaccine, PCV7)が、2010年より本邦でも発売されることになった。PCV7の導入前の状況として、IPIの児から分離された菌の血清型と耐性遺伝子を疫学的に調査した。併せて、IPIを発症した場合の適切な抗菌薬を選択するために、薬剤感受性試験も行った。

#### B. 研究方法

2005年11月から2009年10月までの4年間に当院および北海道内の協力施設で診療した小児の血液または髄液から分離された *S. pneumoniae* 42株について、血清型、耐性遺伝子、主な注射用抗菌薬に対する最小発育阻止濃度(MIC)と最小殺菌濃度(MBC)を検討した。MICは微量液体希釈法で測定した。MBCはMICを測定した各ウエルから一定量を採取し、抗菌薬の濃度を調整した寒天培地に塗抹して、24時間後に菌が生育するかで判定した。さらに、一部の株では培地に含まれる抗菌薬の濃度をMICの1倍、4倍、16倍、32倍に設定して菌を接種し2, 4, 6時間後に生菌数を測定し、培地のみで培養したものと比較した。penicillinG(PCG)のMICからの耐性分類は、2008年にCLSIの定義が変更されているが、今回は従来通りの0.1μg/ml未満をPSSP、0.1-1μg/mlをPISP、2μg/ml以

上を PRSP とした。耐性遺伝子による分類は遺伝子変異がない株を gPSSP, 1 ないし 2 個所の変異がある株を gPISP, 3 個所変異の株を PRSP とした。*S. pneumoniae* が分離された疾患は肺炎が 29 名, 菌血症が 11 名, 髄膜炎が 2 名であった。

### C. 研究結果

血清型は 41 株の検討であるが, 6B が最も多く 11 株(26.8%), ついで 19F が 9 株(22.0%), 23F が 6 株(14.8%)であった。肺炎球菌 7 価ワクチンに含まれる株は 31 株(75.6%)であった。PCG の MIC による分類では PSSP16 株(38.1%), PISP13 株(31.0%), PRSP13 株(31.0%), 耐性遺伝子の分類では gPSSP5 株(11.9%), gPISP15 株(36.7%), gPRSP22 株(52.4%)であった。ampicillin(ABPC), cefotaxime(CTX), ceftriaxone(CTRX), meropenem(MEPM), panipenem(PAPM), vancomycin(VCM)に対する MIC90 はそれぞれ 4 $\mu$ g/ml, 2 $\mu$ g/ml, 1 $\mu$ g/ml, 0.5 $\mu$ g/ml, 0.12 $\mu$ g/ml, 0.5 $\mu$ g/ml で PAPM が最も優れていた。MBC90 も同様に 4 $\mu$ g/ml, 2 $\mu$ g/ml, 2 $\mu$ g/ml, 0.5 $\mu$ g/ml, 0.12 $\mu$ g/ml, 0.5 $\mu$ g/ml で PAPM が最も低かった。MBC は MIC より 1 段階高い薬剤濃度を示す株が ABPC, CTX, CTRX で認められたが, MEPM, PAPM, VCM はすべての株が一致していた。

### D. 考察

以前に 1998 年 8 月から 2005 年 7 月までに分離された *S. pneumoniae* 46 株について同様な調査を行っている(坂田 宏, 他. 侵襲性肺炎球菌感染症の小児から分離された *Streptococcus pneumoniae* の血清型と耐性遺伝子の検討. 日本感染症学会雑誌 2006;80:91-96.)。この成績では, PCV7 のカバー率は 80.4%であり, 今回とほぼ同様な成績であった。しかし, 個々の血清型の変動をみると, 6B は減少, 19F は増加の傾向が認められた。また, 前回にはみられなかった

15,19A,38 などの株が認められた。耐性遺伝子については以前の成績では gPSSP3 株(6.5%), gPISP25 株(54.3%), gPRSP18 株(39.1%)であり, 今回の成績では gPRSP の比率の増加が確認された。

薬剤感受性については 16 株で MIC と MBC を検討している(H. SAKATA. Bactericidal activities of parenteral antibiotics and genotype of penicillin-binding protein in *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* isolated from children's blood. J Infect Chemother 2006;12: 338-342.) が, ABPC, CTX, CTRX, MEPM, PAPM, VCM の MBC90 はそれぞれ 8 $\mu$ g/ml, 1 $\mu$ g/ml, 1 $\mu$ g/ml, 1 $\mu$ g/ml, 0.12 $\mu$ g/ml, 0.5 $\mu$ g/ml で今回と大きな差はなかった。

### E. 結論

2010 年から導入される PCV7 による血清型カバー率は, 以前の成績と合わせると 78.2%であった。ワクチンが普及すれば, 小児おける IPI が減少することが期待される。しかし, すべての株をカバーできないので適切な抗菌薬の選択を考慮しておかなければならないが, PAPM は抗菌力の低下も認めず, IPI の第一選択剤として適当な薬剤と考えられた。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. 坂田 宏. 溶連菌感染症を反復した児から検出された A 群溶血連鎖球菌における *emm* 型別と PFGE パターン解析. 日本感染症学会雑誌 2009;83:647-651.
2. 坂田 宏. 近年の小児の溶連菌感染後急性糸球体腎炎の実態調査. 日本小児科学会雑誌 2009;113:1809-1813.

#### 2. 学会発表

1. 坂田 宏. 敗血症・髄膜炎の新生児・乳児から分離された B 群溶連菌における最小



発育阻止濃度と最小殺菌濃度. 第 83 回日本感染症学会総会, 2009.4. 東京

第 42 回日本小児呼吸器疾患学会, 2009.10. 高崎

2. 坂田 宏. 2001~2009 年における当院で診療した肺炎患者から分離された *Streptococcus pneumoniae* と *Haemophilus influenzae* の耐性遺伝子保有頻度の推移.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし

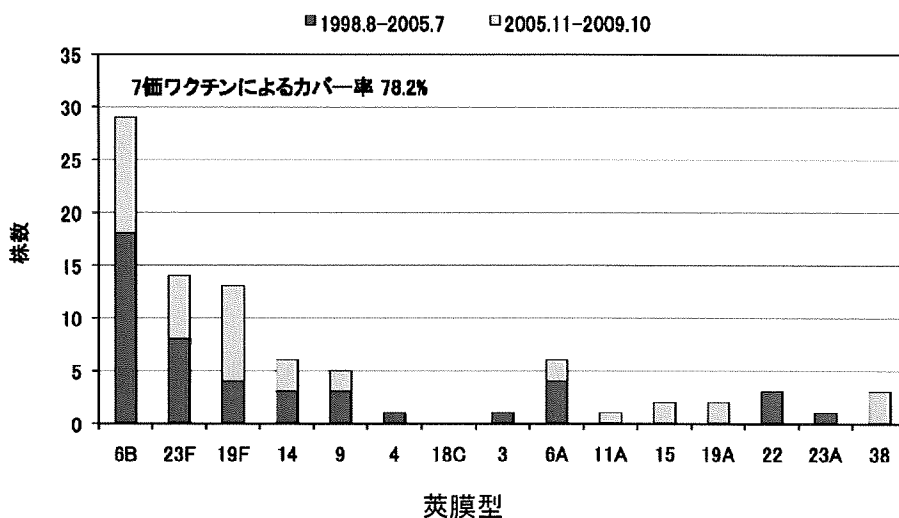


図 1 *Streptococcus pneumoniae* における荚膜血清型分布

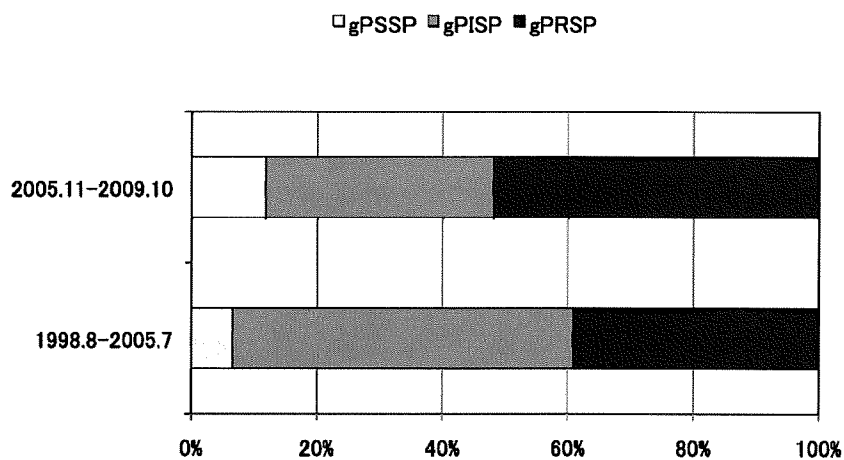


図 2 *S.pneumoniae* の耐性遺伝子による分類

新型インフルエンザウイルス A (H1N1) 感染後の肺炎球菌，レンサ球菌による  
続発感染に関する臨床的検討

研究分担者 岩田 敏 独立行政法人国立病院機構東京医療センター 統括診療部長

研究協力者 岡田 隆文 独立行政法人国立病院機構東京医療センター 小児科

研究協力者 松原 啓太 独立行政法人国立病院機構東京医療センター 小児科

**研究要旨** 2009年7月から2010年1月の間に新型インフルエンザウイルス A(H1N1)(pdmV)に罹患し，独立行政法人国立病院機構東京医療センター小児科に入院となった小児46例について，後方視的に解析を行った。pdmV感染の診断は，上咽頭拭い液を用いた real-time PCRで行なわれた。入院数は2009年10月にピークとなり，それ以降急速に減少した。男児(73.9%)が女児(26.1%)に比べて多かった。6歳以上の学童が大半を占め，年齢の中央値は7歳であった。最終診断名は，肺炎が42例(91.3%)，気管支炎が3例(6.5%)，上気道炎が1例(2.2%)であった。入院までの病日は3日であった。気管支喘息の既往歴のある児が14例(30.4%)と多かった。初診時の臨床症状は，発熱97.8%，(咳，鼻汁などの)上気道症状87.0%，(腹痛，下痢，嘔吐などの)消化器症状を13.0%に認めた。血液検査所見では，いずれの年齢層でもリンパ球数は明らかに低かった。抗インフルエンザ薬はその大半(95.6%)に発症から48時間以内に投与されていた。重症群と軽症・中等症群を比較すると，前者では後者に比して次の項目で差が認められた：i)年齢が低かった，ii)気管支喘息の既往例が多かった，iii)白血球数，好中球数，およびLDH値が高かった，iv)解熱までの期間と入院期間が長かった，等である。また，重症群に肺炎球菌保菌例を有意に多く認めた。しかし，抗菌薬が入院時から使用され，そのため細菌による続発感染は1例も認めなかった。

#### A. 研究目的

2009年春にメキシコ共和国から始まった新型インフルエンザウイルス(pdmV)感染症は，急速に世界各国へと波及し，その後，各国から重症例や死亡例が多数報告された。日本でも，2009年5月に初めての感染者が確認され，その後日本各地へと拡大して，重症肺炎，脳症，縦隔気腫，Plastic bronchitisなどの重症例が報告されている。

そこで，私達が構築した real-time PCR 法によって pdmV 感染症であると診断した入院例を対象とし，その臨床像と細菌による続発感染の有無，ならびに抗菌薬の使用状況について解析した。

#### B. 研究方法

##### 1) 対象

2009年7月1日から2010年1月31日の間に独立行政法人国立病院機構東京医療センターに入院し，real-time PCR法によって上咽頭拭い液から pdmV が検出され，pdmV 感染症であると確定診断できた46例を対象として，後方視的な検討を行った。

##### 2) real-time PCR

real-time PCR法を用いた上咽頭拭い液に対する pdmV の検索は，北里大学北里生命科学研究所の病原微生物分子疫学研究室において実施

した。pdmV 以外に、季節性インフルエンザウイルス A と B, アデノウイルス, RS ウイルス A と B, パラインフルエンザウイルス 1-3, ライノウイルス, エンテロウイルス, ヒューマンボカウイルス, ヒューマンメタニューモウイルスの呼吸器系ウイルスを検索した。さらに、肺炎球菌, インフルエンザ菌, A 群溶血性レンサ球菌, 肺炎マイコプラズマ, クラミドフィラ・ニューモニエ, 肺炎レジオネラの 6 菌種を網羅的に検索した。

### 3) 臨床解析

対象症例の臨床的解析は、日本小児感染症学会のガイドラインに従い、軽症・中等症群(n=14)と、重症群(n=32)とに分けて検討した。

重症例であることの判定は、多呼吸であること(正常値：乳児<50/min, 幼児<40/min, 学童<30/min), 努力呼吸が観察されること, SpO<sub>2</sub>の93%以下への低下がみられること, のいずれかの存在を目安とした。

両群間の比較の統計学的解析には GraphPad 社の Prism を用いた。t 検定あるいは  $\chi^2$  乗検定では、 $p$  値<0.05 を有意差ありとした。

#### (倫理面への配慮)

本研究は、pdmV 感染症が強く疑われ、入院となった症例解析が中心である。個々の患者情報については匿名化して解析を行い、患者に不利益を与えたり、患者個人の情報が公開されることのないように、十分配慮した。

## C. 研究の結果

### 1)患者入院時背景因子解析

対象期間中における入院症例の月別推移は図 1 に示す。2009 年 7 月から同年 9 月までは、月平均 1-3 例であったが、10 月の入院数は 22 例と激増した。しかし、10 月をピークとして、pdmV による入院例は暫時減少し、2010 年 2 月にはほとんど発症例が認められなくなった。

期間中の入院例は総計 46 例、それらをガイドラインに従って軽症・中等症群と重症群に区別し、それぞれの入院時における背景因子、臨

床所見、胸部 X 線所見について両群間の比較を行なった。その成績は表 1 に示す。

男女比は、男児が 34 例 (73.9%), 女児が 12 例 (26.1%)と男児が圧倒的に多かった。年齢は平均 7 歳であったが、1 歳未満は 1 例のみ、6 歳以上が 65%と多くを占めた。両群を比較すると重症群で有意に年齢が低かった。発症から入院までの病日は平均 3 日であったが、重症例では 24 時間以内が有意に多かった。また 60%の症例が 48 時間以内に入院となっていた。基礎疾患は 22 例 (47.8%)に認められたが、重症群において優位に多く、特に気管支喘息の既往と発作を伴っている例が 15 例 (46.9%)と多かった。合併症では気管支喘息発作が重症で 14 例 (43.8%) に対して、軽症・中等症で 1 例 (7.1%)と重症群で有意に多く認められた。

入院時の臨床症状では、発熱を 97.8%と最も高頻度に認めた。その他に、上気道症状が 87.0%, 多呼吸を 54.3%, 消化器症状を 13.0%に認めたが、多呼吸を除き、両群に有意差は認められなかった。胸部 X 線所見では左右片肺の下部が多く、全体の 50%を占めた。両肺全体に陰影が認められる例はむしろ軽症・中等症群が多かった。

### 1) 血液検査値と入院後の経過に対する解析

血液検査値(白血球数, 好中球数, リンパ球数)および CRP 値, LDH 値について、中等症群と重症群を比較した。その成績は図 2 に示す。重症群では白血球数, 好中球数, LDH 値が有意に高かった。

各種臨床指標の比較は表 2 に示す。治療内容については、重症群の 84.4%に酸素投与が行なわれた。抗インフルエンザ薬が使用された症例は 44 例 (95.7%)で、その内訳は Oseltamivir が 33 例, Zanamivir が 11 例であった。発症から抗ウイルス薬が使用されるまでの時間は両群とも 2 日で有意差はなかった。24 時間以内の使用は 16 例 (36.4%), 24~48 時間が 18 例 (40.9%), 48~72 時間以内が 4 例 (9.1%), 72 時間以上は 6 例 (13.6%)であった。

抗菌薬は 32 例 (69.6%)に使用された。両群に対する静注用抗菌薬の種類と使用期間には差

を認めなかった。使用抗菌薬では SBT/ABPC が最も多く、次いでカルバペネム系薬剤であった。

入院から解熱までの日数は軽症・中等症群で 1 日 (1~3 日) であったのに対し、重症群では 2 日 (1~6 日) と有意に長かった。入院期間は、重症群では平均 8 日、軽症・中等症群では 6 日と差が認められたが、全例が軽快退院した。なお、ステロイドを使用した例が 8 例 (17.4%)、 $\beta$  刺激薬の持続吸入療法の実施例が 2 例 (4.3%) あったが、全例が気管支喘息発作を合併していた症例であった。

### 3) ウイルスと細菌検索

46 症例に対する pdmV 以外のウイルスと細菌検索結果について図 3 に示す。

上咽頭ぬぐい液を用いたウイルス検索では、軽症・中等症群 1 例、重症群 6 例の合計 7 例 (15.2%) から他のウイルスが検出された。その内訳はライノウイルス 2 例、RS virus B 2 例、エンテロウイルス 1 例、ライノウイルスとヒューマン・ボカウイルス 1 例であった。

一方、上咽頭ぬぐい液から肺炎球菌が検出された例は 17 例 (37.0%) 認められた。肺炎球菌の保有は菌量も多く、重症群で有意に高かった。インフルエンザ菌分離例は 12 例 (26.1%)、重症群で分離頻度がやや高い傾向が認められた。これらのうち、それら両菌種の同時検出例が 11 例 (37.9%) 認められた。黄色ブドウ球菌は 11 例から分離されたが両群に有意差は認められなかった。細菌による二次感染例は認めなかった。

### D. 考 察

今回の real-time PCR 法によって pdmV 感染症と確定診断できた 46 例の小児の入院患者を対象として、その患者背景、臨床症状、検査所見、入院経過などについて解析した。

2009 年 7 月に始めて pdmV 感染症の入院患者を経験して以来、入院が必要と判断された患者は急速に増加したが、10 月をピークとして速やかに減少した。本症に罹患した年齢は 6 歳以上の学童が大半を占め、流行が低年齢へ波及する前に終息した。

解析した入院患者において何らかの基礎疾患を持つ例は 47.8% で、そのうち気管支喘息が 30.4% と最も多く、これまでの報告における結果と同様の傾向であった。しかし、基礎疾患を持たない例も 52.2% あり、pdmV に感染すること自体で入院加療が必要となる状態になり得るとも考えられた。

臨床症状については、発熱が 97.8% と最も多く、その他に呼吸器症状が 87.0%、消化器症状が 13.0% であり、日本国内の報告あるいは海外の報告と同様であったが、特異的な症状はなく、季節性インフルエンザウイルス感染症との鑑別は困難であった。

抗インフルエンザ薬の使用は、入院例の 95.7% に使用されており、しかも発症後 48 時間以内の使用が 77.3% と高率であった。諸外国の成績と較べると、発症後早期に多くの症例に対して使用されたと考えられる。

入院後に多呼吸を認めた例や SpO<sub>2</sub> の低下により酸素が必要であった例を重症と定義し、それ以外の中症以下と比較した場合、患者背景として重症例が有意に低年齢で、気管支喘息の既往がある結果となった。その他、検査所見として、重症群で白血球数、好中球数、LDH が有意に高かった。また、重症群では解熱するまでの日数と入院期間も有意に長かった。重症化のリスクがある群としては気管支喘息を含む慢性肺疾患、小児、妊婦、神経筋疾患などが指摘されているが、我々の解析でも同様の結果であった。

また上咽頭から肺炎球菌が同時に検出される頻度は重症群で高く、肺炎球菌が pdmV の重症化に関与している可能性が示唆された。

### E. 結 論

- 1) pdmV 感染症例の入院数は 2009 年 10 月にピークとなりそれ以降急速に減少した。
- 2) 男児が女児に較べて多く、6 歳以上が大半を占め、年齢の中央値は 7 歳であった。
- 3) 入院例では肺炎がもっとも多く、入院までの病日は 3 日であった。呼吸困難を伴い酸素吸入を要する症例が多かった。
- 4) 基礎疾患として気管支喘息を有する症例が

多かった。

- 5) 初発症状は発熱 97.8%, 上気道炎症状 87%, 消化器症状 13%で, 初発症状から季節性インフルエンザと鑑別するのは困難と考えられた。
- 6) 重症例は軽症・中等症例と較べ, i)年齢が低いこと, ii)気管支喘息の既往例が多いこと, iii)白血球数, 好中球数, および LDH 値が高いこと, iv)解熱までの期間と入院期間が長いことなどで有意差が認められた。

## G. 研究発表

### 1. 業績論文

- 1) Chiba N, Murayama SY, Morozumi M, Nakayama E, Okada T, **Iwata S**, Sunakawa K, and Ubukata K. Rapid detection of causative eight pathogens for diagnosis of bacterial meningitis by real-time PCR. *J Infect Chemother.* 2009; 15: 92-98.
- 2) Murayama SY, Seki C, Sakata H, Sunaoshi K, Nakayama E, **Iwata S**, Sunakawa K, Ubukata K. and the Invasive Streptococcal Disease Working Group. Capsular type and antibiotic resistance in *Streptococcus agalactiae* isolates from patients, ranging from Newborns to the Elderly, with invasive infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53: 2650-2653.

## 2. 学会発表

- 1) 藤村公乃, 松原啓太, 白井晴巳, 山本恭平, 松島崇浩, 平塚 恵, 岡田隆文, 緒方大輔, 後藤美和, 櫻井倫子, 有馬ふじ代, 輿石 薫, 込山 修, **岩田 敏**: 新型インフルエンザ入院例の検討. 第 572 回日本小児科学会東京都地方会講話会, 東京大学鉄門記念講堂, 東京, 2010 年 2 月 13 日
- 2) Okada T, Morozumi M, Kishii K, Chiba N, Matsubara K, **Iwata S**, Ubukata K, and The Acute Respiratory Diseases (ARD) Study Group. Clinical use of simultaneous real-time PCR identification of twelve viruses and six bacteria in pediatric patients with community-acquired pneumonia. 49<sup>th</sup> ICAAC, San Francisco, 2009 (G1-1550)
- 3) 村山琮明, 関 千鶴子, 坂田 宏, **岩田 敏**, 砂川慶介, 生方公子: Real-time PCR 法による *Streptococcus agalactiae* の迅速診断法の確立. 日本感染症学会総会, 2009 年 4 月 23 日
- 4) 岡田隆文, 諸角美由紀, 松原啓太, **岩田 敏**, 千葉菜穂子, 岸井こずゑ, 砂川慶介, 生方公子, ARD 研究会: 小児市中肺炎に対する real-time PCR 法を用いた細菌とウイルスの網羅的検索. 第 83 回日本感染症学会総会, 2009 年 4 月 23 日

## H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

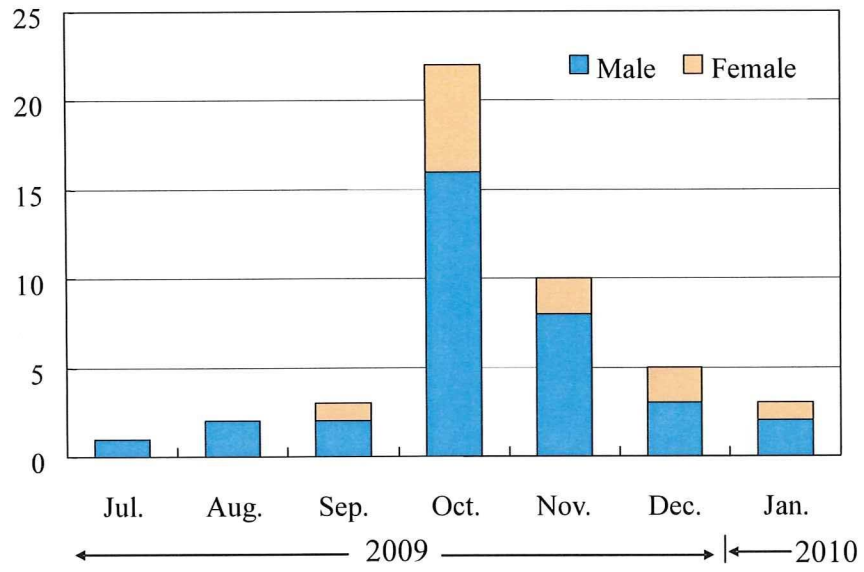


図1 pdmV感染症による入院例の推移

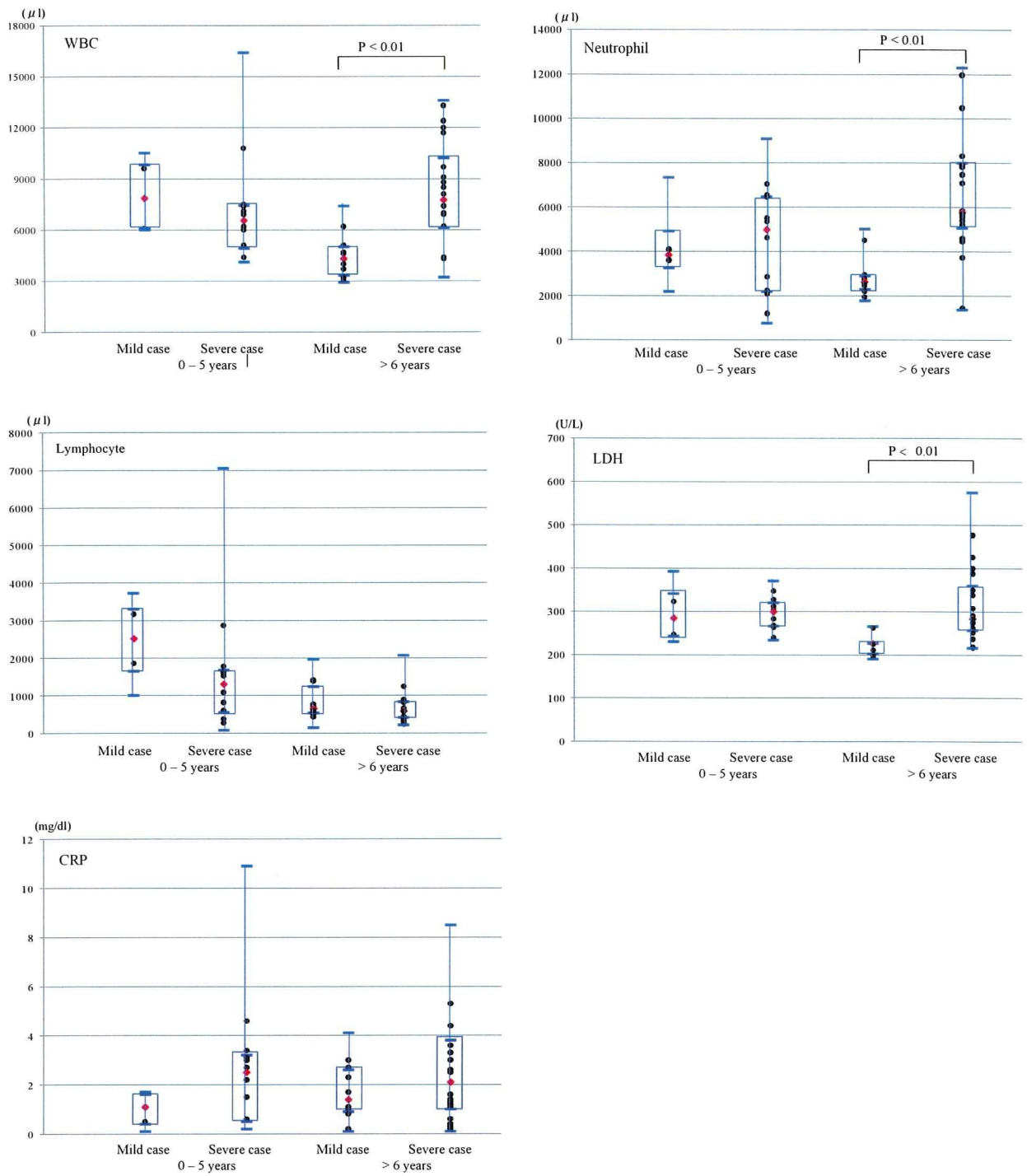


図2 血液検査値およびCRP, LDHの比較

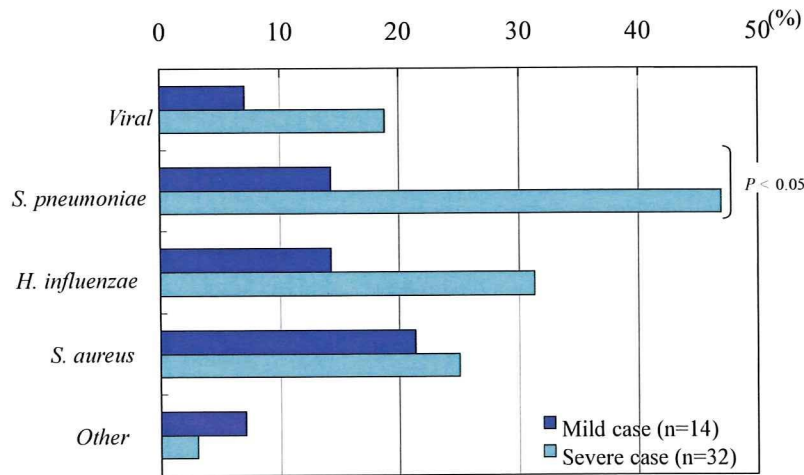


図 3 pdmV 感染症例におけるその他の病原微生物の検出

表 1 Patients characteristics, clinical presentation, and underlying diseases in mild and severe pneumonia cases with pdm(H1N1) 2009 virus.

Characteristics	Total (n=46)	Mild cases (n=14)	Severe cases (n=32)	P value
<b>1. Gender</b>				
Male	34 (73.9)	10 (71.4)	24 (75.0)	N.S.
Female	12 (26.1)	4 (28.6)	8 (25.0)	N.S.
<b>2. Age - year (range)</b>				
7 (0.75 - 15) <sup>a</sup>	7 (0.75 - 15) <sup>a</sup>	10 (0.75 - 15)	6 (1 - 14)	< 0.05
< 1y	1 (2.2)	1 (7.1)	0 (0.0)	N.S.
1-5y	15 (32.6)	3 (21.4)	12 (37.5)	N.S.
≥ 6y	30 (65.2)	10 (71.4)	20 (62.5)	N.S.
<b>3. Underlying disease</b>				
Past history of asthma	22 (47.8)	2 (14.3)	20 (62.5)	< 0.01
Atopic dermatitis	17 (37.0)	2 (14.2)	15 (46.9)	< 0.05
	4 (8.7)	1	3	N.S.
<b>4. Days from onset on admission</b>				
3 (1 - 9) <sup>a</sup>	3 (1 - 9) <sup>a</sup>	2 (2 - 7)	2 (1 - 9)	N.S.
< 24 h	5 (10.9)	0 (0.0)	5 (15.6)	N.S.
24- < 48 h	23 (50.0)	8 (57.1)	15 (46.9)	N.S.
≥ 48 h	18 (39.1)	6 (42.9)	12 (37.5)	N.S.
<b>5. Clinical presentations</b>				
Fever ≥ 38.0°C - no. (%)	45 (97.8)	14 (100)	31 (96.9)	N.S.
Polypnea	25 (54.3)	0 (0.0)	25 (78.1)	< 0.01
Cough, rhinorrhea, sore throat	40 (87.0)	10 (71.4)	30 (93.8)	N.S.
Abdominal pain, diarrhea, vomit	6 (13.0)	1 (7.1)	5 (15.6)	N.S.
Headache	4 (8.7)	1 (7.1)	3 (9.4)	N.S.
Convulsion	2 (4.3)	2 (14.3)	0 (0.0)	N.S.
Arthralgia	2 (4.3)	1 (7.1)	1 (3.1)	N.S.
<b>6. SpO<sub>2</sub> (&lt;93)</b>				
24 (52.2)	24 (52.2)	1 (7.1)	23 (71.9)	< 0.01

a) Average (range)



**表 2 Information regarding treatments and clinical course during hospital stay.**

Characteristics	Total (46)	Non-severe case (n=14)	Severe case (n = 32)	<i>P</i> value
1. Oxygen administration	27 (58.7)	0	27(84.4)	<b>&lt; 0.01</b>
Duration of oxygen supplementation (day)	3 (1 - 5)	0	2 (1 - 5)	<i>N.S.</i>
2. Days from onset to initiation antiviral treatment	2 (1 - 7)	2 (1 - 7)	2 (1 - 7)	<i>N.S.</i>
3. Antiviral treatment	44 (95.7)	14 (100)	30 (93.8)	<i>N.S.</i>
4. Antibiotic treatment	32 (69.6)	10 (71.4)	22 (68.8)	<i>N.S.</i>
Duration of antibiotic treatment (day)	7 (3 - 8)	6 (4 - 7)	7 (3 - 8)	<i>N.S.</i>
5. Corticosteroid therapy	8 (17.3)	0	8 (25.0)	<i>N.S.</i>
6. Days from admission to be afebrile	2 (1 - 6)	1 (1 - 3)	2 (1 - 6)	<b>&lt; 0.01</b>
Duration of fever(day)	5 (3 - 12)	4 (3 - 8)	5 (3 - 12)	<i>N.S.</i>
7. Duration of hospitalization (day)	8 (5-11)	6 (5 - 9)	8 (5 - 11)	<b>&lt; 0.05</b>

救命救急，外科領域における劇症型重症レンサ球菌感染症例の病態解析と  
その診断・治療法に関する研究

研究分担者 藤島清太郎 慶應義塾大学医学部救急医学 准教授

**研究要旨** 我々は，主要なβ溶血レンサ球菌感染症の臨床像を明らかにするために2つの後ろ向き調査を行った。まず，レンサ球菌属の分離頻度を明らかにするため，2007年から2年間の調査を行ったところ，血液培養実施患者605人中13.4%が陽性で，グラム陽性球菌を4.6%，レンサ球菌属を3.3%から検出していた。

続くGAS，GBS，SDSEに限定した12年間の調査では，GAS 19人，GBS 9人，SDSE 27人を見だし，基礎疾患保有率はGASとSDSEが各々84%，96%と高かった。感染巣としては骨・軟部組織が大多数を占め，STSS発症はGASとSDSEがともに11%であり，STSSの臓器症状としてはGAS，SDSEとも凝固障害を最も高率に認めた。SDSEについては，STSS発症のリスクが余り認識されておらず，今後社会への啓蒙が必要と思われた。また，Emm型と症状，予後の関係も疑われ，今後疫学および病態学的な検討を進めるべきと考えられた。

#### A. 研究目的

今回我々は，厚生労働省科学研究「新規に発生しているレンサ球菌による激症型感染症の臨床的・細菌学的解析と診断・治療法に関する研究」の一環として，主要なβ溶血レンサ球菌感染症の臨床像を明らかにすることを目的に検討を行った。

#### B. 研究方法

2007年1月～2008年12月の2年間にかけて，当院救急外来を受診し，細菌感染症を疑って血液培養を実施した全患者を対象に，後ろ向き調査を行った。

続いて，1997年4月～2009年3月の12年間に，当院救急外来で実施した血液培養検体からGAS，GBS，およびGGGが検出された患者を後ろ向きに調査した。GASとGGGについては，同期間に当院入院中の患者も対象とした。

各々の研究に当たっては，患者情報を匿

名化し，パスワードでセキュリティのかかったコンピュータで解析を行った。

#### C. 研究結果

2年間の血液培養実施患者605人中13.4%が陽性で，グラム陽性球菌を4.6%，レンサ球菌属を3.3%から検出した。1) 基礎疾患保有率は，アンギノーサス群で低い傾向であった。2) 感染巣として骨・軟部組織と肺が多かった。3) 救急外来受診敗血症患者の原因菌として，グラム陽性球菌ではレンサ球菌属が最多であり，菌種により臨床像が異なっていた。

続く12年間のGAS，GBS，SDSEに限定した調査では，GAS 19人，GBS 9人，SDSE 27人を見だした。1) 基礎疾患保有率はGASとSDSEが各々84%，96%と高かった。

感染巣としては骨・軟部組織が大多数を占め，その他感染性心内膜炎をGASで，呼吸器感染をGASとSDSEで認めた。2) sepsis

合併は3菌種とも高率であったが、STSS発症はGBSで認めず、GASとSDSEはともに11%であった。STSSの臓器症状としてはGAS、SDSEとも凝固障害を最も高率に認めた。3) GASのemm型では、1型が少なく、58型と89型が多かった。4) STSS臓器症状・不良転帰は、49型と58型で2例/2例認めた。SDSEのemm型は全国統計と同傾向であった。5) STSS臓器症状・不良転帰は、stC6979型で2例/2例認めた。

#### D. 考察

レンサ球菌は、救急受診した敗血症患者の原因菌として、グラム陽性菌中最多を占めており、感染巣としては特に骨・軟部組織感染が多くを占めた。アンギノーザス群を除くといずれも基礎疾患保有率が高く、慢性疾患を有する患者では特にレンサ球菌感染症に注意が必要と思われた。

レンサ球菌の中では、GASとSDSEが同等に激症型レンサ球菌感染症(STSS)を発症しており、臓器症状では凝固異常の頻度が高く、要注意であった。SDSEによるSTSS発症のリスクは余り認識されておらず、今後社会に対し啓蒙が必要と思われた。またemm型により症状や予後が異なる可能性も明らかとなり、今後症例を積んで疫学のおよび病態学的な検討を進めるべきと考えられた。

#### E. 結論

$\beta$ 溶血性レンサ球菌菌血症患者の基礎疾患保有率は高く、SIRS基準で診断されるsepsisを高率に合併していた。

SDSEはGASと同率にSTSSを発症していた。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Sekine K, **Fujishima S**, Sasaki J, Ishizaka A, Aiso S, Aikawa N. 2009. In vivo IL-18 supplementation ameliorates lethal acute

lung injury in burn-primed endotoxemic mice: a novel anti-inflammatory role of IL-18. Shock 32(5):554-62.

2. Yogo Y, **Fujishima S**, Inoue T, Saito F, Shiomi T, Yamaguchi K, Ishizaka A. 2009. Macrophage derived chemokine (CCL22), thymus and activation-regulated chemokine (CCL17), and CCR4 in idiopathic pulmonary fibrosis. Respir Res 10:80.
3. **Fujishima S**, Shiomi T, Yamashita S, Yogo Y, Nakano Y, Inoue T, Nakamura M, Tasaka S, Hasegawa N, Aikawa N, Ishizaka A, Okada Y. 2010. Production and activation of matrix metalloproteinase-7 in idiopathic pulmonary fibrosis. Arch Pathol Lab Med (in press).
4. 林田 敬, **藤島清太郎**, 宮木 大, 池田 雄一郎, 相川直樹. 2009. 急激に septic shock を呈し死に至った黄色ブドウ球菌, 緑膿菌の混合感染による劇症型細菌性髄膜炎の1例. 日本集中治療医学会雑誌 16(1):57-60.
5. 山元 良, **藤島清太郎**, 上野浩一, 宮木 大, 栗原智宏, 堀 進悟, 相川直樹. 2009. 遅発性肺損傷を呈した塩素ガス吸入2症例の検討. 日本救急医学会雑誌 20(7):390-6
6. **藤島清太郎**. 2009. EBMに基づくALI/ARDSのUp-To-Date. 日本肺サーファクタント・界面医学会雑誌 40:137-9.
7. **藤島清太郎**. 2009. II. 危険因子. In: 相馬一玄, editor. ICTのための人工呼吸器関連肺炎のマネジメント. 東京: 医薬ジャーナル社; 2009. p. 14-20.

##### 2. 学会発表

1. **藤島清太郎**, 森崎 浩, 武田純三, 相川直樹. 2009年. 重症度評価, DIC治療指標としてのprotein C. (第36回日本集中治療医学会学術集会パネルディスカッ

ション「DICに対する治療戦略 Update」,  
大阪, 2009年2月26日)

2. **藤島清太郎**. 2009年. Sepsisの急性期治療.  
(第82回日本細菌学会総会ワークショップ  
「重症感染症, sepsisへのアプローチ」,  
名古屋, 2009年3月12日)
3. **藤島清太郎**. 2009年. ALI/ARDS-さらなる  
治療成績の向上をめざして. (第37  
回日本救急医学会総会・学術集会イブニ  
ングセミナー「救急領域における急性肺  
障害の病態と診療」, 盛岡, 2009年10  
月29日)
4. **藤島清太郎**, 杉田香代子, 宮木 大, 堀  
進悟, 生方公子. 2009年. 救急部で経験  
する成人の $\beta$ 溶血性レンサ球菌感染症.  
(第21回日本臨床微生物学会シンポジ

ウム「世界的にクローズアップされつつ  
ある侵襲性レンサ球菌感染症 その社会  
的背景から基礎, および臨床まで」, 東  
京, 2010年1月31日)

5. **藤島清太郎**, 関根和彦, 林田 敬, 宮木  
大, 葉季久雄, 佐々木淳一, 相川直樹,  
堀進悟. 2009年. 重症患者  
lipopolysaccharide (LPS)高感受性機序の  
解明: IL-18の免疫修飾作用. (第15回  
日本エンドトキシン研究会, 東京, 2009  
年11月14日)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

- |           |      |
|-----------|------|
| 1. 特許取得   | 該当なし |
| 2. 実用新案登録 | 該当なし |
| 3. その他    | 該当なし |