

含まれていた場合には、それに関する機密保護に万全を期するものである。

B. 研究方法

1) 対象

主な対象は、順天堂大学周産期医療センターを受診する妊娠 37-39 週の妊婦に対し、通常行われている出産前 GBS 検査とともに、real-time PCR 法による細菌検索を行い、さらに菌が陽性の場合には、病原性に関わる莢膜型をも PCR によって検索できる新たな方法を開発した。2 年間で 800 例が対象となった。その他に、新生児化膿性髄膜炎疑いの髄液や高齢者由来の血液検査材料なども対象とした。

2) 莢膜型同定の real-time PCR 法

GBS を検索するための本菌に特徴的な *dlts* 遺伝子検索用 primer と、莢膜型の Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII 型をそれぞれ同定できる 9 セットの primer と probe を用い、real-time PCR によって GBS の有無と莢膜型を確定した。

検査材料(膣拭い液、髄液、血液、喀痰など)からは、DNA 抽出キットを用いて 15 分で DNA サンプルを得た。検体処理から結果判明までの所用時間は 2 時間である。

型別に際しても同様に real-time PCR 法で実施した。

3) 薬剤耐性遺伝子検索用 PCR 法

マクロライド(ML)薬耐性遺伝子は、3 種類の primer セットを用いて検索した。フルオロキノロン(FQ)耐性は、*gyrA*, *gyrB*, *parC*, および *parE* 遺伝子について検索した。細胞壁合成酵素 PBP2X をコードする *pbp2x* 遺伝子の塩基配列の決定は、国立感染症研究所の木村らが報告した primer を用いた。

C. 研究成果

1) 侵襲性感染症例の年齢と疾患、菌の莢膜型との関係

GBS 感染症の疾患と年齢との関係、疾患と莢膜型についてみると、17 歳以下の小児(n=65)と 18 歳以上の成人(n=124)では明らかに異なっていた。疾患は、髄膜炎、敗血症、その他の感染症の 3 つのグループに大別された。小児では early-onset の新生児が 10.8%、late-onset の児が 70.8%の割合であった。GBS の莢膜型は III 型が 67.7%と圧倒的に多く、その他の型が少数認められた。

一方、成人では 50 歳以上が 83.1%を占め、莢膜型は Ib 型が 31.5%と最も多く、次いで V 型(18.5%)、II 型(12.1%)、III 型(12.1%)の順であった。敗血症(75%)に加え、蜂窩織炎、化膿性関節炎、壊死性筋膜炎、化膿性髄膜炎、そして亜急性心内膜炎のような様々な重症疾患が認められた。

成人例の 88.7%は、糖尿病、肝機能低下、免疫機能低下等の基礎疾患を有していたことが注目された。また、死亡例と後遺症を残した予後不良例は、小児ではそれぞれ各 1 例ずつ、成人では死亡 8 例(6.4%)、後遺症残存が 2 例(1.6%)認められた。

2) 莢膜型と薬剤耐性との関係

ML 耐性と FQ 耐性、および莢膜型との関係を小児と成人に分けて調べると、ML 耐性 23 株(12.2%)のうち、*erm(A)* 遺伝子保持株は 3 株、*erm(B)* 遺伝子保持株は 20 株であった。M type は認められなかった。小児と成人から検出された ML 耐性株はいずれも III 型が多かったが、その他いくつかの莢膜型にも ML 耐性株が少数認められた。

LVX に高度耐性を示した 45 株(23.8%)は、*gyrA* 遺伝子上の Ser₈₁ から Leu へと *parC* 遺伝子上の Ser₇₉ から Phe へのアミノ酸置換の両方を有していた。これらの株の莢膜型は、Ib 型が圧倒的に多かったが、その他の型(II, III, VI)も少数認められた。

3) GBS に対する real-time PCR 法の構築

GBS に対する real-time PCR 法の精度と感度を高めるには、検査材料からいかに効率よく DNA サンプルを抽出できるかによる。GBS は特異的な mutanolysin と呼ばれる酵素を使用すると、溶菌しやすくなることから、サンプルに mutanolysin を 1unit 加え、60°C で 10-15 分処理したところ、検出感度は 10 倍高まった。最終的にはサンプルあたり 10 個の菌に相当する DNA が存在すれば、陽性と判定される感度となり、培養よりも 100 倍感度が優れていた。

以後、mutanolysin を用いて処理した後、DNA を抽出して PCR を行なうこととした。検査材料の処理から結果を得るまでの一連の操作の所要時間は約 2 時間である。

GBS の菌量と real-time PCR で陽性反応を示すサイクル数との関係を示したが、相関係数は $\gamma = 0.990$ と高い成績を示した。

4) 臨床検査材料に対する real-time PCR 法の有用性

3) 項に示した迅速検索法を用い、妊娠 37-39 週の妊婦に対し、2 年間で 800 症例の予防的検査を行った。すべての症例のうち、PCR 陽性例は 19.6%、培養陽性例は約半数の 10.2%であった。すなわち、PCR を施行することにより、培養での見落としが少なくなることが明らかにされた。

分離された GBS の real-time PCR 法による荚膜型解析では、新生児感染症例で重要な型の Ia, Ib, そして III は合計 56%であった。

つまり、GBS 陽性という判断だけでなく、菌の型まで明らかにすることにより、出産時のリスクを明確にできると判断された。

その他に、生直後に GBS 化膿性髄膜炎が疑われた児の髄液検査および血液培養についても PCR 法を実施したが、菌の存在を証明することができた。

D. 考察と結論

我が国においては、基礎疾患を有する高齢者人口の割合が急速に高まってきている。その結果、GBS を含むレンサ球菌による侵襲性重症感染症が増加し、新たな問題を提起している。

結果に示した成績は米国の疫学データとは明らかに異なるが、その理由は今のところ明らかにできていない。

薬剤耐性化についても、本邦では ML 耐性やニューキノロン系薬耐性、さらにはセフェム系抗菌薬軽度耐性菌が出現してきている。これら耐性菌のコントロールのためには、先ず迅速診断によって原因菌を特定すること、全国規模で原因菌の分子疫学解析を持続的に行うこと、臨床医に対する啓発活動が必要であると結論された。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Murayama S. Y., 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 of *Streptococcus agalactiae* isolates from patients with invasive infections, ranging from newborn to the elderly. *Antimicrob Agents Chemother.*, **53**:2650-2653, 2009
- 2) Wajima T., Murayama S. Y., Sunaoshi K., Nakayama E., Sunakawa K., and **Ubukata K.**: Distribution of *emm* type and antibiotic susceptibility of group A streptococci causing invasive and noninvasive diseases. *J Med Microbiol.*, **57**: 1383-1388, 2008
- 3) Chiba N., Murayama S. Y., 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., **15**: 92-98, 2009

- 4) Chiba N., Morozumi M., Sunaoshi K., Takahashi S., Takano M., Komori T., Sunakawa K., **Ubukata K.**, and IPD surveillance study group: Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal disease in Japan. *Epidemiol. and Infect.*, **138**: 61-68, 2010

2. 学会発表

- 1) 関 千鶴子, 村山 琮明, 坂田 宏, 岩田 敏, 生方 公子: 侵襲性感染症由来 B 群溶血性レンサ球菌の PCR 法による莢膜型別.

レンサ球菌研究会, 2008.06.21

- 2) E. Nakayama, C. Seki, K. Sunaoshi, S. Y. Murayama, H. Sakata, S. Iwata, K. Sunakawa, **K. Ubukata.**: Capsule-Type Distribution and Antimicrobial Resistance of *Streptococcus agalactiae* (GBS) Isolated from Patients with Invasive Infection. 48th ICAAC/IDSA, Washington DC, 2008.10.27

F. 健康危険情報

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Streptococcus dysgalactiae subsp. *equisimilis* (SDSE) の全ゲノム解析

研究分担者 生方 公子 北里大学大学院感染制御科学府&北里生命科学研究所 教授

研究分担者 秋山 徹 国立国際医療センター研究所 感染症制御研究部 室長

研究協力者 村山 琮明 北里大学大学院感染制御科学府&北里生命科学研究所 講師

研究協力者 岡田 圭祐 北里大学大学院感染制御科学府 修士1年

研究協力者 砂押 克彦 北里大学大学院感染制御科学府 博士3年

研究協力者 高橋 孝 北里大学大学院感染制御科学府&北里生命科学研究所 教授

研究要旨 ヒト劇症型感染症由来の溶血レンサ球菌の1種である *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (SDSE) RE378 株と GGS_124 株およびブタ由来 L1 株について全ゲノム解析を行い、A 群溶血性レンサ球菌 (GAS) や B 群溶血性レンサ球菌 (GBS) 等の保持する病原遺伝子との比較を行なった。SDSE は GAS が保持する多くの病原遺伝子を保持していた。しかし、スーパー抗原に関わる遺伝子は保持していなかった。一部の病原遺伝子は GBS など他のレンサ球菌と共通であったが、ゲノム全体でみた遺伝子の相同性は GBS とは低かった。解析の結果は、本来動物に由来する SDSE が、ヒト生体内において GAS やその他のレンサ球菌との間に遺伝子の水平伝播が生じ、今日の GAS に近い SDSE が形成されたものと推定される。このため、GAS よりは病原性は低いものの、病原性発揮に関わる多くの遺伝子を保持することが、ヒトにおける GAS 感染症に近い病態を示すことに繋がっていると考えられる。

A. 研究目的

Streptococcus dysgalactiae subsp. *equisimilis* (SDSE) は、Lancefield の分類で C, G まれに A 群に分類されるレンサ球菌であり、人獣共通感染症を惹起する菌として知られる。元々、本菌は動物、特にブタやウマに、リンパ節炎や化膿性関節炎など種々の感染症を引き起こすことで問題視されてきたが、ヒトにおいてはその病原性は低いとされてきた。2000 年以降、いくつかの国でヒトにおける SDSE 感染症例が報告されはじめた。当研究室で行われた全国規模の疫学調査においても、特に高齢者の侵襲性感染症例の増加が認められている。発症例の病態は A 群溶血性レンサ球菌 (group A streptococci : *S. pyogenes* : GAS) に匹敵し、罹患者の 17.3% が死亡もしくは後

遺症を残している。SDSE による感染症は、GAS と同様の敗血症、化膿性髄膜炎、Streptococcal Toxic Shock Syndrome (STSS) など多岐にわたっているが、症例は基礎疾患を有する壮年期から高齢者に多いのが特徴である。

一方、GAS では 13 菌株、B 群溶血性レンサ球菌 (*S. agalactiae* : GBS) では 3 株など他のレンサ球菌では全ゲノム解析がなされているが、SDSE についてはゲノム解析が行われていなかった。われわれは、病原性解析などのための第一歩として、そのゲノム解析に着手した。ヒト侵襲性感染症由来 SDSE の 2 株、すなわち、GGS_124 (*emm* 型 : *stG480.0*) と RE378 (*emm* 型 : *stG6792.3*) およびブタのリンパ節炎由来の L1 株 (*emm* 型 :

stL2764.0) について全ゲノム塩基配列を決定し、ヒト由来の SDSE 株がどのような過程で病原性を獲得してきたのかを知るため、ヒト由来株とブタ由来株の遺伝子比較を行い、両 SDSE 株が病原性因子としてどのような遺伝子を保持するのか、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. 材料

ヒト由来の RE378 株は、62 歳の男性患者から分離された株である。患者は敗血症から急速に多臓器不全に至り、入院後わずか 1 日で死亡している。ヒト由来 GGS_124 株は、敗血症から多臓器不全で死亡された症例の株である。ブタ由来の L1 株は、リンパ節炎を惹起したブタから分離された株である。

2. 全ゲノム塩基配列の決定とアノテーション

全ゲノム解析は 454 Life Sciences (ロシュ・ダイアグノスティクス(株)) を用いて pyrosequencing 法で決定した。その後、ギャップを埋めるためのプライマーは近隣のコンティグ末端の配列に設計し、Sanger 法にてコンティグを繋いだ。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。次世代シーケンス法であるピロシーケンス法によりドラフト配列を取得した。種々の解析は、専用ソフトウェアである in silico molecular cloning を利用して実施した。

C. 研究成果

1) ゲノム概要

ゲノムサイズは、2.1~2.2 Mbp, ORF 数が約 2,000, GC 含量が 39.5% と他の *Streptococcus* 属菌種と同様であった。

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。GAS や RE378 株に比べ、L1 株には特有の遺伝子が多かった。L1 株はゲノムサイズがやや大きく、ファージ挿入領域が大きかったことによると推定された。L1 株にみいだされるファージは *S. agalactiae* (group B streptococci; GBS) に由来するものが多く、L1 株にのみ Integrative Conjugative Element (ICE) が挿入されていた。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 repeat) 配列が、GGS_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

他の *Streptococcus* 属菌種のゲノムと比較した。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、共通に存在するものとして、繊維状のタンパクで先端は超可変領域であり、病原性の強弱に寄与している M タンパクをコードする *emm* と、その調節因子である Mgr をコードする *mgg*, 溶血毒素のストレプトリジン S をコードする *sagA*, 発現調節因子をコードする *covR/S* などが存在した。

GAS のスーパー抗原 SDSE, 莢膜合成遺伝子 *hasA*, *hasB*, 調節遺伝子 *ropB* などは保持しないものの、ヒト由来 SDSE では GAS のそれと 88% 以上の相同性のあるストレプトキナーゼ, C5a ペプチダーゼなど、多くの因子を保持していた。しかし、L1 株には、ストレプトキナーゼや C5a ペプチダーゼをコード

していると思われる遺伝子は存在していたものの、ヒト由来株とは全く異なる場所に位置し、その相同性も20%以下と低かった。他に、ストレプトリジンOをコードする *slo* は、RE378 株と GAS は 98.6%の相同性を有し、しかもゲノム上の同じ場所に位置していたが、L1 株には *slo* は存在していなかった。

D. 考 察

SDSE は、2000 年頃から劇症型感染症が報告され、 β 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。 β 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 に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。ICE や病原性遺伝子の比較よりブタ由来の L1 株はヒト SDSE 株に較べ、特

有の進化の過程を経てきたことが示唆された。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。

E. 結 論

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られる。

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、今後も啓発活動の必要性があることを強調したい。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 砂押克彦, 生方公子: *Streptococcus equisimilis* 感染症. 総合臨床, 57: 2686-2691, 2008
- 2) 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
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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]
- 9) **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.
- 10) **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.
- 11) 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) **生方公子**: β 溶血レンサ球菌感染症例増加の背景とその分子疫学および病原性について。— *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* と *S. pyogenes* を中心に—。第 40 回レンサ球菌感染症研究会(東京), 特別講演, 2007.06.23
- 2) T Miyoshi-Akiyama, Y. Shimomura, S. Murayama, K. Ubukata, J. Yagi, T. Kirikae. Whole genome analysis of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* GGS-124. American Society for Microbiology, 108th General Meeting June 1-5, 2008, Boston MA, USA
- 3) 砂押克彦, 関 千鶴子, 村山琮明, 砂川慶介, **生方公子**: 侵襲性感染症由来 *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* の分子疫学. *emm* 型別と患者背景因子の解析. 日本感染症学会東日本地方会. 2008.10.24
- 4) 村山琮明, 秋山 徹, **生方公子**, 砂押克彦, 油橋宏美: *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* の病原性レギュロン *mgrC* 領域の解析. 第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋) 2009.3.12-14 [日本細菌学雑誌 (0021-4930)64 巻 1 号 p.205 (2009.02)]
- 5) 下村有美, 奥村香世, 村山琮明, 八木淳二, **生方公子**, 切替照雄, 秋山 徹, 花崎真一, 島田恭兵: *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* GGS_124

- 株の全ゲノム配列の決定 第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋) 2009.3.12-14 [日本細菌学雑誌(0021-4930)64 巻 1 号 p.83(2009.02)]
- 6) 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. 109th ASM General Meeting 2009.5.17-21 , Philadelphia, USA.
- 7) 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*. 109th ASM General Meeting 2009.5.17-21, Philadelphia, USA.
- 8) 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* の病原性に関与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
- 9) 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
- 10) 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* の病原性に関与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
- 11) 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. 知的所有権の取得状況
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

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

要旨

B 群溶連菌(group B *Streptococcus*, GBS)は新生児や生後 4 か月までの乳児の敗血症、髄膜炎、肺炎の主要な原因菌である。中でも、生後 7 日未満で発症する早発型は母体からの垂直感染により肺炎や敗血症をきたし、現在でも予後不良となる例が少ないため、その対応は産婦人科、小児科にとって重要な問題となっている。米国 CDC では 1996 年以降 GBS を保菌している妊婦に対して抗菌薬を投与して、垂直感染を防止する試みが行われ、早発型 GBS 感染症が減少し、効果をあげている¹⁾。本邦では、2008 年に日本産婦人科学会から診療ガイドラインが出され²⁾、今後の動向が注目されている。

今回、最近 10 年間に当院で診療した新生児・乳児の GBS 感染症をまとめ、さらにこれらの児から検出された GBS と、健常妊婦および新生児・乳児以外の臨床検体から分離された GBS について血清型と抗菌薬感受性を検討したので、報告する。

A. 対象および方法

1998 年から 2007 年までに当院 NICU および小児科病棟に入院した 12 名の GBS 感染症の児について、診療録を調査した。GBS 感染症の定義は感染症を示唆する症状および臨床検査が認められ、血液または髄液から GBS が検出された例とした。症状があっても、胃液や胎脂から GBS が検出された例は除外した。早発型は出生後 7 日未満に発症した例、遅発型はそれ以降に発症した例とした。

これらの患者から分離された後、凍結乾燥して保存していた 12 株の GBS と

2006 年から 2008 年に北海道内の小児科施設で治療を受けた 8 名の GBS による髄膜炎・敗血症の患者の血液または髄液から分離された株の譲渡をうけ、合計 20 株について菌血清型と抗菌薬感受性を検討した。なお、菌株の譲渡にあたっては、個人情報保護のために各施設の方針に基づいて行われ、患者情報は年齢と疾患のみ提供をうけた。また、

2007 年から 2008 年までに当院において GBS を保菌していた妊婦 28 名、新生児 11 名から検出された株についても血清型と抗菌薬感受性を測定した。分離された検体は妊婦がすべて膣分泌物、新生児は便 5 株、胎脂 4 株、胃液 1 株、気道 1 株であった。

抗菌薬感受性は ampicillin(ABPC)、cefotaxime(CTX)、ceftriaxone (CTRX)、meropenem(MEPM)、panipenem (PAPM)について最小発育阻止濃度(minimum inhibitory concentration, MIC)の測定を日本化学療法学会の微量液体希釈法に準じて行った³⁾。髄液・血液から分離された 20 株は最小殺菌濃度(minimum bacteriocidal concentration, MBC)も測定した。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血液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、図 1 のように培地に成育した菌株について、液体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, 液体培地のみで培養したものと比較した。血清型の判定は GBS 型別用免疫血清 (デンカ生研) を用いて実施した。有意差の検定は StatMateIII for Macintosh(アトムス)によりカイ二乗検定を行い, $p < 0.05$ を有意差ありとした。

B. 研究結果

表 1 に当院で診療した GBS 感染症の 12 名の概要を示した。2006 年以降に 6 名が発症していた。全例生後 4 か月未満の児で, 生後 1 か月未満の新生児が 7 名であった。診断は髄膜炎が 4 名, 敗血症が 8 名, 早発型は 3 名, 遅発型 9 名であった。早発型では低血糖, 呼吸障害, 発熱と初発症状は異なっていたが, 遅発型では発熱が 6 名が多かった。急激なショックで発症した児も認められた。早発型の 3 名のうち 2 名は院内出生であった。対象である 10 年間の当院の分娩数は 4773 件, 出生児 4980 名であり, 早発型の頻度は出生 1000 人あたり 0.4 であった。予後は 3 名で神経学的後遺症を認めた。

母体の保菌状況は 11 名で調べられており, 7 名は陰性, 4 名は陽性であった。陽性のうち 1 名は抗菌薬投与なく出生, 1 名は経口抗菌薬内服し, 分娩直前の培養で陰性を確認, 2 名は分娩中に抗菌薬を非経口投与して出生した。

感染経路として, 出生直後に低出生体重や呼吸障害のため入院した後, 皮膚・糞便・気道の検体で GBS が検出されていなかったにもかかわらず, 遅発型感染症をきたした児が 3 名認められた。ただし, これらの児が入院している間の他の入院中の児で GBS 陽性者がいなかったことから, 厳密な感染経路は不明である。今回の検討では母子ともに GBS が検出されたのは 1 組だけであり, 血清型はともに VI 型であり, 母胎から児への移行が確認された。血清型は GBS 感染症の児 12 名中,

III 型が 7 名で最も多く, ついで I a 型と I b 型が 2 名ずつ, II 型が 1 名であった。

表 2 に妊婦と新生児の保菌者から検出された GBS の血清型を示した。敗血症・髄膜炎を発症した児と同様に III 型が多かった。妊婦の膣分泌物では VI 型と VIII 型が多く, 優位な血清型が異なっていた。III 型の頻度については, GBS 感染症の児と妊婦の間で有意差を認めた ($p < 0.05$)。

表 3 に各薬剤の MIC を示した。GBS 感染症患者から分離された 20 株におけるそれぞれの薬剤の MIC90 は ABPC が $0.12 \mu\text{g/ml}$, CTX が $0.06 \mu\text{g/ml}$, CTRX が $0.06 \mu\text{g/ml}$, MEPM が $0.03 \mu\text{g/ml}$, PAPM が $0.015 \mu\text{g/ml}$ であった。保菌者から分離された株も, ほぼ同様であった。

表 4 に MBC を示したように, 抗菌薬の濃度が $2 \mu\text{g/ml}$ 以上で生育する GBS が ABPC では 6 株, CTX では 5 株, CTRX では 4 株, PAPM では 5 株, MEPM では 6 株認められた。高濃度でも生育した株以外の他の株の MBC90 は ABPC が $0.12 \mu\text{g/ml}$, CTX が $0.06 \mu\text{g/ml}$, CTRX が $0.12 \mu\text{g/ml}$, MEPM が $0.06 \mu\text{g/ml}$, PAPM が $0.03 \mu\text{g/ml}$ であった。高濃度で成育した株 (tolerance) 株と通常の株について図 2 に ABPC, 図 3 に CTX における経時的な変化を示した。tolerance 株は通常の株に比較して, 生菌数の減少の程度が緩やかであった。

C. 考察

新生児・乳幼児の GBS 感染症から分離された菌については, 以前に当院および他院患者についてまとめた既報⁴⁾があるが, 8 株中 4 株が当院の症例であった。今回はその症例も含めた 12 例であるが, 薬剤感受性試験は今回新たに実施した成績である。

新生児および乳児早期の GBS 感染症の頻度は, 分娩時の抗菌薬の非経口投与を推奨している米国では, 2004 年に出生 1000 人あたり早発型が 0.34, 遅発型が 0.38 としている⁵⁾。

新生児の GBS 感染症の予防対策が提唱された 1996 年以前では、早発型は出生 1000 人あたり 1.7 であった⁵⁾ので、著明に減少していたが、遅発型には効果は認められていない。本邦での頻度については松原ら⁶⁾が 2000 年から 2004 年までの 28 施設でのアンケート調査から早発型は 0.1 と推定しているのが唯一の報告である。この成績と著者の成績から考えると、現在の米国のレベル程度と推測される。

本邦では 2008 年に日本産婦人科学会のガイドライン²⁾が公開された。その中で、1)妊娠 33~37 週に膈周辺の培養検査を行う。2)以下の妊婦には経膈分娩中、ペニシリン系薬静注による母子感染予防を行う。・前児が GBS 感染症（今回のスクリーニングが陰性であっても）、・GBS 陽性妊婦（破水/陣痛のない予定帝王切開中の予防は必要なし）、3)スクリーニングを行っている施設にあって、未検査あるいは検査結果が判明していない妊婦は原則として GBS 陽性妊婦として取り扱う。このガイドラインが普及して、GBS を保菌している妊婦を対象に分娩中に静注で抗菌薬を投与することで、早発型感染症が減少することが期待される。しかし、遅発型の頻度は変わらないことと、著者の症例に含まれていたようにガイドライン通りに抗菌薬を投与しても GBS 感染症が発症する児がいることに注意が必要である。

本邦における新生児・乳児の GBS 感染症について、保科ら⁷⁾が 1998 年から 2003 年までの症例を全国 195 施設のアンケート調査によりまとめている。この報告は 458 名を集計しているが、血液や髄液以外の無菌的ではない部位から GBS が検出されたような疑い例も含めている。敗血症が 132 名、肺炎 131 名、髄膜炎 65 名であり、この 3 疾患において早発型が 75.6%を占めていた。血液・髄液から菌が検出された例に限ると、敗血症 76 名、髄膜炎 65 名となり、髄膜炎例の 66%は遅発型、敗血症例の 84%は早発型と明らかな

差が認められた⁸⁾。血液・髄液から菌が検出された例に限った予後では、死亡および後遺症例は早発型の 21%、遅発型の 30%を占めていた⁸⁾。著者の成績でも、死亡はなかったが後遺症を残した例が 3 名(25%)認め、いまだ発症すると予後が不良となる頻度が高い疾患である。

成人を含めた GBS 感染症の調査を生方ら⁹⁾が行っているが、その成績では小児の血液・髄液から分離された 28 株の中で、15 株が III 型で最も多く、次いで I a 型、I b 型、II 型であり、それ以外の型はなかった。早発型と遅発型で血清型の頻度が異なっているかについては著者の成績では早発型の 3 名は血清型が異なっていたが、全国の症例をまとめた保科らの成績では、早発型においては III 型が 38.4%と最も多く、ついで I a 型が 17.0%であった。遅発型では III 型が 77.6%を占めていた¹⁰⁾。一方、成人では 123 株の中で最も多いのが I b 型、次いで V 型で、小児とは様相が異なっていた。Darbar ら¹¹⁾は侵襲性感染症の原因と判定された GBS の血清型を検討し、小児では III 型が半数以上を占め、成人では I a 型が最も多く、次いで III 型、V 型となり、小児と成人では III 型と V 型の分布に有意差を認めたとしている。

本邦における妊婦から検出された GBS の血清型では、2002 年から 2006 年の大阪での成績¹²⁾で、最も多かったのが I b 型で 19.1%、次いで VI 型 18.4%、VIII 型 14.0%であった。この 5 年間の変動では、I b 型が増加、VI 型と VIII 型は減少傾向にあるとしている。札幌での 2000 年から 2004 年の成績¹³⁾では VI 型が最も多く、30.3%を占め、次いで VIII 型で 20.8%、III 型 14.6%となっており、原因が時間的な差によるのか地域的な差によるのかは不明だが大阪の成績とは少し異なっていた。

これらの成績から、垂直感染でも妊婦で多い血清型と新生児で感染症をきたしやすい血清型が異なっていることが明らかになっ

た。また、新生児や乳児早期におこる GBS 感染症と成人の GBS 感染症は菌の特性が異なっている可能性がある。

薬剤感受性試験では、新生児の髄膜炎・敗血症で推奨されている、ABPC と CTX, CTRX に耐性は認められなかったが、carbapenem 系である PAMP, IPM はこれらの薬剤より MIC が低かった。生方らの成績⁹⁾でも、carbapenem 系薬の感受性が優れていた。Carbapenem 系薬は、新生児領域での使用が認可されていない。しかし、新生児で重大な副作用が発生したことによるものではなく、使用経験が乏しいことによる。現在の GBS 感染症に主に用いられる ABPC, CTX で治療していても、予後不良が少なくないことから、GBS 感染症では抗菌力が優れた carbapenem 系薬の使用を考慮すべきである。

MIC より高い濃度でも菌が生育するという tolerance 現象が認める株が抗菌薬によるが 20 株中 4~6 株存在した。しかし、他の株は MIC と MBC がほぼ一致していたことから、新生児・乳児の B 群溶連菌による感染症には、ABPC, CTX, CTRX, PAMP, MEPM はすべて有効性が期待できると考えられた。ただし、より髄液移行性が良好で、MBC が低い薬剤が求められる髄膜炎の治療に関しては、MIC₉₀ が 0.12 μ g/ml である ABPC より 0.03 μ g/ml である PAMP/BP の方が有効であると考えられた。新生児 GBS 感染症を予防するために、GBS を保菌する妊婦が分娩するさいには、分娩時に penicillin 系抗菌薬を静注投与することが推奨されている。しかし、tolerance 株であった場合には分娩時に 1 回だけの抗菌薬投与では除菌できない可能性があると思われた。実際に、適切な GBS 垂直感染防止対策を行った妊婦から出産した児が GBS 感染症を発症することもある。今後、tolerance 株を考慮する必要がある。GBS の tolerance の機序は不明であり、今後検討していく課題と思われる。

D. 論文発表

- 1) Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, Schuchat A. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC. MMWR Recomm Rep 2002;51(RR-11):1-22.
- 2) 日本産科婦人科学会・日本産婦人科医会. 産婦人科診療ガイドライン—産科編 2008. 日本産科婦人科学会事務局, 2008, 東京.
- 3) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定法検討委員会: 微量液体希釈による MIC 測定法(微量液体希釈法)-日本化学療法学会標準法 - . Chemotherapy 1990;38:102-5.
- 4) 坂田 宏, 小久保雅代, 白井 勝, 梶野真弓, 高瀬雅史, 岡本年男, 他: 敗血症・髄膜炎の乳児から分離された大腸菌と B 群溶血連鎖球菌の薬剤感受性. 日児誌 2005;109:22-5.
- 5) Centers for Disease Control and Prevention(CDC). Early-onset and late-onset neonatal group B streptococcal disease. -United States,1996-2204. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2005;54:1205-8.
- 6) 松原康策, 金岡裕夫, 奥村光洋, 黒須英雄, 前田真治, 濱口賢子, 他. 2000 年~2004 年の早発型・遅発型 B 群溶連菌感染症頻度の推定—未熟児新生児医療研究会調査から—新生児誌 2007;43:701-5.
- 7) 保科 清, 鈴木葉子, 仁志田博司, 門井伸暁. 最近 6 年間の B 群レンサ球菌 (GBS)感染症についてのアンケート調査結果. 新生児誌 2006;42:7-11.
- 8) 保科 清. B 群溶連菌(GBS)感染症. 新生児誌 2007;43:817-21.
- 9) 生方公子.新規に発生しているレンサ球菌による劇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. 平

成 19 年度全国疫学研究のまとめ. 北里
大学北里生命科学研究所, 東京, 2008.

- 10) Hoshina K, Suzuki Y, Nishida H, Kaneko K, Matsuda S, Kobayashi M, et al. Trend of neonatal group B streptococcal infection during the last 15 years. *Pediatr Int.* 2002;44:641-6.
- 11) Darbar AA, Gilbert GL. Phenotypical and genotypical characteristics of invasive group B *Streptococcus* isolates in Western Sydney 2000-2005. *Pathology* 2007;39:589-93.
- 12) 藤原 太, 稲岡千佳子, 片山 徹, 宮道 徹, 中山雅弘. 妊婦の *Streptococcus agalactiae*(B 群溶血連鎖球菌 GBS)保菌

と血清型動向. 大阪府立母子保健総合医
療センター雑誌 2007;23:34-6.

- 13) 滝沢慶彦. オリベラ恵, 関 亜希子, 菅野のぞみ, 与田京子, 仁科明美, 他. 一総合病院における B 群レンサ球菌. 市立札幌病院誌 2005;65:63-8.

E. 知的所有権の取得状況

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

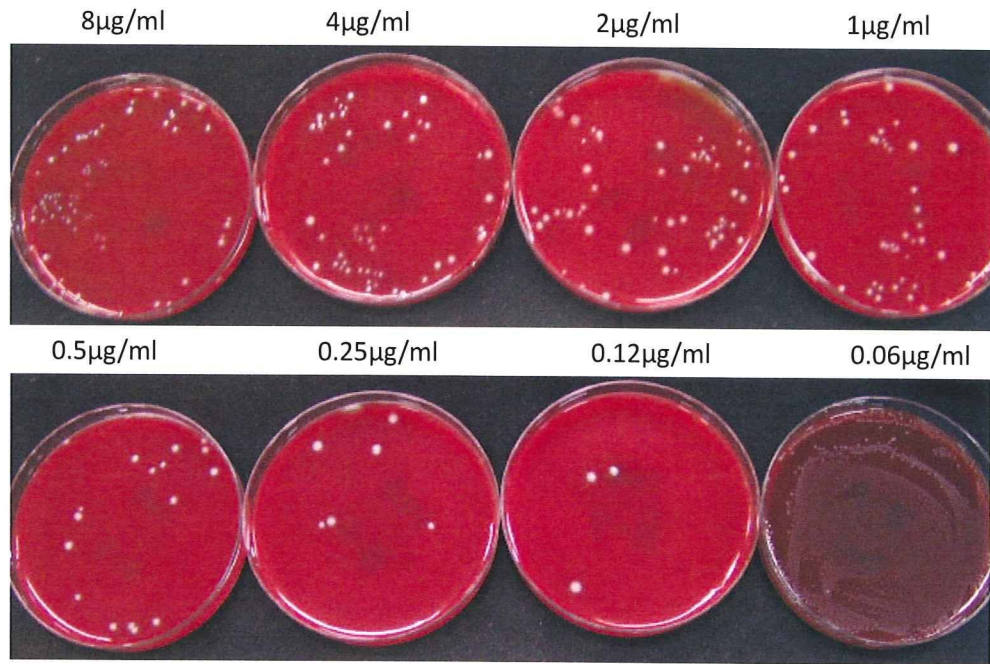


図1 Ampicillin に tolerance を示す株

各寒天培地に含まれる薬剤の濃度を上段に記した。すべての濃度で菌の発育が認められた。

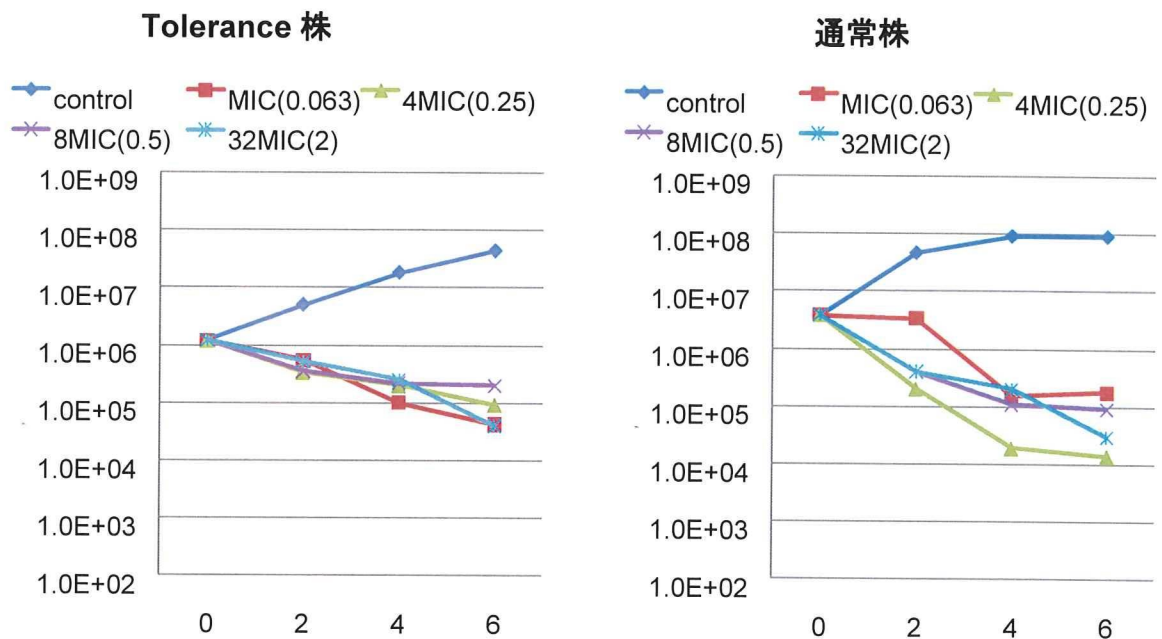


図2 Ampicillin に tolerance を認めた株と通常の株における時間経過による生菌数の変化

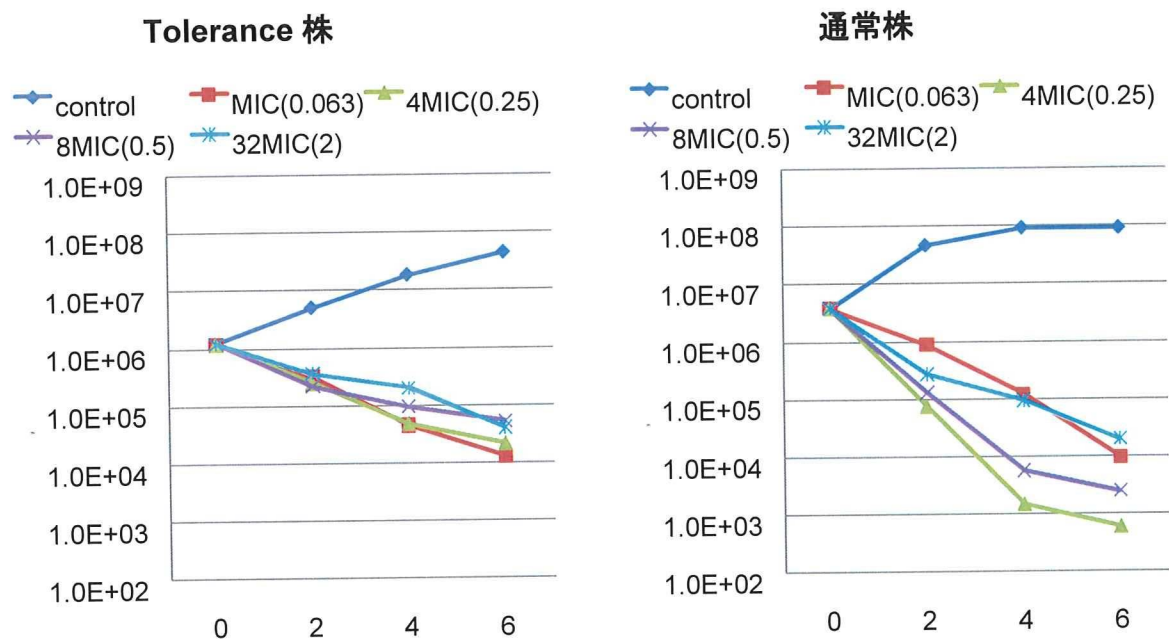


図3 Cefotaxime に tolerance を認めた株と通常の株における時間経過による生菌数の変化

表1 当院で診療した GBS 感染症患者の一覧

Year	Diagnosis	Initial symptoms	Age (days)	Antenatal GBS screening	Sequela	Serotype
1998	meningitis	fever	16	unknown	cerebral palsy, epilepsy	III
2002	sepsis	fever	16	negative	none	III
2002	meningitis	fever	131	negative	none	I a
2003	meningitis	apnea	37	negative	none	III
2004	sepsis	hypoglycemia	0	positive	none	I a
2005	meningitis	fever	6	negative	none	III
2006	sepsis	respiratory distress	0	positive#	mental retardation	II
2007	sepsis	shock	7	negative	cerebral palsy	I b
2007	sepsis	fever	17	negative	none	III
2007	sepsis	irritability	42	positive#	none	I b
2007	sepsis	fever	49	positive*	none	III
2007	sepsis	fever	103	negative	none	III

表2 分離された GBS の血清型

血清型	Ia	Ib	II	III	V	VI	VII	VIII	other	total
GBS感染症児から分離した株	4 (20.0)	4 (20.0)	1 (5.0)	11 (55.0)	0	0	0	0	0	20
健常新生児から分離した株	2 (18.2)	1 (9.1)	1 (9.1)	3 (27.3)	2 (18.2)	2 (18.2)	0	0	0	11
妊婦から分離した株	4 (14.3)	4 (14.3)	2 (7.1)	3 (10.7)	3 (10.7)	5 (17.9)	0	5 (17.9)	2 (7.1)	28
total	10 (16.9)	9 (15.3)	4 (6.8)	17 (28.8)	5 (8.5)	7 (11.9)	0	5 (8.5)	2 (3.4)	59

表3 B群溶連菌の抗菌薬感受性

	no of strains	MIC90 (μ g/ml)				
		ampicillin	cefotaxime	ceftriaxone	panipenem	meropenem
GBS感染症児から分離した株	12	0.12	0.06	0.06	0.015	0.03
健常新生児から分離した株	11	0.12	0.06	0.06	0.015	0.03
妊婦から分離した株	28	0.12	0.06	0.06	0.015	0.03
total	100	0.12	0.06	0.06	0.015	0.03

表4 B群溶連菌感染症患者から分離された20株のMICとMBC

case No.	ABPC		CTX		CTRX		MEPM		PAPM	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
1	0.12	0.12	0.06	0.06	0.06	0.06	0.03	0.06	0.015	0.03
2	0.12	0.12	0.06	0.06	0.06	0.12	0.06	0.06	0.015	0.03
3	0.06	0.12	0.06	0.06	0.06	0.06	0.03	0.03	0.015	0.015
4	0.12	0.12	0.06	0.06	0.06	0.06	0.03	0.03	0.015	0.015
5	0.12	0.12	0.06	0.06	0.06	0.06	0.03	0.06	0.015	0.015
6	0.12	0.12	0.06	0.06	0.06	0.06	0.03	0.03	0.015	0.015
7	0.12	0.12	0.06	0.06	0.06	0.06	0.03	0.06	0.015	0.03
8	0.12	0.12	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.015	0.03
9	0.12	0.12	0.06	0.06	0.06	0.12	0.03	0.06	0.015	0.03
10	0.12	0.12	0.06	0.06	0.06	0.06	0.03	0.06	0.015	0.03
11	0.12	0.12	0.06	0.12	0.06	0.12	0.03	0.06	0.015	0.015
12	0.12	0.12	0.06	0.06	0.06	0.06	0.03	0.06	0.015	0.03
13	0.12	0.12	0.06	0.06	0.06	0.06	0.03	0.06	0.015	0.03
14	0.12	0.12	0.06	0.06	0.06	0.06	0.03	0.06	0.015	0.03
15	0.06		0.03		0.03		0.015		0.008	
16	0.06		0.06		0.06		0.03		0.015	
17	0.06		0.03		0.06		0.03		0.015	
18	0.06		0.06	0.06	0.06	0.12	0.03		0.015	
19	0.12		0.06		0.06	0.06	0.03		0.015	
20	0.12		0.06		0.06		0.03		0.015	
90%	0.12	0.12	0.06	0.06	0.06	0.12	0.03	0.06	0.015	0.03

空欄は tolerance 現象

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、レンサ球菌感染症の臨床像を明らかにするため、本研究において様々な臨床研究を行った。まずレンサ球菌属による菌血症，敗血症の実態を明らかにするため、2007年から2年間に救急外来で実施された血液培養の全例調査を実施し、血液培養実施605人中13.4%が陽性で、うちグラム陽性球菌を4.6%、さらにその中でレンサ球菌属を3.3%から検出していた。続いて血液培養陽性患者の血液検査，臨床像を解析したところ、患者背景ではA群レンサ球菌(GAS)とB群レンサ球菌(GBS)が若年傾向、アンギノーサス群が高齢傾向にあった。またアンギノーサス群の基礎疾患保有率が低かった。白血球数が異常値を示した割合はGAS, GBS, G群レンサ球菌(GGS)に属する *Streptococcus dysgalactiae subspecies equisimilis* (SDSE)が100%であり、肺炎球菌で40%と低かった。血小板数低値は、GBSを除く菌種で約半数に認めた。肺炎球菌患者における血小板減少率は40%であったが、過去に本菌による致死性の電撃性紫斑病(Purpura fulminans)の症例を経験しており、DICを主体とした劇症化症例に留意が必要と思われた。CRP高値は、GASとSDSEで100%に認めた。

一方、GAS, GBS, 及びSDSEに限定し行った12年間の調査では、GAS 19人、GBS 9人、SDSE 27人が血液培養陽性であり、基礎疾患保有率はGASとSDSEが各々84%、96%と高率であった。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、今後全国的な臨床像の調査が必要と考えられた。今後これらの臨床研究を遂行する上で、今回の研究期間中に開発した日本救急医学会 Sepsis Registry 症例登録システムは有用なツールになることが期待された。

A. 研究目的

A群溶血性レンサ球菌(GAS)は、以前には猩紅熱、リウマチ熱の原因菌として社会的に重視され、猩紅熱は伝染病予防法の指定疾患ともなっていたが、抗菌薬の普及とともに症例数が激減し、1998年に制定された新感染症法では猩紅熱は含まれていない。しかしGASが咽頭炎や皮膚・軟部組織感染症の主要な原因菌であることには今でも変わりがなく、最近ではこれらの局所感染にsepsisを合併し重症化したり、あるいは壊死性筋膜炎

などの激症型レンサ球菌感染症(STSS)を呈する患者が増加傾向にある。

近年、これらレンサ球菌性重症感染症の原因菌として、従来から知られていたGASに加え、レンサ球菌の同定に使用される抗血清による凝集反応で、C群(GCS), G群(GGS), あるいはまれにA群に凝集する *Streptococcus dysgalactiae subspecies equisimilis* (SDSE)も同様の病態を惹起することが明らかになりつつある。さらに、我が国における人口の急速な高齢化に伴い、様々な基礎疾患を有する患

者に合併する上記以外のレンサ球菌感染症も問題となっている。

このような背景を受け、本研究が開始された。我々は分担研究員として、レンサ球菌属感染症、特に重症感染症の臨床像を明らかにすることを目的に種々の検討を行った。

B. 研究方法

以下の3つの方法を用いた。

(1) 慶應義塾大学病院で実施した血液培養からレンサ球菌属が検出された患者における検討

A) 2006年1月～2007年12月に当院で血液よりレンサ球菌、肺炎球菌が検出された患者の後ろ向き調査

B) 2007年1月～2008年12月の2年間に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とした後ろ向き調査

C) 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 GGS が検出された患者の後ろ向き調査、及び GAS と GGS については、同期間に当院入院中の患者も対象に調査

(2) 慶應義塾大学病院救急科入院患者における検討

A) 救急科開設以来、当科へ入院したレンサ球菌、肺炎球菌患者の後ろ向き調査

B) 研究期間中に血液培養でレンサ球菌が陽性であった当科入院患者の前向き調査

(3) 劇症型レンサ球菌感染症を含む重症敗血症の全国的な臨床研究を推進するための、日本救急医学会と UMIN との共同による敗血症症例登録システム (Sepsis Registry) の開発

各々の臨床研究に当たっては、患者情報を匿名化し、パスワードでセキュリティのなかったコンピュータで解析を行った。

C. 研究結果

(1) 当院入院または外来で実施した血液培養からレンサ球菌属が検出された患者における検討

A) 2006年1月～2007年12月の間に、当院で実施した血液からレンサ球菌、肺炎球菌が検出された患者を後ろ向きに調査した。レンサ球菌を検出した10人 (GAS 4株, GBS 5株, GGS 1株) のうち、GAS と SDSE を検出した1人が死亡、血小板 < 10万/μl の症例は認めなかった。一方肺炎球菌は3人で検出されており、全例が生存退院、血小板 < 10万/μl を 2/3 人で認めた。

B) 2007年1月～2008年12月に当院救急外来にて血液培養を実施された全患者を対象に、後ろ向き調査を行った。その結果、2年間の血液培養実施患者 605 人中 13.4% が陽性で、うちグラム陽性球菌が 4.6%、さらにその中でレンサ球菌属が 3.3% を占めていた。

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(表1)。

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(表2, 表3)。

C) 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 GGS が検出された患者、また GAS と GGS については、同期間に当院入院中の患者も対象として後ろ向きに検討した結果、GAS 19人、GBS 9人、SDSE 27人を見いだした。なお以下の検討において、STSS の診断には 2010 年の CDC 診断基準を (表 4)、DIC の診断には日本救急医学会急性期 DIC 診断基準(表 5)をそれぞれ用いた。

- ① 基礎疾患保有率はGASとSDSEが各々 84%, 96%と高い割合であった。
 - ② 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(表6)。
 - ③ 敗血症合併は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。
 - ④ GASのemm型では、1型が少なく、58型と89型が多かった。
 - ⑤ STSS臓器症状・不良転帰は、49型と58型で2例/2例認めた。
 - ⑥ SDSEのemm型は生方らによる全国統計と同傾向であった。
 - ⑦ STSS臓器症状・不良転帰は、stC6979型で2例/2例認めた。
- (2) 慶應義塾大学病院救急科入院患者における検討
- A) 当大学救急科の開設以来、当科に入院したレンサ球菌、肺炎球菌患者の詳細な病態を後ろ向きに調査した。その結果、喀痰より肺炎球菌を検出した1人において、急速にDICが進行し、入院翌日に死亡しており、電撃性紫斑病(Purpura fulminans)が疑われた。その他、SDSEによる壊死性筋膜炎、GASによる多発関節炎の症例がSTSSの診断基準を満たしていたが、いずれも外科的治療や長期抗菌薬治療により軽快退院していた。
 - B) 本研究期間中の2008年に、81歳女性患者1人の血液からGGSが分離され、SDSEと同定した。本患者は基礎疾患を有さず、来院時SIRS4項目を満たしたが、合併症なく、6日間の抗菌化学療法にて軽快退院した。なお、諸検査にもかかわらず、感染巣、感染経路は不明であった。

- (3) 劇症型レンサ球菌感染症を含む重症敗血症の全国的臨床研究を推進するため、日本救急医学会を中心として、UMINと共同でWeb登録Sepsis Registryの開発を開始した。2010年3月にシステムが完成し、同4月より運用を開始した。

D. 考察

レンサ球菌属は、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・軟部組織が多くを占めていた。

基礎疾患保有者は、従来から指摘されている弱毒菌に加え、肺炎球菌、GAS感染にも留意が必要と思われた。口腔内常在弱毒菌のアンギノーサス群が高齢健常者から多く検出されたことは、同菌がう歯などから流血中に入り、健常高齢者敗血症の原因になり得ることを示唆していると考えた。

局所軟部組織感染症が主体のGAS、GBS、SDSEでSIRS基準に基づく白血球数異常率がいずれも100%である一方で、肺炎球菌が40%であったことは、肺炎球菌が全身徴候、検査値異常を呈する以前の段階で、高率に菌血症を呈することを示唆する結果と思われた。肺炎球菌敗血症患者における血小板減少率は40%であったが、一部で致死性の電撃性紫斑病を呈する場合もあり、今回の検討では重症化の機序を解明できなかったが、今後全国的な症例集積による病態の更なる解明が望まれる。

レンサ球菌敗血症患者の中では、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。一方で、SDSEが基礎疾患非保有者における菌血症、敗血症の原因になり得ることが、今回の我々の症例から判明したため、今後実

態の解明が必要と思われた。また Emm 型により症状や予後が異なる可能性も示唆され、今後全国的な症例集積による病態の解明が必要と考えられた。

今回の研究期間中に開発した Sepsis Registry システムは、今後レンサ球菌感染症の全国調査を行う上で、有力なツールになり得るものと思われた。

E. 結論

レンサ球菌感染症は、基礎疾患を有する患者での発症が多く、病態や重症度は患者の免疫状態に加えて、菌の種類や遺伝子型によって明らかに異なっていた。重症感染症としては肺炎球菌による電撃性紫斑病、GAS や SDSE による STSS があり、特に SDSE が STSS の原因菌となり得ることに十分留意する必要があると思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 中野 泰, 藤島清太郎, 他. Bio-plex を用いた ALI/ARDS 患者における BAL 液各種サイトカインの測定 人工呼吸 2007;24:140-5
- 2) 藤島清太郎. レジオネラ感染症 救急医学 2007;31:1187-92
- 3) 池田雄一郎, 藤島清太郎. 重症呼吸器疾患の救急管理: ARDS 呼吸 2008; 27:43-8
- 4) Fujishima S, et al. Neutrophil elastase and systemic inflammatory response syndrome in the initiation and development of acute lung injury among critically ill patients. Biomed Pharmacother 2008;62(5):333-8.
- 5) 藤島清太郎. S. equisimilis 感染症が今後の焦点に: 溶血連鎖球菌による侵襲性感染症の新たな動向. Medical Tribune 2008 年 11 月 20 日号 p.64-5
- 6) 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.

- 7) 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.
 - 8) 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).
 - 9) 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.
 - 10) 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
 - 11) 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.
 - 12) 藤島清太郎. 2009. II. 危険因子. In: 相馬一亥, 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) 宮木 大, 藤島清太郎, 他. 当院救急部における人工呼吸器関連肺炎の発生状