

況分析と今後の対策 第 35 回日本救急
医学会総会 2007.10.16-8 大阪

- 2) 上野浩一, 藤島清太郎, 他. A 群連鎖球菌による感染性多発関節炎の治療中に著明な血小板減少をきたしガンマグロブリン大量療法が有効であった一例 第 58 回日本救急医学会関東地方会 2008.2.9 浦和
- 3) 藤島清太郎, 他. レンサ球菌, 肺炎球菌 Sepsis における病態重症化因子の解明: 劇症型感染症の救命率向上に向けて 第 36 回日本救急医学会総会・学術総会 2008 年 10 月 13 日 札幌
- 4) 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)
- 5) 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)
- 6) 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)

- 7) 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 β 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)
- 8) 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)

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

表1 分離レンサ球菌菌種別患者背景

菌種	平均年齢	性別(M/F)	基礎疾患率
肺炎球菌	71 歳	2/3	60% (3/5)
GAS	59.5 歳	3/1	75% (3/4)
GBS	44 歳	1/2	67% (2/3)
GGs: SDSE	73 歳	3/2	80% (4/5)
アンギノーサス群	75.5 歳	3/1	25% (1/4)

表2 分離Streptococcus菌種別検査値

菌種	白血球 (≤4,000, ≥12,000率) ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	血小板 (≤120率) ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	CRP (≥2.0率) (mg/dl)
肺炎球菌	9.3 (40%)	229 (40%)	3.9 (40%)
A群レンサ球菌	14.1 (100%)	162 (50%)	16.9 (100%)
B群レンサ球菌	15.0 (100%)	203 (0%)	7.3 (33%)
G群レンサ球菌			
SDSE	12.6 (80%)	123 (60%)	8.1 (100%)
アンギノーサス群	8.4 (50%)	129 (50%)	9.9 (50%)

表3 分離Streptococcus菌種別臨床像と転帰

菌種	SIRS項目数	ショック合併率	生存退院率
肺炎球菌	2.2	20% (1*/5)	100% (5/5)
A群レンサ球菌	3.0	25% (1#/4)	75% (3/4)
B群レンサ球菌	2.3	0% (0/3)	100% (3/3)
G群レンサ球菌			
SDSE	2.8	0% (0/5)	40% (2/5)
アンギノーサス群	3.0	25% (1/4)	75% (3/4)

* 脾摘後の激症型肺炎球菌感染症

STSS (Streptococcal toxic shock syndrome)

表4 激症型レンサ球菌感染症(STSS) CDC2010年症例定義

<p>症例定義 (Clinical case definition) 入院または症状発現後48時間以内に見たす必要なし</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 血圧低下: 収縮期圧 成人\leq90mmHg 小児\leq各年齢の血圧正規分布下側確率分布5% ・ 以下の2項目以上を満たす多臓器症状 <ol style="list-style-type: none"> 1. 腎障害: CRTNN 成人で\geq2 mg/dl、小児は\geq各年齢の正常上限の2倍 腎不全の既往がある症例では従来値の2倍以上の増加. 2. 凝固障害: 血小板\leq10万/mm³、またはDIC(凝固時間延長、低フィブリノゲン値、FDF高値) 3. 肝障害: ALT、AST、TB\geq各年齢の正常上限の2倍 肝不全の既往がある症例では従来値より2倍以上の増加. 4. 急性呼吸促進症候群(ARDS): 急激に発症するびまん性の肺浸潤影と低酸素血症 除外診断: 心不全、全身浮腫を伴う急性発症の毛細血管透過性亢進、 低アルブミン血症に伴う胸腹水 5. 落屑を伴うこともある全身性の紅斑様皮膚発赤疹. 6. 軟部組織壊死: 壊死性筋膜炎・筋炎、壊疽を含む <p>診断のための検査基準 (Laboratory criteria for diagnosis) A群レンサ球菌の分離</p> <p>症例分類 (Case classification) 疑診: 症例定義を見たし、非清潔部位からのGAS分離 確診: 症例定義を見たし、清潔部位からのGAS分離 (血液、脳脊髄液、間接、胸腔、心嚢腔)c</p>

CSTE Position Statement Number: 09-ID-60

表5 急性期DIC診断基準: 鑑別すべき疾患および病態

<p>1. 血小板減少</p> <p>イ) 希釈・分布異常</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 大量出血、大量輸血・輸液、他 <p>ロ) 血小板破壊の亢進</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) ITP、2) TTP/HUS、3) 薬剤性(ヘパリン、バルプロ酸等)、4) 感染(CMV、EBV、HIV等)、5) 自己免疫による破壊(輸血後、移植後等)、6) 抗リン脂質抗体症候群、7) HELLP症候群、8) SLE、9) 体外循環、他 ハ) 骨髄抑制、トロンボポイエチン産生低下による血小板産生低下 <ol style="list-style-type: none"> 1) ウイルス感染症、2) 薬物など(アルコール、化学療法、放射線療法等)、3) 低栄養(VitB12、葉酸)、4) 先天性/後天性造血障害、5) 肝疾患、6) 血球貪食症候群(HPS)、他 <p>二) 偽性血小板減少</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) EDTAによるもの、2) 検体中抗凝固剤不足、他 <p>ホ) その他</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 血管内人工物、2) 低体温、他 <p>2. PT延長</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 抗凝固療法、抗凝固剤混入、2) Vit K欠乏、3) 肝不全、肝硬変、4) 大量出血、大量輸血、他 <p>3. FDP上昇</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 各種血栓症、2) 創傷治癒過程、3) 胸水、腹水、血腫、4) 抗凝固剤混入、5) 線溶療法、他 <p>4. その他</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 異常フィブリノゲン血症、他

表6 分離レンサ球菌菌種別感染巣

菌種	扁桃炎	肺	心内膜炎	骨・軟部組織 (壊死性筋膜炎)	その他	不明
GAS (19)	1	1	3	8 (3)		6
GBS (9)				5 (2)	2*	2
GGs: SDSE (27)		1		16		10

*細菌性眼内炎, 腎盂腎炎 各1名

B 群レンサ球菌を含む β 溶血性レンサ球菌による重症感染症の難治性因子の解析と適切な診断・治療を目指したマネジメント向上に関する研究

研究分担者 吉田 敦 獨協医科大学病院感染総合対策部
臨床検査医学講座 准教授

研究協力者 千原 晋吾 同上，講師

研究協力者 吉田 穂波 ハーバード大学公衆衛生大学院

研究協力者 稲松 孝思 東京都健康長寿医療センター

研究要旨 β 溶血性連鎖球菌による侵襲性感染症の増加が指摘されている。本研究では 1999 年からの約 10 年間に獨協医大を受診した同菌の感染症例，保菌例を解析し，増加要因や難治因子，薬剤耐性，疫学的な変化を解析し，マネジメントの向上と予防について考察した。

1. 菌血症・敗血症では，G 群，C 群連鎖球菌（合わせて SDSE）によるものは 2005 年以降，B 群連鎖球菌（GBS）によるものは 2007 年以降に増加していた。後者は莢膜型 I b によることが多く，近年，感染性心内膜炎など重症の合併症をきたす例が目立った。病初期の症状が非特異的であることや，侵入門戸によって症状が多彩であることが診断を困難にし，治療開始を遅らせていた。
2. GBS，A 群連鎖球菌（GAS），SDSE 感染症の臨床像はそれぞれ異なっている。あらかじめ特徴を把握しておくこと，早い段階で感染症医が治療に介入することがマネジメントの質を向上させる。
3. 薬剤耐性については，特に GBS において，フルオロキノロン（FQ）耐性株が約 3 倍に増加していた。耐性株の 96% は血清型 I b であり，市中で汎用されている FQ によって，GBS の中で FQ 耐性の I b 株が選択され，疫学的に大きな変化が生じたことが明らかになった。
4. 疫学的な変化を追跡するためには，サーベイランス体制の整備が必要である。その結果に基づいて予防のための方策も立案されるべきである。現在欧米では GBS ワクチンが治験中だが，その導入にあたっては，日本の疫学状況を考慮する必要がある。

A. 研究目的

近年，β 溶血性連鎖球菌（GAS，GBS，SDSE および一部の *Streptococcus milleri* group: SMG）による侵襲性感染症の増加が指摘されているが，その臨床像の詳細や疫学的な変化，難治要因，最適な治療については不明の部分が多い。本検討では 10 年間に経験した症例と分離菌を臨床的，微生物学的，疫学的に解析することで，重症感染症の特徴，難治要因を明ら

かにし，マネジメントの向上に寄与することを目的とした。さらに公衆衛生的見地から将来の予防戦略についても考察した。

B. 研究方法

研究は以下のテーマに沿って行った。

1. 増加の背景と臨床像の特徴および難治因子の解析
2. 薬剤感受性と分子疫学的解析

3. GBS の疫学解析, 耐性菌保有のリスク因子の解析
4. 診断, 治療成績向上のための戦略
5. 予防

対象は 1999 年 9 月以降に獨協医科大学病院を受診し, β 溶血性連鎖球菌が検出された全患者である。微生物検査上の基礎情報に加え, 基礎疾患, 感染症の診断名, 菌の侵入門戸, 治療内容, 経過, 予後などの臨床情報を得た。

分子疫学的マーカーならびに手法としては, GAS や SDSE では *emm* 型別を, GBS では型別用抗血清や PCR 法を用いて莢膜型の決定を行った。さらにパルスフィールド電気泳動法 (PFGE) を行った。

薬剤耐性機構に関しては, マクロライド系 (ML)・リンコサミド系 (LC) 抗菌薬については *erm*, *mef* 遺伝子の検出と塩基配列の決定を, フルオロキノロン系 (FQ) については耐性関連領域の塩基配列の決定を行った。

(倫理面への配慮)

臨床検体はあくまで日常診療において感染症診断ないしはスクリーニングのために採取されたものであり, 各担当医から十分な説明の上, 理解を得た上で実施している。菌株の解析に際しては, 症例の個人情報に配慮し, 番号のみとして個人が特定できないようにするとともに, データ保管には十分な配慮を払った。臨床情報についても, 患者の特定を避けるように努めた。

C. 研究結果

1. 増加の背景と臨床像の特徴および難治因子の解析

1-1. 菌血症・敗血症例の疫学

該当期間中, β 溶血性連鎖球菌による菌血症・敗血症を合計 62 例経験した (GAS 6 例, GBS 27 例, SDSE 29 例)。SDSE は 2004 年までは年間 1 例程度であったが, 2005 年以降,

右肩上がり増加しており, 成人の GBS 例についても 2007 年から大きく増加した (図 1)。血液培養提出検体数増分の差し引いても, SDSE・GBS とともに 3 倍近くになっていた。この傾向は対照とした東京都健康長寿医療センター (TMGH) でもほぼ一致している。

1-2. 臨床像と微生物学的特徴, 難治因子

1) GBS

小児では生後 1 週間以内の Early onset disease (EOD) が 3 例 (60%), その後の Late onset disease (LOD) が 2 例であった。EOD のうち 2 例は母親の GBS が陽性であった。全員がアンピシリンの投与を受けたが, EOD の 1 例は死亡した。EOD では I b, III, VI が, LOD では I a 型が優位であった。

成人例の年齢は 31-84 (平均 63) 歳であった。基礎疾患として, 糖尿病 (40%), 肝疾患 (27%), 産婦人科疾患 (22%) が多かった。軟部組織感染症が 4 例, 肺炎・胸膜炎が 3 例, 腎盂腎炎が 2 例, 髄膜炎が 2 例, 心内膜炎, 頸部膿瘍/縦隔炎/感染性大動脈瘤, 肩関節炎がそれぞれ 1 例認められた。侵入門戸は呼吸器 26%, 皮膚・軟部組織 14%, 尿路 14%, 女性生殖器 14%, 不明 27%であった。つまり, 常在している泌尿生殖器系の他, 呼吸器や皮膚由来が多いが, それが occult bacteremia であっても 2 次性に髄膜炎や敗血症性関節炎など転移性病巣を作りやすかった。

治療については, 肺炎など単一菌の感染である場合には第一選択薬であるペニシリン系の選択がなされることが多かったが, 複数菌感染であったり, 泌尿生殖器系や腹腔内感染症が疑われるとセフェム系, カルバペネム系が選択されていた。このような理由から, GAS や SDSE と異なって, 起菌菌判明後もデエスカレーションされる割合が低かった。

予後として, 68%は軽快退院したが, 14%は死亡した。内訳は髄膜炎, 多発性膿瘍形成と全身状態悪化, 肺炎, 感染性動脈瘤であった。

莢膜型の内訳は I b が最多で 50%, 次いで III, I a, V がそれぞれ 13%を占めた。I b は 2005 年頃より優位になったが、さらに 2009 年には V 型, VI 型もみられた。

2) GGS, GCS (両者をまとめて *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*:SDSE とする)

年齢は 32-85 (平均 66) 歳であった。基礎疾患として、60%が悪性腫瘍を、17%糖尿病を有した。軟部組織感染症の合併が 37%と多かったが、この中には、敗血症発症とほぼ同時期に合併した例と、敗血症発症後しばらくして発症した例がある。侵入門戸は、皮膚が 22%, 尿路が 17%, 不明が 40%であった。予後としては、66%が 軽快退院、22%が原疾患により死亡、9%が SDSE に関連して死亡した。*emm* 型は、stG6792 が 37%と最多で、それに stG485, stG653, stG652 が次いだ。

敗血症のみの例と、軟部組織感染症合併例とを比較すると、年齢、性別、基礎疾患、臨床検査値、転帰には差がないが、stG6792 は敗血症のみである場合が多かった (t-test, X2 検定, $p=0.05$)。一方、STSS 例と、非 STSS 例では年齢、性別、基礎疾患、臨床検査値、*emm* 型に差はなかった。

治療については、感染症医がコンサルテーション業務を開始した 2005 年以降、ペニシリン G (±クリンダマイシン併用) の使用例が大きく増加した。それまではカルバペネム系やセフェム系が多用され、最も適切な抗菌薬に変更するまでに時間がかかっていたり、投与期間が短かすぎたりしていたが、適切な時期にコンサルテーションがなされれば、予後は悪くなく、死亡例もなかった。

感染症科があり、コンサルテーション体制の整っている TMGH では、初期投与薬の中でペニシリン系は 40%を占めた。さらに 40%の例では起因菌判明後にペニシリン系への切り替えが行われていた。しかも死亡率は 6%に過ぎなかった。

3) GAS

年齢は 38-80 (平均 65) 歳であった。GBS や SDSE に比べ若年発症といわれていたが、本検討では高齢者の割合はほぼ同様であった。糖尿病 (50%), 肝疾患 (50%) など基礎疾患を有する割合も高かった。50%が死亡したが、(1)基礎疾患がない若年成人で、STSS が急速に進行し死亡、(2)透析など基礎疾患のある高齢者で、重症化ないしは死亡、の 2 型に分けられた。

4) SMG

β 溶血性を示すものと示さないものがあるが、一括して 15 例の敗血症例を解析した。男性に多く (80%), 基礎に胆道疾患や消化管疾患を有し (47%), 胆管炎・肝膿瘍 (33%) や腹膜炎など消化管感染症 (20%) に続発 (ないし併発) した例が多かった。SMG は従来主に呼吸器感染症の原因菌として認識されてきたが、実際は胆道感染や腹腔内感染症から敗血症を生じるものが半数あることが判明した。

2. 薬剤感受性と分子疫学的解析

該当期間に分離された GBS 4,980 株のうち、1,572 株で薬剤感受性試験が行われた。これらの多くは保菌株で、産婦人科検体と尿がほとんどである。このうち 342 株について莢膜型を決定した。

ML (エリスロマイシン), LC (クリンダマイシン) 耐性については、2000 年にはどちらも約 3%であったものが、2008 年にはそれぞれ 11.7%, 8.3%と漸増していた。莢膜型をみると、呼吸器系検体に多い I a との相関が有意に高かった ($p=0.011$)。

FQ (レボフロキサシン) 耐性株は 99 年には 6.7%であったものが、05 年には 27.7%に達し、以後も約 20%で推移していた (図 2)。FQ 耐性株の 96%が莢膜型 I b に属しており、FQ 耐性と血清型 I b の強い関連が明らかに

なった ($p < 0.0001$)。

3. GBS の疫学解析, 耐性菌保有のリスク因子の解析

3-1. GBS の疫学解析

FQ 耐性 I b 株は, 侵襲性感染症例ばかりでなく, 保菌例からも分離されており, 泌尿生殖器, 呼吸器, 膿瘍など多くの検査材料にわたって検出されていた。なお全検体を合計した場合, I b 型は 27%, VI 型は 19%, V 型は 14% であり, 87 年-97 年の他施設の報告 (11.2%) に比べ 2 倍以上になっていた。

続いて FQ 耐性 I b 型と FQ 感受性 I b 型について, PFGE を用いて菌株間の遺伝子の相同性を解析した。感受性株の制限酵素切断パターンが様々であったのに対し, 耐性株のそれは非常に似通っており, 耐性株は遺伝子的にかなり近い株から構成されていた (図 3)。

さらに FQ 耐性に関わる *gyr A* 遺伝子と *par C* 遺伝子について塩基配列を決定したところ, 前者では 81 番アミノ酸に, 後者では 79 番アミノ酸に点変異による置換が確認され, FQ 耐性 I b に共通した耐性機序が明らかになった。

以上より, FQ 耐性株の増加が, 血清型 I b 型の増加による可能性が高いこと, さらに, FQ 耐性 I b は高い病原性を有するとともに, 遺伝子的に近縁なグループから成り立っていることが判明した。

3-2. 耐性菌保有のリスク因子の解析

GBS 分離例について, FQ 感受性, 耐性に分け, χ^2 検定と logistic regression analysis を用いて cross-sectional study を行ったところ, 男性, 60 歳以上, 尿検体が FQ 耐性と有意に関連していた (表 1)。一方で新生児や妊娠可能年齢の女性との相関は低かった。

この結果は, 脳梗塞や前立腺肥大など尿流障害を持つ高齢者に FQ がしばしば投与され, 尿路で FQ 耐性 GBS が選択されたことと合

致する。一方で妊娠可能年齢の女性が FQ 耐性 GBS を保菌し, それが児に感染することも分かっている。経時的に FQ 耐性 GBS の分離推移をみると高齢者で増加が早く始まり, 高齢者から妊娠可能年齢の女性へ伝播が生じた可能性が考えられる。

D. 考 察

1. 連鎖球菌感染症の診断, 治療成績向上のための戦略

一般臨床医における β 溶血性連鎖球菌感染症の認知度は, いまだにそう高いものではないと思われる。上記のように GAS, GBS, SDSE の間には年齢や背景, 基礎疾患の有無, 臨床像の間に差があるため, それを把握しておくことは, 実際に疑い例を診療した際に, 予測を立てやすくし, マネジメントを向上させることにつながる (表 2 には診断についてのコツとピットフォールをまとめた)。

治療については, 疑い例において, 適切な投与薬を選択できるかが問題になる。表 3 にはその目安を示した。GAS, SDSE については, セフェムやキノロンの使用は勧められない。一方, GBS については侵入門戸と病態を考慮し, GBS のみによる場合と, 複数菌感染の場合と区別するとよく, 前者では積極的にペニシリン系の使用が勧められる。治療方針について担当医が感染症医から早期にアドバイスを得られるのが望ましく, 感染症医によるコンサルテーションシステムを備えた医療機関の整備が必要である。

2. GBS の疫学の変化と予防戦略・ワクチン開発

本検討での疫学的な解析より, 数年間でその動態は大きく変化していると予想される。GBS 自体に FQ が投与されるわけではないが, 他の感染症の治療に FQ が頻用されており, それが尿路・腸管に常在している GBS の耐性を生じ (FQ 耐性株を選択し), FQ 耐性

GBS が増加，伝播したものと考えられる。今後も FQ 耐性株が選択されやすい状況は続くため，全国的なサーベイランスシステムを構築し，監視を続けていく必要がある。

なお，これまで GBS の疫学の経時的な変化については不明であり，それもこれほど短期間に変化するとは考えられていなかった。FQ による選択圧がかかっているためとはいえ，この変化を考慮しなければ，今後の予防戦略を立てることは難しい。

米国では既に母子感染予防を目的として，莢膜型 I a, I b, II, III, V を含む 5 価ワクチンが開発され，治験の段階にある。しかしながらこれをそのまま日本で導入することは，米国とは莢膜型の特徴が異なることや（日本では VI や VII も認められる），上記の疫学的変化から，現実的ではないと思われる。日本独自の状況に応じたワクチン開発や導入を急ぐべきである。

E. 結論

β溶血性連鎖球菌感染症の疫学状況は現在も変化しており，以前よりマネジメントは向上したものの，難治例もしばしば経験する。診断・治療上の工夫とサーベイランス体制の整備が求められる。今後，本邦の疫学状況に基づいた予防対策が立案・実行されることが望ましい。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 岡本友紀，鈴木弘倫，樽川友美，山本芳尚，大内友二，及川信次，奥住捷子，吉田 敦，小池幸子，菱沼 昭，家入蒼生夫．キノロン耐性 B 群連鎖球菌の臨床的・疫学的特徴と耐性機序の解析．臨床検査栃木 2008 ; 3 (2) : 54-57.
- 2) 樽川友美，鈴木弘倫，岡本友紀，山本芳尚，大内友二，及川信次，吉田 敦，奥住捷子，家入蒼生夫．血液培養から

分離された肺炎球菌の莢膜血清型と薬剤感受性および臨床背景の検討．臨床検査栃木 2008 ; 3 (2) : 50-53.

- 3) Yoshida A, Yoshida H, Tarukawa T, Okamoto Y, Imamura F, Wakimoto H, Koike S, Okuzumi K, Hishinuma A, Ieiri T. The Emergence of fluoroquinolone-resistant type I b *Streptococcus agalactiae*. (投稿中)

2. 翻訳

- 1) 吉田 敦，吉田穂波訳，島田 馨監訳．感染症の緊急対応（仮題）（原著：Rachel L. Chin, ed. Emergency management of infectious diseases. Cambridge University Press, New York, 2008），原書 p 1-p 557, 2010 年秋南江堂より出版予定.

3. 総説

- 1) 吉田 敦，山本芳尚，奥住捷子．ICU における感染のトピックス 血液培養の落とし穴．ICU と CCU 2008 ; 32(3) : 181-190.
- 2) 吉田 敦．*Streptococcus suis*, *Streptococcus dysgalactiae*. 臨床と微生物 2009 ; 36(2):99-102.

4. 学会発表

- 1) 岡本友紀，樽川友美，吉田 敦，他．キノロン耐性 GBS の疫学的解析ならびに耐性機序の解明．第 40 回連鎖球菌感染症研究会，2007，東京．
- 2) 岡本友紀，樽川友美，山本芳尚，脇本寛子，奥住捷子，吉田 敦，小池幸子，菱沼 昭，家入蒼生夫．キノロン耐性 B 群連鎖球菌の疫学的特徴：近縁のクローンが広まったのか．第 56 回日本感染症学会東日本地方会，演題番号 086 ，p114, 2007，東京．
- 3) 鈴木國弘，吉田 敦．キノロン耐性 B 群連鎖球菌 (*Streptococcus agalactiae*)

による腸腰筋膿瘍の1例. 第56回日本感染症学会東日本地方会, 演題番号 088, p115, 2007, 東京.

- 4) 千村百合, 吉田 敦, 鈴木里和, 森 伸晃, 安中めぐみ, 石川貴敏, 柴崎澄枝, 安達桂子, 奥住捷子, 増田義重, 稲松孝思. *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* 敗血症の臨床像と予後: 変化はあるのか. 第56回日本感染症学会東日本地方会, 演題番号 008, p75, 2007, 東京.
- 5) Yoshida A., Okamoto Y, Tarukawa T, Koike S, Misawa Y, Wakimoto H, Yoshida H, Hishinuma A, Okuzumi K, Ieiri T. Epidemiological analysis of fluoroquinolone-resistant group B streptococci. 18th ECCMID, P-1238, Barcelona, Spain, 2008.
- 6) 吉田 敦, 岡本友紀, 樽川友美, 山本

芳尚, 奥住捷子, 小池宰子, 菱沼 昭, 家入蒼生夫. 変わりゆく連鎖球菌感染症. 第82回日本感染症学会総会 ミニ特別講演, p149, 松江, 2008.

- 7) Tarukawa T, Yoshida A., Yoshida H, Okuzumi K, Okamoto Y, Suzuki H, Koike S, Yamamoto Y, Hishinuma A, Ieiri T. *Streptococcus milleri* group sepsis: Abdominal infections and macrolide resistance. 19th ECCMID, May 17, 2009, Helsinki, Finland.

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

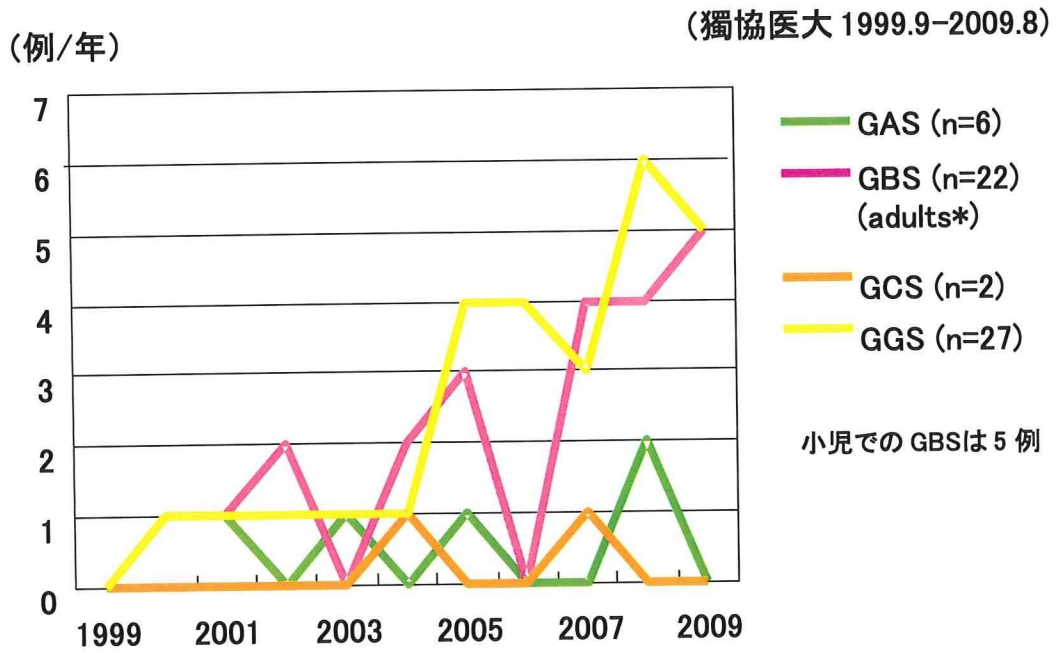


図 1 β 溶血性連鎖球菌性菌血症・敗血症例

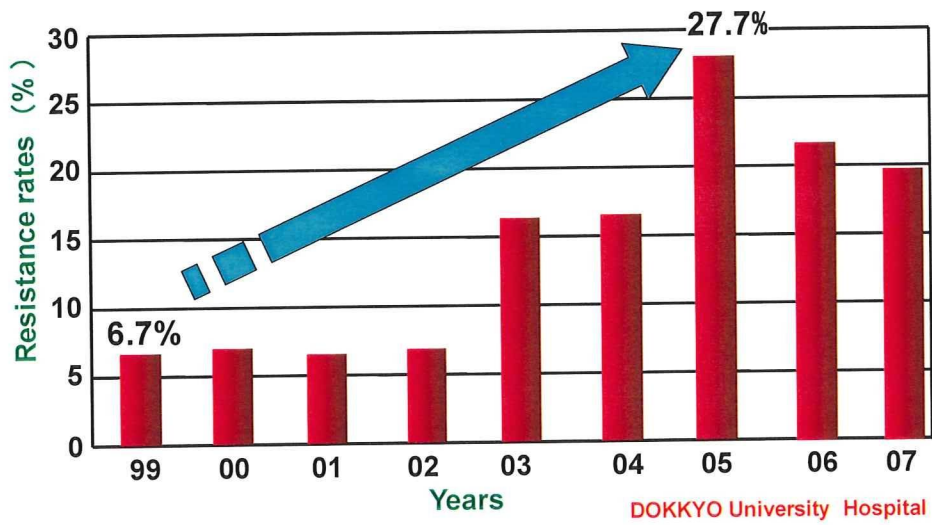


図 2 キノロン耐性 GBS の年次推移

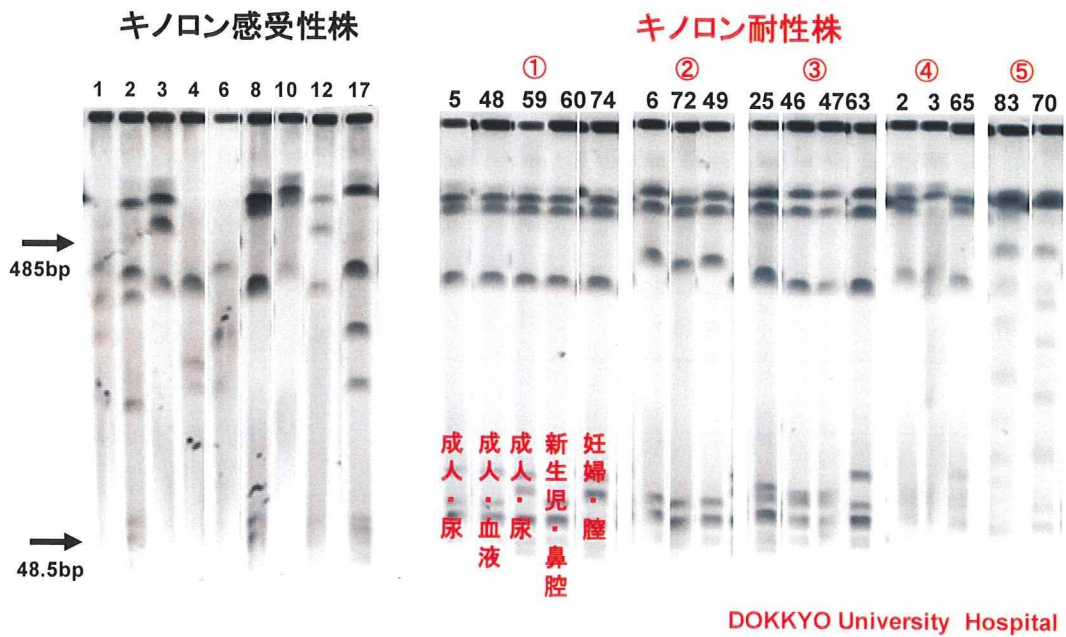


図3 PFGEパターン：血清型I b型

表1 FQ耐性GBSのリスク

リスク因子	Odds 比(95%CI)	P value
男性	1.07(0.80-1.32)	p < 0.0001
年齢(60歳以上)	1.58(1.33-1.84)	p < 0.0001
尿検体	1.97(1.49-2.60)	p < 0.0001
産婦人科検体 (膣分泌物など)	0.39(0.26-0.58)	p < 0.0001
院内例	1.26(0.95-1.68)	p = 0.106
莢膜型 I b	45.76(11.4-183.1)	p < 0.0001

表2 より早く診断するコツ

GAS 敗血症	<ul style="list-style-type: none"> ・ 基礎疾患のない例で、急速に全身状態が悪化 ・ 咽頭炎が先行 ・ 小児との接触 ・ 迅速抗原検査をすぐ行う
SDSE 敗血症	<ul style="list-style-type: none"> ・ 基礎疾患を有する者、免疫不全者、高齢者 ・ 侵入門戸不明の敗血症に、蜂窩織炎を伴っている(きた)場合 ・ 敗血症性塞栓や関節炎を伴う例
GBS 敗血症	<ul style="list-style-type: none"> ・ 侵入門戸として、尿路、女性生殖器、皮膚が多い ・ ただし来院時には侵入門戸が不明であったり、はっきりしないことがままある ・ グラム陰性桿菌の感染症・敗血症を疑って治療していると、実は GBS だったということがある

表3 より適切に治療するコツ

GAS/SDSE 敗血症 STSS	<ul style="list-style-type: none"> ・ 疑いが強い、あるいは迅速診断検査が陽性(GAS) →すみやかに十分量のペニシリン+CLDM*を投与 ・ ただし全身状態と進行具合、他疾患の鑑別の程度によってはカルバペネムも考慮する ・ セフェムやキノロンは不適切 ・ 培養陽性の情報を早くつかむ、結果を得たらすぐ変更
GBS 敗血症	<ul style="list-style-type: none"> ・ 症状は GAS や SDSE よりも多彩(侵入門戸による) 1) IE, 髄膜炎, 腎盂腎炎, 肺炎; GBS のみによる感染 (ペニシリン G の積極的使用) 2) 褥瘡や糖尿病性壊疽; 複数菌として関与 3) 重症・急速進行例(カルバペネムなど、早めに変更)

Streptococcus suis 感染症の病態とその診断・治療法に関する研究

研究分担者 大石和徳，大阪大学微生物病研究所

研究要旨 2006-8年にかけてタイ国内でヒト血液および髄液由来の *Streptococcus suis* (SS)177株を分離同定し，そのうち165株(91.7%)がSS serotype 2 (SS2)，12株(8.3%)はSS serotype 14(SS14)であった。これらの原因菌培養陽性症例の調査から，その臨床像，予後，および原因菌のゲノタイプとの相関について検討を加えた。SS2 165株のSTでは，ST1 (n=103)，ST104(n=42)の順に多く分布し，発症のピークは6月～8月の雨期にあった。SS2 感染症 158症例の平均年齢は55歳，男性が72.8%であった。致命率は9.5%と高率であった。臨床像の大半(59.8%)が髄膜炎であり，34.8%が局所所見を欠く菌血症であった。生豚肉の摂食は32.9%，併存症としてアルコール多飲者が20.9%と多かった。また，SS2株の sequence typing (ST)，病原性遺伝子プロファイル，89K pathogenicity island (PAI)の有無も，有意な死亡のリスク因子ではなかった。一方，SS14 感染症は，全体の6.8%を占め，その臨床像はSS2のそれと同等であり，致命例は認められなかった。また，タイ現地で利用可能なSS2 CPS 特異的マウス MAb を用いた迅速症例検出系の開発が期待され，SS2 ポリクローナル抗体を用いたSS2菌同定キットの利用が期待される。

A. 研究目的

Streptococcus suis (SS)は人獣共通感染菌であり，ブタの上気道に常在し，ブタのみならずヒトに髄膜炎，敗血症を含む侵襲性感染症を惹起する。近年，ベトナム，タイをはじめとする東南アジアにおいてその報告数が急増し，2007年5月の北タイ，パヤオ県での死亡3例を含む33症例のアウトブレイク事例以来，タイ国内における本症の注目度が高まっている。とりわけ，北タイ地域に特有な生豚肉の食習慣が本症発症のリスク因子となっている。

本研究の目的は，1) タイ国内でSS2が分離同定されたヒト症例の後方視的調査から，SS2 感染症の臨床像，予後を明らかにし，また原因菌と臨床像の関連性を明らかにすること，2) SS14が分離同定されたヒト症例の後方視的調査から，本症の臨床像を明らかにすることである。

B. 研究方法

1) 菌収集・同定と分子疫学的手法

1. 菌株収集と同定

2006年1月から2008年9月までにタイ NIH にタイ国内の34病院からヒトの血液および髄液由来の連鎖球菌1,157株が収集された。これらの連鎖球菌株から，生化学的方法とSS特異的PCR法により177株のSS株(1症例あたり1菌株)が同定された。また，serotyping PCR と抗血清による凝集法から，177株中，165株はserotype 2 (SS2)，12株はserotype 14 (SS14)と判明した。165株のSS2が陽性であった165症例中158症例の症例記録表，また12株のSS14が陽性であった12症例の症例記録表を回収し，その性別，年齢，診断，リスク因子を含む臨床像とその予後について調査した。

2. 分子疫学的方法

a) MLST 解析

既報 (King SJ, et al. J Clin Microbiol 2002)に従い、それぞれの菌株のシーケンスタイプ(ST)を決定した。

b) Virulence-associated gene(VAG)プロフィール

既報(Silva LMG, et al. Vet Microbiol, 2006)に従い extracellular factor (*epf*), suilysin gene (*sly*), muraminidase-related gene (*mrp*)について multiplex PCR で解析した。

c) 89K pathogenicity island (PAI)

既報 (Chen C, et al. PLoS one, 2007)に従い PCR 法で解析した。

d) Pulse-field gel electrophoresis (PFGE)とその解析

PFGEは *Sma* I を用いて通常の方法で実施し、pulsotype を決定した。

2) 迅速診断系の開発

1. SS2 特異的マウス単抗体(MAb)の作成

SS2 31533 由来の capsular polysaccharide (CPS)を精製した。この他にも SS2 である 90-1330 株, P1/7 株, serotype 1, 14, 16 株の CPS を分離精製した。同株の加熱処理死菌で BALB/c マウスを免疫し、通常の方法で細胞融合させ、serotype 2 CPS に特異的 MAb を選択し、得られた MAb の特異性について検討した。

2. ウサギ抗 serotype 2 ポリクローナル抗抗体の作製と凝集反応試験

SS2, 31533 株の加熱死菌をウサギに免疫し、抗血清を得た。黄色ブドウ球菌 Cowan I 株の死菌を抗血清で感作し、分離菌の対する菌同定用の凝集反応キットを作製した。

C. 研究結果

1. SS2 の臨床像と原因菌とその予後

SS2 165 株 の ST は , ST1 (n=103)>

ST104(n=42)>ST25(n=11)>ST28(n=3),ST103(n=3), ST126 (n=3)の順に多く, ST1, ST104は北タイ, 中部タイに分布するのに対し, ST25, ST28, ST126は北タイのみに分布した。また, 症例からの菌分離日の分析から, いずれの年も症例の発症ピークは6月~8月の雨期にあり, すべての症例は散发例であった。SS2 158 症例の平均年齢は55歳, 入院期間は12.5日, 男性が72.8%であった。158例中, 143例が生存し, 15例(9.5%)が死亡した。臨床診断は菌血症を伴う髄膜炎(血液, 髄液ともに培養陽性)44例, 髄膜炎(髄液のみ培養陽性)22例, 髄膜炎疑い(髄膜刺激症候と血液培養陽性)27例, 化膿性関節炎5例, 心内膜炎3例, 菌血症を伴う肺炎1例, 局所所見を伴わない菌血症56例(34.8%)であった。また, 発症要因として, 豚や豚肉への職業的曝露は11名(7.0%)に, 生豚肉の摂食歴は52例(32.9%)に認められた。また, 併存症としてアルコール多飲者が33例(20.9%)に認められた。しかしながら, これらの要因と死亡との有意な相関は認められなかった。一方, 原因菌としてのSS2のゲノタイプと死亡リスクとの関連性についての解析では, ST, VAGプロフィール, 89K PAIのいずれも有意な相関は認められなかった。

2. SS14 の臨床像

12 症例の SS14 感染症は, SS 感染症全体の 6.8%を占め, 12 例の平均年齢は 62.9 歳であり, その臨床像は髄膜炎が 58.3%, 化膿性関節炎 25%, 菌血症 16.7%であった。致命例は認められなかった。12 株中 11 株は ST105 で, 1 株は ST127 であり, PFGE の解析から ST105 株の北タイにおける拡散が示唆された。

2) 迅速診断系の開発

1. SS 感染症の迅速検出キットの開発 :

SS2 CPSに反応するマウスMAbを2クローン選択し, このうち反応性の高いIgG 2aのクローンを選択した。その特異性をinhibition

ELISAで判定したところ、serotype 1, 14, 16 CPSとは反応性が認められず、serotype 2 CPSにのみ反応した。さらに、SS2 31533株加熱死菌でウサギを免疫して得たポリクローナル抗体とIgG 2a MAbを用いてサンドイッチELISAを構築し、その感度はSS2 CPS に対し、10 mg/ml程度であった。さらに、現在はイムノクロマトグラフィ用迅速診断キットを作製中である。

2. 分離菌の同定用迅速診断キットの開発：

抗SS2ポリクローナル抗体を用いたSS2同定用の凝集キットで、タイ由来SS2株において凝集反応を確認し、検査室レベルで同定用キットとして利用できることを確認した。

D. 考 察

今年度の研究から、北タイを中心に発生するヒトSS感染症のうち、その主体を占めるSS2感染症の臨床像の全容が明らかになった。すべての症例が散発例で、多くの症例に生豚肉、生血液の摂食歴があることから、タイにおける本症の発症様式は経口感染によることが示唆される。本症の約1/3に局所症状を欠く菌血症が認められたことから、経口感染した本菌は腸管から血流に侵入するメカニズムが想定される。さらには、菌血症を惹起した本菌は比較的容易にblood brain barrier (BBB)を通過し、半数以上の症例に髄膜炎を惹起すると考えられる。SS2菌のゲノタイプ(ST, VAG, 89K PAIの有無)を含む菌側因子のみでは本症の予後の説明は困難であり、宿主側因子を含めた症例検討が必要と考えられる。また、SS感染症の迅速検出キット、SS菌の迅速同定キットは、今後実施を予定しているタイにおける前向き研究におけるその有用性が期待される。

E. 結 論

2006-8年にかけてタイ国内でヒト血液お

よび髄液由来の*Streptococcus suis* (SS)177株を分離同定し、そのうち165株(91.7%)がSS serotype 2 (SS2), 12株(8.3%)はSS serotype14(SS14)であった。SS2 165株のうち、ST1 (n=103), ST104(n=42)の順に多く分布し、発症のピークは6月～8月の雨期にあることが判明した。

SS2感染症 158症例のうち、患者平均年齢は55歳、男性が72.8%であった。致命率は9.5%と高率であった。病像の大半(59.8%)が髄膜炎であり、34.8%が局所所見を欠く菌血症であった。また、SS2株のいずれのsequence typing (ST), 病原性遺伝子プロファイル, 89K pathogenicity island (PAI)の有無も、有意な死亡のリスク因子ではなかった。一方、SS14感染症は、全体の6.8%を占め、その臨床像はSS2のそれと同等であり、致命例は認められなかった。また、SS感染症の迅速検出キット、SS菌の迅速同定キットのタイ現地での利用が期待される。

(共同研究者:タイ NIH, Mr. Anusak Kerdsin, Mrs Surang Desililert)

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表研究発表

1. 論文発表

- 1) Chen M, Hisatomi Y, Furumoto A, Kawakami K, Masaki H, Nagatake T, Sueyoshi Y, Iwanaga T, Aizawa M, **Oishi K**. Comparative immune response of patients with chronic pulmonary diseases during the 2-year period after pneumococcal vaccination. Clin. Vac. Immunol 14:139-145, 2007
- 2) Koyama J, Ahmed K, Zhao J, Saito M, Onizuka S, Oma K, Watanabe K, Watanabe H, **Oishi K**. Strain-specific pulmonary defense achieved after repeated airway immunizations with non-typeable

- Haemophilus influenzae* in a mouse model. Tohoku J Exp Med. 211:63-79, 2007
- 3) Anh DD, Huong PLT, Watanabe K, Nguyet NT, Anh NTH, Thi NT, Dung NT, Phuong DM, Tanimura S, Ohkusa Y, Nagatake T, Watanabe H, **Oishi K**. Increased rates of intense nasopharyngeal bacterial colonization of Vietnamese Children with radiological pneumonia. Tohoku J Exp Med 213: 167-172,2007.
 - 4) Watanabe K, Anh DD, Huong PH, Nguyet NT, Anh NTH, Thi NT, Dung NT, Phong DM, Rusizoka OS, Nagatake T, Watanabe H, **Oishi K**. Drug-resistant pneumococci in children with acute lower respiratory infections in Vietnam. Pediatrics International, 50:514-518,2008
 - 5) Watanabe H, Batuwanthudawe R, Thevanesam V, Kaji C, Qin L, Nishikiori N, Saito W, Saito M, Watanabe K, **Oishi K**, Abeysinghe N, Kunii O. Possible prevalence and transmission of acute respiratory tract infections caused by *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* among the internally displaced persons in tsunami disaster evacuation camps of Sri Lanka. Intern Med. 46:1395-1402,2007
 - 6) Furumoto A, Ohkusa Y, Chen M, Kawakami K, Masaki H, Sueyasu Y, Iwanaga T, Aizawa H, Nagatake T, **Oishi K**. Additive effect of pneumococcal vaccine and influenza vaccine on acute exacerbation in patients with chronic lung disease. Vaccine 26:4284-4289, 2008
 - 7) Chen M, Ssali F, Mulungi M, Awio P, Yoshimine H, Kuroki R, Furumoto A, Tanimura S, Kityo C, Nagatake T, Mugenyi P, **Oishi K**. Induction of opsonophagocytic killing activity with pneumococcal conjugate vaccine in human immunodeficiency virus-infected Ugandan adults. Vaccine 26:4962-4968,2008
 - 8) Watanabe H, Asoh N, Kobayashi S, Watanabe K, **Oishi K**, Kositsakulchai W, Sanchai T, Khantawa B, Tharavichitkul P, Sirisanthana T, Nagatake T. Clinical and microbiological characteristics of community-acquired pneumonia among HIV-infected patients in northern Thailand. J Infect Chemother. 14: 105-109,2008
 - 9) Gotoh K, Qin L, Watanabe K, Anh DD, Huong PLT, Anh NTH, Cat NDL, Ha LL, Ai LTT, Tien NM, Minh TT, **Oishi K**, Watanabe H. Prevalence of *Haemophilus influenzae* with resistant genes isolated from young children with acute lower respiratory tract infections in Nha Trang, Vietnam. J Infect Chemother. 14:349-353,2008
 - 10) Oma K, Zhao J, Ezoe H, Akeda Y, Koyama S, Ishii KJ, Kataoka K, **Oishi K**. Intranasal immunization with a mixture of PspA and a Toll-Like Receptor Agonist induces specific antibodies and enhances bacterial clearance in the airways of mice. Vaccine 27:3181-3188, 2009
 - 11) Kerdsin A, **Oishi K**, Sripakdee S, Boonkerd N, Polwichai P, Nakamura S, Uchida R, Sawanpanyalert P, Dejsirilert S. Clonal Dissemination of *Streptococcus suis* serotype 14 in Thailand. J Med Microbiol 58:1508-1513, 2009
 - 12) 川上健司, **大石和徳**. 肺炎球菌ワクチンの最新事情と渡航者の接種. 日本医事新報 4366:71-74,2007.
 - 13) 川上健司, **大石和徳**. 予防接種の現状と対策2 細菌に対するワクチン 治療学 41:18-20,2007.
 - 14) **大石和徳**. 肺炎球菌ワクチン再接種の是

- 非. 日本医事新報, 4354: 98-99, 2007.
- 15) 大石和徳. 医学と医療の最前線 肺炎球菌ワクチン—5年後の再接種の是非—. 日本内科学会雑誌. 97: 836-841, 2008.
 - 16) 大石和徳. 細菌ワクチンの現状. Medical Science Digest.34: 444-447,2008
 - 17) 大石和徳, 川上和義, 永井英明, 砂川慶介, 渡辺 彰. 肺炎球菌ワクチン再接種承認の必要性に関するアンケート調査研究. 日本呼吸器学会雑誌.
 - 18) 川上健司, 大石和徳. 肺炎球菌ワクチン-再接種の副反応と有用性-. Medical Practice. 26 (7):1161-1164, 2009.
 - 19) 大石和徳. 23価肺炎球菌ワクチン. 内科. 104(5):872-875, 2009.
- ## 2. 学会発表
- 1) 陳 蒙, 黒木麗喜, 吉嶺裕之, 有吉紅也, 大石和徳: HIV 感染成人による肺炎球菌コンジュゲートワクチンによる血清中オプソニン活性と増強効果. 第 55 回日本化学療法学会西日本支部総会, 神戸, 2007 年 10 月 29-31 日.
 - 2) 古本朗嗣, 大日康史, 大石和徳: 慢性肺疾患患者における急性増悪び対する肺炎球菌ワクチンとインフルエンザワクチンの相加的効果. 第 11 回日本ワクチン学会, 横浜, 2007 年 12 月 8-9 日.
 - 3) 大石和徳, 高橋俊司. アナライザーワークショップ: β 溶血性連鎖球菌. 第 19 回に本臨床微生物学会総会, 東京, 2008 年 1 月 26-28 日.
 - 4) Oishi K. Antibiotic resistance of pneumococci and other respiratory bacteria in Asian countries: 12th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim 4-6 December 2007, Haikou, Hainan, China
 - 5) Oishi K., Oma K, Jizi Zhao, Ryuichi Uchida. Nasal immunization with recombinant pneumococcal surface protein A with mucosal adjuvants, such as pFL or TLR ligand, provide protective immunity against pneumococcal pneumonia in mice. US-Japan Cooperative Medical Science Program Acute Respiratory Infection Panel.25-26, February, 2008, Bethesda, Maryland, USA.
 - 6) 陳 蒙, 黒木麗喜, 吉嶺裕之, 有吉紅也, 大石和徳: HIV 感染成人による肺炎球菌コンジュゲートワクチンによる血清中オプソニン活性と増強効果. 第 55 回日本化学療法学会西日本支部総会, 神戸, 2007 年 10 月 29-31 日.
 - 7) 古本朗嗣, 大日康史, 大石和徳: 慢性肺疾患患者における急性増悪び対する肺炎球菌ワクチンとインフルエンザワクチンの相加的効果. 第 11 回日本ワクチン学会, 横浜, 2007 年 12 月 8-9 日.
 - 8) 大石和徳, 高橋俊司. アナライザーワークショップ: β 溶血性連鎖球菌. 第 19 回に本臨床微生物学会総会, 東京, 2008 年 1 月 26-28 日.
 - 9) Oishi K., Oma K, Jizi Zhao, Ryuichi Uchida. Nasal immunization with recombinant pneumococcal surface protein A with mucosal adjuvants, such as pFL or TLR ligand, provide protective immunity against pneumococcal pneumonia in mice. US-Japan Cooperative Medical Science Program Acute Respiratory Infection Panel.25-26, February, 2008, Bethesda, Maryland, USA.
 - 10) 大石和徳. シンポジウム「食の安全と感染症」 5. 「東南アジアで注目されるブタ連鎖球菌感染症と伝統的食習慣」第 20 回日本臨床寄生虫学会, 大阪, 2009 年 6 月 20 日.
 - 11) 大石和徳. 東南アジアで注目される *Streptococcus suis* 感染症. 第 58 回日本感

- 染症学会, 第56回日本化学療法学会, 東京, 2009年10月30-31日.
- 12) 大島信治, 永井英明, 大石和徳他. 慢性呼吸器疾患患者への23価肺炎球菌ワクチン接種前後および5年経過後の血清型特異抗体濃度の検討. 第49回日本呼吸器学会総会, 東京, 2009年6月12-14日.
- 13) 川上健司, 大石和徳. 65歳以上の成人における肺炎球菌ワクチンとインフルエンザワクチンの併用効果に関する検討. 第49回日本呼吸器学会総会, 東京, 2009年6月12-14日.
- 14) 坂東園子, 岩垣明隆, 内田隆一, 大日康史, 江澤和彦, 大石和徳. 高齢者介護保険施設利用者を対象とした肺炎の前向き調査. 第49回日本呼吸器学会総会, 東京, 2009年6月12-14日.
- 15) 江副浩和, 大間敬太, 明田幸宏, 大石和徳. マウス肺炎モデルを場としたPspAに対するTLR ligandの粘膜ジュバント効果. 日本感染症学会, 東京, 2009年4月23-24日.
- 16) 大石和徳. 40年ぶりに発生した新型インフルエンザ: その対策の検証. 第103回日本呼吸器学会近畿地方会, 奈良, 2009年7月18日.
- 17) 大石和徳. 東南アジアで注目される *Streptococcus suis* 感染症. 第58回日本感染症学会, 第56回日本化学療法学会, 東京, 2009年10月30-31日.
- 18) 大石和徳. 高齢者における肺炎予防ワクチンの現状と課題. 第58回日本感染症学会, 第56回日本化学療法学会, 東京, 2009年10月30-31日.
- 19) 川上健司, 大日康史, 大石和徳. 65歳以上のインフルエンザワクチン定期接種下の高齢者に対する肺炎球菌ワクチンの臨床・費用対効果. 第13回日本ワクチン学会, 札幌. 2009年9月26-27日.
- 20) 朴 貞玉, 江副浩和, 大間敬太, 明田幸宏, 大石和徳. マウス致死性肺炎モデルにおけるPspAとTLR ligand併用による経鼻粘膜ワクチンの効果. 第52回日本感染症学会中日本地方会, 第57回日本化学療法学会西日本支部総会, 名古屋. 2009年11月26-28日.
- 21) Verathamjamras C, Puangpatra P, Oishi K, et al. Clinical and Microbiological Study on Acute Lower Respiratory Tract Infection among Children in Bangkok. International Joint Forum on Infectious Diseases, Bangkok, Thailand. Sep 16-17, 2009.
- 22) Oishi K, Anusak K, et al. Clinical and microbiological features of *Streptococcus suis* infections in humans living in Thailand. International Joint Forum on Infectious Diseases, Bangkok, Thailand. Sep 16-17, 2009.
- 23) Oishi K. Impact of severity of 2009 pandemic influenza H1N1-associated community-acquired pneumonia among adults in Phistanulok, Thailand. US-Japan Cooperative Medical Science Program Acute Respiratory Infection Panel. January 25-26, 2010, San Francisco, USA.
- 24) Akeda Y, Ezoe H, Oishi K. Protection of fatal secondary pneumococcal infection following influenza virus infection by PspA immunization. US-Japan Cooperative Medical Science Program Acute Respiratory Infection Panel. January 25-26, 2010, San Francisco, USA.

H. 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

劇症型溶血性レンサ球菌感染症の細菌学的解析および重症化に係る 病原因子に関する研究

研究分担者 渡邊 治雄 国立感染症研究所 所長

研究分担者 池辺 忠義 国立感染症研究所細菌第一部 主任研究官

研究要旨 我が国におけるA群レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*) の疫学的調査から、劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株において、*emm49*型が2000年から増加し始めている。これらの株は、ストレプトキナーゼ遺伝子の発現量が増加しており、その原因は、二成分制御系のセンサー蛋白をコードする *csrS* 遺伝子に変異が生じていることが判明した。病原性遺伝子の発現を調べた結果、この変異により、様々な病原性遺伝子の発現が増強していた。*in vivo*での *csrS* 変異による病原性の変化を、マウスの致死性、血中の菌数、臓器障害を指標として調べた結果、*csrS* の変異により *S. pyogenes* の病原性が上昇していることが確認された。また、このほかにも病原性電子の発現を制御する *csrR* や *rgg* 遺伝子にも変異が劇症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株に特異的にみられた。以上の結果から、*csrS* が *S. pyogenes* の病原性に強く関与していること、また *csrS* 変異はSTSS患者分離株でのみ見出されることから、本因子が *S. pyogenes* の劇症型化に関与している可能性が強く考えられた。

A. 研究目的

劇症型溶血性レンサ球菌感染症(STSS)は、病状の進行が急激かつ劇的で、発病から数十時間以内にショック症状、多臓器不全などが起こり、患者を死に至らしめる可能性が高いことが知られている。STSS の主な原因菌である *S. pyogenes* は、抗原性の違いから 100 以上もの *emm* 型に分類される。この中で、STSS は主として *emm1* 型の *S. pyogenes* によって引き起こされる。近年、日本において、この *emm1* 型が減少し、様々な *emm* 型が流行している。2000 年以降、様々な *emm* 型の *S. pyogenes* による STSS が増加しており、菌側に変化が生じたことが考えられた。そこで、本研究では、菌側の変化を追求し、その変化が STSS を引き起こす株に特異的かどうか調べることを目的とした。

B. 研究方法

1. ストレプトキナーゼ遺伝子(*ska*)の発現量

プロモーターレスの *phoZ* 遺伝子上流にストレプトキナーゼ遺伝子のプロモーター領域を導入し、アルカリ性ホスファターゼの活性を指標として、ストレプトキナーゼ遺伝子の発現量を測定した。*p*-nitrophenyl phosphate を基質として用い、室温で反応後、405 nm で吸光度を測定した。

2. RNAの抽出とRT-PCR

S. pyogenes を THY 培地で 37°C で OD600 = 0.75 まで培養し、RNeasy Mini extraction kit (Qiagen) を用いて、total RNA を抽出した。RT-PCR は、One Step RNA PCR Kit (AMV) (TaKaRa Shuzo) を用いて行った。

3. 動物実験

様々な濃度の *S. pyogenes* を腹腔内に 0.5