

図7 GAS472菌液とマウス血液を混合後の*sagA*の発現量の変化（16S rRNA遺伝子の発現量に対する倍率で表示）。

黒カラム, hCD46Tgマウスの血液; 白カラム, C57BL/6J, マウスの血液を用いる。
 *1, $P=0.25$; *2, $P=0.08$; *3, $P=0.17$ 。

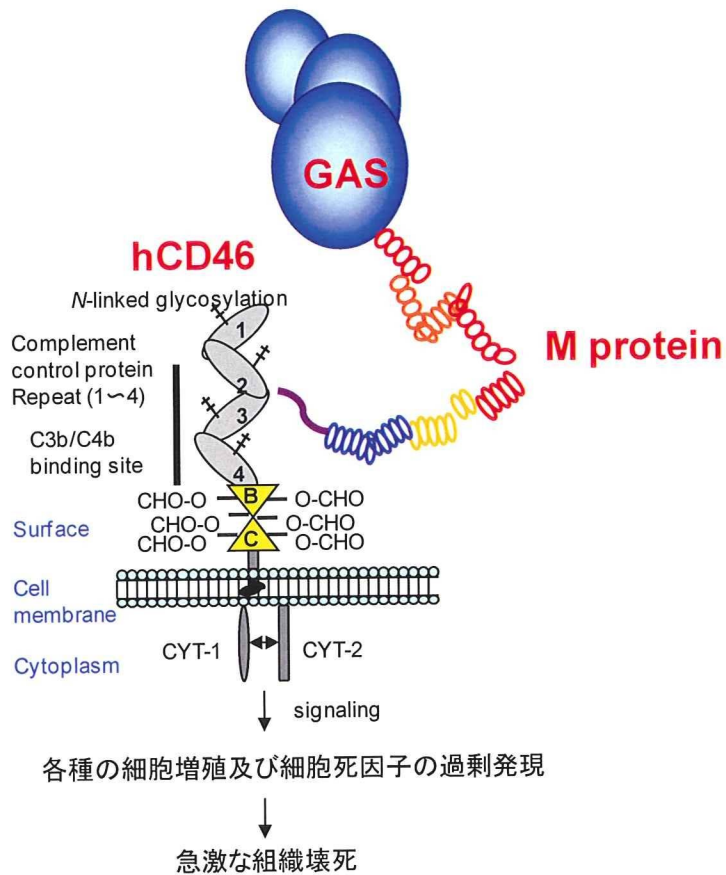


図8 GAS感染による壊死の発症機構

G 群レンサ球菌による劇症型感染症のモデル構築および分子基盤に関する研究

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

研究要旨 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・治療に関する研究を行うため、起因菌である *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (SDSE) の感染症のマウスモデルを用いた分子レベルでの研究を行う。SDSE は全ゲノム情報が公開されていなかったため、他の研究班員と共同で同菌全ゲノム配列を、世界に先駆けて明らかにした。また同菌感染症の疫学調査結果から、発症者には悪性新生物や糖尿病などの基礎疾患が高頻度に存在することが明らかとなっていたため、1 型および 2 型の糖尿病マウスと非糖尿病対照マウスで同菌に対する感受性を比較し、両型糖尿病モデルとも糖尿病非発症の対照マウスと比較して、SDSE 感受性が増加していることが明らかになった。これらのマウスを利用して、SDSE 感染時の糖尿病マウスでの宿主側因子発現変化の網羅解析を行った。その結果、糖尿病マウスは SDSE 感染時に、対照非糖尿病マウスと比較して、また対照菌である黄色ブドウ球菌を投与した場合と比較して、強い炎症性応答が惹起され、逆に自然免疫応答や獲得免疫応答性が低いことが明らかとなった。以上の結果は糖尿病時の SDSE 感染劇症化の宿主側分子基盤を反映すると考えられる。

A. 研究目的

劇症型レンサ球菌感染症(STSS)は致死率が 50%にも及ぶ感染症であり、最近の調査では A 群レンサ球菌(GAS)以外に G 群レンサ球菌および C 群レンサ球菌、特に *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*(SDSE)による症例が増加している。劇症型感染症は GAS 劇症型感染症とは異なり、高齢者および糖尿病などの基礎疾患保有患者で明瞭に高頻度であり、今後の日本社会状況を考える場合、その対策は重要である。しかしながら GAS の場合と異なり SDSE の研究は進んでいない。筆者等はすでに GAS をマウスに腹腔投与するモデルが、GAS による STSS 症例の疫学データと一致するという結果を報告している。本研究では STSS 症例および動物由来の SDSE 分離株の病原性をマウスモデルで比較し、SDSE 研究のための菌株選定を行う。さらに SDSE による劇症型症例のモデル構築のため、

SDSE 症例の基礎疾患として頻発する糖尿病のモデルマウスを利用して、SDSE による劇症型感染症のモデル構築を行う。構築したモデルを利用して SDSE 感染時の宿主側応答の詳細を解析する。

近年の細菌学研究では対象病原体のゲノム情報が利用可能である場合が一般的であり、実際 GAS では 13 株の全ゲノム配列が公開されている。しかし SDSE の全ゲノム情報はまだ公開されていない。そこで本研究では SDSE の全ゲノム配列を他の研究班員と協力して解析する。

B. 研究方法

1. 共試菌株

SDSE 菌株は東京女子医科大学・微生物学免疫学教室および北里大学・生命科学研究所・病原微生物分子疫学研究室より分与を受けた。増菌は、凍結保存されているレンサ球

菌をブレイン・ハートインフュージョン培地に植菌し、CO₂インキュベーター内で37°C、5%で一晩培養することで行った。マウス感染実験時の対照菌株として *Staphylococcus aureus* N315 株を使用した。

2. 糖尿病モデルマウスの作製

1 型糖尿病モデルは Streptozotocin(STZ)投与により作製した。雌 ddY マウス に STZ を 100mg/kg になるようにフィルター滅菌した 0.05M Na-Citrate (pH 4.5)に投与直前に溶解し、0.5ml 腹腔内投与を行った。さらに 1 日おいた翌日に同様の用量の STZ をマウスに腹腔内投与を行い、糖尿病を誘発させ、血糖値測定で糖尿病非発症のマウスと発症のマウスを選別し、以降の実験に使用した。また、対照として 0.05M Na-Citrate (pH 4.5)を 0.5ml をマウスに腹腔投与した。2 型糖尿病モデルは 2 型糖尿病自然発症の db/db マウスを使用し、糖尿病非発症の db/m+マウスを対照とした。

3. SDSE のマウス感染実験

菌を一晩培養後、3100rpm, 10min 遠心、培地を除き 1×PBS(-)5ml に懸濁した後、ボルテックス処理を 30 秒間行った。ボルテックス後の菌液を 1×PBS(-)で 0.5ml 投与時に LD50 の 5 倍となるように希釈し、マウスに腹腔内投与した。2 型糖尿病モデルとして糖尿病自然発症型マウスである db/db マウスを使用し、対照として糖尿病非発症型である db/m+マウスを使用した。

4. マウス遺伝子発現の網羅的解析

SDSE または *S. aureus* N315 株を投与した 2 型糖尿病マウスから 8 時間後に肝臓を採取し、ISOGENE 中で粉碎し、手順書に従って total RNA の粗抽出を行った。得られた RNA をさらに RNAeasy mini kit(QIAGEN)で精製して遺伝子発現解析に供した。発現解析は

Affymetrix 社 Mouse Gene ST 1.0 アレイを用いて行った。

5. SDSE 菌株の全ゲノム解析

マウス病原性を元に選定した SDSE の 2 菌株について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。その後サンガー法によりギャップクロージングを行った。蛋白質コード領域や rRNA などの機能性遺伝子の同定は専用ソフトウェアである *in silico* molecular cloning および Web 上のサービスなどを利用して実施した。

(倫理面への配慮)

動物実験については国立国際医療研究センター研究所動物実験委員会にて計画の審査・承認を受けて実施した。本計画で使用した菌株は感染症法の対象となる病原体ではないが、所内バイオセーフティ委員会による使用の承認を受けて実施した。

C. 研究結果

SDSE および GCS のマウス感染実験による高病原性菌株の同定：SDSE および GCS の 16 株を用いマウス感染実験を行った。高病原性菌株として、SDSE では SDSE124 株 (LD50=2.09×10⁶ CFU/mouse) あり、GCS では 167 (LD50=9.63×10⁵ CFU/mouse) を同定した (表 1)。菌株のマウス病原性は最も高病原性の場合で LD50=9.63×10⁵ CFU/mouse であり、最も低病原性では 2.49×10⁸ CFU/mouse であって、菌株間で最大で約 250 倍異なっていた。

SDSE および GCS の *emm* 分離頻度とマウス病原性の関係：*emm* はレンサ球菌の遺伝子型別に使用されている。GAS による STSS 症例では *emm3* および *emm1* などが高頻度に分離され、*emm3* および *emm1* を持つ菌株はマウス病原性も高いことが明らかになっている。一方、SDSE および GCS の劇症型症例では例えば *emm* 型が *stg6792* が高頻度に分離さ

れているが、このような *emm* 型とマウス病原性の相関関係が成立するかどうかは不明だった。そこで使用した 16 菌株を *emm* 分離頻度とマウス病原性の関係を検討した。その結果、分離症例数の多い菌株ではむしろマウス病原性が低い傾向であることが明らかとなった(図 1)。

糖尿病モデルマウスによる病原性の検討：STZ 誘発型の糖尿病モデルマウスで SDSE の感染実験を行った。その結果、正常マウスでの LD50 の 2 倍量を投与した場合 4 匹中 3 匹、1/2 倍量を投与した場合は 3 匹中 2 匹死亡した。0.05M Na-Citrate (pH 4.5) を投与したマウスでは、正常マウスでの LD50 の 2 倍量、1/2 倍量共に 5 匹中全てのマウスが生存していた。このことから、糖尿病誘発マウスでは 0.05M Na-Citrate (pH 4.5) を投与したマウスに比べ、SDSE の感受性が上昇することが明らかとなった。また 2 型糖尿病自然発症型の db/db マウスを用いた系でも糖尿病非発症の対照マウスである db/m+ と比較して、糖尿病発症マウスの SDSE 感受性は有意に増加していた(図 2-1, 図 2-2)。

糖尿病背景マウスでの SDSE 感染時の宿主因子発現比較：上述の糖尿病マウスを用いた SDSE 感染モデルのうち、日本人に頻発する 2 型糖尿病のマウスモデルである db/db マウス、およびその対照非糖尿病マウスである db/m+ マウスを使用し、菌投与無し、黄色ブドウ球菌投与、そして SDSE 投与の総計 6 種類の組み合わせで、マウス遺伝子の網羅的発現解析を行った。ブドウ球菌投与の実験を加えることで、SDSE 特異的な宿主応答の解析が可能な実験系とした。またレンサ球菌投与時に菌が特に集積する臓器である肝臓を標的として解析を行った。

SDSE を投与した糖尿病マウスと非糖尿病マウスの比較：菌投与後に、1) 非糖尿病マウスでは T 細胞活性化能を示すと考えられる T cell receptor associated transmembrane adaptor 1

および CD28 の発現が上昇するが、糖尿病マウスではそれらの上昇が認められないこと、2) 逆に糖尿病マウスでは IL-33, マクロファージ活性化 2, ケモカイン関連遺伝子, トロンボスポンジン, インターロイキン 1 β など炎症状態を示す遺伝子の発現が上昇していた。従って、糖尿病マウスでは細菌感染時の正常な免疫応答が惹起できず、逆に炎症状態が高進していると考えられた。

糖尿病マウスへの SDSE 投与と黄色ブドウ球菌投与の比較：同じ糖尿病マウスへの投与にもかかわらず、SDSE 投与の場合には、黄色ブドウ球菌投与と比べて、前述の炎症状態を示す遺伝子の発現に加えて、好中球の遊走に関与する *selectin* の発現が増加していた。従って、SDSE により発生する糖尿病マウスでの炎症状態の高進は SDSE 特異的と考えられた。

非糖尿病マウスへの SDSE 投与と黄色ブドウ球菌投与の比較：糖尿病マウスへの投与の場合とは対照的に、SDSE 投与マウスでは、CD14, TLR2, IL-1 受容体アンタゴニスト, T cell receptor associated transmembrane adaptor 1, CD28, Runx1 などの発現が上昇していた。従って、非糖尿病マウスでは、SDSE 投与時に、黄色ブドウ球菌投与時よりも強い自然免疫系と獲得免疫系の応答が惹起されていると考えられた。

SDSE 株の全ゲノム解析：本研究で全ゲノム解析が行われた SDSE 株は *emm* タイプが *st6792* 型である RE378 株である。*st6792* 型は本邦の SDSE 症例の中で最も分離頻度が高いことを生方等が明らかにしている。本研究では、筆者等が別プロジェクトにより実施した SDSE 菌株である SDSE_124 株の全ゲノムデータ、および主任研究者等により実施された SDSE 株である RE378 株の全ゲノムのドラフト配列データを元に生方等と協力して gap closing を実施して RE378 株の全ゲノム配列を決定した。本解析により SDSE は、こ

れまでに全ゲノム配列解析が実施された細菌の中でA群レンサ球菌(GAS)と最も近縁であることが明らかとなった。GASは他の細菌と比較して多数の病原因子を有することが知られている。そのため、それらの因子がSDSEでも保存されているかどうかを検討した。その結果、SDSEはGASの病原因子の大部分を保有していることが明らかとなった。その一方、GASの代表的な病原因子で、システインプロテアーゼであるSPEBを保有していなかった。またこれまでにゲノム解析が行われたGAS菌株はT細胞の強力な活性化作用を有するスーパー抗原の遺伝子を少なくとも3個保有しているが、SDSEではSPEGというスーパー抗原遺伝子のみを保有していた。

D. 考 察

マウス感染実験にて最も高病原性であったのはGCSの167株であったが、GCSよりGGCの方が臨床分離の頻度が高いことから、二番目に高病原性を示したGGS_124株を今後の解析に用いることにした。

GASでは、STSS症例で分離される菌株は特定の遺伝子型の菌が高頻度であり、この遺伝子型保有菌株はマウスに高病原性であることを以前明らかにされている。そこでSDSEおよびGCSで、遺伝子型および分離起源と菌株のマウス病原性に相関があるかどうか検討した。しかし、SDSEおよびGCSではGASと異なり、分離頻度と遺伝子型に顕著な相関は認められなかった。また、動物やヒトといった分離起源と病原性の間にも有意な相関が無いことから、SDSEおよびGCSのSTSS症例においては菌側の因子よりも例えば免疫不全や糖尿病といった宿主要因の影響が大きいことが示唆された。

SDSEおよびGCSによる劇症型感染症はGASとは異なり、糖尿病などの基礎疾患保有患者で明瞭に高頻度であることから、実際

の病態に近いSDSE劇症型感染症の動物モデルを構築するため、マウスにSTZ投与で糖尿病を誘発した1型糖尿病のモデル、そしてdb/dbマウスを用いた2型糖尿病の自然発症のモデルの場合のSDSE病原性への影響を検討した。その結果、糖尿病誘発マウスではSDSEの病原性が増加していることが明らかとなった。この病原性の増加は糖尿病を有するマウスの炎症状態をSDSEが特異的にさらに高進することで惹起されていると考えられた。

E. 結 論

一連の検討で、SDSE感染症の動物モデル構築の基礎的データを得ることが出来た。2型糖尿病マウスモデルを用いたSDSEの感染時の宿主側因子の網羅的発現解析に黄色ブドウ球菌の投与実験を併用することで、SDSE感染時に特異的に発生する宿主側応答の様相が明らかとなった。即ち糖尿病マウスでは、非糖尿病マウスと比較して、SDSE投与により非常に強い炎症反応が発生し、正常な免疫応答がほとんど起きないことが示された(図3)。糖尿病時には生体では弱い炎症状態が継続しており、これらが種々の臓器障害の原因となっていることが示されている。SDSEはブドウ球菌とは異なり、この生体の状況をさらに増悪させると考えられる。そのためSDSEの糖尿病時の感染の劇症化は、SDSEによる炎症状態の急激な悪化が寄与していると考えられる。今回同定されたSDSEにより発現が増加する炎症性因子の発現増加の程度は極めて高く、これらを早期に検出する系を構築して、SDSE感染に対する早期対策を行うことで、SDSE感染症の劇症化を未然に防ぐことが可能となるかもしれない。またこれらの因子のアンタゴニストを投与することで炎症悪化を防ぐ戦略はSDSEによる劇症型感染症治療法となる可能性がある。

SDSE がどのように特異的に宿主側の糖尿病時の炎症状態を増悪させているかの機構は現時点では明らかではない。筆者等の全ゲノム解析で、SDSE は多くの病原因子を GAS と共有していることが明らかとなっている。また、GAS による感染症の病態では同菌の持つ多数の因子が複雑に関与していると考えられるため、ある特定の病原因子のみで GAS、さらには SDSE による感染症、特に劇症型感染症の病態を説明することは困難である。その一方で、SDSE ゲノムには GAS において多数の病原因子の発現を制御するグローバルな調節因子が高度に保存されていることが明らかとなっている。そのため、この因子の機能が SDSE の感染症での同菌の作用に大きな役割を担っていると推定される。今後は、この因子の変異株などを利用した実験で、宿主側の遺伝子の発現解析などを実施する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) **Miyoshi-Akiyama T.**, Zhao J., Uchiyama T., Yagi J., Kirikae T. Positive correlation of low adhesion ability of group A streptococcus to mammalian cells with virulence in a mouse model. *FEBS Microbiol. Lett.* 2009. 293:107-114.
- 2) Saarinen S., Kato H., Uchiyama T., **Miyoshi-Akiyama T.**, Papageorgiou AC. Crystal structure of Streptococcus dysgalactiae-derived mitogen reveals a zinc-binding site and alterations in TcR binding. *J. Mol. Biol.* 373(5):1089-9 2007.
- 3) Zhao J, Hayashi T, Saarinen S, Papageorgiou AC, Kato H, Imanishi K, Kirikae T, Abe R, Uchiyama T, **Miyoshi-Akiyama T.** Cloning, expression, and characterization of the superantigen streptococcal pyrogenic exotoxin G from Streptococcus dysgalactiae.

Infect Immun. 75(4):1721-9. 2007.

- 4) 下村有美, **三好(秋山)徹**. 劇症型感染症を引き起こすレンサ球菌の新たな病原因子—ストレプトリジン O の宿主細胞への作用に関する新知見—. *感染・炎症・免疫.* 38(1) 73-75 2008.
- 5) **秋山 徹**. レンサ球菌. *バイオセーフティの事典—病原微生物とハザード対策の実例—*NPO 法人バイオメディカルサイエンス研究会編. 医学評論社(東京).205-209 2008
- 6) 下村有美, **三好(秋山)徹**. A群レンサ球菌の病原性機構における宿主細胞付着性の意義. *化学療法の領域.*24(6) 89-93 2008.

2. 学会発表

- 1) **秋山 徹**. ゲノム解析からみた *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* の病原性. 第 58 回日本感染症学会東日本地方会学術集会/第 56 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会 H21 年 10 月・東京.
- 2) **Miyoshi-Akiyama T.**, K. Okumura1, Y. Shimomura1, S. Murayama, J. Yagi, K. Ubukata, T. Kirikae. Origin of Streptococcal Superantigens Based on Mass Genome Comparison among *Streptococcus pyogenes* and *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. American Society of Microbiology, 109th General Meeting, Philadelphia, USA. H21 年 5 月
- 3) 奥村香世, 下村有美, 村山琮明, 八木淳二, 生方公子, 切替照雄, **秋山 徹**. レンサ球菌に存在するスーパー抗原の起源に関する解析. 第 82 回日本細菌学会. H21 年 3 月. 名古屋
- 4) 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**. *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. H21 年 3 月. 名古屋

- 5) Whole genome analysis of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* GGS_124 T. Miyoshi-Akiyama, Y. Shimomura, S. Murayama, K. Ubukata, J. Yagi3, T. Kirikae. American Society of Microbiology, 108th General Meeting, Boston, USA, H20年5月
- 6) *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* GGS_124株のゲノム配列解析. 秋山 徹, 村山琮明, 生方公子, 八木淳二, 切替照雄, 下村有美, 花崎真一. 第80回日本細菌学会総会, 京都, 2008
- 7) *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* のゲノム情報を利用したスーパー抗原遺伝子 *speG* およびその周辺遺伝子構造の解析. 奥村香世, 下村有美, 花崎真一, 切替照雄, 秋山 徹. 第55回毒素シンポジウム 山中湖, 2008
- 8) *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* の *speG* および周辺領域に関する遺伝子構造の解析. 奥村香世, 下村有美, 花崎真一, 島田恭兵, 切替照雄, 秋山 徹. 第17回 Lancefield レンサ球菌研究会 徳島, 2008
- 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 GGS および GCS 使用菌株の各種データ

strain	serotype	hemolysis	origin	emm	LD50
167	C	β	human	<i>stc839. 2tss</i>	9.63×10^5
GGs-124	G	β	human	<i>stg480. 0</i>	2.09×10^6
62	C	β	cow	<i>stL2764</i>	4.50×10^6
168	G	β	human	<i>stg480. 0</i>	4.55×10^6
GGs-117	G	β	human	<i>stg4974. 1</i>	5.58×10^6
170	G	β	human	<i>stC36. 0</i>	5.59×10^6
125	C	β	human	<i>stg653</i>	1.39×10^7
64α	C	a	cow	-	1.55×10^7
164	G	β	human	<i>stg485</i>	1.91×10^7
GGs-118	G	β	human	<i>stg6792</i>	1.95×10^7
63	C	β	cow	-	2.95×10^7
169	G	β	human	<i>stg11</i>	4.43×10^7
163	G	β	human	<i>stg643</i>	4.52×10^7
152	C	β	human	-	8.51×10^7
154	C	β	human	-	9.43×10^7
8	C	a	Cow	-	2.49×10^8

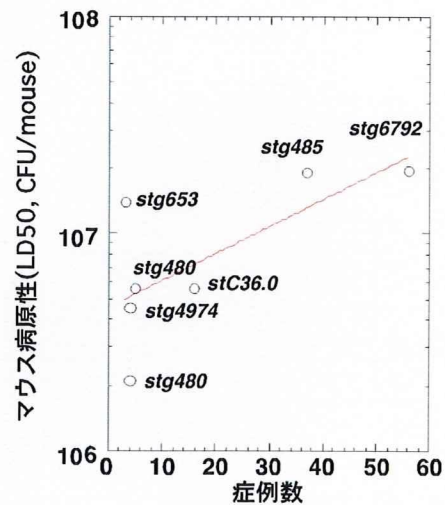


図1 GGS および GCS の臨床からの分離頻度とマウス病原性の関係

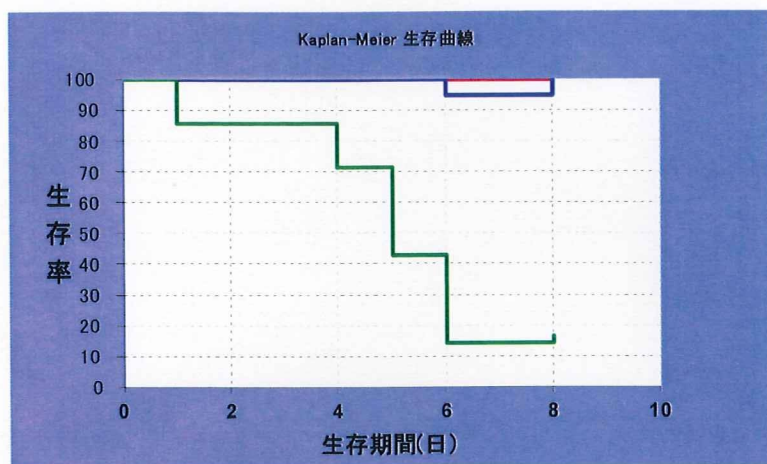


図 2-1 STZ 投与による 1 型糖尿病マウスモデルの SDSE 感受性

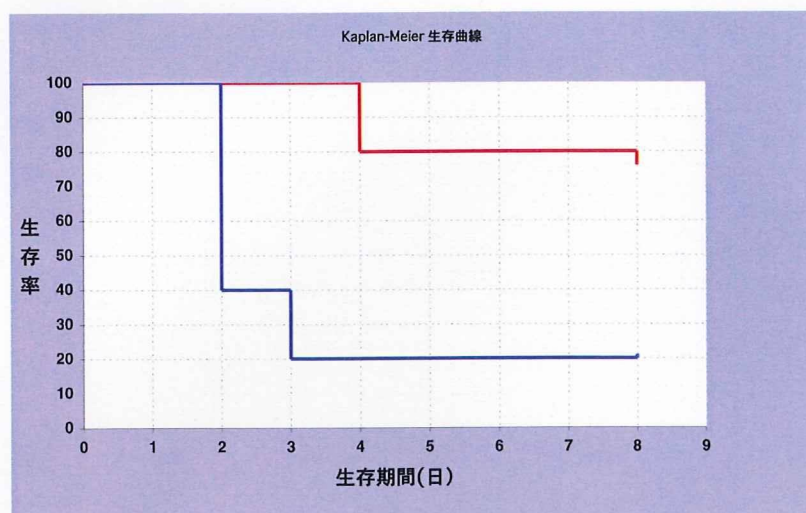


図 2-2 db/db マウスを用いた 2 型糖尿病マウスモデルの SDSE 感受性

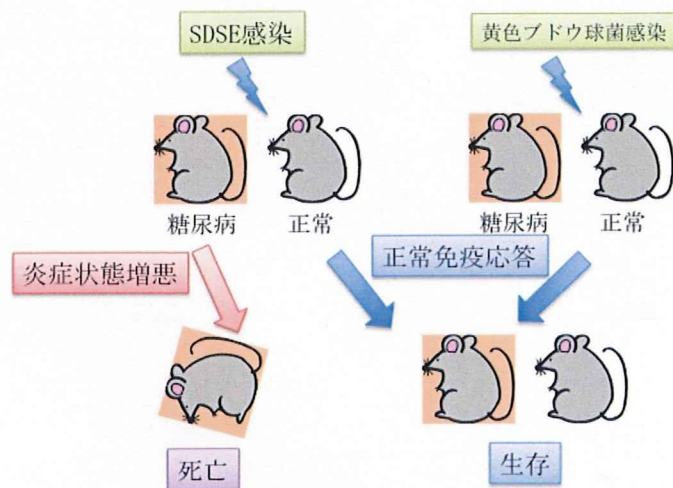


図 3 SDSE 感染症の糖尿病状態での劇症化機構

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
砂川慶介	IV. 治療 2.小児	細菌性髄膜炎の診療ガイドライン作成委員会	小児細菌性髄膜炎の診療ガイドライン	医学書院	東京	2007	52-65
砂川慶介	侵襲性感染症とその検査に関する精度の検証	砂川慶介	H19年-新興-一般-002報告書	新日本印刷	東京	2007	1-56
砂川慶介	IV. 中枢神経感染症	土肥義胤, 山本容正, 宇賀昭二	スタンダード微生物学-第2版-	文光堂	東京	2008	225-228
砂川慶介	薬物療法 -抗菌薬投与の基本	大関武彦, 近藤直美	小児科学第3版	医学書院	東京	2008	90-97
大石和徳	新興・再興感染症	井村裕夫	わかりやすい内科学	文光堂	東京	2008	523-526
秋山 徹	レンサ球菌 (-病原微生物とハザード対策の実際-)	NPO法人バイオメディカルサイエンス研究会編	バイオセーフティの事典	医学評論社	東京	2008	205-209
藤島清太郎	II. 危険因子	相馬一亥	ICTのための人工呼吸器関連肺炎のマネジメント	医薬ジャーナル社	東京	2009	14-20
池辺忠義, 常 彬	豚レンサ球菌感染症	岸本寿男, 山田章雄	ゾーンシスハンドブック	Medical Science	東京	2009	154-155
生方公子	VII. 資料 1. 細菌の分類	細菌性髄膜炎の診療ガイドライン作成委員会	小児細菌性髄膜炎の診療ガイドライン	医学書院	東京	2007	67-75

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
二本柳伸, 小幡進, 中崎信彦, 平井誠, 平田泰良, 高山陽子, 大谷慎一, 狩野有作, 赤星透, 砂川慶介 , 井上松久	A群連鎖球菌集団感染における迅速検出用キットの有用性評価	感染症学雑誌	81	441-448	2007
大石智洋, 砂川慶介	全国小児科外来初診の呼吸器感染症患児より分離された <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> の検討 2002-2003年) - 抗菌薬前投与のない児の鼻咽頭培養についての検討 -	感染症学雑誌	81	449-455	2007
砂川慶介 , 生方公子 , 千葉菜穂子, 長谷川恵子, 野々山勝人, 岩田敏 , 秋田博伸, 佐藤吉壮	本邦における小児細菌性髄膜炎の動向 (2005~2006)	感染症学雑誌	82	187-197	2008
尾内一信, 石和田稔彦, 岩田敏 , 岡田賢司, 黒崎知道, 坂田宏 , 鈴木宏, 砂川慶介 , 堤裕幸, 春田恒和, 満田年宏, 山崎勉	小児呼吸器感染症治療の現状把握に関する検討(第1報) 小児呼吸器感染症治療ガイドライン2004について	日本小児科学会雑誌	112	729-735	2008
尾内一信, 石和田稔彦, 岩田敏 , 岡田賢司, 黒崎知道, 坂田宏 , 鈴木宏, 砂川慶介 , 堤裕幸, 春田恒和, 満田年宏, 山崎勉	呼吸器感染症治療の現状把握に関する検討(第2報) 小児呼吸器感染症における抗菌薬使用実態	日本小児科学会雑誌	112	736-742	2008
佐藤吉壮, 豊永義清, 砂川慶介	アンケート調査による小児感染症への注射用抗菌薬の治療実態と今後への期待	小児感染免疫	20	115-122	2008
砂川慶介	起因菌別に考えること レンサ球菌	化学療法の領域	24	86-93	2008
砂川慶介 , 酒井文宜, 平尾百合子, 花木秀明, 野々山勝人, 岩田敏 , 秋田博伸, 佐藤吉壮	本邦における小児細菌性髄膜炎の動向 (2007-2008)	感染症学雑誌	84	33-41	2009

Nakayama E., Hasegawa K, Morozumi M, Kobayashi R, Chiba N, Iitsuka T, Tajima T, <u>Sunakawa K, Ubukata K</u>	Rapid optimization of antimicrobial chemotherapy given to pediatric patients with community-acquired pneumonia using PCR techniques with serology and standard culture.	Journal of Infection and Chemtherapy	13	305-313	2007
生方公子, 千葉菜穂子, 砂川慶介	肺炎球菌の耐性化とワクチン	小児科	49	301-307	2008
生方公子, 中山栄一, 長谷川恵子, 諸角美由紀	呼吸器感染症原因微生物ーリアルタイム PCR による迅速検索ー	小児科診療	71	111-116	2008
Wajima, T, Murayama Y. S, Sunaoshi K, Nakayama E, <u>Sunakawa K, Ubukata K.</u>	Distribution of <i>emm</i> type and antibiotic susceptibility of group A streptococci causing invasive and noninvasive disease.	Journal of Medical Microbiology	57	1383-1388	2008
<u>Ubukata K</u>	Simultaneous and rapid detection of causative pathogens in community-acquired pneumonia by real-time PCR.	Japan Medical Association Journal	51	P46-50	2008
Billal D S, Hotomi M, Shimda J, Fujihara K, <u>Ubukata K,</u> Yamanaka N.	Prevalence of Streptococcal invasive locus(<i>sil</i>) and its relationship with macrolide resistance among Group A <i>Streptococcus</i> .	Journal of Clinical Microbiology	46	1563-1564	2008
Hamano-Hasegawa K, Morozumi M, Nakayama E, Chiba N, Murayama S.Y, Takayanagi R, <u>Iwata S, Sunakawa K, Ubukata K</u>	Comprehensive detection of causative pathogens using real-time PCR to diagnose pediatric community-acquired pneumonia.	Journal of Infection and Chemotherapy	14	424-432	2008
Chiba N, Murayama S. Y, Morozumi M, Nakayama E, Okada T, <u>Iwata S, Sunakawa K, Ubukata K.</u>	Rapid detection of eight causative pathogens for the diagnosis of bacterial meningitis by real-time PCR.	Journal of Infection and Chemother.	15	92-98	2009
Murayama S. Y, Seki C, Sunaoshi K, Nakayama E, <u>Sunakawa K, Ubukata K.</u>	Capsular type and antibiotic resistance in <i>Streptococcus agalactiae</i> isolate from patients with invasive infections, ranging from newborns to the elderly.	Antimicrobial Agents and Chemother.	53	2650-2653	2009
Sunaoshi K, Murayama SY, Adachi K, Yagoshi M, Okuzumi K, Chiba N, Morozumi M, <u>Ubukata K</u>	Molecular <i>emm</i> genotyping and antibiotic susceptibility of <i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> isolated from invasive and noninvasive infections.	Journal of Medical Microbiology	59	82-88	2009

Chiba N, Morozumi M, Sunaoshi K, Takahashi S, Takano M, Komori T, Sunakawa K, Ubukata K.	Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal disease in Japan	Epidemiology and Infection	138	61-68	2009
生方公子	治療上問題となる耐性菌 －その検出法と分子疫学－	小児感染免疫	20	153-162	2008
諸角美由紀, 生方公子	リアルタイムPCR法による呼吸器系ウイルスの網羅的検索.	感染・炎症・免疫	38	70-73	2008
諸角美由紀, 生方公子	リアルタイムPCR法の原理と呼吸器感染症原因菌の網羅的検索への応用.	Medical Technology	36	1071-1077	2008
生方公子	呼吸器感染症原因微生物の遺伝子迅速診断.	日本胸部臨床	67	S266-S271	2008
砂押克彦, 生方公子	<i>Streptococcus equisimilis</i> 感染症.	総合臨床	57	2686-2691	2008
Takahashi T, Morozumi M, Chiba N, Asami R, Kishii K, Murayama SY, Ubukata K.	Co-infection with respiratory syncytial virus subgroup A and <i>Streptococcus pneumoniae</i> detected by a comprehensive real-time polymerase chain reaction assay in an elderly patient with community-acquired pneumonia.	Journal of American Geriatrics Society	9	1711-1713	2009
Oikawa J, Ogita J, Ishiwada N, Okada T, Endo R, Ishiguro N, Ubukata K, Kohno Y.	Human bocavirus DNA detected in a boy with plastic bronchitis.	Pediatric Infection Journal	28	1035-1036	2009
Baba S, Yamanaka N, Suzuki K, Furukawa M, Furuya N, Ubukata K, Totsuka K.	Clinical efficacy, safety and PK-PD analysis of tebipenem pivoxil on a phase II clinical trial in otolaryngological infections.	Jpn Journal Antibiotics	62	155-177	2009
Isozumi R, Yoshimine H, Morozumi M, Ubukata K, Ariyoshi K.	Adult community-acquired pneumonia caused by macrolide resistant <i>Mycoplasma pneumoniae</i> .	Respirology.	8	1206-1208	2009
Takahashi T, Sunaoshi K, Sunakawa K, Fujishima S, Watanabe H, Ubukata K.	Clinical aspects of invasive infections with <i>Streptococcus dysgalactiae</i> ssp. <i>equisimilis</i> in Japan: differences with respect to <i>Streptococcus pyogenes</i> and <i>Streptococcus agalactiae</i> .	Clinical Microbiology Infection	17	DOI: 10.1111/j.1469-0691.	2009
Peuchant O, Ménard A, Renaudin H, Morozumi M, Ubukata K, Bébéar CM, Pereyre S.	Increased macrolide resistance of <i>Mycoplasma pneumoniae</i> in France directly detected in clinical specimens by real-time PCR and melting curve analysis.	Journal of Antimicrobial and Chemother.	64	52-58	2009

Takahashi T, Morozumi M, Okada T, Chiba N, Asami R, Murayama SY, Ubukata K.	Prolonged <i>Mycoplasma pneumoniae</i> infection in an elderly patient with community-acquired pneumonia.	Journal Infection and Chemother.	15	243-247	2009
Hasegawa M, Hashimoto K, Morozumi M, Ubukata K. , Takahashi T, Inamo Y.	Spontaneous pneumomediastinum complicated by pneumonia in children infected with 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus	Journal of Clinical Microbiol. and Infection	16	195-199	2010
Hasegawa M, Inamo Y, Fuchigami T, Hashimoto K, Morozumi M, Takahashi T, Watanabe H. , Ubukata K.	Bronchial Casts and pandemic (H1N1) 2009 virus infection	Emerging Infectious Diseases	16	344-346	2010
Yoshino M, Murayama SY, Sunaoshi K, Wajima T, Takahashi M, Masaki J, Kurokawa I, Ubukata K.	Nonhemolytic <i>Streptococcus pyogenes</i> isolates that lack large regions of the <i>sag</i> operon mediating streptolysin S production	Journal of Clinical Microbiol.	48	635-638	2010
Takahashi T, Asami R, Tanabe K, Hirono Y, Nozawa Y, Chiba N, Ubukata K.	Clinical aspects of invasive infection with <i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> in elderly patients	Journal Infection and Chemother.	16	68-71	2010
Kishii K, Chiba N, Morozumi M, Hamano-Hasegawa K, Kurokawa I, Masaki J, Ubukata K.	Diverse mutations in the <i>ftsI</i> gene in ampicillin-resistant <i>Haemophilus influenzae</i> isolates from pediatric patients with acute otitis media	Journal Infection and Chemother.	16	87-93	2010
Morozumi M, Takahashi T, Ubukata K.	Macrolide-resistant <i>Mycoplasma pneumoniae</i> : characteristics of isolates and clinical aspects of community-acquired pneumonia	Journal Infection and Chemother.	16	78-86	2010
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	37	9-15	2010
生方公子	マルチプレックス呼吸器ウイルスゲノム・リアルタイム検査	臨床と微生物	36	61-66	2009
諸角美由紀, 長谷川真紀, 生方公子	市中肺炎原因微生物の検索 — 網羅的検索法へのパラダイムシフト —	化学療法領域	26	37-44	2010
坂田 宏	小児におけるB群溶連菌感染症の臨床的検討	感染症学雑誌	82	633-637	2008
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 <i>emm</i> 型別と PFGE パターン解析	感染症学雑誌	83	647-651	2009
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	113	1809-1813	2009

富樫武弘, 坂田 宏, 堤裕幸, 生方公子	北海道における小児期細菌性髄膜炎の疫学 調査成績	日本小児科 学会雑誌	114	473- 478	2010
Chen M, Hisatomi Y, Furumoto A, Kawakami K , Masaki H, Nagatake T, Sueyasu Y, Iwanaga T, Aizawa H, Oishi K.	Comparative immune responses of patients with chronic pulmonary diseases during the 2-year period after pneumococcal vaccination.	Clin. Vac. Immunol.	14	139- 145	2007
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 <i>Haemophilus influenzae</i> in a mouse model.	Tohoku J Exp Med.	211	63-74	2007
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	167-17 2	2007
Watanabe H, Batuwanthud awe 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 <i>Streptococcus pneumoniae</i> and <i>Haemophilus influenzae</i> among the internally displaced persons in tsunami disaster evacuation camps of Sri Lanka.	Intern med.	46	1395- 1402	2007
Dimaano E, Saito M, Honda S, Miranda EA, Alonzo MT, Valerio MD, Mapua CD, Inoue S, Kumatori A, Matias R, Natividad FF, Oishi K.	Lack of efficacy of high dose intravenous immunoglobulin treatment of severe thrombocytopenia in patients with secondary dengue virus infection.	Am J Trop Med Hyg	77	1135- 1138	2007
Yoshii H, Kamiyama H, Amanuma H, Oishi K. , Yamamoto N, Kubo Y.	Mechanisms underlying glycosylation- mediated loss of ecotropic receptor function in murine MDTF cells and implications for receptor evolution.	J Gen Virol	89	297-30 5	2008
Inoue Y, Trapnell BC, Tazawa R, Arai T, Takada T, Hizawa N, Kasahara Y, Tatsumi K, Hojo M, Ichiwata T, Tanaka N, Yamaguchi E, Eda R, Oishi K. , Tsuchihashi Y, Kaneko C, Nukiwa T, Sakatani M, Krischer JP, Nakata K.	Characteristics of a large cohort of patients with autoimmune pulmonary alveolar proteinosis patients in Japan.	Am J Respir Crit Care Med.	177	752-76 2	2008

Watanabe K, Anh DD, Huong PLT, Nguyet NT, Anh TH, Thi NT, Dung N T, 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
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
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
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.	Journal of Infection and Chemotherapy	14	105-109	2008
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 <i>Haemophilus influenzae</i> with resistant genes isolated from young children with acute lower respiratory tract infections in Nha Trang, Vietnam.	Journal of Infection and Chemotherapy	14	349-353	2008
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
大石和徳	細菌ワクチンの現状.	Medical Science Digest	34	444-447	2008
Kerdsin A, Oishi K , Sripakdee S, Boonkerd N, Polwichai P, Nakamura S, Uchida R, Sawanpanyalert P, Dejsirilert S.	Clonal Dissemination of <i>Streptococcus suis</i> serotype 14 in Thailand	Journal of Medical Microbiology	58	1508-1513	2009
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	48	5-9	2010

川上健司, <u>大石和徳</u>	肺炎球菌ワクチン -再接種の副反応と有用性-	Medical Practice	26	1161-1164	2009
<u>大石和徳</u>	23 価肺炎球菌ワクチン	内科	104	872-875	2009
Oma K, Zhao J, Ezoe H, Akeda Y, Koyama S, Ishii KJ, Kataoka K, <u>Oishi K.</u>	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
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, <u>吉田 敦</u> , 小池宰子, 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	3	54-57	2008
樽川友美, 鈴木弘倫, 岡本友紀, 山本芳尚, 大内友二, 及川信次, <u>吉田 敦</u> , 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	3	50-53	2008
<u>吉田 敦</u> , 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	32	181-190	2008
<u>吉田 敦</u>	<i>Streptococcus suis</i> , <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	臨床と微生物	36	99-102	2009
中野泰, <u>藤島清太郎</u> , 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	24	140-145	2007
池田雄一郎, <u>藤島清太郎</u> .	重症呼吸器疾患の救急管理	呼吸	27	43-48	2008
<u>Fujishima, S</u> , Morisaki H,	Neutrophil elastase and systemic inflammatory response syndrome in the initiation and development of acute lung injury among critically ill patients	Biomed Pharmacother.	62	333-338	2008
Sekine K, <u>Fujishima S</u> , Sasaki J, Ishizaka A, Aiso S, Aikawa N	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	554-562	2009
Yogo Y, <u>Fujishima S</u> , Inoue T, Saito F, Shiomi T, Yamaguchi K, Ishizaka A	Macrophage derived chemokine (CCL22), thymus and activation-regulated chemokine (CCL17), and CCR4 in idiopathic pulmonary fibrosis	Respiratory Research	10	1-11	2009

Fujishima S , Shiomi T, Yamashita S, Yogo Y, Nakano Y, Inoue T, Nakamura M, Tasaka S, Hasegawa N, Aikawa N, Ishizaka A, Okada Y	Production and activation of matrix metalloproteinase-7 in idiopathic pulmonary fibrosis.	Archives of Pathologic and Laboratory Medicine	134	In press	2010
林田敬, 藤島清太郎 , 宮木大, 池田雄一郎, 相川直樹	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	57-60	2009
藤島清太郎	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	137-139	2009
Ikebe T , Hirasawa K, Suzuki R, Ohya H., Isobe J, Tanaka D, Katsukawa C, Kawahara R, Tomita M, Ogata K, Endoh M, Okuno R, Tada Y, Okabe N, Watanabe H and the Working Group for Beta-hemolytic Streptococci in Japan.	Distribution of <i>emm</i> genotypes among group A streptococcus isolates from patients with severe invasive streptococcal infections in Japan, 2001-2005.	Epidemiology and Infection	135	1227-1229	2007
池辺忠義, 渡辺治雄	劇症型溶血性レンサ球菌感染症. 新感染症学(下) 一新時代の基礎・臨床研究一	日本臨床増刊号	65	255-258	2007
Ato M , Ikebe T , Kawabata H, Takemori T, Watanabe H .	Incompetence of neutrophils to invasive group A <i>streptococcus</i> is attributed to induction of plural virulence factors by dysfunction of a regulator.	PLoS ONE	3	e3455	2008
Tanaka D, Isobe J, Watahiki M, Nagai Y, Katsukawa C, Kawahara R, Endoh M, Okuno R, Kumagai N, Matsumoto M, Morikawa Y, Ikebe T , Watanabe H , Working Group for Group A Streptococci in Japan.	Genetic features of clinical isolates of <i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> possessing Lancefield's group A antigen.	Journal of Clinical Microbiology	46	1526-1529	2008
池辺忠義, 阿戸学, 小林和夫, 渡辺治雄	劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症機序一菌の特徴と免疫回避機構一	BIO Clinica	23	1321-1326	2008
Chancharoen S, Kewcharoenwong C, Susaengrat W, Ato M , Lertmemongkolchai G.	Human polymorphonuclear neutrophil responses to <i>Burkholderia pseudomallei</i> in healthy and diabetic subjects.	Infection and Immunity	77	456-4630	2009

Ikebe T, Ato M, Matsumura T, Hasegawa H, Sata T, Kobayashi K, Watanabe H.	Highly frequent mutations in negative regulators of multiple virulence genes in group A streptococcal toxic shock syndrome isolates	PLoS Pathogens			2010
池辺忠義, 阿戸学, 小林和夫, 渡辺治雄	劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症機序—菌の免疫回避機構と菌の特性—	感染症学雑誌	83	485-489	2009
阿戸学, 池辺忠義	劇症型 A 群レンサ球菌感染症における好中球傷害の機序	臨床免疫・アレルギー科	51	406-413	2009
池辺忠義	劇症型溶血性レンサ球菌感染症	公衆衛生	74	34-38	2010
Matsui H., Y Sekiya, M Nakamura, S Y Murayama, H Yoshida, T Takahashi, K Imanishi, K Tsuchimoto, T Uchiyama, K Sunakawa, K Ubukata.	CD46 transgenic mouse model of necrotizing fasciitis caused by <i>Streptococcus pyogenes</i> infection	Infection and Immunity	77	4806-4814	2009
Saarinen S., Kato H., Uchiyama T., Miyoshi-Akiyama T., Apageorgiou A C.	Crystal structure of <i>Streptococcus dysgalactiae</i> -derived mitogen reveals a zinc-binding site and alterations in TcR binding.	Journal of Molecular Biology	373	1089-1097	2007
Zhao J, Hayashi T, Saarinen S, Papageorgiou AC, Kato H, Imanishi K, Kirikae T, Abe R, Uchiyama T, Miyoshi-Akiyama T.	Cloning, expression, and characterization of the superantigen streptococcal pyrogenic exotoxin G from <i>Streptococcus dysgalactiae</i> .	Infection and Immunity	75	1721-1729	2007
下村有美, 三好(秋山)徹	劇症型感染症を引き起こすレンサ球菌の新たな病原因子—ストレプトリジンOの宿主細胞への作用に関する新知見—	感染・炎症・免疫	38	73-75	2008
下村有美, 三好(秋山)徹	A群レンサ球菌の病原性機構における宿主細胞付着性の意義.	化学療法の領域	24/6	89-93	2008
Miyoshi-Akiyama T., Zhao J., Uchiyama T., Yagi J., Kirikae T.	Positive correlation of low adhesion ability of group A streptococcus to mammalian cells with virulence in a mouse model.	FEBS Microbiological letter	293	107-114	2009

2. 小児

A. 基本的初期治療

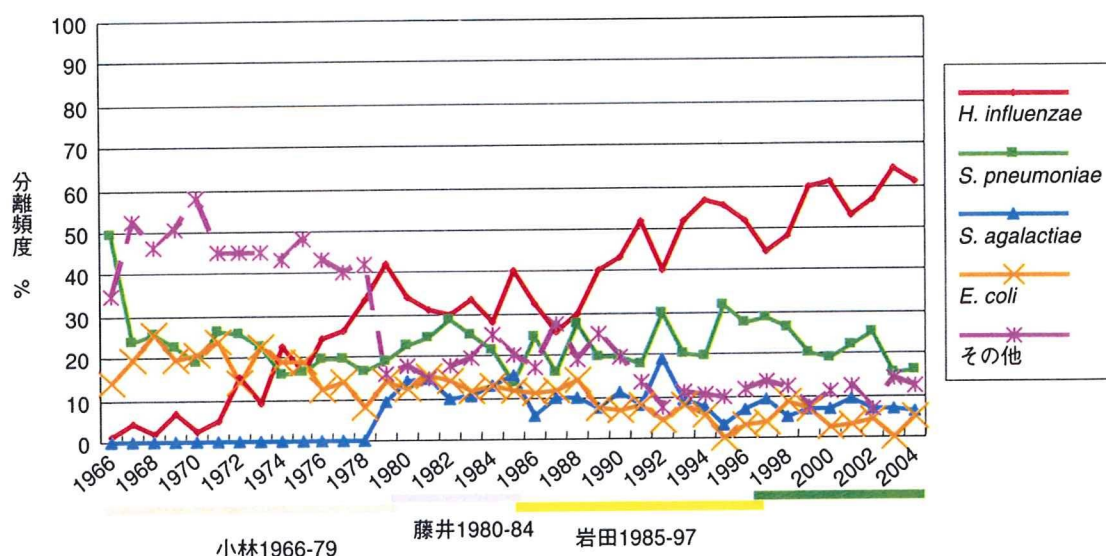
1 小児の細菌性髄膜炎の主要起炎菌とその薬剤耐性化の現況

1966年以降の本邦における小児の細菌性髄膜炎の起炎菌の調査をみると、インフルエンザ菌、肺炎球菌のワクチンが一般的でない本邦では、インフルエンザ菌、肺炎球菌、B群連鎖球菌、大腸菌の検出頻度が高い(図VI-1)。2003～2004年に発生した小児細菌性髄膜炎の全国調査の結果では¹⁾、116施設から報告された233症例中、インフルエンザ菌が139例と最も多く、次いで肺炎球菌が38例、B群連鎖球菌が13例、大腸菌が9例であった。その他には、リステリア菌が1例、MRSAが1例、髄膜炎菌が1例で、その他8例、不明23例であった。

また起炎菌と年齢には深い関係があり、B群連鎖球菌は新生児期～生後5カ月未満、大腸菌は新生児期～生後4カ月未満、インフルエンザ菌は生後から5歳未満、肺炎球菌は生後3カ月以降の小児期全年齢層を通じ検出されている(図VI-2)。

頭蓋骨骨折後の細菌性髄膜炎の場合には、小児の上咽頭の常在菌でもあるA群連鎖球菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌が起炎菌として多く、脳外科手術後やシャント感染の場合には黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、グラム陰性桿菌(緑膿菌を含む)が多い。

細菌性髄膜炎より分離された起炎菌の薬剤感受性をみると、インフルエンザ菌では1997年以降耐性菌が増加傾向にあり、2001年に耐性菌の占める割合のほうが多くなっ



図VI-1 小児の細菌性髄膜炎起炎菌の年次推移