

201225013A

厚生労働科学研究費補助金
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

重症型のレンサ球菌・肺炎球菌感染症に対するサーベイ
ランスの構築と病因解析，その診断・治療に関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 生方 公子

平成 25(2013) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書

- 重症型のレンサ球菌・肺炎球菌感染症に対するサーベイランスの構築と病因解析,
その診断・治療に関する研究 1
生方 公子

II. 分担研究報告書

1. 全国規模で収集した侵襲性感染症由来・肺炎球菌の分子疫学解析：
ワクチン接種の基盤となる莢膜型の変化と薬剤耐性化状況 11
生方 公子, 千葉菜穂子, 他
2. 全国規模で収集した侵襲性感染症由来 A 群および C 群, G 群レンサ球菌の
分子疫学解析：流行菌の細菌学的解析と患者予後予測因子の検討 19
生方 公子, 輪島 文明, 他
3. 全国規模で収集した侵襲性感染症由来・B 群溶血性レンサ球菌(GBS)の分子疫学解析
分離株の莢膜型の変化と薬剤耐性化状況 26
岩田 敏, 諸角美由紀, 他
4. 侵襲性感染症の小児から分離された *Streptococcus pyogenes* の *emm* 型と
抗菌薬感受性 33
坂田 宏
5. 成人(高齢者・産婦人科領域)における侵襲性レンサ球菌感染症の病態解析と
抗菌薬耐性 40
高橋 孝, 他
6. 北タイにおける *Streptococcus suis* serotype 2 感染症の臨床細菌学的研究 47
大石 和徳, 他
7. 救急・総合診療分野における劇症型レンサ球菌・肺炎球菌感染症例の病態解析と
その治療法に関する研究 52
藤島清太郎, 他
8. 劇症型溶血性レンサ球菌感染発症における宿主因子の解析 55
阿戸 学, 他
9. 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わる
病原因子の解析 60
池辺 忠義, 他

10. 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	64
秋山 徹	
11. ホームページ改定報告書	68
生方 公子	
Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	71

総括研究報告書

重症型のレンサ球菌・肺炎球菌感染症に対するサーベイランスの構築と病因解析， その診断・治療に関する研究

代表研究者 生方 公子 北里大学北里生命科学研究所病原微生物分子疫学研究室 特任教授

研究要旨

1. 侵襲性感染症由来株と宿主の疫学解析：3ヵ年計画の最終年度である H24 年度は，サーベイランス参加医療機関（細菌検査室を有する 344 施設）を通じ，引き続き肺炎球菌（280 株）と β 溶血性レンサ球菌（453 株）の合計 733 株を収集した。それぞれの菌種について，分子疫学解析，耐性遺伝子レベルでの耐性化状況，ならびに発症例の予後に関連するリスクファクター解析を行なった。
2. 「ワクチン接種緊急促進事業」に伴う肺炎球菌の変化：2011 年からの公的助成に伴い，小児用 7 価結合型ワクチン（PCV7）のカバー率は 2010 年の 71.8%から 2011 年には 50%と低下していたが，2012 年には 20%を下まわり，菌が急速に変化していた。成人でも同様の変化が生じていることが示唆され，23 価ワクチンのカバー率は前年度の 82.7%から 72%へと低下していた。小児における菌の変化が成人にも影響していることが示唆された。現行のワクチンでカバーできない莢膜型株は，米国や東南アジアから持ち込まれたものであることが分子疫学解析から明らかにされた。
3. β 溶血性レンサ球菌：GAS と SDSE は，病原性に関わる M タンパクの遺伝子レベルで疫学解析，および世界の菌株と比較するための MLST 解析を行なった。GAS では *emm1* 型が欧米と同様に依然として優位であったが，SDSE は諸外国にみられない型が優位であることを明らかにした。GBS の莢膜型は新生児と高齢者では明らかに異なり，新生児の早発型（生後 6 日まで）と遅発型（生後 89 日まで）では莢膜 III 型の割合が高かったが，高齢者では病原性は低いがマクロライド系薬やニューキノロン系薬に耐性を示す株が有意に高率であった。これら 3 菌種による成人例は，死亡率や後遺症を残す例が極めて高いことから，宿主のリスクファクターを明らかにするため多変量解析を行なった。その結果に基づく各項目のオッズ比からスコアリングモデルを提案した。
4. 菌のビルレンス解析と動物モデルの構築：劇症型 GAS 感染症の発症と遺伝子変異によるビルレンス因子からの産生物との関係について，*csrR/csrS*，*rocA*，*rgg* 遺伝子の解析に加え，*spy0218* 遺伝子解析を行なった。変異株は好中球の遊走能を阻害するとともに好中球殺傷能を増大することを明らかにした。また，劇症型感染マウスモデルを用い，IL-6 とインターフェロン- γ （IFN- γ ）の重症化への関わりを明らかにした。糖尿病マウスを用いた SDSE 感染では，炎症性サイトカイン，特に IL-6 の産生が劇的に増加することを明らかにした。この知見を元に，抗 IL-6 受容体抗体投与により治療効果を検討し，SDSE のマウス致死効果が有意に抑制されることを明らかにした。
5. 啓発活動：本研究事業の Web サイトに 2011 年の新たなデータを収載，また速報を発行し無料配布した。

研究分担者：所属期間名および所属機関における職名

- 1) 岩田 敏
慶應義塾大学医学部 感染制御センター
教授
- 2) 坂田 宏
旭川厚生病院小児科 主任部長
- 3) 大石 和徳
国立感染症研究所 感染症情報センター
センター長
- 4) 高橋 孝
北里大学大学院感染制御科学府感染症学
教授
- 5) 藤島 清太郎
慶應義塾大学医学部救急医学 准教授
- 6) 阿戸 学
国立感染症研究所 免疫部 第二室長
- 7) 池辺 忠義
国立感染症研究所 細菌第一部 主任
研究官
- 8) 秋山 徹
国立国際医療研究センター・研究所感染症
制御研究部 室長

A. 研究目的

ヒトに対して強い病原性を有する β 溶血性レンサ球菌には、A 群溶血性レンサ球菌 (GAS)、B 群溶血性レンサ球菌 (GBS) などが知られている。その中でも、GAS は「劇症型レンサ球菌感染症」の原因菌として社会問題化し、本症は現在感染症法の五類感染症に指定されている。一方 GBS は、出産時における新生児感染症あるいは高齢者における敗血症等の原因菌として近年増加傾向にあるとされる。

我が国においては、高齢化社会の到来と生活習慣病を始めとする基礎疾患保持例の急速な増加を背景に、病原性に乏しいとされてきた C 群、G 群溶血性レンサ球菌(正確な菌種名は *Streptococcus dysgalactiae* subspecies

equisimilis (SDSE)), あるいはブタレンサ球菌 (*Streptococcus suis*) による劇症感染例や侵襲性レンサ球菌感染症例の増加も報告されている。

加えて、肺炎の原因菌として最も重要な肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) による侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) が、i) 少子高齢化社会、ii) 経済の発展に伴うヒトの多極化移動、iii) 使用される抗菌薬の変化で増加傾向にあり、また抗菌薬の耐性化も進行している。これらを背景に、2010 年末には「平成 22 年度子宮頸がんワクチン接種緊急促進臨時特例交付金 (H22 年 11 月 26 日発健 1126 第 13 号) : ワクチン接種緊急促進事業」が施行され、小児に対する「肺炎球菌 7 価コンジュゲートワクチン (PCV7) の公的助成が開始された。2011 年、2012 年と PCV7 の接種率は急速に高まった。

本研究班は、上述した社会環境の変化を踏まえ、重症型の溶血性レンサ球菌・ならびに肺炎球菌感染症由来の菌株を全国規模で収集し、その分子疫学解析を行うことを第一の目的としている。

また、それぞれの菌種による感染症・発症に至る因子(リスクファクター)について、宿主側、菌側、および抗菌薬側の 3 方向から総合的に解析することを第二の目的とした。

また、基礎的研究として動物感染モデルの構築と感染実験による実証を行うことを第三の目的とした。

それらに加え、既に公開している website に順次新たな解析データを追加し、医療関係者ならび一般市民に対しても広く啓発を行なうことを第四の目標とした。

本研究の成果は、我が国における劇症型、ならびに侵襲性レンサ球菌・肺炎球菌感染症の実態を明らかにすることができ、さらには小児に対する PCV7 接種の効果を推定する基礎データとして、あるいは成人に対する 23 価ポリサッカライドワクチン (PPV23) の基礎

データとして、市中における重症感染症の予防対策に貢献できることが期待される。

B. 研究方法

1. 菌株の収集

本研究は上記の目的を達成するため、3カ年計画で日本臨床微生物学会に所属する学会員の協力を得、侵襲性レンサ球菌および肺炎球菌感染症由来の菌株を収集した。目的菌はすべて平素無菌的な検査材料、すなわち i) 髄液、ii) 血液、iii) 関節液、iv) 組織、v) 胸水、などから分離されたものに限定した。収集に際してはあらかじめ医療機関の長あるいは所属部門長の許可を得て行なわれ、最終的には全国 344 医療機関に所属する微生物担当の検査技師の協力を得た。

最終年度の H24 年 4 月から H25 年 1 月までの間に、i) 肺炎球菌は 280 株、ii) GAS:91 株、iii) GBS:158 株、iv) SDSE: 184 株、v) その他の溶血性レンサ球菌: 20 株、合計 733 株が収集された。その他に、研究分担者は自施設において、それぞれが担当する菌種の菌株を収集・解析した。

2. 患者背景因子に関する調査

菌株の分与を受ける際、当該例の背景因子、入院時の血液検査所見、入院後の治療と予後に関し、アンケート用紙への記入を依頼した。

3. 被験菌株の解析

- 肺炎球菌：抗血清を用いた莢膜型別 (Stetens Institute Denmark)、薬剤耐性遺伝子解析、ゲノム上の 7 つの house keeping gene を比較する multilocus sequence typing (MLST) を行なった。
- GAS と SDSE：病原因子のひとつで疫学解析に応用される M タンパクをコードする *emm* 遺伝子解析と、MLST 解析を実施した。また、ペニシリン系薬、セフェム系薬、マクロライド系薬、ニューキノ

ロン系薬等の抗菌薬感受性についても遺伝子レベルで解析した。

- GBS：病原因子のひとつである莢膜の型別と MLST 解析を実施した。

4. 菌の病原因子の解析

主に GAS ならびに SDSE について、各種産生物の産生状況や病原性の強さが解析された。

5. 動物モデルによる解析

糖尿病モデルマウスで炎症性サイトカインの産生状況が調べられた。

6. 啓発活動

H22年に構築した Web サイト (<http://strep.umin.jp/>) に新規データを掲載した (H24 年 11 月)。感染症領域関連学会である日本感染症学会、日本臨床微生物学会、日本化学療法学会会員には直接閲覧できるようにした。

(倫理面への配慮)

本研究で行う発症例に関するアンケート調査と菌株収集にあたっては、依頼時に「個人が特定できるような質問事項は含まない形式」とした。従って、研究成果の公表に際し、個人情報が含まれることはない。仮に個人情報が誤って記載されていたとしても、それに関する機密保持には万全を期した。基礎研究における動物実験の実施は、「動物の愛護および管理に関する法律」「実験動物の使用および保管等に関する基準」に基づき、各施設の動物実験指針に基づいて研究を行った。情報管理は、特定の研究者のみ閲覧できるように設定し、情報の流出には万全を期した。

C. 研究結果および D. 各研究の結論

1. 肺炎球菌の分子疫学解析(生方)

全国 343 医療機関の協力により、2012 年 4 月から 2013 年 1 月末日にかけ分離された

市中発症の侵襲性感染症 (IPD) 由来の肺炎球菌が 280 株収集された。小児由来が 133 株, 成人由来が 147 株であった。IPD の疾患の内訳は, 小児では敗血症・菌血症が多く, 成人では肺炎が多かった。全体としては, 肺炎, 敗血症・菌血症, 化膿性髄膜炎が IPD の 3 大疾患であった。β-ラクタム系薬に対する耐性化は, 小児では gPISP (*pbp2x*) が 34.6%, gPRSP が 27.8%, gPSSP が 21.8% であった。成人では gPISP (*pbp2x*) が 43.5%, gPRSP が 21.1%, gPSSP が 17.0% であった。マクロライド系薬耐性は, 小児と成人ともに 90% を占めていた。キノロン系薬高度耐性株 (LVFX: $\geq 8 \mu\text{g/mL}$) は認めなかった。

小児 IPD 例の莢膜型で最も多かったのは 19A (19.5%), 次いで 24 型 (9.0%), 6B と 15A (8.3%) の順であった。PCV7 のカバー率は前年の 59% から 15.8% へと激減していた。すなわち, 非ワクチンタイプの株が相対的に増加し, 中でも gPRSP の多い 15A と 19A が増加し, 菌交代現象の生じていることが注目された。さらに, PCV7 のワクチン接種歴のある児はほとんどが非ワクチンタイプの肺炎球菌による発症であった。

成人由来株ではムコイドタイプの 3 型が依然として最も多く, 次に 14 型, 22F 型, 6C 型, 10A 型の順であった。PPV23 のカバー率は 72.1% と前年に比べ 10% 低下していた。

MLST 解析により世界の菌株と比較すると, 増加している非ワクチンタイプの肺炎球菌は米国や東南アジア等海外から日本に持ち込まれた株と推察された。

小児に対する公費助成による PCV7 の接種化に伴い, 肺炎球菌に菌交代が生じており, 今後どのように莢膜型が変化していくのか, 抗体保有状況と相まって全国規模での正確なサーベイランスが引き続き必要であると結論された。

2. A 群, C 群, G 群溶血性レンサ球菌 (GAS と SDSE) の疫学解析 (生方)

1) GAS と SDSE (生方)

2012 年 4 月から 2013 年 2 月末日までに, 侵襲性感染症由来 A 群レンサ球菌 (GAS) および C 群, G 群レンサ球菌 (SDSE) がそれぞれ 91 株と 184 株が収集された。分子疫学解析による菌の *emm* 型は, GAS では *emm1* 型が 34.4% と最も多く, SDSE は *stG6792* 型が 28.8% と優位であった。一昨年度から増加傾向を示している GAS の *emm89* 型株は本年度も *emm1* 型に次いで高頻度に分離されていた。

抗菌薬感受性では, GAS 株には βラクタム系薬耐性株は認められなかったが, マクロライド系薬に対する耐性株は 54.4% と, 以前の成績に比較すると有意に増加していた。特に, *emm1* 型株の 92.2% が *mef(A)* を保持しているマクロライド中等度耐性株であった。キノロン系薬に対する耐性株は軽度耐性が 15.2% で, 耐性率に変化はなかった。

GAS 症例については発症後の予後に影響するリスクファクターを明らかにするため, 臨床検査値と患者背景因子に関するアンケートの質問項目をすべてデータ入力し, i) 後遺症を残さずに救命しえた症例と ii) 発症 28 日以内に死亡した例について単変量解析すると同時に, その両群を目的変数として多変量解析を行った。多変量解析では i) 年齢が 65 歳以上 (オッズ比: 2.9), ii) 基礎疾患を有していること (OR: 3.6), iii) 疾患が STSS または壊死性筋膜炎であること (OR: 3.4), iv) クレアチンキナーゼ (OR: 5.6) と血清クレアチニンの上昇 (OR: 5.0), v) 白血球 (OR: 10.0) ・血小板数の低下 (OR: 2.9) がカッコ内に示す OR で予後不良と有意に関係していた。多変量解析結果を元に, 予後推定のためのスコアリングモデルを作成した。

SDSE の疫学ならびに薬剤感受性成績は前年度と著しい違いは認めなかったが, 予後不

良(死亡)例の割合は15%で、GASに比較するとほぼ半数の割合であった。それらの予後不良例のリスクファクターについても解析した。

GASとSDSEに関する成績は、これらの菌においても日本には従来認めなかった新たな菌株が海外から持ち込まれ、それらに対する抗体を日本人が保持していないために重症化しやすいことが示唆された。社会環境の変化に対応するためには、今後もこれらの菌の動向を監視するとともに、スコアリングモデルの評価を行う必要があると結論された。

2) 小児由来GAS株のemm型と抗菌薬感受性(坂田)

2003年から2012年までに侵襲性感染症の小児から検出された *Streptococcus pyogenes* (GAS) 12株について最小発育阻止濃度(MIC)と最小殺菌濃度(MBC)を測定した。患者の年齢は生後1日から15歳までに分布し、新生児3名を含めて5歳未満が6例と半数を占めていた。疾患は敗血症4例、皮膚軟部組織炎3例、咽後膿瘍2例、肺炎+敗血症1例、膿胸1例、関節炎1例であった。敗血症1例が死亡し、他は後遺症なく治癒した。型別ではemm1が最も多く6株、ついでemm12が2株であった。MIC₉₀/MBC₉₀は penicillin G 0.015/0.015 µg/ml, ampicillin 0.03/0.03 µg/ml, cefotaxime 0.015/0.03 µg/ml, ceftriaxone 0.03/0.03 µg/ml, panipenem 0.008/0.008 µg/ml, meropenem 0.008/0.008 µg/ml, doripenem ≤0.004/≤0.004 µg/ml であり、carbapenem 薬の抗菌力が優れていると結論された。

3) 高齢者・産婦人科領域におけるレンサ球菌感染症の病態解析と抗菌薬耐性(高橋)

高齢者急性期病院単施設において、2012年に13例の侵襲性レンサ球菌(A群1株/B群1株/G群11株)感染症が発生していた。クラリスロマイシン(CAM)やレボフロキサシン(LVX)に耐性を示す分離株(5株)が見

られた。高齢者における同感染症や抗菌療法への注意喚起がこれまでと同様に重要であると結論された。

産婦人科領域における侵襲性レンサ球菌感染症は、地域基幹病院単施設(2001年-2012年)において、A群レンサ球菌(GAS)は無菌的検体・気道由来検体・皮膚由来検体と共に、膣外陰部由来検体(主に妊娠可能年齢~閉経後年齢の膣分泌物)より分離(9.8%, 80株/819株)されていた。また、全国的に収集(2012年8月-9月)されたGAS株においても膣頸管由来検体(29.0%, 133株/459株)が関わっていた。産婦人科で劇症型GAS感染症が発生している現状をみると、産婦人科領域における同感染症への注意喚起も必要であると結論された。

3. 新生児および成人由来B群溶血性レンサ球菌(GBS)の疫学解析(岩田)

2012年4月から2013年2月にかけて、全国344医療機関の協力により、市中発症の侵襲性感染症(IPD)由来のB群溶血性レンサ球菌(GBS)が158株収集された。小児由来が48株、成人由来が110株であった。小児IPD例は化膿性髄膜炎(66.7%)と敗血症(18.8%)が多く、早発型が減少し遅発型が多くなっていた。莢膜型はIII型(62.5%)が多かった。

一方、成人IPD例では、敗血症、蜂窩織炎が多く、莢膜型はIb型の割合が38%を占めていた。

妊娠後期の妊婦に対するGBS検索では16.0%がPCR陽性、15.0%が培養陽性であった。敗血症例や化膿性髄膜炎例に多くみられる重要な莢膜型、Ia型とIb型とIII型の合計が66.7%と高い割合であった。

世界の菌株とその疫学を比較するMLST解析では莢膜Ia型株はST23が優位で、成人で多いIb型株では90%がST10であった。病原性の高い莢膜III型株は多様化が進み、ST17, ST19, ST335がメインでその他にST10, ST24, ST27が認められた。

これらの成績は、今後も GBS 感染症の動向を監視するとともに、小児の遅発型感染や高齢者における感染への対策が必要であると結論された。

4. *Streptococcus suis* (ブタレンサ球菌) 感染症 (大石)

人獣共通感染菌の *Streptococcus suis* はブタの上気道に常在し、本菌に汚染された生ブタ製品を摂食したヒトにおいて、髄膜炎や敗血症を含む侵襲性感染症を惹起する。近年、東南アジア諸国における報告数が増加している。本研究は、1) タイ国内の *S. suis* の後方視的調査から本症の臨床・細菌学的実態を明らかにし、2) 同パヤオ県における前向き臨床疫学調査から、一般住民あたりの本症の罹患率とリスク行動を明らかにし、日本における同感染症の解析に資することにある。

2006年から2008年にタイ国内分離豚レンサ球菌感染症例より得られた血清型2型株において、ST1株と髄膜炎カテゴリー症例、ST104株と非髄膜炎カテゴリーとの関係において有意な相関が見られたことから、その細菌学的性状の相違を検討することで異なる病態が形成される可能性について検討した。それぞれのSTに属する菌株の分子生物学的解析、感染モデル実験の結果、本菌の主要な病原因子である *suilysin* 産生能がST間で異なり、これが病態相違を規定することが明らかとなった。

また、2010年から2012年の3年間で、タイ北部における豚レンサ球菌 (*Streptococcus suis*) 感染症実態を明らかにするための前向き全例疫学調査をおこなっているが、2010年の調査では、当該地域における豚レンサ球菌感染症が高頻度に報告されたことから、食の安全に関する啓蒙活動をおこなった。その結果、2011年は13例、2012年は11例の報告となり、2010年度に比較して顕著な症例数の減少(およそ60%減少)が認められ、公衆衛生学

的介入の効果が示された。

日本における発生例は少ないが、発生時にはタイ国での疫学実態を踏まえた対策が必要であると結論された。

5. 救急・総合診療分野における感染症例の病態解析とその治療 (藤島)

重症肺炎球菌・レンサ球菌感染症の病態解析と治療法開発を目的に、本年度は日本救急医学会主導で集積した重症敗血症患者の解析、災害医療センターと共同で実施した肺炎球菌感染症の後ろ向き調査で、侵襲性肺炎球菌感染症予後規定因子を解析した。

39施設から1,104人の重症敗血症、敗血症性ショック患者を収集した。臓器機能不全数が同程度で、重症敗血症ガイドラインの遵守率が低いにも関わらず、院内死亡率は29.3%と諸外国の報告(27~44.5%)と同程度あるいは低率であった。呼吸器、腎臓、肝臓、血液・凝固系の臓器機能不全を伴う患者で、有意に高い死亡率を認めた。ガイドラインのうち、i) 早期広域抗菌薬投与、ii) 急速輸液と血管作動薬投与、iii) 混合静脈血酸素化、iv) 施設ポリシーに沿ったステロイド投与方針決定、v) 血糖管理の達成群で死亡率が有意に低かった。これら所見の改善により、今後さらに予後の改善が可能と思われた。

一方、より詳細な臨床項目収集用のデータベースでは、15施設より624人が集積された。菌ごとの死亡率は、肺炎球菌 28.1%(患者数40人)、*S.pyogenes* (GAS) 0%(10人)、*S.agalactiae* (GBS) 36.8% (24人)、*S.dysgalactiae* subspecies *equisimilis* (SDSE) 62.5% (9人)、その他のレンサ球菌 20.0%(46人)であった。

2006年1月1日~2010年12月31日の5年間に侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)38名、肺炎球菌肺炎81名を検索し得た(男性83名。年齢 69±15歳)。28日生存群26名と同死亡群92名との比較では、年齢、性別には有意差を認めなかったが、WBC、CRP、IPDの

有無, SOFA 臓器別スコア(中枢, 循環, 呼吸, 凝固, 腎, 肝)に各々有意差を認めた。28日死亡を目的変数とし, WBC, CRP, IPDの有無, SOFA 臓器別スコアを説明変数とした多重ロジスティック回帰分析の結果, IPDの有無は(OR 12.9, 95%CI 1.6-106.2, p=0.018), SOFAの呼吸器(OR6.2, CI 2.0-19.6, p=0.002), 凝固系(OR 5.9, CI 1.6-21.2, p=0.007)スコアとともに有意な予後規定因子として抽出された。

6. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症発症における宿主要因の解析(阿戸)

劇症型溶血性レンサ球菌感染症において, 病態における宿主因子の役割を探索する目的で, 劇症型感染症患者血清のサイトカイン濃度を解析した結果, インターフェロン γ (IFN- γ)とインターロイキン6(IL-6)が+高い濃度で認められた。また, 劇症型レンサ球菌感染症における主要な起因菌である *Streptococcus pyogenes* (GAS)に関して, 患者より分離された株を用いた劇症型感染マウス動物モデルにおいても, 同様のサイトカイン産生パターンが認められた。IL-6の劇症型感染における役割を解析するため, IL-6欠損マウスに劇症型患者由来分離株を感染させたところ, 野生型マウスに比べ, 血液中の菌数の有意な増加が認められ, 感染から早期に死亡することが明らかとなった。

以上のことから, 劇症型溶血性レンサ球菌感染症において, IL-6は感染に対して保護的な役割を演じることが判明した。

7. 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の解明(池辺)

劇症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株において, *csrR/csrS*遺伝子以外に, *rgg*遺伝子のような毒素遺伝子の発現を負に制御する制御因子に変異が起きており, この変異は, 劇

症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株の約45%でみられた。一方, 咽頭炎などの非侵襲性感染臨床分離株では, 1.7%しかこれら遺伝子に変異が見られなかった。劇症型感染症患者分離株のうち, ムコイド型のコロニーを形成するものがある。多くは, *csrS/csrR*遺伝子に変異が見られる。しかしながら, 一部の株において, *csrS/csrR*遺伝子に変異がないが, ムコイド型のコロニーを形成するものが存在する。このうち, 昨年度報告した転写制御因子である *rocA*遺伝子以外に新たに *spy0218*遺伝子に変異があるものを見出した。この変異株は, 好中球の遊走能を阻害し, また, 好中球殺傷能を増大することを明らかにした。

8. SDSE レンサ球菌劇症型感染モデルと分子基盤の構築(秋山)

Streptococcus dysgalactiae subsp. *equisimilis* (SDSE)による感染症の疫学調査解析から, 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る。本研究ではこれまでに, 1)糖尿病マウスモデルの感染実験で SDSE 感受性が増加していること, 2)その際の宿主側因子網羅発現解析では SDSE 特異的な炎症関連遺伝子発現が高進していること, 3)SDSE 感染糖尿病マウス血清中には G-CSF, IFN- γ , IL-13, IL-1 α , IL-6, CXCL10, CXCL1, MCP-1, RANTES, MDC および TIMP-1 が大量放出されていること, 4)特に産生量の高い IL-6 の作用を抑制するため, その受容体に対する抗体を調製し, SDSE 感染糖尿病マウスモデルに対し同菌の感染前に同抗体を事前投与したところ, SDSE のマウスに対する病原性が著明に抑制されることを明らかにしている。本年度は抗 IL-6 受容体抗体の作用機構を明らかにするため, 同抗体投与時の SDSE 誘導サイトカイン産生量を抗体非投与時と比較した。その結果, 抗体投与によりサイトカインの大量産生, すなわちサイト

カインストームの発生が抑制されていることが明らかとなった。これらの結果は、糖尿病保持例におけるSDSE感染時の劇症化の宿主側における分子基盤を明らかにし、治療法確立への方策を提供するものと結論される。

E. 総括的結論と考察

3ヵ年計画の最終年度であるH24度においては、H24年1月までに全国343医療機関に所属する細菌検査室の協力を得て、市中で発生するβ溶血性レンサ球菌と肺炎球菌による侵襲性感染症由来株733株を収集し、菌側の疫学解析として肺炎球菌とGBSは莢膜型別、GASとSDSEは*emm*型別を行った。同時に世界の菌株についての分子疫学成績と比較するために、それぞれの菌株について7つのhousekeeping遺伝子を解析するMLST解析を実行した。また、薬剤耐性遺伝子解析も行った。

今回最も注目すべきは肺炎球菌の変化であった。H22年度の「ワクチン接種緊急促進事業」による小児用PCV7の全国的接種開始に伴い、PCV7の接種率が全体で80%前後になっていると予測される本年においては、原因菌が著しく変化していることが明らかにされた。すなわち、ワクチンでカバーできる莢膜型の肺炎球菌感染症は激減したものの、ワクチンに含まれない莢膜型株によるIPD感染症が明らかに増加していることが統計学的に明らかにされた。肺炎球菌は今後さらに変化することが予測され、PCV7の有効率、経済的効果を推測する上でも「持続的で全国的なサーベイランス」を行なっていくことが必要であると結論された。

発症例における発症時の解析は、菌株とともに送付を受けたアンケート用紙に記載された膨大な患者背景因子について統計解析を行なった。それらの成績からは、我が国において発生している侵襲性感染症の臨床上の実態を明らかにすることができた。すな

わち、肺炎球菌とGBS感染症は乳幼児と高齢者の2峰性分布、GAS感染症は若年層から高齢者と幅広いこと、SDSE感染症は高齢者がほとんどを占めていたことである。また、壮年期以上の発症例ではさまざまな基礎疾患を有する例が極めて多いことが浮き彫りにされた。また、今回の研究事業では、入院時の患者所見と血液検査所見から、個々の症例における予後が高い確率で推測できるスコアリング法を提言した。今後このモデルの妥当性についてさらなる検証が必要である。

一方、発症と重症化に至る過程を明らかにするため、基礎実験や動物モデルを用いた実験によって得られた成果は、上述した臨床的特徴を裏付けていると推察される。

得られたすべての成績は現在順次論文文化しているが、同時に広く医療関係者に認識していただくため、啓発活動として2012年の暮れにWebサイトを更新した。ただし、対象菌株の収集は2013年3月末日としているので、それまでに収集された菌株の解析を行い、2013年7月を目途にWebサイトを最終データに更新する予定である。

F. 健康危険情報

報告なし

G. 研究発表(各分担研究者については、それぞれの報告書に記載)

1. 論文発表

- 1) Chiba N, Morozumi M, Shouji M, Wajima T, Iwata S, Sunakawa K, **Ubukata K**, and the Invasive Pneumococcal Diseases Surveillance Study Group. Rapid Decrease of 7-Valent Conjugate Vaccine Coverage for Invasive Pneumococcal Diseases in Pediatric Patients in Japan. *Microb Drug Resist.*, 2013; DOI:10.1089/mdr.2012.0180.
- 2) Chiba N, Morozumi M, **Ubukata K**: Application of the Real-Time PCR Method

- for Genotypic Identification of β -Lactam Resistance in Isolates from Invasive Pneumococcal Diseases. *Microbial Drug Resist.*, **2012**; 18:149–156.
- 3) **Ubukata K.**, Chiba N, Morozumi M, Iwata S, Sunakawa K, The Working Group of Nationwide Surveillance for Bacterial Meningitis: Longitudinal surveillance of *Haemophilus influenzae* isolates from pediatric patients with meningitis throughout Japan, 2000–2011. *J Infect Chemother.*, **2013**; 19:34–41.
 - 4) Morozumi M, Chiba N, Okada T, Sakata H, Matsubara K, Iwata S, **Ubukata K.**: Antibiotic susceptibility in relation to genotype of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Mycoplasma pneumoniae* responsible for community-acquired pneumonia in children. *J Infect Chemother.*, **2012**; DOI 10.1007/s10156-012-0500-x.
 - 5) Okada T, Morozumi M, Sakata H, Takayanagi R, Ishiwada N, Sato Y, Oishi T, Tajima T, Haruta T, Kawamura N, Ouchi K, Matsubara K, Chiba N, Takahashi T, Iwata S, **Ubukata K.** A practical approach estimating etiologic agents using real-time PCR in pediatric inpatients with community-acquired pneumonia. *J Infect Chemother.*, **2012**; 18: 832–840.
 - 6) Fujimoto K, Kanazawa K, Takemoto K, Urasaki K, Ueda Y, **Ubukata K.**, Sunakawa K. Therapeutic effect of meropenem on an experimental guinea pig model of meningitis with type b β -lactamase-nonproducing ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *J Infect Chemother.* **2012**; DOI 10.1007/s10156-012-0521-5
 - 7) Wajima T, Morozumi M, Chiba N, Fujishima S, Watanabe H, **Ubukata K.** Prognosis- Associated Clinical Findings and Characteristics in Invasive Group A Streptococcal Diseases in Japan. *J. Infect.*, (March 2013 submitted).
 - 8) Wajima T, Morozumi M, Chiba N, Shouji M, Iwata S, Sakata H, **Ubukata K.** Associations of Macrolide and Fluoroquinolone Resistance With Molecular Typing in *Streptococcus pyogenes* From Invasive Infections, 2010 to 2012. *Int. J. Antimicrob. Agents.* (March 2013 submitted).
 - 9) Morozumi M, Wajima T, Kuwata Y, Chiba N, Sunaoshi K, Sugita K, Sakata H, Iwata S, **Ubukata K.** Associations between Capsular Serotype and Multilocus Sequence Type in Invasive Group B Streptococcal Isolates From Infants in Japan. *Epidemiology and Infection*, (March **2013** submitted).
 - 10) 千葉菜穂子, 諸角美由紀, **生方公子.** β -ラクタム系薬耐性肺炎球菌およびインフルエンザ菌に対する経口抗菌薬作用後の形態変化。 *The Japanese Journal of Antibiotics* **2012** ; 65:323–34.
 - 11) 千葉菜穂子, **生方公子.** 肺炎球菌とインフルエンザ菌。 *臨床と微生物.* **2012** ; 39:530–536.
 - 12) 輪島丈明, 砂押克彦, **生方公子.** β 溶血性レンサ球菌。 *臨床と微生物.* **2012** ; 39:523–529.
 - 13) **生方公子.** ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) –薬剤耐性化とワクチンに関する莢膜型の関係–。 *小児科臨床.* **2012**; 64: 2459–2466.
 - 14) **生方公子.** 侵襲性・重症レンサ球菌感染症。 *化学療法の領域.* **2012**; 28: 66–73.
- ## 2. 学会発表
- 1) **Ubukata K.**, Chiba N, Morozumi M, Sakata H, Iwata S. Rapid Decreasing of

- 7-valent Conjugate Vaccine Coverage for Invasive Pneumococcal Diseases (IPD) in pediatric patients in Japan. 52nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), September 9-12, 2012, San Francisco.
- 2) Chiba N, Shouji M, Morozumi M, **Ubukata K**. Relationship between Genetic beta-lactam Resistance and Capsular Type or Clonal Complex of Isolates from Invasive Pneumococcal Disease in Japan. 52nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), September 9-12, 2012, San Francisco.
 - 3) **Ubukata K**, Morozumi M, Chiba N, Wajima T, Sakata H, Iwata S. Characteristics of Capsule Types and Multilocus Sequence Types of *Streptococcus agalactiae* (GBS) from Neonatal Invasive Infections in Japan. 52nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC) September 9-12, 2012, San Francisco.
 - 4) Wajima T, Morozumi M, Chiba N, **Ubukata K**. Change in the prevalent *emm* Type and Increase in Macrolide Resistance among *Streptococcus pyogenes* Isolated from Invasive Infections (poster Number C2-1991). 52nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), September 9-12, 2012, San Francisco.2012
 - 5) 生方公子, 諸角美由紀, 砂押克彦, 諸角美由紀, 千葉菜穂子. 侵襲性 SDSE 感染症. 第 86 回日本感染症学会, 2012, 04.25. (長崎)
 - 6) 生方公子, 砂押克彦, 千葉菜穂子, 諸角美由紀, 岩田 敏. 侵襲性 B 群溶血レンサ球菌 (GBS) の分子疫学解析 : 2010 年 収集株. 第 86 回日本感染症学会, 2012, 04.25. (長崎)
 - 7) 千葉菜穂子, 荘司 路, 諸角美由紀, 生方公子. 侵襲性感染症由来肺炎球菌の分子疫学解析 : 2010 年度の成績. 日本感染症学会, 2012, 04.25 (長崎)
 - 8) 千葉菜穂子, 諸角美由紀, 輪島文明, 生方公子 : 肺炎球菌 7 価結合型ワクチン (PCV7) 接種の普及に伴う莢膜型の変化. ワクチン学会, 2012, 11.15 (横浜)
 - 9) 生方公子. 細菌における抗菌薬耐性化のメカニズムとその対策 - 市中型重症感染症の原因菌 -. 第 52 回日本呼吸器学会学術講演会 (教育講演), 2012, 04.22 (神戸).
 - 10) 生方公子. 市中で発症する細菌性髄膜炎に対する迅速診断システムの構築. シンポジウム, 第 17 回日本神経感染症学会, 2012, 10.20 (京都)
 - 11) 生方公子. 小児細菌性髄膜炎に関する Overview. 第 44 回日本小児感染症学会 2012, 11.24 (福岡)
 - 12) 輪島文明, 千葉菜穂子, 諸角美由紀, 生方公子. 侵襲性感染症由来 *Streptococcus pyogenes* における流行菌型の変化と薬剤耐性化. 第 61 回日本感染症学会 東日本地方会, 2012, 10.12 (横浜)
 - 13) 輪島文明, 生方公子. *Streptococcus pyogenes* におけるマクロライド系・フルオロキノロン系薬耐性化とその遺伝学的特徴. 第 86 回日本細菌学会, 2013, 03.18 (千葉幕張メッセ)
 - 14) 生方公子. グラム陽性球菌とマイコプラズマにおける耐性化とそのメカニズム. シンポジウム : 始まった市中型感染症原因菌の逆襲. 第 86 回日本細菌学会, 2013, 03.18, (千葉幕張メッセ)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

分担研究報告書

全国規模で収集した侵襲性感染症由来・肺炎球菌の分子疫学解析： ワクチン接種の基盤となる莢膜型の変化と薬剤耐性化状況

代表研究者 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 特任教授
研究協力者 千葉菜穂子 北里大学大学院感染制御科学府&北里生命科学研究所 研究員
研究協力者 諸角美由紀 北里大学大学院感染制御科学府&北里生命科学研究所 研究員
研究協力者 輪島 丈明 北里大学大学院感染制御科学府&北里生命科学研究所 研究員

研究要旨

1. 全国 343 医療機関の協力により、2012 年 4 月から 2012 年 1 月末日にかけ分離された市中発症の侵襲性感染症 (IPD) 由来の肺炎球菌が 280 株収集された。小児由来が 133 株、成人由来が 147 株であった。
2. IPD の疾患の内訳は、小児では敗血症・菌血症が多く、成人では肺炎が多かった。全体としては、肺炎、敗血症・菌血症、化膿性髄膜炎が IPD の 3 大疾患であった。
3. β -ラクタム系薬に対する耐性化は、小児では gPISP (*pbp2x*) が 34.6%、gPRSP が 27.8%、gPSSP が 21.8% であった。成人では gPISP (*pbp2x*) が 43.5%、gPRSP が 21.1%、gPSSP が 17.0% であった。マクロライド系薬耐性は、小児と成人ともに 90% を占めていた。キノロン系薬高度耐性株 (LVFX: $\geq 8 \mu\text{g/mL}$) は認めなかった。
4. 小児 IPD 例の莢膜型で最も多かったのは 19A (19.5%)、次いで 24 型 (9.0%)、6B と 15A (8.3%) の順であった。PCV7 のカバー率は 15.8% であった。
5. 非ワクチンタイプが相対的に増加し、中でも gPRSP の多い 15A と 19A が増加していることが注目された。ワクチン接種歴のある児はほとんどが非ワクチンタイプによる発症であった。
6. 成人由来株では 3 型が最も多く、次に 14, 22F, 6C, 10A の順であった。PPV23 のカバー率は 72.1% であった。
7. MLST 解析により、増加している非ワクチンタイプは海外から日本に入ってきた株と推察された。

A. 研究目的

本邦においては、1990 年代の半ばから呼吸器感染症や急性中耳炎、化膿性髄膜炎の原因菌として最も重要な肺炎球菌において、治療の第一選択薬である β -ラクタム系薬耐性菌が出現した。特に、免疫学的に未成熟な小児における侵襲性重症感染症は治療の上で深刻な問題を提起してきた。

一方、急速な高齢化社会の到来とともに、近年 60 代以上の壮年層における同様の重症

感染症例が増加している。

本研究事業 1 年目 (H22) から、我が国における侵襲性感染症由来の肺炎球菌を全国から継続して収集し、発症例 (宿主) の背景と予後について解析、さらにはワクチン接種の基盤となる菌側の莢膜型と薬剤耐性化状況、ならびに MLST 解析による世界の分離株との比較を行うこととした。

ここでは本研究事業の最終年である 3 年目の成績について報告する。

B. 研究方法

1) 収集菌株

分離株の解析対象期間は、2012年4月から2013年1月末日とした。全国343医療機関に所属する細菌検査室から計280株の送付を受けた。小児由来が133株、成人由来が147株であった。これらはすべて平素無菌的な検査材料、すなわち髄液、血液、胸水、関節液、閉鎖性膿汁などから分離された侵襲性肺炎球菌感染症 (Invasive Pneumococcal Disease: IPD) 菌株である。

2) 菌株の解析項目：

- i) 莢膜型は、デンマークの Statens Serum Institute より購入した抗血清を用い、顕微鏡下に莢膜膨化の有無を観察した。
- ii) 薬剤耐性遺伝子、すなわち *pbp1a*, *pbp2x*, *pbp2b* 遺伝子ならびにマクロライド系薬剤耐性に関わる *mefA* と *ermB* 遺伝子の解析は real-time PCR にて実施した。
- iii) 7種の Housekeeping gene を解析対象とした Multilocus Sequence Typing (MLST) 解析を実施した。

(倫理面への配慮)

本研究においては、取り扱う情報の中に個人が特定される情報が含まれないように、あらかじめ連結不可能な匿名化を行って菌株とアンケート用紙の回収を行った。また、各医療機関の長、あるいは検査部の長に対し、疫学調査の内容を開示し、あらかじめ許可を受けた。

従って、研究成果の公表にあたり個人情報が含まれることはない。

C. 研究結果

1) 収集菌株の年齢分布と感染症の内訳

図-1には、IPD発症例の年齢分布を示す。小児では1歳が最も多く、次いで1歳未満と2歳であった。1歳以下の発症例が62.4%を

占めていた。

一方、成人では20歳代の症例も認められたが、70歳代に発症のピークは70歳代であった。全人口の約4人に1人が65歳以上の高齢者となった現状と、さまざまな基礎疾患を有する人口が増加している現状において、IPDは乳幼児のみならず、高齢者でも重要な感染症となっていることが明らかにされた。小児のIPD例における予後不良率(死亡例+後遺症残存例)は12%程度であったが、成人のそれは25%と高い値であった。

IPDにおける疾患の内訳は、小児と成人とに分けて図-2に示す。小児では敗血症・菌血症が68.2%と最も多く、次いで化膿性髄膜炎、肺炎(血液培養から菌が分離された例のみ)の順であった。その他にはわずかではあったが、蜂窩織炎や化膿性関節炎等も認められた。一方、成人では肺炎(血液からも肺炎球菌が分離された例に限る)が36.1%と最も多く、次いで敗血症・菌血症、化膿性髄膜炎の順であった。小児にはみられなかった疾患として、膿胸や胸膜炎などが4.8%ほど認められた。

全体としては、肺炎、敗血症・菌血症、化膿性髄膜炎がIPDの3大疾患であった。

2) 遺伝子学的に解析した耐性菌の割合

β -ラクタム系薬感受性の低下したペニシリン耐性肺炎球菌では、薬剤の標的である細胞壁合成酵素のPBPをコードする遺伝子変異によって耐性化することが既に明らかにされている。PBP1AとPBP2Bをそれぞれコードする*pbp1a*と*pbp2b*遺伝子変異はペニシリンとカルバペネム系薬の感受性低下、PBP2Xをコードする*pbp2x*はセフェム系薬の感受性低下に関わる。

マクロライド系薬では*mefA*遺伝子保持による軽度耐性、*ermB*遺伝子保持による高度耐性、ニューキノロン系薬の耐性ではDNA合成酵素のGyrA, GyrB, ParC, ParEをそれ

ぞれコードする遺伝子の変異が問題となる。

図-3 には、小児由来株 (n=133) の成績について、後述する莢膜型の成績と一緒に示す。genotype を表す“g”をつけて生物学的結果と区別している。もっとも多かったのは gPISP (*pbp2x*) の 34.6%、次いで gPRSP の 27.8%、gPSSP の 21.8% であった。PCV7 接種の影響により gPRSP が減少したと考えられ、代わって gPISP (*pbp2x*) や gPSSP が増加していた。

一方、マクロライド系薬耐性では、クラリスロマイシン (CAM) やアジスロマイシン (AZM) の高度耐性化 ($\geq 32 \mu\text{g/mL}$) に関わる *ermB* 保持株が 53.4%、次いで中等度耐性の *mefA* 保持株が 21.8%、その両方を保持した株が 17.3% であった。感性菌はわずかに 7.5% であった。マクロライド耐性株はワクチンの影響を受けず、その 90% 以上が耐性菌のままであった。

図-4 には、成人由来株 (n=147) の同様の成績を示す。もっとも多かったのは、gPISP (*pbp2x*) の 43.5%、次いで gPRSP の 21.1%、gPSSP の 17.0% であった。

一方、マクロライド系薬耐性は高度耐性に関わる *ermB* 保持株が 60.5%、*mefA* 保持株が 23.8%、その両方を保持した株が 4.8% であった。感性菌はわずかに 10.9% であった。また、成人で問題となっているキノロン耐性菌 (LVFX: $\geq 8 \mu\text{g/mL}$) は検出されなかった。

3) 莢膜型

小児由来株の莢膜型と遺伝子学的にみた薬剤耐性との関係、そして小児用 7 価コンジュゲートワクチン (PCV7) のカバー率を図-3 に示す。もっとも多かったのは、非ワクチンタイプ (NVT) 19A 型で 19.5%、次いで 24 型 (9.0%)、ワクチンタイプ (VT) の 6B と NVT の 15A (8.3%)、の順であった。**PCV7 のカバー率は 15.8% と大幅に減少**していた。また、世界的にも定期接種化が進められている **PCV13 のカバー率についてもわずかに**

39.1%に過ぎなかった。最も注目されたのは、15A, 19A, 35B, 15C といった非ワクチンタイプが gPRSP の 60% を占めていたことである。また、以前はほとんど見られなかった 24 型も増加していた。

一方、成人由来株の同様の成績は図-4 に示す。もっとも多かったのは病原性が高いとされるムコイド・コロニーを形成する 3 型であった。次いで 14, 22F, 6C, 10A の順であった。成人に対しては 23 価ポリサッカライドワクチン (PPV23) の任意接種が行なわれているが、その接種率は 20% 前後を報告されている。PPV23 に含まれない 35B, 15A, 6D, 16F の中に gPRSP が出現し始めたことが注目された。特に 6D, 16F は小児では検出されず、今後の動向が注目される。それぞれのワクチンのカバー率は **PPV23 が 72.1%**、PCV7 は 24.5%、PCV13 は 53.7% であった。成人においても PCV7 と PCV13 のカバー率は減少しており、小児に対する PCV7 接種の影響があるであろうと推測された。

4) MLST 解析

小児由来株について、PCV7 に含まれない NVT の中で gPRSP であった株について MLST を実施した。その成績の一部を表-1 に示す。15A は 1 株を除いて Sweden 由来の ST63、1 株は今回見出された日本由来の ST8354、19A は 1 株を除いて Alaska 由来の ST3111、1 株は ST320、35B 型はすべて New York 由来の ST558、15C は Taiwan 由来の ST81 であった。

日本における 19A の増加は、米国で PCV7 の定期接種化後に増加した 19A 型株と同一とみなされるものが大多数を占めていることが明らかにされた。その他に注目されたのは 15A 型である。このタイプは最初 Sweden 由来の ST63 の感性株として報告されているが、その後フランスにおいて軽度耐性と報告された。そして ST63 と同じ Clonal Complex

である ST8354 は日本で初めて見出された株で、しかも PRSP であった。つまり、日本で増加してきた 15A 型の g PRSP は、日本に伝播する過程、あるいは日本において PISP さらに耐性を獲得して PRSP へと変化した可能性が強く示唆された。

5) 小児における IPD と PCV7 の接種状況

図-5 には、2012 年度に肺炎球菌が分離された小児 IPD 例の患者年齢とワクチンの接種状況の関係を示す。★印で示したのは、原因菌が PCV7 ワクチンタイプであった場合を示す。ワクチンタイプで IPD を惹起した症例は 22 例(17.1%)あったが、それらの例のほとんどはワクチン接種歴がなかった。

D. 考 察

生後 3 ヶ月以降の乳幼児における小児化膿性髄膜炎の原因菌として、肺炎球菌による例は 30%前後を占め、致命率や予後不良例が多いことから最も重要な疾患であった。特に重篤な予後不良例については生涯にわたって援助が必要となり、医療経済上の点でも問題であった。

このため、世界の多くの国において PCV7 が定期接種化されたが、わが国においては H22 年(2010 年)末に施行された「ワクチン接種緊急促進補助金事業」によって、小児の Hib と PCV7 接種への公的助成が始まり、その接種率が急速に高まった。ワクチン出荷本数から推測される PCV7 の推定接種率は、全国平均で 2011 年が 50-60%、2012 年には 80% を超えてきている。

結果に示したように、小児の発症例は半減し明らかなワクチン効果が得られているが、その反面、肺炎球菌では莢膜型が 93 種類と多いために、非ワクチンタイプによる IPD が増加するという現象が生じている。米国等でもこのために PCV7 から PCV13 へ切り替わったのであるが、今後わが国において

PCV13、あるいは PCV10 へ切り替わったとしてもその臨床的有用性は限定的なように思われた。

このような事実を正確に把握し、今後、ワクチン接種を行なう際にワクチン接種をしても IPD を完全に防ぐことができるものではないことを広く認識させる必要がある。

成人に対する PPV23 の接種については、特に肝・腎障害、糖尿病をリスクファクターとして持つ 65 歳以上には強力に勧める必要があると思われる。

E. 結 論

市中で発症する化膿性髄膜炎を含む侵襲性感染症の原因菌として最も重要な肺炎球菌の IPD について菌株収集と発症例の解析を行い、ワクチン接種による発症予防の効果とその限界について明らかにした。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Chiba N, Morozumi M, **Ubukata K**: Application of the Real-Time PCR Method for Genotypic Identification of β -Lactam Resistance in Isolates from Invasive Pneumococcal Diseases. *Microbial Drug Resist.*, **2012**; 18:149-156.
- 2) **Ubukata K**, Chiba N, Morozumi M, Iwata S, Sunakawa K, The Working Group of Nationwide Surveillance for Bacterial Meningitis: Longitudinal surveillance of *Haemophilus influenzae* isolates from pediatric patients with meningitis throughout Japan, 2000-2011. *J Infect Chemother.* **2012**; DOI 10.1007/s10156-012-0448-x.
- 3) Morozumi M, Chiba N, Okada T, Sakata H, Matsubara K, Iwata S, **Ubukata K**: Antibiotic susceptibility in relation to genotype of *Streptococcus pneumoniae*,

Haemophilus influenzae, and *Mycoplasma pneumoniae* responsible for community-acquired pneumonia in children. J Infect Chemother., 2012. DOI 10.1007/s10156-012-0500-x.

- 4) Okada T, Morozumi M, Sakata H, Takayanagi R, Ishiwada N, Sato Y, Oishi T, Tajima T, Haruta T, Kawamura N, Ouchi K, Matsubara K, Chiba N, Takahashi T, Iwata S, **Ubukata K**: A practical approach estimating etiologic agents using real-time PCR in pediatric inpatients with community-acquired pneumonia. J Infect Chemother., **2012**; 18: 832-840.
- 5) Chiba N, Morozumi M, Shouji M, Wajima T, Iwata S, Sunakawa K, **Ubukata K**, and the Invasive Pneumococcal Diseases Surveillance Study Group. Rapid Decrease of 7-Valent Conjugate Vaccine Coverage for Invasive Pneumococcal Diseases in Pediatric Patients in Japan. Microb Drug Resist., 2013, March 12, [Epub ahead of print]
- 6) 千葉菜穂子, 諸角美由紀, 生方公子: β -ラクタム系薬耐性肺炎球菌およびインフルエンザ菌に対する経口抗菌薬作用後の形態変化。The Japanese Journal of Antibiotics 2012 ; 65 : 323-34.
- 7) 千葉菜穂子, 生方公子. 肺炎球菌とインフルエンザ菌. 臨床と微生物. 2012

2. 学会発表

- 1) Ubukata K, Chiba N, Morozumi M, Sakata H, Iwata S. Rapid Decreasing of 7-valent Conjugate Vaccine Coverage for Invasive Pneumococcal Diseases (IPD) in pediatric

patients in Japan. 52nd Interscience Conference on. Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), September 9-12, 2012, San Francisco.

- 2) Chiba N, Shouji M, Morozumi M, Ubukata K. Relationship between Genetic beta-lactam Resistance and Capsular Type or Clonal Complex of Isolates from Invasive Pneumococcal Disease in Japan. 52nd Interscience Conference on. Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), September 9-12, 2012, San Francisco.
- 3) 千葉菜穂子, 荘司 路, 諸角美由紀, 生方公子. 侵襲性感染症由来肺炎球菌の分子疫学解析: 2010 年度の成績. 日本感染症学会, 2012.04.25(長崎).
- 4) 千葉菜穂子, 諸角美由紀, 輪島丈明, 生方公子: 肺炎球菌 7 価結合型ワクチン(PCV7)接種の普及に伴う莢膜型の変化. ワクチン学会, 2012.11.15(横浜)
- 5) 生方公子. 細菌における抗菌薬耐性化のメカニズムとその対策 - 市中型重症感染症の原因菌 -. 第 52 回日本呼吸器学会学術講演会(教育講演), 2012.04.22 (神戸).
- 6) 生方公子. 市中で発症する細菌性髄膜炎に対する迅速診断システムの構築. シンポジウム, 第 17 回日本神経感染症学会, 2012.10.20(京都)
- 7) 生方公子. 小児細菌性髄膜炎に関する Overview. 第 44 回日本小児感染症学会 2012.11.24(福岡)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

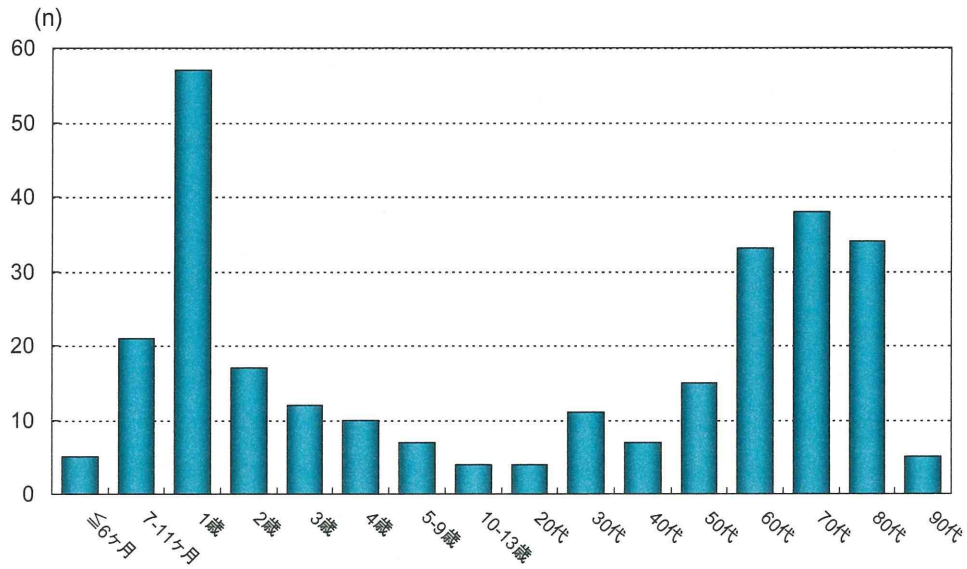


図-1 症例の年齢分布

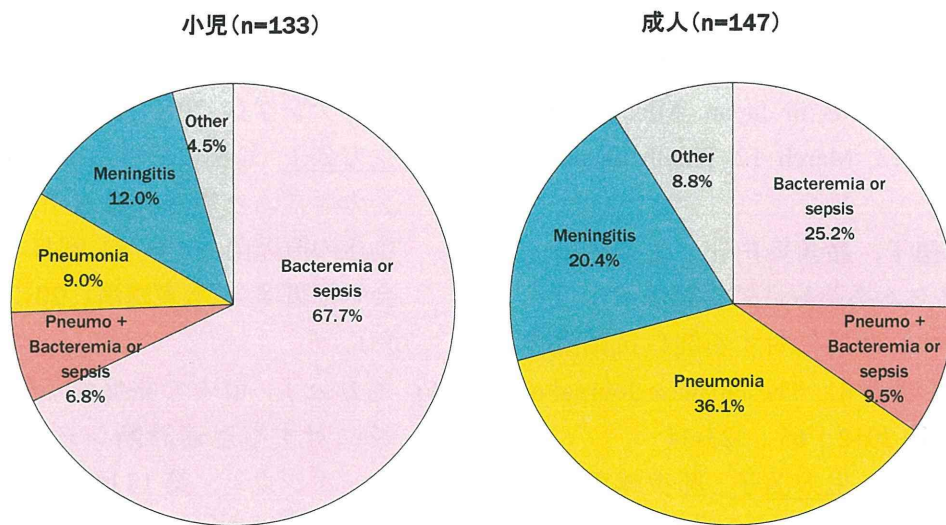


図-2 疾患の内訳

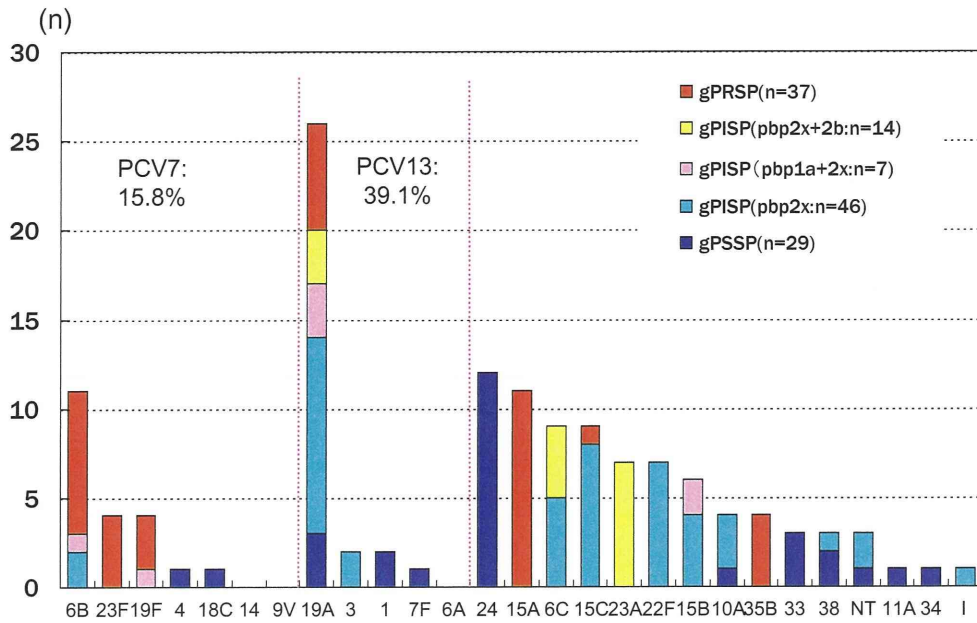


図-3 小児：耐性遺伝子と莢膜型の関係 (n=133)

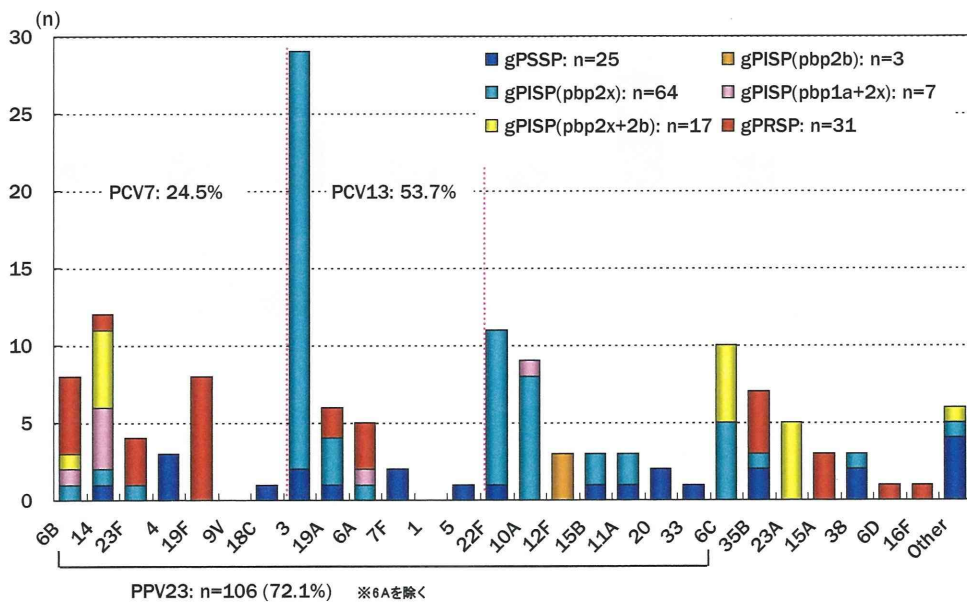


図-4 成人：耐性遺伝子と莢膜型の関係 (n=147)