

201225013B (CD-R 1枚有)

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22年度～24年度 総合研究報告書

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(総合)報告書

1. 3年間に全国規模で収集した侵襲性肺炎球菌感染症由来株の分子疫学解析: ワクチン接種の基盤となる莢膜型の変化, MLST 解析, 薬剤耐性化状況	33
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	49
生方 公子, 輪島 丈明, 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 3 年間の分離株の莢膜型の変化と薬剤耐性化状況	58
岩田 敏, 諸角美由紀, 他	
4. 北海道における小児の侵襲性連鎖球菌・肺炎球菌感染症の実態調査	70
坂田 宏	
5. 成人における侵襲性レンサ球菌・肺炎球菌感染症例における病態解析と 最適治療法の確立	77
高橋 孝, 他	
6. 北タイにおけるヒト <i>Streptococcus suis</i> serotype 2 感染症の臨床細菌学的研究	89
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	98
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	103
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る 病原因子の解析	110
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 121
秋山 徹

11. 参加施設一覧 125
生方 公子

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表 135
(研究論文は CD 化 p143～p526)

総合研究報告書

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

研究代表者 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

急速な少子・高齢化社会に直面しているわが国においては、医療制度変化とともに市中発症型の重症感染症が変貌しつつあり、特に呼吸器系感染症の原因菌として重要な肺炎球菌ならびに β 溶血性レンサ球菌による重症型の侵襲性感染症が増加している。本研究班は、これら感染症の社会的重要性に着目し、基礎系と臨床系研究者とが連携して3ヵ年計画で研究を行い、その成果を医療行政へ反映させることを目的に企画・組織化され、以下のような成果を得た。小児に対する肺炎球菌7価結合型ワクチン(PCV7)の定期接種化へ向けて貢献できたことは特筆すべきことである。

本研究事業の代表者(生方)は、自ら全国規模の疫学研究の収集・解析事務局を務め、収集株を解析した。また、基礎系と臨床系分担者から得られた研究成果を総括するとともに、医療関係者に対する啓発活動のための冊子作成や関連学会においてシンポジウムを開催した。

1. 分子疫学研究：細菌検査室を有するサーベイランス参加医療機関は341施設で、3年間に3,020株が収集された。半数は肺炎球菌、残りがC、G群溶血性レンサ球菌(SDSE)、B群溶血性レンサ球菌(GBS)、そしてA群溶血性レンサ球菌(GAS)であった。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と関連するリスクファクター解析を行なった。

1) 肺炎球菌：2010年末から施行された「ワクチン接種緊急促進事業」に伴う肺炎球菌の変化を明らかにすることができた。小児の重症肺炎球菌感染症に対するPCV7のカバー率は、2010年度の71.8%→2011年度の50%→2012年度の20%と激減し、菌が急速に変化していた。これに伴い、PCV7による重症感染症の抑制率は導入前の半数に留まった。成人由来株は小児とは異なる莢膜型が多いが、小児における莢膜型の変化が成人にも影響していることが統計学的に明らかにされた。新たに優位となった莢膜型株は、国外から持ち込まれたものであることが分子疫学解析から推測された。

2) β 溶血性レンサ球菌：GASとSDSEは、多くの病原因子が共通して存在していることを明らかにした。疫学解析では、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*stG6792*型が優位であることを明らかにした。GBSでは、新生児では莢膜III型の割合が高いのに対し、高齢者ではマクロライドやニューキノロン薬に耐性を示す病原性の低い株が優位であった。特に妊婦に対するGBS予防検査のみでは新生児GBS感染症は予防できず、あらたな検索手法が必要であることを明らかにした。

3) 成人感染症における予後関連因子解析：これら4菌種による成人例は、死亡や後遺症を残す例の割合が極めて高い(死亡+後遺症(+))が30%~15%)ことから、宿主の予後に関連するリスクファクターを明らかにするため、入院時の患者背景因子と血液検査値を用いて統計解析を行なった。その結果、高齢であることや男性であること基礎疾患を有していることに加え、入院時に腎機能や肝機能が明らかに低下している例は予後が極めて不良であることが明らかにされた。これらの有意差項目のオッズ比から、予後を推測するためのスコアリングモデルを提案した。

2. **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* 遺伝子解析が行われた。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。
3. **啓発活動**：研究期間中において、1 年ごとに新たなデータを収載した「速報」の作成と配布、ならびに日本臨床微生物学会と共同開催によるシンポジウム、日本細菌学会のシンポジウムでの発表等を行った。
臨床において今まで認識が薄かった β 溶血性レンサ球菌感染症に対する認知度の上昇、肺炎球菌においてはワクチンに対する認識が格段に向上したと判断される。
4. **ゲノム解析と疫学解析からみた今後の課題**：小児に対する PCV7 ワクチンの定期接種化により、肺炎球菌による化膿性髄膜炎などの重症感染症がなくなると考えている医療関係者は意外に多い。しかし、どのような細菌についても共通することであるが、ヒトの感染防御機構を巧みに回避し生き延びる(進化)ことができる。すなわち肺炎球菌や GBS においてはそれが莢膜であり、莢膜のエピトープ部分を変化させてヒトの白血球による貪食を免れることができる。つまり、ワクチンはある一定の効果をあげることは可能であるが、万能ではない。GAS や SDSE においては、ヒト生体内へ侵入すると病原性発揮に関わる産生物を極めて効率的に増産し、時間単位で劇症型に至らしめる。このような疾患においては、抗菌薬は無効なことが多く、感染を惹起させないことが基本である。そのためには易感染者をいかに減少させるかが基本であり、臨床科を超えた横断的取り組みとして「**予防的先制医療の重要性を社会に浸透させていく**」ことが必要と結論される。

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(疫学)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(背景)

わが国においては 2000 年代以降、i) **急速な少子高齢化社会**を迎え、市中で発症する感染症も明らかに変貌しつつある。その中でも、呼吸器系感染症の主要な細菌である β 溶血性レンサ球菌、すなわち A 群溶血性レンサ球菌 (GAS)、B 群溶血性レンサ球菌 (GBS)、C、G 群溶血性レンサ球菌 (SDSE)、そして肺炎球菌などによる侵襲性の重症感染症が増加している。この背景には、豊かな社会によってもたらされた生活習慣病を始めとする基礎疾患保持例の急速な増加、医療技術の進歩に伴い相対的に易感染状態にあ

る人口増、それらの人々の閉鎖的医療環境下以外での日常生活(介護関連施設や自宅介護等)の問題がある。

加えて、経済のグローバル化に伴うヒトの多極化移動、そして iii) 使用抗菌薬も変化し、耐性菌が増加しているといった背景がある。

しかし、わが国においては i) これら重要な細菌による侵襲性感染症の実態が正確に把握されていない、ii) 全国規模での原因菌株の正確な疫学解析がなされていない、iii) 予後不良例における宿主側因子の解析がなされていない、iv) 近年症例が増加している SDSE の病態と菌の病原性が明らかになっていない、v) 欧米の成績と比較がなされていない 等の問題がみられた。

本研究班は、これらの感染症に注目し、**基礎と臨床とが連携して図-1 に示す項目を 3 ヶ年計画で研究し、医療行政へ寄与することを目的**とした。

すなわち、1) 全国規模で該当菌株を収集し、分子疫学解析と宿主側要因解析を行なう。2) 診断と発症予防のために迅速検索法を確立する。3) 基礎疾患、予後、治療薬との関係から適切な治療法を確立する。4) 病態解析と重症化機構の解明のための動物モデルの作成。5) 病原性を明らかにするためのレンサ球菌のゲノム解析。6) 啓発活動のための Web サイトの構築ならびに冊子作成と配布、共催シンポジウム開催である。

なお、研究期間中の 2010 年末、「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と略」が施行され、小児対する「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が、本研究班はこれらの要因変化も踏まえて、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株を全国規模で収集し、その分子疫学解析を行うこととした。

B. 研究方法

1. 菌株の収集

本研究班は上記に記した目的を達成するため、日本臨床微生物学会に所属する学会員(細菌検査技師)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 3 年間にわたって収集した。これらの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。**収集にあたっては、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実行された。**最終的には全国 341 医療機関に所属する細菌(微生物)検査担当の検査技師の方々の協力を得た。

2010 年(H22 年 4 月)から H25 年 3 月までの約 3 年間に、**図-2**に示すように肺炎球菌は 1,296 株、ii) GAS:347 株、iii) GBS:565 株、iv) SDSE:734 株、v) その他の溶血性レンサ球菌:79 株、**合計 3,020 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。これらの収集菌株数、ならびに全国の細菌検査室を有する医療機関の 1/4 が協力機関であったことから、わが国の当該感染症発生の 1/4 に相当する菌株と症例情報が収集されたものと推定した。

2. 患者背景因子に関する調査

菌株の分与を受ける際、該当例の背景因子、入院時の血液検査所見、入院後の治療と予後に関して、各症例への連結不能としたアンケート用紙(患者氏名や ID の記載欄なし)への記入を依頼した。

3. 被験菌株の解析

1) **肺炎球菌**：①抗血清を用いた莢膜型別(Stetens Institute Denmark)、②薬剤耐性遺伝子解析、③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。菌株

の送付を受けたそれぞれの医療機関へは、到着後に実施した図-3 に示す解析結果を直ちに回答した。これらの迅速検索法は当研究において構築された。

- 2) **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①emm 遺伝子解析と、②MLST 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③抗菌薬感受性についても遺伝子レベルで解析した。
- 3) **GBS**：病原因子のひとつである①莢膜の型別と②MLST 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、サイトカインの産生状況が調べられた。また、SDSE 株については、ヒト由来株 2 株とブタ由来株についてゲノム解析を行った。

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 年に当該研究事業の Web サイト (<http://strep.umin.jp/>) を構築し、研究事業の成績を公開した。さらに H23 年、H24 年と 2 回にわたり更新した。感染症領域関連学会の日本感染症学会、日本臨床微生物学会、日本化学療法学会のサイトから直接閲覧できるように構築した。また、関連学会と共催シンポジウムを企画した。

(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。仮に個人情報が入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

I. 菌の疫学解析と宿主リスクファクター解析(生方、岩田、坂田、藤島、高橋)

1) 肺炎球菌

- i) 疾患の内訳：全国 344 医療機関の協力により、2010 年 4 月から 2013 年 3 月にかけて分離された市中発症の侵襲性感染症 (IPD) 由来の肺炎球菌は合計 1296 株が収集された。解析が終了した 1,170 株の IPD 例についてその疾患の内訳と年齢分布との関係を図-4 に示す。

小児では 1 歳までの症例が 65% を占め、疾患としては敗血症・菌血症が最も多く、次いで化膿性髄膜炎であった。他方成人では血液培養から菌が分離されるような重症肺炎が 60 歳以上で多く、ついで敗血症と化膿性髄膜炎が多かった。60 歳以上例が 80% を占めていた。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。

- ii) 薬剤耐性： 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。

iii) 莢膜型：研究実施期間の1年目、すなわち2010年の年末には小児に対する公的助成がスタートしたが、本格的な助成が開始されたのは2011年からと推定される。**図-5**には2010年度(助成前とする)、2011年度(助成1年目：接種率50-60%と推定)、2012年度(助成2年目：接種率>80%と推定)に研究班に送付を受けた肺炎球菌のうち、小児由来株についてワクチンタイプ(VT)であったのか非ワクチンタイプ(NVT)であったのかに区別し、経年的な症例数を年齢ごとに示す。図からも明らかなように、助成前の2010年の症例数に比較し、2011年、2012年の症例数は半減している。特に3歳以下の発症例においてVTによる症例が統計学的に有意に減少し、明らかなワクチン接種効果が認められた。しかし、VTとNVTの関係をみるとVTは減少したものの明らかにNVTが増加していた。

PCV7は93種の莢膜タイプから病原性の強さや耐性菌の割合が高い7タイプ(4, 9V, 6B, 14, 18C, 19F, 23F)が選択されている。次の13価ワクチン(PCV13)にはさらに6タイプが追加されている。**図-6**にはPCV7、PCV13に含まれる莢膜型別の相対的増減率を助成前の2010年と比較している。VTは明らかに減少しているが、残念ながらNVTはすべて増加に転じている。今後PCV13が導入されたとしてもそのインパクトはPCV7ほどには得られない。

他方、成人の肺炎球菌性IPD例の起炎菌は小児とは異なる。**図-7**に示すように、ムコイドタイプの3型が最も多く、次に6B型、14型であった。また、小児に比して死亡率が21.7%、重篤な後遺症を残した例が8%、合計すると29%となった。23価ポリサッカライドワクチン(PPV23)による成人IPD感染症のカバー率は79%、

7価のそれは39%、13価は66%であった。統計学的解析では、小児に対するPCV7接種の影響で、成人においてもそれらの型による発症は有意に減少していることが示された。

なお、MLST解析により世界の菌株と比較すると、増加しているNVT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定された。

iv) 成人の予後と関連するリスクファクター解析：成人のIPD例においては予後不良例(死亡+後遺症を残した例)が30%近くに達していたことから、予後良好群と予後不良群に分け、入院時の患者背景因子と血液検査値について、解析した。単変量解析によって両群間で有意差があり、かつオッズ比(OR)が高かったのは、i) WBCが5,000cells/ μ L未満であること、ii) クレアチニンが1.5mg/dL以上の2項目であった。

その他に、iii) PLTが $12 \times 10^4/\mu$ L未満、iv) CRPが10mg/dL以上、v) ASTとALTが50IU/L以上、vi) BUNが22mg/dL以上、vii) LDHは245IU/L以上であることも予後不良と関連していた。疾患では化膿性髄膜炎が予後不良と関連していた。基礎疾患は80%近い発症例が保持していたため、両群間に有意差は認められなかった。

上述した解析項目で有意差がみられ、かつ検査値においては類似した検査項目を除き、どの項目(因子)が予後不良と最も関連しているのかについて多変量解析(ロジスティック回帰分析)を行った。その結果は**表-1**に示したが、予後不良と最も関連していたのはWBCが5,000cells/ μ L未満であることで、ORが6.6倍と高かった。入院時のWBCが5,000cells/ μ L未満であれば、それ以上の例に比べ6.6倍予後不良となる確率が高い計算となっ

た。次いで、疾患が髄膜炎であること、クレアチニン値が高いという 2 項目が OR 5.3 と 5.2 で関連していた。

その他の項目では、男性であること、AST 値が高いことも予後不良と関連していた。成人の IPD 例においては、i) WBC の低値、ii) 腎機能の低下、iii) 細菌性髄膜炎であると、予後は極めて不良となりやすいリスクファクターであると結論された。

II. β 溶血性レンサ球菌

1. β 溶血性レンサ球菌の収集株の内訳と疾患

図-8 には、侵襲性レンサ球菌感染症由来株についての菌種の内訳とそれら症例の年齢分布の関係を示す。GAS の平均発症年齢は 57 歳、SDSE のそれは 74 歳、GBS は 70 歳と発症年齢に明らかな違いが認められた。後述するように、この差は菌の病原性の強弱と、宿主リスクファクターの違いにあることが明らかにできた。

GBS 例は生後 3 ヶ月未満の新生児と高齢者の 2 峰性分布を示し、さらに新生児では生後 6 日以内の発症の早発型よりも 7 日以降に発生する遅発型が圧倒的に多かった。新生児 GBS 感染症を防ぐ目的で 33-37 週の妊婦に施行されている GBS 検査では、早産児の感染症は防ぎ得ないことが明らかにされた。

また、それぞれの菌種における疾患の内訳についてその成績を図-9 に示した。菌体表層に保持する M タンパクが病原性に関係している GAS と SDSE では、蜂窩織炎や壊死性筋膜炎あるいは化膿性疾患が多く認められた。特に SDSE では蜂窩織炎や化膿性関節炎、骨髄炎が全体の 45%を占めていた。それに対し、GAS では劇症型レンサ球菌感染症 (STSS) と壊死性筋膜炎が 20%も認められ、より重症度が高いことが示された。

一方、肺炎球菌と同様に病原性に莢膜 (10 種類存在) が関わる GBS では、化膿性疾患は

20%程度、最も多くを占めたのは敗血症の 50%、次いで化膿性髄膜炎であった。

これら 3 菌種による発症例の予後不良率や死亡に至る在院日数には明らかな差が認められた。すなわち、GAS での死亡率は 17.8%、後遺症残存例 10.3%、在院日数 1 日であったのに対し、SDSE では死亡 12.1%、後遺症 (+) 3.0%、在院日数 2-3 日、GBS においては死亡 9.7%、後遺症 (+) 4.5%、在院日数 7 日となっていた。

2. GAS と SDSE の疫学 (emm 型別)

2012 年 4 月から 2013 年 2 月末日までの間に収集された GAS 株と SDSE 株について、遺伝子解析された emm 型別の成績を図-10 と図-11 にそれぞれ示す。

GAS では emm1 型が依然として 34.4%と最も多く分離されていたが、近年 emm49 型が減少し、替わって emm89 型が有意に増加していることが示された。この増加は成人のみならず小児においても認められた。

SDSE は stG6792 型が 2006 年当時と同様に引き続き 28.8%と優位であったが、stG10 と stG2078 は減少傾向にあった。

3. GAS と SDSE における抗菌薬感受性変化

GAS ならびに SDSE 株には β ラクタム系薬耐性株は認められなかった。しかし、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 (図-12)。特に emm1 型株の 92.2%が菌体内に一度取り込まれた薬剤を異物として排出する mef(A) 遺伝子保持のマクロライド中等度耐性株であった。メチラーゼ活性を有し、マクロライド系薬に高度耐性を付与する erm(B) 遺伝子保持株は様々な emm 型の菌に認められた。キノロン系薬に対する耐性株は軽度耐性が 15.2%、2006 年当時比して耐性率に変化は認めなかった。

4. GAS における予後不良因子の統計的解析

予後不良例が多い GAS 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項目をデータ化し、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、それぞれの項目を単変量解析し両群間に有意差があるか否かを調べると同時に、両群を目的変数として多変量解析を行った。

患者背景因子では、表-2 に示すように、男性であること、65 歳以上であること、STSS や壊死性筋膜炎であること、基礎疾患として糖尿病や肝機能低下が予後不良と関連していた。

患者背景で有意差のみられた項目と血液検査値(すべて有意差あり)を含めて入院時に入手できる項目で多変量解析を行うと、図-13 に示したように、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ることが明らかにされた。多変量解析結果を元に、各 OR に重み付けを行い、予後推定のためのスコアリングモデルを作成した(図-13b)。この判別の中率は 85%と高い値であった。

5. GBS の疫学

図-14 には小児の GBS 感染症由来株の莢膜型と生後日数との関係を示す。妊婦に対して GBS 検査が施行されているためか、早発型は極めて少なく遅発型の 1/10 であったことが注目された。早発型においては Ia 型、III 型、Ib 型の順で多く 73.9%を占め、そのほとんどが敗血症と化膿性髄膜炎であった。遅発型においてはさらに特徴的で、III 型が

66%を占め、Ia 型と Ib 型を併せると実に 95%を占めていた。

一方、成人由来株の莢膜型は、図-15 に示すように Ib 型が全体の 30%を占め、次いで V 型であり、その他 Ia 型、III 型、VI 型、VIII 型など多彩であった。

成人由来株にはペニシリン耐性 GBS (PRGBS) が出現しているが、小児由来株には認められず、成人由来株でも 1%程度認められたのみであった。むしろ、成人の感染症に対して外来診療において繁用されているマクロライドやニューキノロン薬に対する耐性化が著しく進行していることが明らかにされた。ML 耐性遺伝子保持株は 21.6%、キノロン系薬耐性は 44.3%に達していた。Ib 型の大多数が *gyrA* 変異と *parC* 変異を有するニューキノロン系薬高度耐性菌であることが注目された。

成人の侵襲性 GBS 感染症例についても予後良好群(後遺症のない例)と予後不良群(死亡例)に分け、予後不良と関連する因子解析を行った。結果は表-3 に示す。GBS 例においては、i) 男性であること、ii) 65 歳以上であること、iii) 敗血症や肺炎例であることが予後不良と関連するリスクファクターであることが明らかにされた。基礎疾患については 90%の症例が何らかの基礎疾患を保持しており、GBS 感染を引き起こすトリガーにはなっているが、予後の良否を左右する因子にはなっていないという結果であった($P=0.584$)。

検査値でオッズ比が高かったのは BUN の 6.0 倍、次いで PLT の 4 倍、AST、クレアチニンの 3.6 倍であった。

6. 肺炎球菌ならびに溶血性レンサ球菌の予後不良因子に関するまとめ

表-4 には肺炎球菌、 β 溶血性レンサ球菌の 3 菌種による感染症について、成人のみを対象とした多変量解析の結果から得られた発症後の予後不良に関わる因子について、比

較のために一覧としてまとめた。参考のために上段にそれぞれの菌種における死亡率と後遺症率を示す。

4 菌種を比較すると、予後不良率が高いのは肺炎球菌＝GAS>>SDSE＝GBS となった。発症時においてそれぞれに特徴が認められ、特に、WBC が 4,000cells/ μ l 未満の場合には予後は不良であることが示されている。また、クレアチニンの高値、すなわち腎機能の低下は予後不良に直結していることが明らかにされた。判別的中率はいずれも 90%前後であった。

Ⅲ. 救急・総合診療分野における劇症型レンサ球菌・肺炎球菌感染症の病態解析とその治療法に関する研究(藤島)

重症肺炎球菌・レンサ球菌感染症を含む重症敗血症のわが国における臨床像を明らかにし、その対策を見いだすことを研究の目的とした。

- (1) 日本救急医学会 UMIN 敗血症登録システムを用いて全国の救急専門施設 (n=39) から重症敗血症患者症例登録を行い、1,104 例の集積データの解析を行った。
- (2) 災害医療センターと共同で成人肺炎球菌・レンサ球菌感染症の後ろ向き調査を行った。

日本救急医学会主導で集積した重症敗血症症例を解析した結果、死亡率は 29.3%、菌種別では SDSE で 62.5%と高かった。(2) 災害医療センターと共同で肺炎球菌感染症の後ろ向き調査を行い、侵襲性肺炎球菌感染症の存在、および呼吸器、凝固系の臓器機能不全が有意な予後規定因子と判明した。わが国の救急専門施設における重症敗血症の診療レベルは国際水準以上であるものの、ガイドライン遵守率のさらなる向上の余地が認められた。また SDSE 感染症や肺炎球菌感染症の一部で死亡率が高く、その予防と早期診断及び治療法

の早急な確立が必要と結論された。

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

Streptococcus suis は人獣共通感染菌である。本菌は通常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。わが国でも飲食業者あるいは養豚業者において散発的に発症例が認められる。

近年、東南アジア諸国において報告症例数が増加している。大石らはタイ国内の *S. suis* 感染症に対する後方視的調査から、本症の臨床・細菌学的実態を明らかにし、さらに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を目的とした。

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一症例、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感染症実態を明らかにするための前向き全例疫学調査が行われたが、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実施した。その結果、2011年、2012年と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。

人獣感染症を惹起する菌に対しては、日

本においても食の安全に対する啓発活動が重要で、タイ国での研究は今後の参考になると結論された。

V. 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、その病態における宿主側因子の役割を探索する目的で、当該感染症患者の血清と劇症型感染マウスモデルの血清の炎症性マーカーの挙動を検索した。その結果、インターフェロン γ (IFN- γ) およびインターロイキン6 (IL-6) が高い濃度で認められ、これらのサイトカインが病態あるいは予後に関わる可能性のあることが示唆された。動物モデルにおいて認められるこの早期のIFN- γ 産生が、従来考えられてきたレンサ球菌スーパー抗原で活性化されたT細胞から産生されるのではなく、新規に見いだされた骨髄系細胞から生じることを明らかにした。また、この細胞群は劇症型感染に対して防御的に働くことが判明した。以上の結果から、重篤な劇症型レンサ球菌感染で産生される宿主防御に係るサイトカインとその産生細胞が明らかとなり、今後、詳細に解析することにより診断および治療に対する応用が期待される。

VI. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の細菌学および重症化に係る病原因子の解析(池辺)

劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者からの分離株においては、発現制御因子である *csrS/csrR* 遺伝子、あるいは、*rgg* 遺伝子に特異的に変異のあることを見いだした。本研究では、この *csrS/csrR* 遺伝子と *rgg* 遺伝子の変異が病原性にどのような影響を与えているかを比較するため、咽頭炎由来株の *csrS* 遺伝子および *rgg* 遺伝子の変異株を作製し、i) マウスに対する致死性、ii) 病原性遺伝子の発現について調べた。その結果、*csrS* 遺伝子変

異株は *rgg* 遺伝子変異株よりも多くの病原性遺伝子の発現を上昇させ、マウスに対する致死性も強いことが明らかにされた。次に、*csrR/csrS* 遺伝子や *rgg* 遺伝子以外に、どのような遺伝子に変異があるか調べるため、ムコイドコロニーに注目して、新たな変異遺伝子を見いだすこととした。その結果、転写制御因子である *rocA* 遺伝子や *spy0218* 遺伝子に変異があるものを見いだした。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。

VII. 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。研究分担ではこれまでに i) 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、ii) 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、iii) 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、iv) 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た。最終年度においては、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のそれと比較した。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にされた。これらの結果は、糖尿病保持例における

SDSE 感染時の劇症化に至る過程について、宿主側の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た。

VIII. ゲノム解析

Streptococcus dysgalactiae subsp. *equisimilis* (SDSE)は、人獣に共通して分離されるレンサ球菌で、従来 G,あるいは C 群溶血性レンサ球菌(GGS, GCS)と呼称され、ヒトに対する病原性は低いとみなされて問題視されてこなかった菌種である。しかし、2000 年以降、GAS と同様に重篤な侵襲性感染症を引き起こすことが 1 期目の当該研究班によって明らかにされた。特に基礎疾患を有する壮年期から高齢者に侵襲性レンサ球菌症を惹起することが認識されるようになった。このため、既に GAS や GBS では病原因子解析やワクチン開発を目指してゲノム解析がなされてきたが、SDSE については分担研究者の秋山らのグループが(Shimomura *et al*)が世界に先駆けて行ったのが最初である。生方ならびに共同研究者の村山は、ヒトに病原性を発揮する溶血性レンサ球菌が、その病原性因子を獲得してきた進化の過程を明らかにする目的で、ヒト由来の SDSE(RE378 株)、およびブタ由来(L1 株)株の全ゲノムの詳細な解析を行った。

SDSE は GAS が保持する多くの病原遺伝子を保持しているのみでなく、全ゲノム塩基配列から得られたオルソログ遺伝子の相同性でも 72~81%と GAS との相同性が極めて高かった。また全 CDS のアミノ酸配列を並べた解析でも、L1 株は GAS と SDSE の共通祖先にヒト由来 SDSE より近かった。Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat の解析から、ヒト由来株はブタ由来株よりファージなどの外来遺伝子の獲得が多かったと推測される。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ファージを介して遺伝子の水平伝播を生じ、今日の

GAS に近い SDSE が形成されたというわれわれの仮説を確認する結果を得た(表-5, 図-16, 図-17)。

IX. 啓発活動

当該研究事業で得られた研究成果を広く公開するため、3 年間に以下のことを実行した。

1. Web サイト(<http://strep.umin.jp/>)の構築(図-18)

- 2010 年 9 月 29 日：ホームページを公開。
- 2010 年 11 月 10 日：最新疫学情報「2010 年度(10 月)・肺炎球菌疫学情報」を掲載。
- 2011 年 10 月 26 日：「肺炎球菌 2011 年度版」へアップデート。
- 2011 年 11 月 16 日：「 β 溶血性レンサ球菌 2011 年度版」へアップデート。
- 2011 年 11 月 24 日：「小児におけるマクロライド系薬耐性マイコプラズマの大流行」を掲載。
- 2013 年 1 月 28 日：「速報(平成 24 年度・疫学解析)」を掲載。

補)3 年間に収集された 3020 株の正確な分子疫学成績(2010 年 4 月~2013 年 3 月末日)を 2013 年 7 月を目途に Web サイトに公開する予定。

2. 第 23 回日本臨床微生物学会と共同シンポジウム開催(図-19)

開催日：

2012 年(H24)1 月 21 日 (於 パシフィコ横浜)

シンポジウム名：

急速な高齢化社会の到来と国際化に伴い変貌する市中型重症感染症

—肺炎球菌と β 溶血性レンサ球菌—

演者名：

千葉菜穂子(研究協力者、北里大学北里生命科学研究所)(肺炎球菌の分子疫学)

荘司 路(研究協力者, 国立がん研究センター)(肺炎球菌の薬剤耐性と世界との比較)

坂田 宏(研究分担者, 旭川厚生病院)(肺炎球菌による重症感染症)

村山 琮明(研究協力者, 北里大学北里生命科学研究所)(ゲノム解析に基づくレンサ球菌の病原性)

砂押 克彦(研究協力者, 埼玉衛生研究所)(GBS の分子疫学的特徴)

杉田香代子(研究協力者, 慶應義塾大学付属病院)(GAS とSDSE の分子疫学的特徴)

田島 剛(研究協力者, (財)博慈会記念総合病院)(重症感染症の特徴と治療)

3. 啓発活動のための冊子作成

- 1) 2011 年(H23) 5 月:「速報」作成, 2000 部配布(図-20)
- 2) 2012 年(H24) 1 月:「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」 2500 部配布(図-21)
- 3) 2013 年(H25) 1 月:「速報」作成, 2000 部配布(図-22)

D. 総括的結論 および E. 考察

3 ヶ年にわたる初期研究計画はほぼ達成できたが, その中から以下のようなことを強調しておきたい。

1. 疫学解析の在り方について

わが国における呼吸器系感染症の主たる起炎菌である肺炎球菌について, ワクチンの標的である菌の莢膜型を年間 500 株について解析できたことは, 今後のワクチン行政に大いに貢献できたものとする。ワクチンの標的である菌は, 日本国内のみの解析をすれば事足りるわけではなく, 常にワクチン

接種が先行している欧米の動向と比較しながら解析をする必要があると判断される。このように長年にわたって菌株収集が可能であったのは, 疫学解析の重要性を認識し, 積極的に協力をしてくれた全国 341 医療機関に所属する細菌検査室の方々のお陰である。

精度の高い, しかも世界に通用する分子レベルの解析を持続的に行なうには, 菌を分離する細菌検査室と直接コンタクトの取れる研究機関, そして検査室にも何がしかの役に立つように解析結果をタイムリーに返却する私どものような組織が必要であろう。そうでない限り, サーベイランスの精度は保てない。特に, 人体の血液などを対象とするものでは外界から侵入した細菌等に関する疫学データ収集のためのサーベイランスには, 匿名化された方法であることを条件に, 発症時の患者背景因子も解析できるサーベイランスができることが必要であろう。そうでない限り, わが国のサーベイランスは質と量において世界に見劣りすることは否めない。

2. 重症感染症の発症予防への提言

重症感染症例の予後不良と関連する因子解析から明らかになったことは, 市中における重症感染症はわが国の人口動態を色濃く反映していることである。65 歳以上が 3000 万人を越えた現状においては, それらの年齢層の多くが何らかの基礎疾患を抱えており, そのこと自体が感染症のリスクファクターである。特に高齢者においては, 感染症は治癒したとしても派生する歩行障害等, 介護が必要になっている。

このような感染症のコントロールにはリスク要因をできるだけ排除することが重要であり, 先制医療として専門領域を超えた横断的な啓発活動が急務である。医療費軽減のためにはこれらに関連する大局的見地からの政策が期待される。

3. 発症例の治療

入院に至る肺炎球菌ならびに溶血性レンサ球菌の重症感染症例にはいくつかの有効な薬剤があり、特に欧米では制限されているカルバペネム系薬に優れた薬剤が存在しているという恵まれた環境にある。しかし、いかに優れた抗菌薬であっても、タイムリーな入院でない限り治癒せしめえないことが予後解析で明らかにされた。発症予防に重点をおくべきというのはまさにこの点にある。

しかし、発症例の治療には使わない経口抗菌薬、特にマクロライド系薬やニューキノロン系薬の使用が、それらに対する耐性菌を選択し、気道に残存させることも症例増加の一因になっている。経口抗菌薬の見直しも必要である。

4. 病原因子とゲノム解析からみた抗菌薬使用のあり方

従来病原性がほとんどないといわれていた溶血性レンサ球菌であっても、ヒト生体内において遺伝子組み換えが生じてあらたな病原性を獲得していくこと、しかも生体内で病原性に関わる産生物が多量に産生できるように遺伝子を変異させて進化してきていることを明らかにした。インフルエンザウイルスのみならず、細菌においてもヒトという環境に適応できるように進化しているというのが結論である (Evolution of bacteria to adapt to human environment)。

このような現実をみると、これ以上耐性化を進行させないためには、現状の抗菌薬の使い方はあまりにも長すぎ、投与量や投与期間を厳密に規定できるデータを再度検討すべきである。

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.*, DOI:10.1089/mdr.2012.0180. **2013**
- 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.*, 18:149-156. **2012**
- 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.*, 19:34-41. **2013**
- 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.*, DOI 10.1007/s10156-012-0500-x. **2012**
- 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.*, 18: 832-840. **2012**
- 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.* DOI 10.1007/s10156-012-0521-5. **2012**
 - 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. *PLOS ONE*, (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* 65:323-34. **2012**
 - 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*. 39: 530-536. **2012**
 - 12) 輪島文明, 砂押克彦, **生方公子**. β 溶血性レンサ球菌. *臨床と微生物*. 39: 523-529. **2012**
 - 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わる莢膜型の関係-. *小児科臨床*. 64: 2459-2466. **2012**
 - 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*. 28: 66-73. **2012**
 - 15) Okada T, Morozumi M, Matsubara K, Komiyama O, **Ubukata K**, Takahashi T, and Iwata S. Characteristic findings of pediatric inpatients with pandemic (H1N1) 2009 virus infection among severe and nonsevere illnesses. *J Infect Chemother.* **17**: 238-245, **2011**
 - 16) Sakai F, Chiba N, Ono A, Yamagata Murayama S, **Ubukata K**, Sunakawa K, and Takahashi T. Molecular epidemiologic characteristics of *Streptococcus pneumoniae* isolates from children with meningitis in Japan from 2007 through 2009. *J Infect Chemother*, **17**: 334-340, **2011**
 - 17) Kishii K, Morozumi M, Chiba N, Ono A, and **Ubukata K**. Direct detection by real-time PCR of *ftsI* gene mutations affecting MICs of β -lactam agents for *Haemophilus influenzae* isolates from meningitis. *J Infect Chemother.* **17**: 671-677, **2011**
 - 18) Yoshida H, Matsui H, Murayama SY, Takada Y, Matsuo K, Takahashi T, Nakamura M, **Ubukata K**, and Takahashi T. A CD46 transgenic mouse model for studying the histopathology of arthritis caused by subcutaneous infection with *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis*. *J Med Microbiol.* **60**: 1860-1968, **2011**

- 19) Rakov AV, **Ubukata K.** and Ashley Robinson D. Population structure of hyperinvasive serotype 12F, clonal complex 218 *Streptococcus pneumoniae* revealed by multilocus boxB sequence typing. Infect Genet Evol. 11: 1929-1939, **2011**
- 20) 津村直幹, 長井健祐, 日高秀信, 大津寧, 田中悠平, 池澤 滋, 本間真一, 進藤静生, **生方公子**: 小児急性A群 β 溶血性レンサ球菌性咽頭・扁桃炎に対する抗菌薬療法: cefditoren pivoxil 5日間投与と amoxicillin 10日間投与の臨床効果, 細菌学的効果, 口腔内常在菌叢への影響の比較検討. J J Antibiot. 64:179-190, **2011**
- 21) 千葉菜穂子, **生方公子**: わが国における侵襲性肺炎球菌感染症の実態とその予防としての肺炎球菌ワクチン. 日化療会誌(総説), 59: 561-572, **2011**
- 22) 千葉菜穂子, **生方公子**: 耐性肺炎球菌感染症. 呼吸器内科, 20: 480-485, **2011**
- 23) **生方公子**: 侵襲性ならびに呼吸器系感染症の原因微生物検索ー網羅的検索法へのパラダイムシフトー. 小児感染免疫, 23: 257-263, **2011**
- 24) Kishii K, Chiba N, Morozumi M, Hamano-Hasegawa K, Kurokawa I, Masaki J, and **Ubukata K.** Diverse mutations in the *ftsI* gene in ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* isolates from pediatric patients with acute otitis media. J Infect Chemother. **16**: 87-93, **2010**
- 25) Kishii K, Chiba N, Morozumi M, Ono A, Ida T, and **Ubukata K.** In vitro activity of tebipenem, a new oral carbapenem antibiotic, against beta-lactamase-nonproducing, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. Antimicrob Agents Chemother. **54**:3970-3, **2010**
- 26) 千葉菜穂子, **生方公子**: 多剤耐性肺炎球菌. 臨床検査, **54**: 489-495, **2010**
- 27) 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**
- 28) Yamaoka S, Ogihara T, Yasui M, Hasegawa M, Hira S, Oue S, **Ubukata K.** Watanabe H, and Takahashi T. Neonatal Streptococcal Toxic Shock Syndrome Caused by *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. The Pediatric Infectious Disease Journal. **29**: 979-981, **2010**
- 28) 諸角美由紀, **生方公子**: 網羅的迅速診断法, up to date *****
- 29) Takahashi T, **Ubukata K.** and Watanabe H. Invasive infection caused by *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*: characteristics of strains and clinical features. J Infect Chemother. 17: 1-10. **2011** (Review)
- 30) **生方公子**: 侵襲性 β 溶血性レンサ球菌感染症ー患者背景と分離菌の分子疫学的特徴ー. 感染症(総説), **2010**
- 31) 川口 亮, 松尾啓左, **生方公子**: 血液培養から分離されたフルオロキノロン高度耐性のムコイド型 *Streptococcus pyogenes* の耐性遺伝子解析. 日本臨床微生物学雑誌, 20: 138-142, **2010**
- 32) 岸井 ずゑ, **生方公子**: 細菌の薬剤耐性獲得機序ーPRSP・BLNARを中心にー. JOHNS, 27: 23-26, **2011**
- 33) Matsui H, Sekiya Y, Takahashi T, Nakamura M, Imanishi K, Yoshida H, Murayama SY, Takahashi T, Tsuchimoto K, Uchiyama T, and **Ubukata K.** Dermal mast cells reduce progressive tissue necrosis caused by subcutaneous infection with *Streptococcus pyogenes* in mice. J Med Microbiol. 60: 128-134, **2011**

- 34) Shimomura Y, Okumura K, Murayama SY, Yagi J, **Ubukata K**, Kirikae T, and Miyoshi-Akiyama T. Complete genome sequencing and analysis of a Lancefield group G *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* strain causing streptococcal toxic shock syndrome (STSS). BMC Genomics. 12: 17, **2011**

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)
- 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) 輪島丈明, 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) 輪島丈明, **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)
 - 15) 生方公子. 急速な高齢化社会の到来. 変貌する市中型呼吸器系感染症. 第51回日本呼吸器学会(東京), 2011.04.22(ランチョンセミナー)
 - 16) 桑田祐輔, 千葉菜穂子, 岸井こずゑ, 諸角美由紀, 村山琮明, 生方公子. 侵襲性感染症由来 *Streptococcus agalactiae* (GBS) の分子疫学解析: 莢膜型とMLST解析からみる菌の多様化. 第85回日本感染症学会総会(東京), 2011.04.22(O-115)
 - 17) 千葉菜穂子, 砂押克彦, 桑田祐輔, 荘司路, 高橋 孝, 生方公子. 侵襲性感染症由来肺炎球菌の分子疫学解析. 第85回日本感染症学会総会(東京), 2011.04.22(O-116)
 - 18) 松井英則, 吉田春乃, 村山琮明, 高橋孝, 生方公子. 劇症型A群溶血性レンサ球菌感染症に及ぼす肥満細胞の役割. 第85回日本感染症学会総会(東京), 2011.04.22(O-158)
 - 19) 吉田春乃, 松井英則, 村山琮明, 生方公子, 高橋 孝. 劇症型A群溶血性レンサ球菌感染症における骨壊死発症機構の解析. 第85回日本感染症学会総会(東京), 2011.04.22(O-159)
 - 20) 生方公子. 侵襲性重症肺炎球菌感染症. 分子疫学解析からみる菌の変化. 第59回日本化学療法学会総会(札幌), 2011.06.24(教育セミナー1-1)
 - 21) 桑田祐輔, 千葉菜穂子, 諸角美由紀, 生方公子, 高橋 孝. 侵襲性感染症由来 *Streptococcus agalactiae* (GBS) の各種抗菌薬に対する耐性化: 2010年度全国収集株の成績. 第59回日本化学療法学会総会(札幌), 2011.06.24(P-G-117)
 - 22) Ubukata K., Y. Kuwata, M. Morozumi, N. Chiba, H. Sakata, S. Iwata, and T. Takahashi. Relationship between Multilocus Sequence Typing and Capsule Type of *Streptococcus agalactiae* (GBS) Isolates from Patients with Invasive Infections. 51st ICAAC, Chicago, 2011.09.19 (C2-1254)
 - 23) Ubukata K., K. Sunaoshi, K. Sugita, M. Morozumi, N. Chiba, S. Fujishima, and T. Takahashi. Molecular *emm* Genotype and Antibiotic Susceptibility of *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis* (SDSE) Isolated from Patients with Invasive Infections in Japan. 51st ICAAC, Chicago, 2011.09.19 (C2-1255)
 - 24) Chiba N, M. Morozumi, M. Shoji, and Ubukata K. Change in the capsular type and genotype of β -lactam-resistant isolates from patients with invasive pneumococcal disease (IPD): Active Nationwide Surveillance. 51st ICAAC, Chicago, 2011.09.19 (C2-1270)
 - 25) 千葉菜穂子, 諸角美由紀, 生方公子. カルバペネム系薬にも耐性化した多剤耐性肺炎球菌の遺伝子解析. 第94回日本細菌学会地方会(東京), 2011.10.06
 - 26) 桑田祐輔, 諸角美由紀, 千葉菜穂子, 生方公子, 高橋 孝. 侵襲性感染症由来 *Streptococcus agalactiae* (GBS) の分子疫学解析. 第94回日本細菌学会地方会(東京), 2011.10.06
 - 27) 池上千晶, 岡田隆文, 松原啓太, 込山修, 岩田 敏, 生方公子. 血液培養から肺炎球菌が分離された症例の臨床疫学的検討. 第43回日本小児感染症学会(岡山), 2011.10.28

- 28) 武井智昭, 生方公子. 胆道閉鎖症を合併した遅発方侵襲性B群レンサ球菌(莢膜型8型)感染症の新生児例. 妊婦スクリーニングの検証. 第43回日本小児感染症学会(岡山), **2011.10.28**
- 29) 成相昭吉, 千葉菜穂子, 生方公子, 和田昭仁. 15Aによる敗血症・肺炎を繰り返した重症心身障害女児と11A/Eによる新生児仮死を生じた新生児から考える肺炎球菌血清型特定とPPSVによる予防戦略考慮の必要性. 第15回日本ワクチン学会(東京), **2011.12.11** (1-2-03)
- 30) 藤野元子, 長井 香, 千葉菜穂子, 生方公子, 中山哲夫. 閉鎖集団におけるPCV7・Hibワクチン導入効果. 第15回日本ワクチン学会(東京), **2011.12.11** (1-2-05)
- 31) 生方公子, 千葉菜穂子, 諸角美由紀: 侵襲性感染症由来肺炎球菌の莢膜型の変化. 第15回日本ワクチン学会(東京), **2011.12.11** (1-2-06)
- 32) 村上いつか, 西山秀樹, 浅見さをり, 池上志乃, 鈴木真由子, 美濃島慎, 服部拓哉, 山岸宏江, 湯浅典博, 千葉菜穂子, 生方公子. 血液培養から分離された肺炎球菌と β 溶血連鎖球菌の臨床細菌学的検討. 第23回日本臨床微生物学会総会(横浜), **2012.01.21** (O-021)
- 32) 生方公子: 国際化時代における感染症への対応 第114回日本眼科学会総会 ランチョンセミナー講演(名古屋国際会議場), **2010.04.16**
- 33) 山岡繁夫, 稲富 直, 安井昌子, 長谷川昌史, 平清 吾, 大植慎也, 荻原 享, 玉井 浩, 生方公子: G群溶連菌の母児垂直感染により劇症型溶連菌感染症を発症した1例. 第113回 日本小児科学会学術集会(岩手), **2010.4.23-25**
- 34) 生方公子: 急性中耳炎におけるウイルスと細菌のかかわり. 第111回日本耳鼻咽喉科学会総会 ランチョンセミナー講演, **2010.05.21**
- 35) 藤島清太郎, 杉田香代子, 生方公子, 堀進悟: β 溶血性レンサ球菌感染症の臨床像と原因菌の遺伝子解析. 第38回日本救急医学会総会(東京), **2010.10.09-11** (oral)
- 36) 山口禎夫, 千葉菜穂子, 佐藤吉壮, 岩田敏, 秋田博伸, 生方公子, 砂川慶介: 小児の侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)の症例解析. 第84回日本感染症学会総会(京都), **2010.04.05**
- 37) 松井英則, 吉田春乃, 岡田圭祐, 村山琮明, 生方公子: CD46トランスジェニックマウスを用いた*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (SDSE)感染モデルの構築. 第84回日本感染症学会総会(京都), **2010.04.05**
- 38) 吉嶺裕之, 五十棲理恵, 斉藤信夫, 原田義高, 諸角美由紀, 生方公子, 有吉紅也: リアルタイムPCR法による成人市中肺炎原因微生物の検索. 第84回日本感染症学会総会(京都), **2010.04.05**
- 39) 中山栄一, 岸井こずゑ, 諸角美由紀, 千葉菜穂子, 生方公子: Real-time PCR法によるB群溶血性レンサ球菌(GBS)の検索と分離菌の莢膜型別: 妊娠後期例を対象として. 第58回日本化学療法学会総会(長崎), **2010.06.02-04**
- 40) 千葉菜穂子, 諸角美由紀, 岸井こずゑ, 生方公子, 岩田 敏, 砂川慶介: 10年間にわたる肺炎球菌による化膿性髄膜炎の解析: 薬剤耐性遺伝子型と莢膜型. 第58回日本化学療法学会総会(長崎), **2010.06.02-04**
- 41) 五十嵐優子, 島貫洋太, 鈴木敏史, 藤野一成, 地主 誠, 戸田美帆, 菅沼牧知子, 幡 亮人, 鈴木千賀子, 三橋直樹, 生方公子: Real-time PCR法による妊婦のGBSスクリーニング. 第62回日本産科婦人科