

- 学会学術講演会(東京)2010.04.23-25
- 42) 荘司 路, 青木泰子, 山本優美子, 千葉菜穂子, 生方公子, 高橋 孝: 成人の侵襲性感染症由来・肺炎球菌の分子疫学的解析(2001~2009年)。第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会(東京), 2010.10.21-2
- 43) 岡田圭祐, 村山琮明, 切替照雄, 生方公子: ヒトおよびブタ由来のレンサ球菌 *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* のゲノム解析とその比較。第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会(東京), 2010.10.21-22
- 44) 安中めぐみ, 安達桂子, 桑田祐輔, 水野裕之, 柴崎澄枝, 砂押克彦, 奥住捷子, 生方公子, 高橋 孝, 稲松孝思. 高齢者専門医療機関(2005年-2009年)における血液培養由来β溶血性レンサ球菌の疫学的性状と患者背景因子の特徴。第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会(東京), 2010.10.21-22
- 45) 生方公子: 小児・成人に対する肺炎球菌ワクチンの接種とその効果 日本医師会 ラジオ日経, 2010
- 46) 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 — 網羅的検索法へのパラダイムシフト—日本小児感染症学会(仙台) 教育講演, 2010.11
- 47) Chiba N, Morozumi M, Kishii K, Ono A, and Ubukata K. Genetic identification of β-lactam resistance of isolates from invasive pneumococcal diseases (IPD) by real-time PCR: application to surveillance for pediatrics. 50th ICAAC, Boston, 2010.09 (D-169)

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

- 【背景】 i) 急速な少子・高齢化社会
 ii) 医療制度の変化
 iii) 経口抗菌薬の処方の変化
 iv) 人々の激しい多極化移動

市中型感染症における
 侵襲性肺炎球菌, β 溶血性
 レンサ球菌感染症が増加

【目的】 本研究班は当該感染症に着目し, 基礎と臨床系研究者とが横断的に連携し, 次の項目を3ヵ年計画で研究し, 医療行政に寄与する。

【研究項目】

- 1) 全国規模の収集菌株: 分子疫学解析と宿主側要因解析
- 2) 診断と発症予防: 迅速検索法の確立
- 3) 適切な治療法: 基礎疾患, 予後, 治療薬との関係
- 4) 病態解析と重症化機構の解明: 動物モデルの作成
- 5) 病原性: ゲノム解析
- 6) 啓発活動: Website, 冊子作成, 共催シンポジウム

図-1 研究班の目的

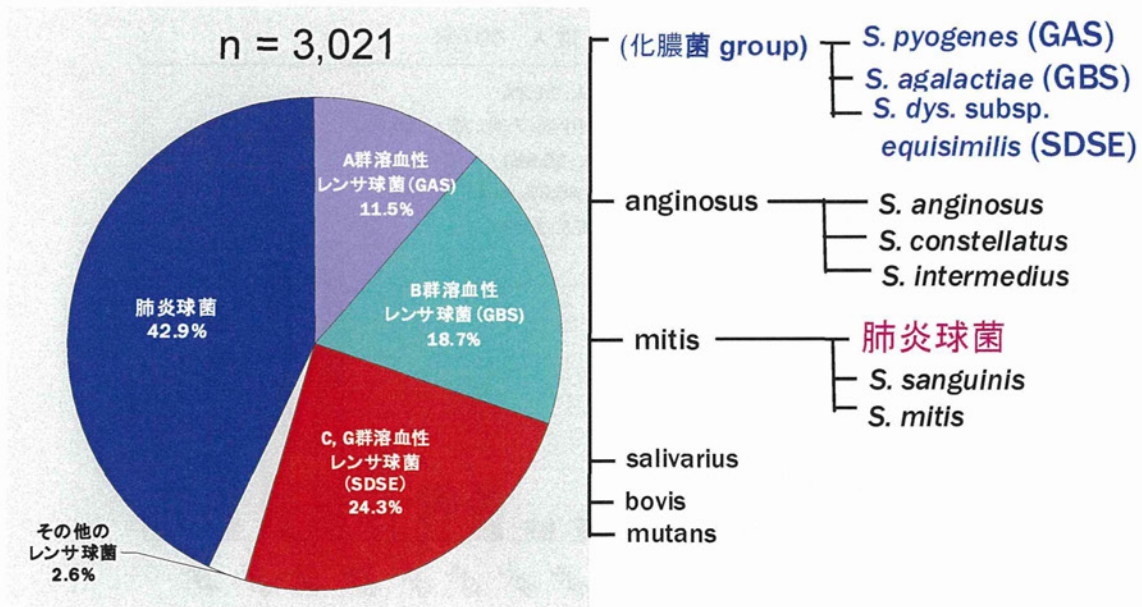


図-2 3年間にわたる侵襲性感染症由来の収集株の内訳

検体到着 → 翌日、莢膜型と遺伝子解析データを報告

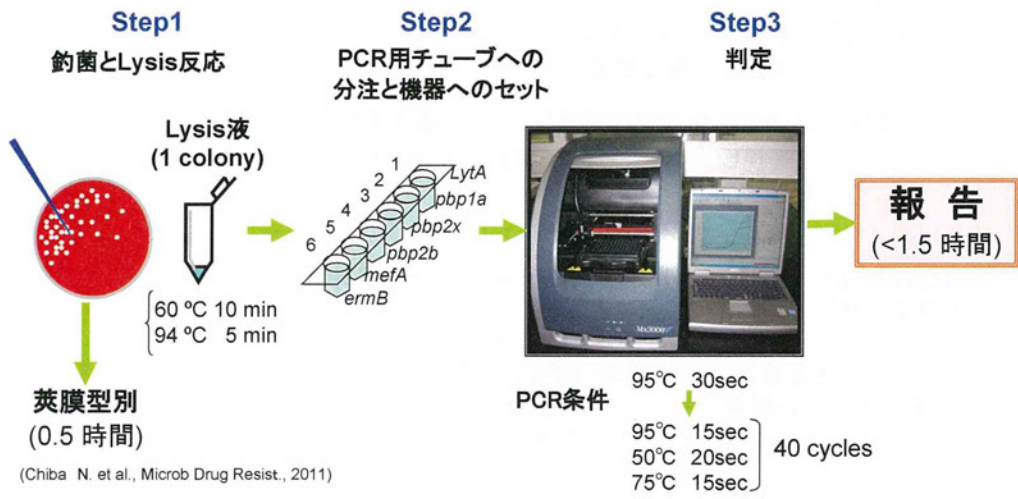


図-3 Real-time PCR 法による耐性遺伝子検索

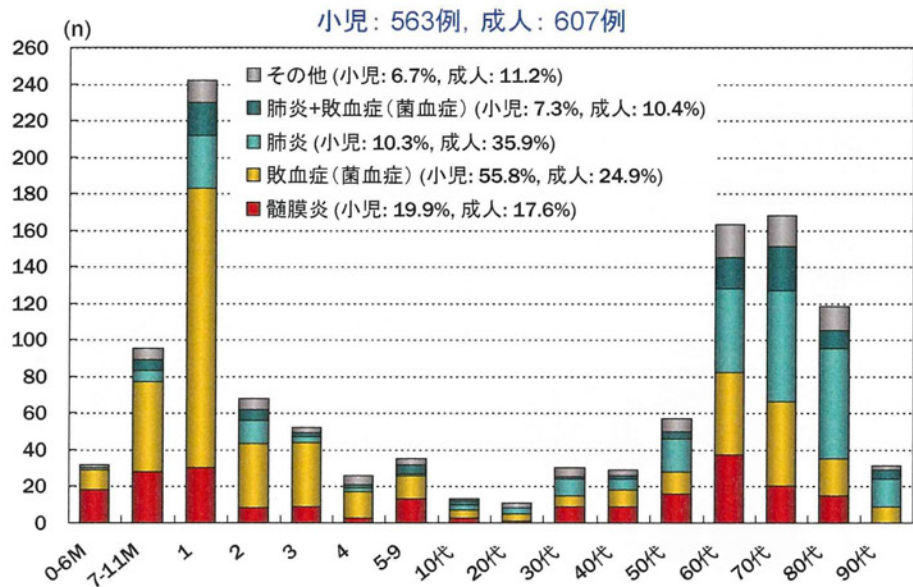


図-4 疾患と年齢分布との関係 (n=1,170)

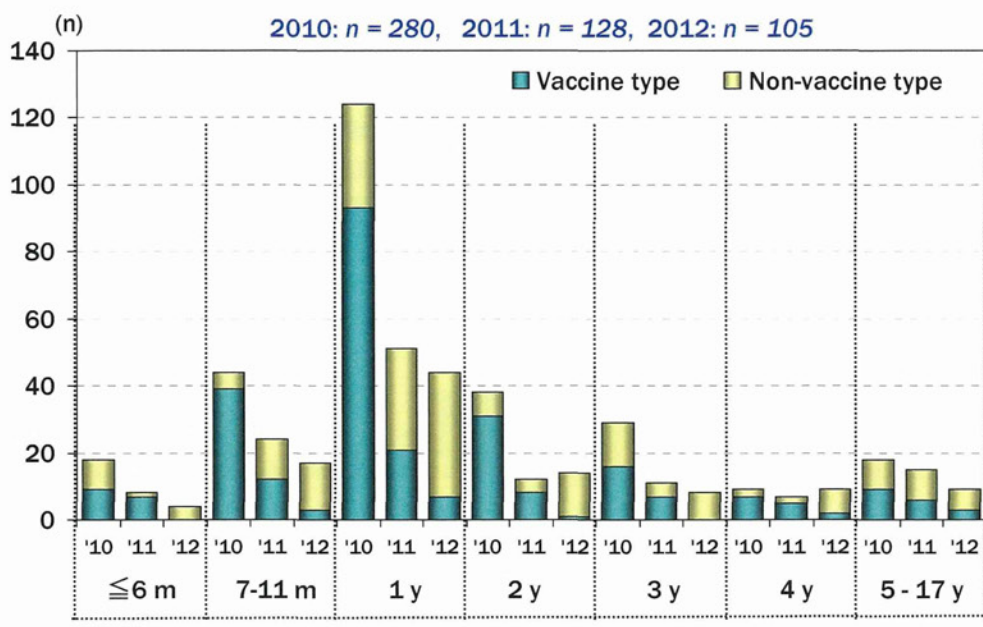
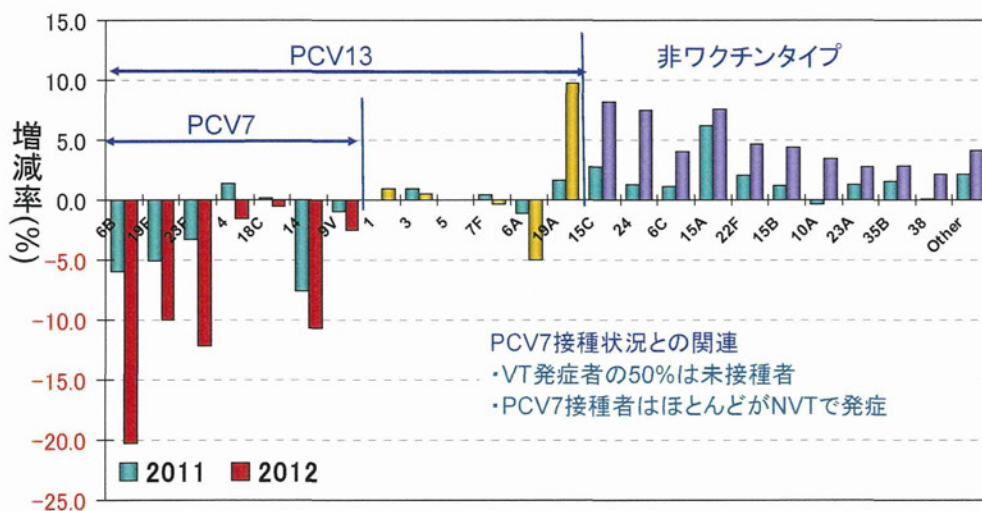


図-5 小児 IPD 感染症：PCV7 導入による変化(1)



Chiba N., et al., *Microbial Drug Resistance*, 2013

図-6 小児 IPD 感染症：PCV7 導入による変化(2)

—2010年との相対的増減率—

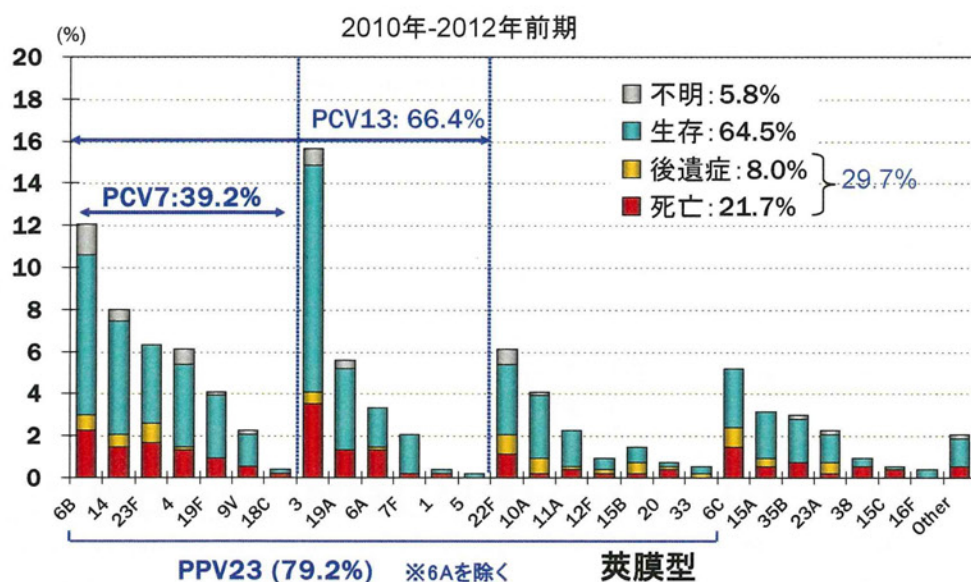


図-7 成人由来株： 荚膜型と転帰との関係

表-1 成人において予後不良と関連する因子解析 (n=459)

| 項目 | Breakpoint | P value | Odds ratio |
|---------------------------|------------|---------|------------|
| Age | ≥ 65y | 0.118 | - |
| Gender | M | 0.048 | 1.8 |
| Diagnosis | Meningitis | <0.001 | 5.3 |
| Underlying disease | present | 0.139 | - |
| WBC (μL) | < 5,000 | <0.001 | 6.6 |
| PLT(×10 ⁴ /μL) | < 12 | 0.190 | - |
| CRP(mg/dL) | ≥ 10 | 0.148 | - |
| AST(IU/L) | ≥ 50 | 0.081 | 1.7 |
| Creatinine(mg/dL) | ≥ 1.5 | <0.001 | 5.2 |
| LDH(IU/L) | ≥ 245 | 0.337 | - |

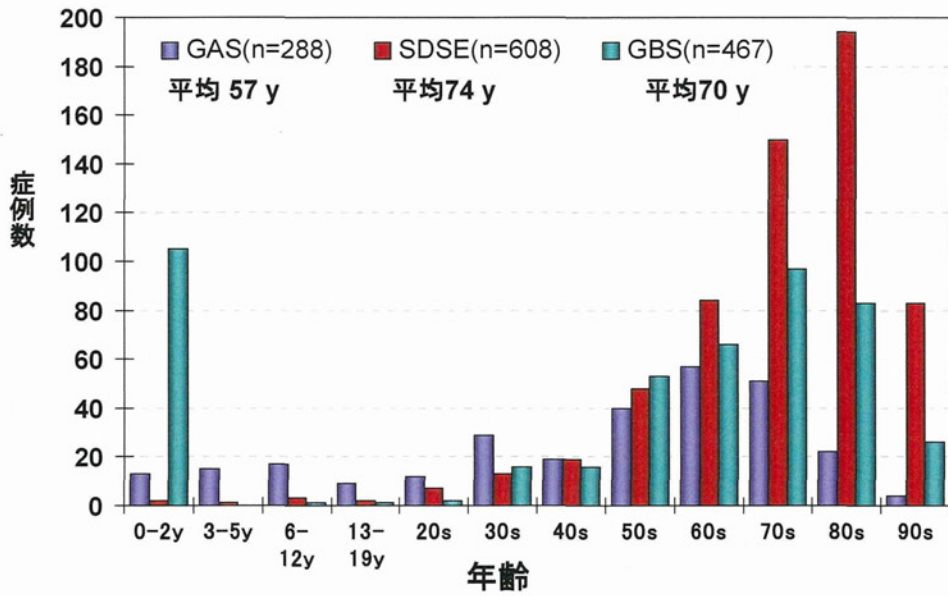


図-8 侵襲性レンサ球菌感染症：年齢分布と菌種の内訳

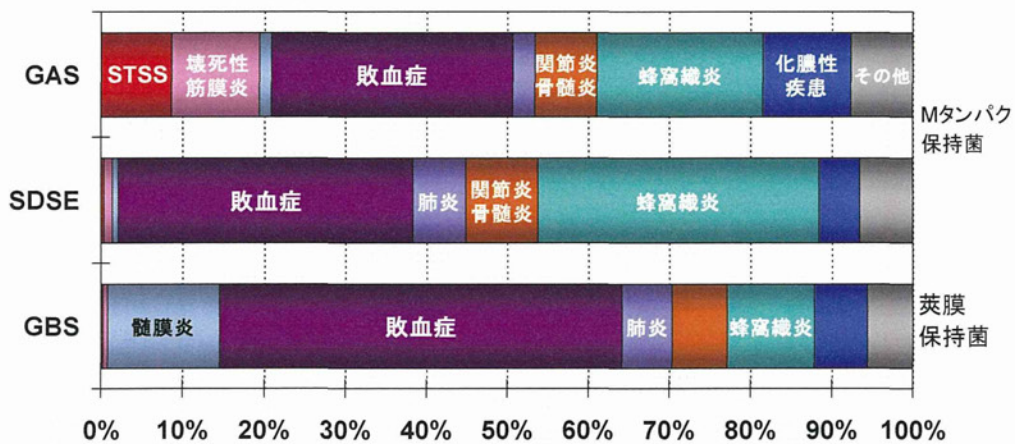


図-9 レンサ球菌の菌種別にみた疾患の特徴

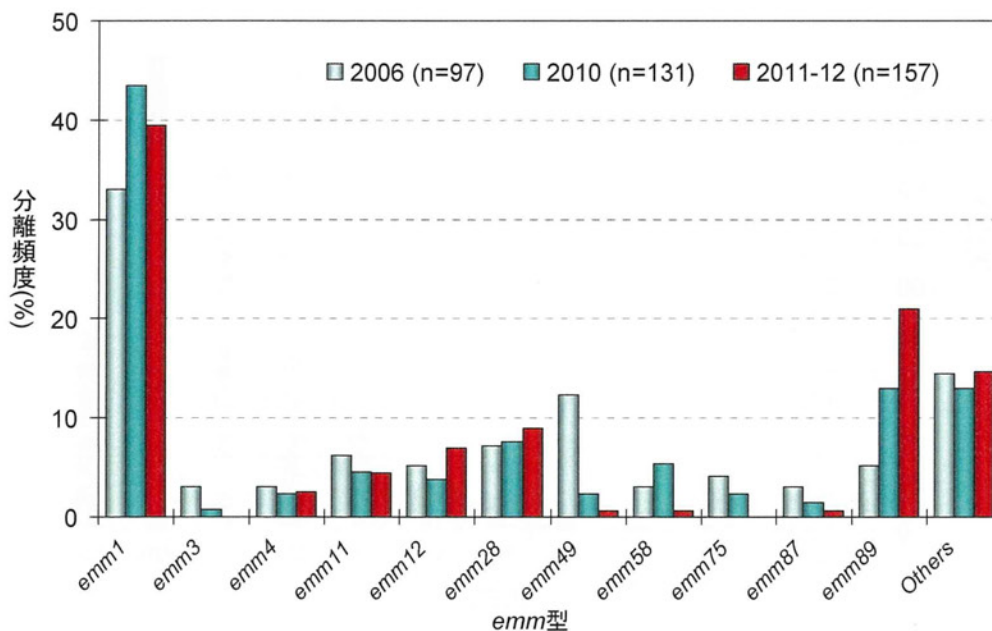


図-10 GAS 株：経年的 emm 型の変化

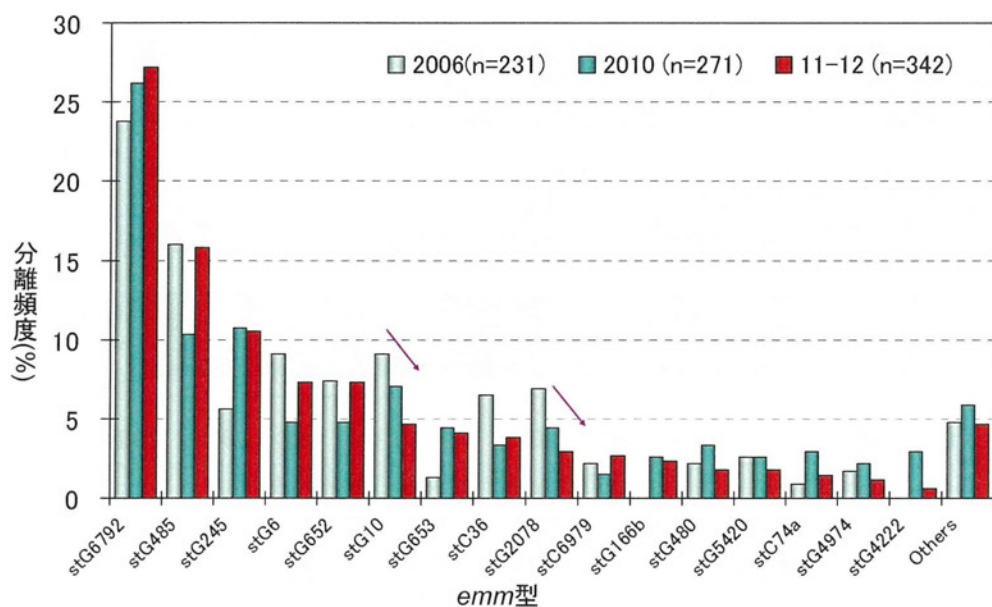


図-11 SDSE 株：経年的 emm 型の変化

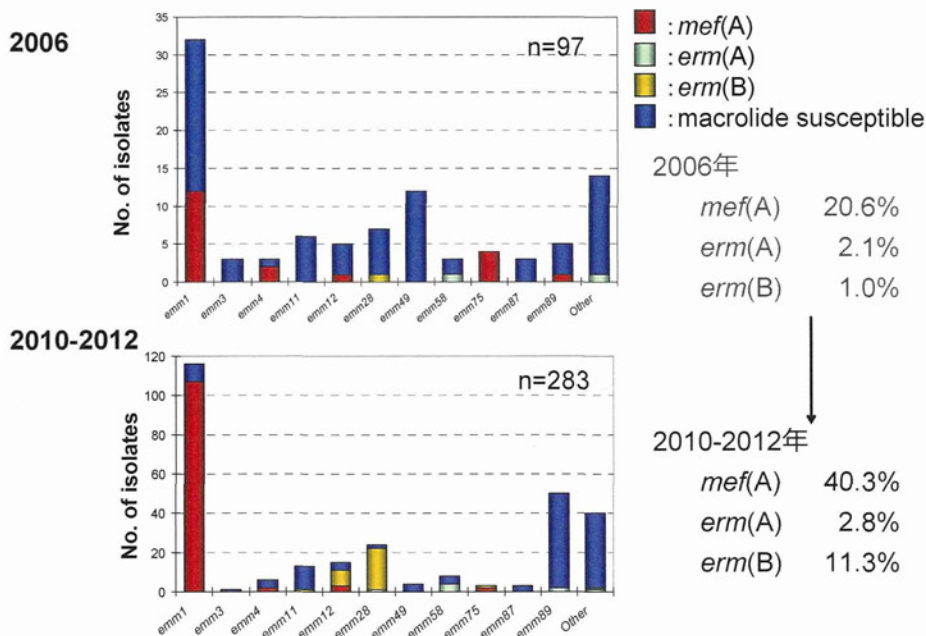


図-12 GAS 株：マクロライド系薬耐性株の増加

表-2 侵襲性 GAS 感染症：患者背景因子と予後との関係

| 背景因子 | Total | 予後良好 (n=177) | 予後不良 (n=43) | P 値 | オッズ比 (95% CI) |
|-----------------|-------|-----------------|----------------|------------------|------------------|
| 性別(男/女) | 217 | 85/90 | 29/13 | 0.017 | 2.4 (1.2-4.8) |
| 年齢(65歳以上/65歳以下) | 220 | 55/122 | 25/18 | 0.001 | 3.1 (1.6-6.1) |
| 疾患 | | | | | |
| STSS+ NF/ Other | 220 | 18/159 | 14/29 | <0.001 | 4.3 (1.9-9.5) |
| 基礎疾患 | | | | | |
| 心血管系 | 18 | 15 | 3 | 0.567 | |
| 糖尿病 | 31 | 18 | 13 | 0.004 | 3.2 (1.4-7.2) |
| 悪性疾患 | 29 | 23 | 6 | 0.854 | |
| 肝機能障害 | 17 | 8 | 9 | 0.001 | 4.8 (1.7-13.2) |
| 他 | 46 | 36 | 10 | 0.961 | |
| なし | 59 | 56 | 3 | | |
| 基礎疾患(有/無) | 176 | 84/56 | 33/3 | <0.001 | 7.3 (2.1-25.0) |
| emm type | | | | | |
| emm 1/ Other | 220 | 57/120 | 28/15 | <0.001 | 3.9 (1.9-7.9) |

STSS:劇症型GAS感染症, NF:壊死性筋膜炎

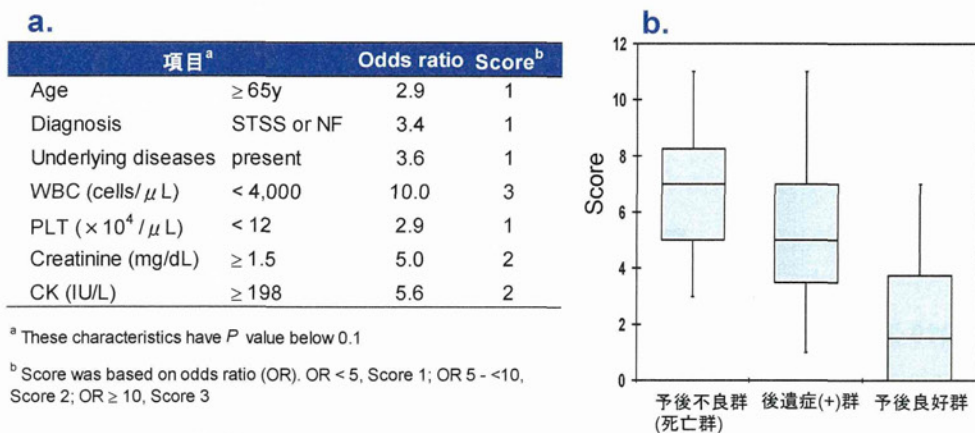


図-13 予後を左右する因子解析に基づくスコアリングモデル
 —多変量解析から得られたオッズ比に基づく—

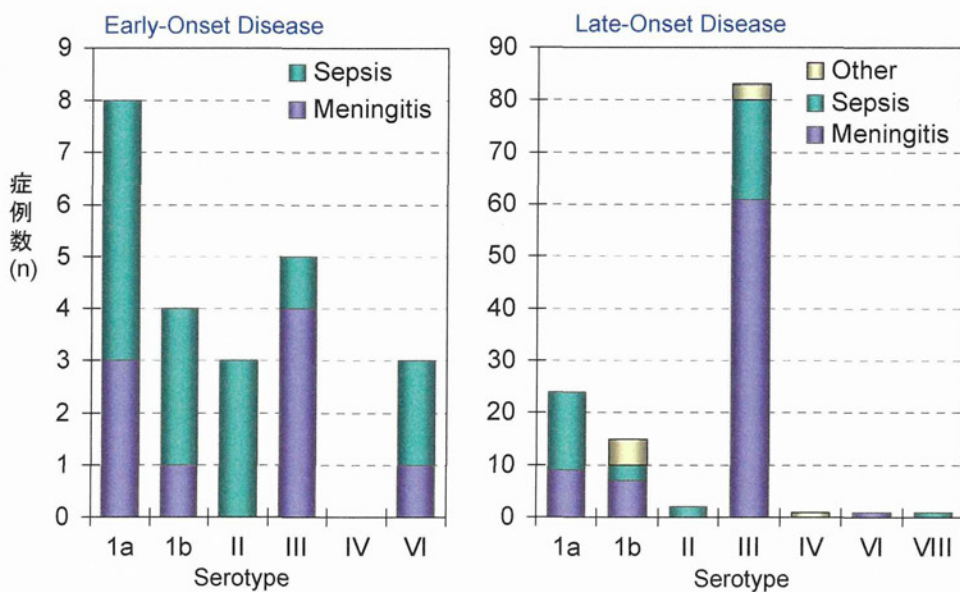


図-14 EOD 例と LOD 例における莢膜型の違い

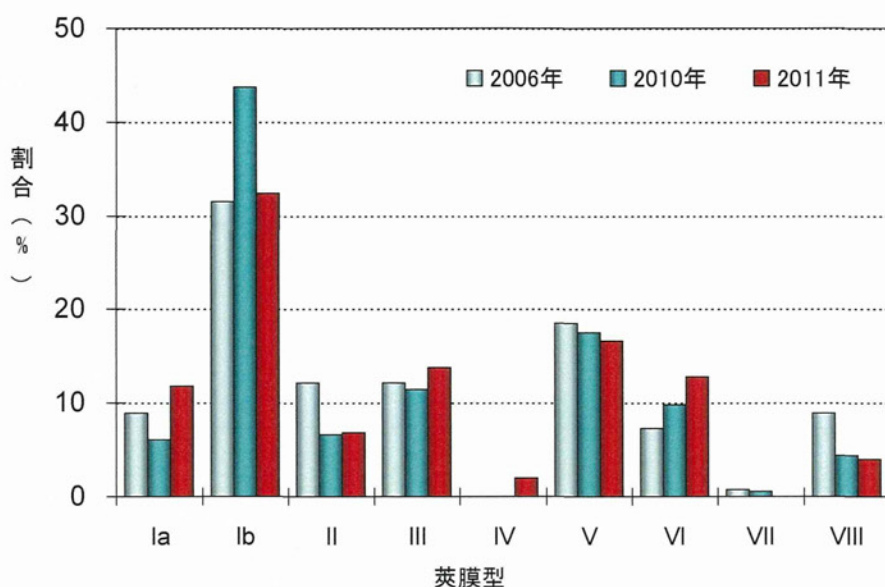


図-15 成人侵襲性 GBS 感染症由来株の荚膜型

表-3 侵襲性 GBS 感染症：患者背景因子と予後との関係

| 背景因子 | Total | 予後良好 (n=384) | 予後不良(死亡) (n=53) | P value | オッズ比 (95% CI) | | |
|-------------|-------|--------------|-----------------|---------|---------------|--------|--------------|
| 性別(男/女) | 378 | 161/166 | 49.2% | 37/14 | 72.5% | 0.035 | 2.1(1.0-4.4) |
| 年齢 | | | | | | | |
| 65歳以上/65歳未満 | 384 | 179/152 | 54.0% | 36/17 | 67.9% | 0.040 | 2.4(1.0-5.6) |
| 疾患 | | | | | | | |
| 敗血症+肺炎*/他 | 384 | 205/126 | 61.9% | 44/9 | 83.0% | <0.001 | 3.0(1.4-6.4) |
| 基礎疾患 | | | | | | | |
| 心血管系 | 60 | 47 | | 13 | | 0.103 | |
| 糖尿病 | 112 | 97 | | 15 | | 0.593 | |
| 悪性疾患 | 100 | 86 | | 14 | | 0.772 | |
| 肝機能障害 | 89 | 73 | | 16 | | 0.338 | |
| 他 | 97 | 80 | | 17 | | 0.385 | |
| なし | 19 | 17 | | 2 | | | |
| 基礎疾患・有/無 | 343 | 275/17 | | 49/2 | | 0.584 | |

敗血症+肺炎には心内膜炎を含む

表-4 肺炎球菌・β溶血性レンサ球菌：予後不良因子のまとめ

| Characteristics | GAS | | SDSE | | GBS | | 肺炎球菌 | |
|--------------------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| 死亡率 | 17.8% | | 12.1% | | 9.7% | | 21.7% | |
| 後遺症(+) | 10.3% | | 3.0% | | 4.5% | | 8.0% | |
| Total | 28.1% | | 15.1% | | 14.2% | | 29.7% | |
| Risk Factor | P値 | オッズ比 | P値 | オッズ比 | P値 | オッズ比 | P値 | オッズ比 |
| Age: ≥65y | 0.033 | 2.9 | 0.211 | 2.1 | 0.015 | 5.2 | 0.193 | - |
| Male/Female | - | - | 0.175 | - | 0.046 | 2.8 | 0.060 | 2.1 |
| Diagnosis | | | | | | | | |
| STSS/other (GAS) | 0.048 | 3.4 | - | - | - | - | - | - |
| Sepsis/other (SDSE) | - | - | 0.120 | 2.1 | - | - | - | - |
| Meningitis/other (S. pn) | - | - | - | - | - | - | 0.016 | 7.9 |
| Underlying diseases(+) | 0.088 | 3.6 | - | - | - | - | 0.020 | 6.2 |
| Blood Tests | | | | | | | | |
| WBC <4,000 (cells/μL) | <0.001 | 10.0 | <0.001 | 9.7 | 0.181 | 2.5 | <0.001 | 14.6 |
| PLT <12 (×104/μL) | 0.048 | 2.9 | 0.214 | - | 0.009 | 4.0 | 0.196 | - |
| CRP ≥10 (mg/dL) | - | - | 0.875 | - | 0.005 | 5.2 | 0.192 | - |
| AST ≥50 (IU/L) | - | - | 0.510 | - | - | - | 0.230 | - |
| ALT ≥50 (IU/L) | - | - | - | - | 0.536 | - | - | - |
| BUN ≥22 (mg/dL) | - | - | - | - | 0.695 | - | - | - |
| Creatinine ≥1.5 (mg/dL) | 0.009 | 5.0 | 0.014 | 2.9 | - | - | <0.001 | 6.0 |
| CK ≥198 (IU/L) | 0.025 | 5.6 | 0.003 | 4.9 | - | - | 0.156 | - |
| LDH ≥245 (IU/L) | - | - | - | - | 0.190 | 2.1 | - | - |
| 判別的中率全体 | | | 91.1% | | 90.7% | | 84.4% | |
| 生存 | | | 98.2% | | 96.9% | | 92.8% | |
| 死亡 | | | 39.5% | | 41.4% | | 58.8% | |
| オッズ比合計 | | 29.8 | | 17.5 | | 17.2 | | 34.7 |

オッズ比は有意なもののみ集計

表-5 ヒトおよびブタ由来 SDSE の病原性遺伝子の比較

| 菌種 | GAS | SDSE | | | | | | | | SDSD |
|-----------|-------|------------|----------|------------|-----------|------|------|----------|----------|------|
| | | ヒト | ブタ | | | | | | | |
| 由来 | ヒト | ヒト | PAGU 656 | PAGU 657 | L1 | V21 | 601 | PAGU 787 | PAGU 699 | 603 |
| 菌株名 | SF370 | RE378 | | | | | | | | |
| emm 型 | emm1 | stG 6792.3 | stC 74a | stC 6979.0 | stL2764.0 | | | | - | - |
| ストレプトリジンA | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| ストレプトリジンO | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - |
| ストレプトキナーゼ | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - |
| C5aペプチダーゼ | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - |
| recN 型 | | SDSE | SDSE | SDSE | SDSD | SDSD | SDSD | SDSD | SDSD | SDSD |
| 23S rRNA | GAS | SDSE | | | | | | | | SDSD |

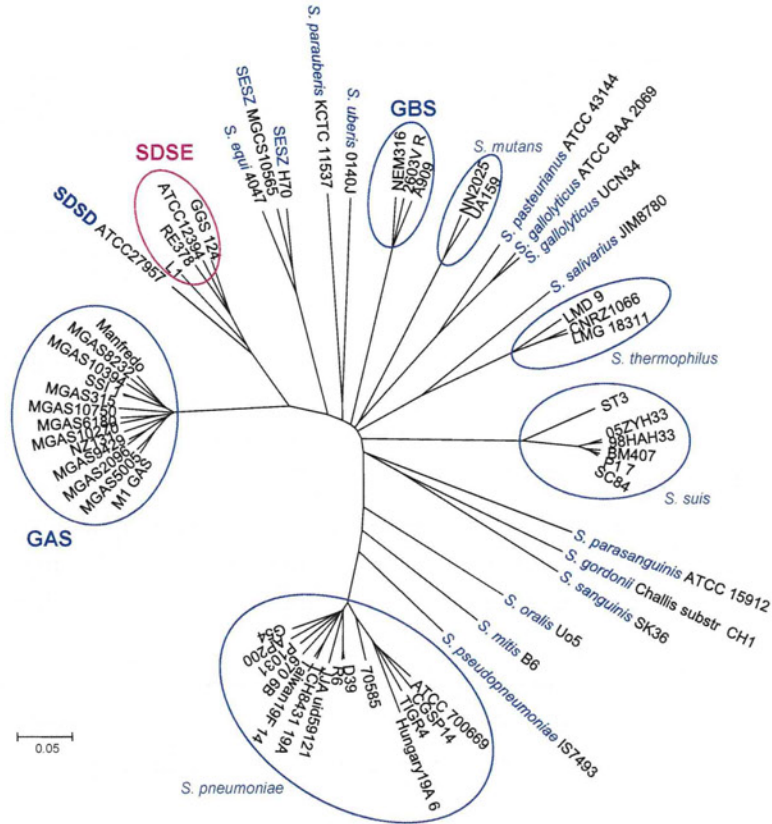


図-16 CDS アミノ酸配列による *Streptococcus* 属ゲノムの比較

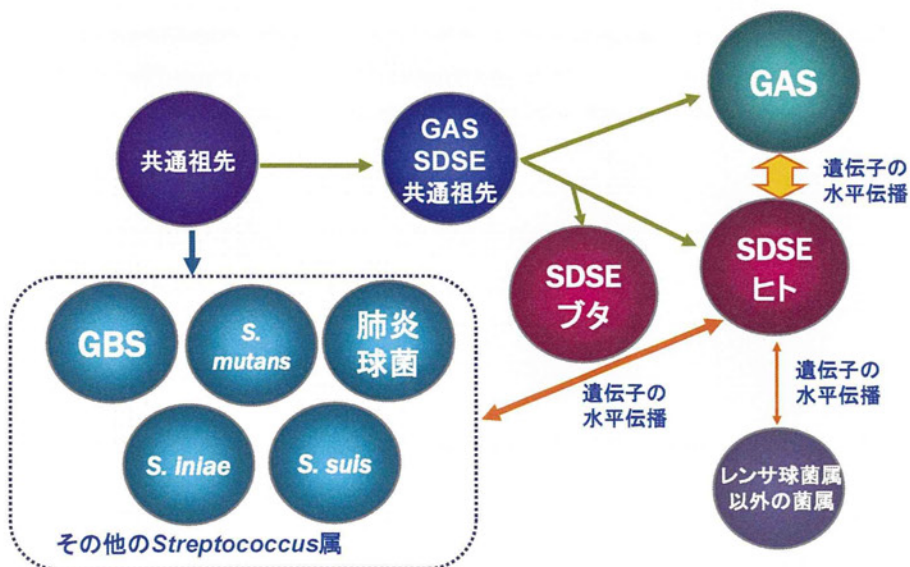


図-17 ゲノム解析から推定する溶血性レンサ球菌属の進化

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

HOME

速報(平成24年度・疫学解析) 

総論 

肺炎球菌 

β溶血性レンサ球菌 

参加施設・分担者・参考文献 

附：マイコプラズマ

このホームページに関するお問合せ

〒108-8641
東京都港区白金5-9-1
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
FAX: 03-5791-6386
e-mail: shinko13@lisci.kitasato-u.ac.jp

ご挨拶

21世紀の到来とともに、再び肺炎球菌やβ溶血性レンサ球菌といった細菌による重症型の優襲性感染症が増加しています。この背景には、急速に変貌しつつある我が国特有の社会的背景が存在しています。すなわち、急速な少子・高齢化社会の到来と、生活習慣病等の基礎疾患を有する方達の著しい増加です。平成23年9月の総務省統計局の報告によれば、総人口(1億2770万人)に占める65歳以上の割合は23.2%に達しています。

私達の研究事業「研究課題：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」は、このような市中型細菌感染症の社会的重要性に着目し、基礎系研究者と臨床系研究者とが連携して、原因菌の中でも症例数の最も多い肺炎球菌とβ溶血性レンサ球菌とに焦点を当てています。

主たる研究目標は、我が国における i) 発症例の背景因子の解析, ii) 分離菌の分子疫学解析, iii) 迅速診断法の確立, iv) 最適な治療法の確立, そして v) 菌の病原性について明らかにすることです。また、医療関係者あるいは一般の方々への啓発活動も事業目標のひとつに加えられています。

この度、平成22年度に実施された大規模疫学研究の成績を踏まえ、Webサイトを大幅に更新致しました。

このWebサイトが小児科・内科系診療科のみならず、救命救急や整形外科領域の先生方、あるいは薬剤師や臨床検査技師を含むコメディカルの方々にもお役に立てば幸いです。

今後、皆様方のご意見をもとに、より一層充実したものへとバージョンアップして行きたいと考えております。

平成23年10月

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(H22-新興-一般-013)」

- 研究代表 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)

このWebサイトに関するご意見・お問合せ先

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

FAX: 03-5791-6386

e-mail: Shinko13@lisci.kitasato-u.ac.jp

図-18 研究班の研究結果公開のためのWebサイトの構築

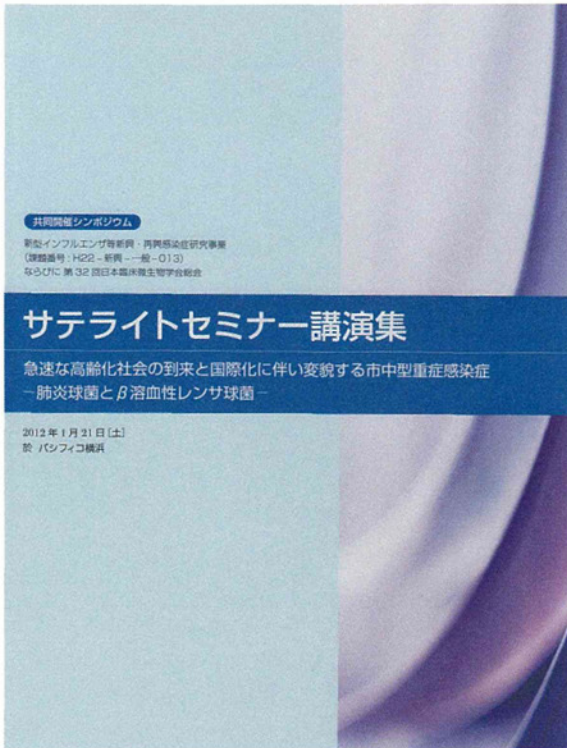


図-19 日本臨床微生物学会と共催
シンポジウム開催
2012年(H24)1月21日開催

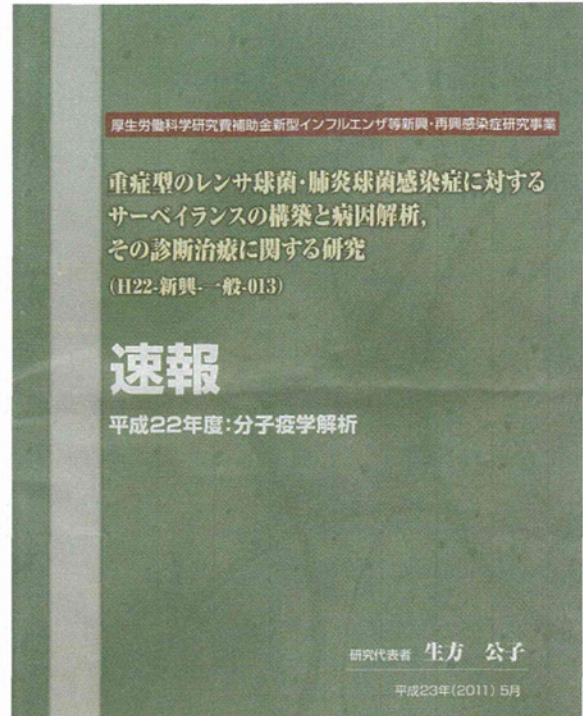


図-20 速報の作成と配布

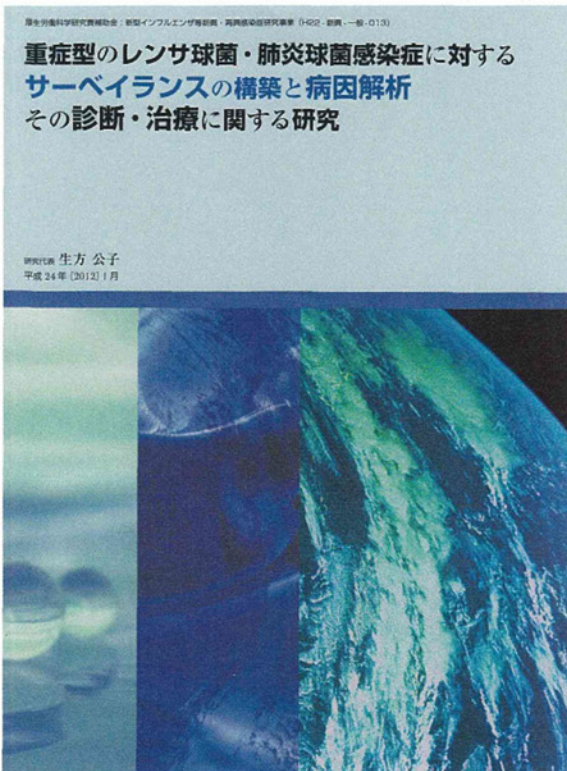


図-21 啓発活動のための報告書類作成
と配布

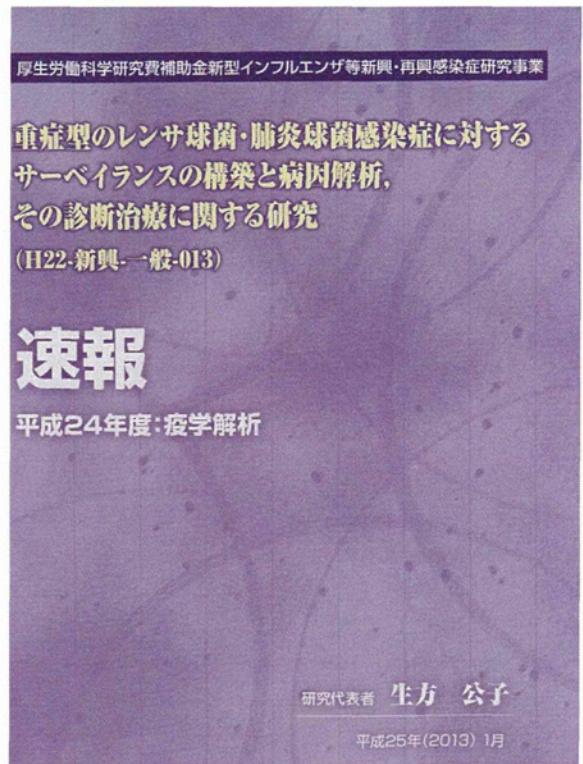


図-22 啓発活動のための速報作成と
配布

分担研究(総合)報告書

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

| | | | |
|-------|-------|---------------------------|------|
| 代表研究者 | 生方 公子 | 北里大学北里生命科学研究所 | 特任教授 |
| 研究協力者 | 千葉菜穂子 | 北里大学北里生命科学研究所病原微生物分子疫学研究室 | 研究員 |
| 研究協力者 | 諸角美由紀 | 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 | 研究員 |
| 研究協力者 | 輪島 文明 | 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 | 研究員 |
| 研究協力者 | 砂押 克彦 | 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 | 研究員 |
| 研究協力者 | 杉田香代子 | 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 | 研究員 |

研究要旨

- 2010年4月から2013年1月末日にかけ、全国343医療機関の協力により、市中発症の侵襲性感染症(IPD)由来の肺炎球菌が1,170株収集された。小児由来が563株、成人由来が607株であった。
- 小児IPD例は2010年度の294例から2011年度には136例と半減した。2012年度も133例と前年度とほぼ同数であった。しかし、菌の莢膜型は明らかに変化し、PCV7に含まれる莢膜型(VT)は2010年度：73.5%，2011年度：55.9%，2012年度：15.8%と激減していた。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。
- 成人由来株でもVTは減少しており、相対的にみると特に6Bが大きく減少していた。2006年の同様の成績に較べて12F型は激減し、莢膜型は多様化していた。一方でムコイド型コロニーを形成する3型は、相対的には20.0%と依然として高い割合であった。小児と同様に以前にはみとめられなかった15A、16F、23A、35BにgPRSPが出現していた。PCV13のカバー率は、2010年度：73.6%，2011年度：60.6%，2012年度：55.2%と減少していた。PPV23のカバー率は順に82.2%，78.8%，71.0%であった。
- 成人における感染症例の多くは基礎疾患を抱えており、また小児に較べて死亡を含む予後不良例が28.2%と多く認められた。
- 以上のことから、小児・成人ともにPCV13の早期導入と新たなワクチン開発が急務である。また、超高齢化社会を迎え、生活習慣病のコントロールに対する啓発活動や重症化しない予防対策に重点をおく必要がある。
- 2013年度よりワクチンの定期接種化が決定されたが、ワクチンの普及によってどのように莢膜型が変化していくのか、全国規模の継続的サーベイランスが必要であると結論された。

A. 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(髄膜炎、敗血症、重症肺炎など)は治療の上で深刻な問題を提

起してきた。

他方、急速な高齢化社会の到来とともに、わが国では特に2000年以降において60歳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きている。

本研究事業においては、研究初年度(H22)から、わが国における**侵襲性肺炎球菌感染症 (Invasive Pneumococcal Diseases:IPD)**由来株を全国規模で継続して収集し、明らかにされていない次の項目を解析し、日本におけるIPD感染症の実態を明らかにすることを目的とした。すなわち、i)発症例(宿主)の背景因子と予後不良に与えるリスクファクター解析、ii)ワクチン接種の基盤となる菌側の莢膜型あるいは薬剤耐性化状況、iii)世界の分離株と比較を行なうMLST解析である。以下に本研究事業の3年間にわたる解析で得られた成績について報告する。

B. 研究方法

1) 収集菌株

解析対象期間は、2010年4月から2013年1月末日までの期間である。全国344医療機関に所属する細菌検査室から、合計1,170株の肺炎球菌の送付を受けた。**小児由来が563株、成人由来が607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**IPD**由来菌株である。

2) 菌株の解析項目：

i) 莢膜型の解析

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試験した。莢膜の種類は93種である。

ii) Real-time PCRによる薬剤耐性遺伝子解析

β -ラクタム系薬の耐性化に影響する細胞壁合成酵素をコードする *pbp1a*, *pbp2x*, *pbp2b* 遺伝子の3種、ならびにマクロライド

系薬耐性に関わる *mefA* 遺伝子と *ermB* 遺伝子の解析。

iii) 各種治療用抗菌薬感受性の測定

主に注射用抗菌薬のセフェム系薬ならびにカルバペネム系薬について測定した。

iv) Multilocus Sequence Typing (MLST)解析

7種の Housekeeping 遺伝子を解析対象とした。

v) 成人における予後不良と関連する因子解析

菌株送付時に、発症時の患者背景ならびに血液検査値についてアンケートに対する解答の送付を受けているが、これらを元に予後不良と関連する因子解析をおこなった。

(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匿名化(氏名は記載なし)を行って、菌株とアンケート用紙の回収を行なった。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. 研究成果

1) 収集菌株の年齢分布と疾患の内訳

図-1には肺炎球菌が分離された症例の年齢分布と疾患の内訳を示す。小児では1歳児が突出して多く、次いで1歳未満と2歳児であった。1歳以下の割合は65.5%であった。

一方、成人では60歳代から症例が急増し、60-70歳代に発症のピークがみられた。全人口の約4人に1人が65歳以上の高齢者となり、しかも基礎疾患を有する人口が増加しているわが国の現状において、IPDは乳幼児のみならず、高齢者で再び重要な感染症となっていることが明らかにされた。

疾患の内訳では、小児では敗血症(菌血症

含む)が 55.8%と最も多く、次いで化膿性髄膜炎の 19.9%、肺炎(血液からも菌が分離された症例のみ)が 10.3%であった。その他に、化膿性関節炎や蜂窩織炎もわずかながら認められた。

成人では重症肺炎が 35.9%と最も多く、次いで敗血症の 24.9%、化膿性髄膜炎の 17.6%であった。その他に小児ではみられなかった疾患として膿胸や胸膜炎も認められた。このように成人で血液培養陽性の肺炎が多いのは原因菌に特徴があるため、それについては莢膜型の項で述べる。

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

2) 発症例の予後

小児の IPD 例における予後は、死亡が 1.1%、明らかな後遺症を残した例が 1.8%、計 2.9%であった。成人例に比較すると明らかに予後不良は低率であった。耐性率が高いにも関わらずこのような結果となっている理由としては、i)乳幼児では急な発熱や全身状態の悪化に家族が気づき、ii)早期受診していること、iii)殺菌性に優れる抗菌薬が使用できること、iv)小児科医を始めとし、コメディカルの方々の献身性、などが大きく寄与していること等が推察された。

一方、成人では死亡が 21.1%、明らかな後遺症を残した例が 7.1%、これら予後不良例の割合は 28.2%と高率であった。

図には示さなかったが、小児と成人に分けた発症例の予後と基礎疾患の有無との関係を調べると、成人では基礎疾患“あり”群で予後不良例が統計学的に「有意に多い」ことが示された。

3) 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の

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(まれに PBP2A も)をコードする *pbp2x* はセフェム系薬剤の感受性低下に関与している。

他方、マクロライド系薬では *mefA* 遺伝子保持による中等度耐性、*ermB* 遺伝子保持による高度耐性、さらに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変異が問題となる。

本サーベイランスでは、各医療施設から検体が届くと、図-2 に示す手順で遺伝子解析を行い、翌日には結果を報告するシステムを構築した。報告までの所要時間は 1.5 時間以内で、緊急を要する依頼には即日結果を報告した。

図-3 には、上述の手法で解析された小児由来株(n=563)の成績を示す。genotype を表す“g”をつけて生物学的結果と区別している。gPRSP の割合が 2010 年度の 54.8%から 2012 年度の 27.8%へと半減していた。これとは対照的に、gPSSP が 9.2%から 21.8%へ増加、gPISP(*pbp2x*)変異株も 35%と増加した。gPRSP は PCV7 に含まれる莢膜型に多く存在するため、ワクチン接種の効果により減少したものと考えられた(p<0.001)。

一方、図-4 には成人由来株(n=607)の成績を示す。gPRSP が 2010 年度の 32.3%から 24.8%へとわずかに減少していたのに対し、ムコイド型株がほとんどを占める gPISP(*pbp2x*)変異株は 35.3%から 42.8%へと増加していた。しかし、小児のような統計学的にみた有意な変化は認められなかった。

また、2006 年に実施された前回のサーベイランスでは 12%と多かった *pbp2b* 変異株はわずか 3%へと激減していた。これは、後述する莢膜型 12F の減少と関連していた。

4) 莢膜型の変化

小児由来株の3年間にわたる莢膜型の変化と遺伝子学的にみた薬剤耐性との関係を図-5と図-6に示す。図-5は左からPCV7に含まれる莢膜型(vaccine type: VT)を初年度に分離頻度の高かった順に、次いで欧米ではPCV7から切り替わった13価ワクチン(PCV13)に含まれる型の成績を示した。図-6にはワクチンに含まれない型(non-vaccine type:NVT)の成績を示した。

図からも明らかのように、VTはすべて明らかに減少しており、特に14と9Vは2012年度の収集株中には認められなかった。また6B型と交差反応のある6A型も2012年度では認められず、相乗効果のあることが明らかにされた。

これらVTにはgPRSPが多く含まれていたが、VTの減少によりgPRSPの割合も相対的に減少した。PCV7のカバー率は2010年度73.5%、2011年度55.9%、2012年度15.8%へと激減した($P<0.001$)。今後、PCV7からの切り替えが望まれているPCV13のカバー率も、2010年度88.8%、2011年度72.8%、2012年度39.1%へと激減していた。

なお、欧米でPCV7導入後に増加が問題となった莢膜19A型は増加傾向にあるが、図-6に示すようにNVTも一律に増加傾向にあることが注目された。特に今までgPRSPの認められなかった15A、15C、35BにgPRSPが出現し、その増加が懸念される。

図-7には小児における2012年度に収集された133株の症例について、患者年齢とワクチン接種回数、そして原因菌がVTであったか否かを示す。VTで発症していたのはわずかに21症例(15.8%)であった。注目すべきは、VTの肺炎球菌で発症していた症例は、3例を除いてワクチン未接種者であった。PCV7接種の重要性が示された。

しかし、ワクチン接種を一度でも受けた症例は、そのほとんどがNVTで発症していた。

成人由来株の莢膜型と遺伝子学的にみた薬剤耐性型との関係は図-8と図-9に示す。図-8には左から小児と同様にPCV7とPCV13に含まれる莢膜型、図-9にはPPV23に含まれる残りの型といずれのワクチンにも含まれない型を順に並べた。小児と同様にVTは明らかに減少していた。特に6B型は全体の14.5%から5.5%へと減少していた。ムコイド型コロニーを形成する3型は、20.0%と依然として高い割合であった。また、成人では莢膜型の多様化が進んでおり、Otherとした中には6D、7C、18B、24、34、37、38といった新たな莢膜型がみられた。なお、2006年の同様のサーベイランス成績と比較すると、最も分離頻度の高かった12F型が激減し、PPV23でカバーできない15A、16F、23A、35BにgPRSPが出現してきていることが懸念された。

PCV13のカバー率は、2010年度73.6%、2011年度60.6%、2012年度55.2%と減少していた($P<0.001$)。PPV23のカバー率は同様に82.2%、78.8%、71.0%と減少していた。いずれのワクチンもカバー率が低下してきているが、特に小児へのPCV7接種による影響が大きいと考えられた。

5) 抗菌薬感受性

図-10には、感性/耐性判定の標準薬であるPenicillinG(PCG)感受性(Minimum Inhibitory Concentration:MIC)と、耐性遺伝子の成績を重ねた成績を示す。

MIC分布は曖昧な2峰性であるが、遺伝子変異別にみると、耐性遺伝子別にはほとんどが試験3管以内に収まっていた。例えば、gPISP(*pbp1a+2x*)株では0.125-0.25 $\mu\text{g/mL}$ 、赤のgPRSPは0.5-2 $\mu\text{g/mL}$ のMICを示していた。つまり、遺伝子変異の結果からMICを推定することが可能で、データを蓄積しておけば、PCR法によって遺伝子変異を迅速に調べることにより、治療抗菌薬が速やかに

選択できることになる。臨床的な耐性/感性の識別は、経口抗菌薬と注射用抗菌薬では異なり、さらに疾患によって異なるので、再現性の高い遺伝子解析が必要と考えられた。

入院例に使用される機会の多い第三世代セフェム系の Cefotaxime (CTX) の同様の成績は図-11 に示す。MIC が $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の菌は遺伝子学的に gPRSP であるが、米国ではこの薬剤にも“髄膜炎”と“非髄膜炎”に分けたブレイクポイントが設定されている。髄膜炎の“S”が $0.5\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下、非髄膜炎が $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下とほぼ同じ濃度に設定されており、髄膜炎では辛うじて gPRSP が排除されるといったことが判る。非髄膜炎では“R”は $4\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上とされているが、日本化学療法学会が成人肺炎に対しリコメンドした臨床的ブレイクポイントは $2\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、この薬剤については米国と日本で大きな差はない。

一方、図-12 には、重症例に対し高頻度で使用されている Meropenem (MEPM) の成績を示す。CLSI では MEPM に対し髄膜炎と非髄膜炎に分けたブレイクポイントが設定されていない。先の CTX は非髄膜炎に $4\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上が“R”であったが、MEPM では“R”が $1\mu\text{g}/\text{mL}$ と逆転している。また、日本化学療法学会のブレイクポイントとも乖離していた。

マクロライド系薬とニューキノロン系薬は、経口抗菌薬として繁用されている薬剤である。このうち、ニューキノロン系薬耐性は数%であるが、マクロライド系薬の耐性菌の割合は極めて高い。その成績はここには示さないが、クラリスロマイシンに限らずその他のマクロライド系薬も同様の結果であった。すなわち、**全体の 62%が *ermB* 遺伝子保持の高度耐性株**、29%が *mefA* 遺伝子保持の軽度耐性株であり、全体の 90%以上が耐性菌であった。

6) MLST 解析

小児由来株について、PCV7 に含まれない型の中で gPRSP であった株について MLST を実施した。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 gPRSP は、日本に伝播する過程、あるいは日本において PISP が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。

7) 成人において予後と関連する因子解析

A. 単変量解析：予後と血液検査値等との関係

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%近くに達していることから、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、どのような因子に有意差があるのか、先ず単変量で解析した。その成績は表-1 に示す。

両群間で有意差があつてオッズ比(OR)が高く予後不良と相関していたのは、i) WBC が $5,000\text{cells}/\mu\text{L}$ 未満であること、ii) クレアチニンが $1.5\text{mg}/\text{dL}$ 以上の 2 項目であった。

その他に、iii) PLT が $12\times 10^4/\mu\text{L}$ 未満、iv) CRP が $10\text{mg}/\text{dL}$ 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, 先に示したように後遺症を残す例が多いことに関連していた。

基礎疾患は 80%近い例が保持しているため, 両群間に有意差は認められなかった。

B. 多変量解析による予後不良関連因子

表-2 は, 表-1 の中の類似した検査項目を除き, どの項目(因子)が予後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)を行った成績である。

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。つまり, 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る。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いえる。

D. 結論と考察

2013 年 4 月以降, わが国においては生後 2 ヶ月の早い時期から PCV7 ならびにインフルエンザ菌 type b(Hib)が定期接種化されることが決定された。結果に示したように, PCV7 の接種率が 50-60%と推定された 2011 年以降 2012 年までの 2 年間の結果に見られるように, VT による化膿性髄膜炎や肺炎の発症数は, 先行して定期接種化された欧米諸国と同様に著しく減少したことは明らかである。しかし, 同時に 2013 年以降においては NVT の比率が急速に高まることも避けら

れないと判断される。

呼吸器感染症の原因菌の中で, 肺炎球菌は最も病原性の高い菌種であるが, それは莢膜型が 93 種類もあることと関連している。すなわち, 莢膜を保持することによりヒトの免疫システムを巧みに回避して生き延びてきている菌なのである。この点が莢膜を有していても莢膜型のすくない Hib や GBS との大きな違いである。細菌の中では, 肺炎球菌は遺伝子変異や遺伝子組み換えを最も生じやすい特質をもつ菌である。莢膜遺伝子が異なる菌同士(例えば 6B と 14 型)がこの莢膜をコードする遺伝子領域の組換えを起こすいわゆる “capsular switching” が容易に生ずることが最近明らかになりつつある。このため, 一時的には肺炎球菌感染症が減少しても, ワクチンの選択圧がかかり, 数年後には新たな莢膜型による重症感染症に置き換わって問題化するであろう。その注目すべき型が, 感性菌から gPRSP へと変化した 19A, 15A, 16F, 35B などであろうと予測される。特に, 莢膜遺伝子の両隣に pbp1a と pbp2x 遺伝子が位置しているため, capsular switching と同時に耐性化も起こるのである。

一方, わが国の人口構成をみると, 団塊世代と呼ばれる昭和 22 年生まれが 65 歳を迎え, 超高齢化社会を迎えた。死亡原因の統計をみても肺炎が再び第三位となっている。加えて, 本解析でも成人 IPD 例の大多数がリスクファクターとして基礎疾患を抱えている。このような例では, 受診のタイミングを失すると時間単位で重篤化しやすく, 高い死亡率と後遺症残存率に繋がっている。

これらの肺炎球菌感染症の重症化を防止するためには, 成人に対してもワクチン接種が必要である。しかし, 成人への導入が期待されている PCV13 のカバー率は 2 年前に比して 20%近く低下しており, PPV23 のカバー率もまた徐々に低下してきていることが懸念される。