

図2

感染症症例の診断を行っている（図2）。

本研究ではmultiplex PCRによる呼吸器感染症診断の有用性を実証するため、沖縄県内の医療機関と共同で大規模な臨床研究を実施し、multiplex PCRが感染症診療に与えるインパクトについて検討を行う。また、multiplex PCRでは検出できない病原体を拾い上げるため、得られた臨床検体は次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析を行う。

（倫理面への配慮）

症例調査に関しては匿名化を図り、患者のプライバシーが守れるように配慮する。菌株の収集に関しては特に倫理的な問題はないと判断する。

### C. 研究結果

まずはmultiplex PCRを活用することでこれまで診断できていなかった、多くのウイルス性肺炎を診断することが可能となった（図3）。

またマイコプラズマ肺炎においては、multiplex PCRにより確定診断を可能にするとともに、得

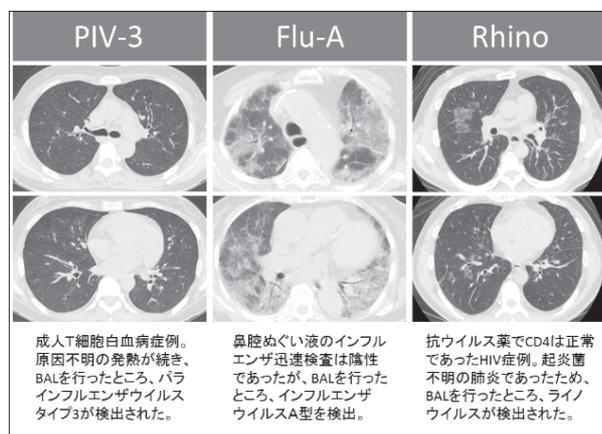


図3

年齢・性別	混合感染	血清抗体価 (PA法)		マクロライド耐性に関わる遺伝子変異
		シングル	ペア	
18才・男性	(-)	< 40	320	2063 A→G
47才・男性	NT	NT	NT	(-)
26才・女性	(-)	320	NT	(-)
30才・女性	(-)	< 40	NT	(-)
17才・男性	(-)	40	NT	2063 A→T
42才・女性	(-)	80	160	(-)
23才・男性	(-)	64*	256*	(-)

(NT; not tested, \*CF法)

図4

られたDNAを用いて、マクロライド耐性遺伝子の有無も確認することが可能となった（図4）。

呼吸器感染症の病原体をターゲットにしたメタゲノム解析を鼻腔スワブで得られた56検体で行なった。多くはmultiplex PCRによる病原体探索結果と一致を示した。しかし2検体において、multiplex PCRでは検出されていなかったインフルエンザBウイルスとパルボウイルスを検出した。

### D. 考察

上述した目的の達成に向け、当科がこれまで行ってきたmultiplex PCRを沖縄県内の医療機関が広く利用できるようにし、その有用性を明らかにしてきた。また沖縄県内の基幹病院に呼びかけ、肺炎などの呼吸器感染症患者を対象とした大規模臨床研究を展開していくことが可能となった。各病院から集められた臨床検体をmultiplex PCRを用いて検査し、その結果は即座に医療現場へ還元される。Multiplex PCRに加え、次世代シーケンサーによるメタゲノム解析も行い可能な限り原因微生物の特定に努めている。現在、理化学研究所との共同研究でより簡便な迅速診断法を開発中であり、オーダーメイドの感染症診断を可能にしたい。

この班のメインテーマである侵襲性肺炎球菌感染症、侵襲性インフルエンザ菌感染症、および侵襲性髄膜炎菌感染症に対しては、サーベイランス体制を沖縄県において構築しえた。微生物検査室を有する県内16医療機関の医師と微生物検査師、沖縄県衛生研究所、沖縄県健康長寿課でサーベイランスのためのネットワークを構築した。各

施設協力の元に上記4疾患の菌株や調査票の収集体制を整備し、現在症例を収集中である。今後は16医療機関以外の病院とのネットワーク構築も行っていきたい。

これらと関連して、*Streptococcus tigurinus*、*Streptococcus anginosus* group、*Citrobacter braakii*による敗血症、および髄膜炎菌性肺炎に関する臨床的解析を実施し、英文で論文報告した。また研究成果を複数の国際学会において発表した。

## E. 結論

成人の重症肺炎を対象に、肺炎球菌、インフルエンザ菌、髄膜炎菌などの細菌のみならず、ウイルスも含めた迅速感染症診断を確立しつつある。さらに未知の病原体に対してはメタゲノム解析を実施できる環境を整えた。現在、新興感染症を含めたオーダーメイドの感染症迅速診断の開発を進めている。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Invasive pneumococcal disease among adults in Japan, April 2013 to March 2015: disease characteristics and serotype distribution. Fukusumi M, Chang B, Tanabe Y, Oshima K, Maruyama T, Watanabe H, Kuronuma K, Kasahara K, Takeda H, Nishi J, Fujita J, Kubota T, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K; Adult IPD Study Group. BMC Infect Dis. 2017 Jan 3; 17 (1): 2.
- 2) An epidemiological analysis of summer influenza epidemics in Okinawa. Sunagawa S, Iha Y, Taira K, Okano S, Kinjo T, Higa F, Kuba K, Tateyama M, Nakamura K, Nakamura S, Motooka D, Horii T, Parrott GL, Fujita J. Intern Med. 2016; 55 (24): 3579-3584.
- 3) Comparative epidemiology of influenza A and B viral infection in a subtropical region: a 7-year surveillance in Okinawa, Japan. Iha Y, Kinjo T, Parrott G, Higa F,

Mori H, Fujita J. BMC Infect Dis. 2016 Nov 8; 16 (1): 650.

- 4) Bacteremia due to *Streptococcus tigurinus*: A case report and literature review. Hirai J, Sakanashi D, Hagihara M, Haranaga S, Uechi K, Kato H, Hamada H, Nishiyama N, Koizumi Y, Suematsu H, Yamagishi Y, Fujita J, Mikamo H. J Infect Chemother. 2016 Nov; 22 (11): 762-766.
  - 5) Case-control study of pneumonia patients with *Streptococcus anginosus* group bacteria in their sputum. Hirai J, Sakanashi D, Haranaga S, Kinjo T, Hagihara M, Kato H, Suematsu H, Yamagishi Y, Fujita J, Mikamo H. J Infect Chemother. 2016 Dec; 22 (12): 794-799.
  - 6) Meningococcal pneumonia in Japan: A case report and literature review. Hirai J, Kinjo T, Tome T, Hagihara M, Sakanashi D, Nakamura H, Haranaga S, Mikamo H, Fujita J. J Infect Chemother. 2016 Dec; 22 (12): 833-836.
  - 7) Bacteremia due to *Citrobacter braakii*: A case report and literature review. Hirai J, Uechi K, Hagihara M, Sakanashi D, Kinjo T, Haranaga S, Fujita J. J Infect Chemother. 2016 Dec; 22 (12): 819-821.
  - 8) A compendium for *Mycoplasma pneumoniae*. Parrott GL, Kinjo T, Fujita J. Front Microbiol. 2016 Apr 12; 7: 513.
- ### 2. 学会発表
- 1) Utility of multiplex PCR to diagnose atypical pneumonia due to Legionella pneumophila and Mycoplasma pneumoniae in the clinical setting. Kinjo T, Uehara A, Parrott G, Nabeya D, Ikemiyagi N, Haranaga S, Tateyama M, Fujita J, Annual Meeting of American Thoracic Society 2016 (May 13-18, 2016, San Francisco, USA)
  - 2) Detection of respiratory viruses from lower respiratory tract specimens in

- patients with lung lesions: summary of 3-year data using multiplex PCR method. Ikemiyagi N, Nabeya D, Kinjo T, Parrott G, Uehara A, Haranaga S, Tateyama M, Fujita J. Annual Meeting of American Thoracic Society 2016 (May 13–18, 2016, San Francisco, USA)
- 3) Meropenem and colistin heteroresistance in *Enterobacteriaceae* isolates in Japan. Uechi K, Tada T, Shimada K, Nakasone I, Kirikae T, Fujita J. American Society for Microbiology Annual meeting 2016 (ASM Microbe 2016) (June 16–20, 2016, Boston, USA)
  - 4) Case control study of pneumonia patients with *Streptococcus anginosus* group-identified from sputum. Hirai J, Yamagishi Y, Hagihara M, Fujita J, Mikamo H. American Society for Microbiology Annual meeting 2016 (ASM Microbe 2016) (June 16–20, 2016, Boston, USA)
  - 5) Chronic osteomyelitis caused by *Clostridium Hydrogeniformans*. Hirai J, Yamagishi Y, Sakanashi D, Suematsu H, Kinjo T, Fujita J, Mikamo H. ANAEROBE 2016 (July 11–14, 2016, Nashville, USA)
  - 6) Challenges of respiratory infectious respiratory disease management: from Japan to Thailand. Fujita J. Infectious Disease Association of Thailand, 2016 (October 22, Pattaya, Thailand)
  - 7) Blood stream infections due to *Aeromonas* species: a retrospective analysis of 24 cases at a tertiary hospital in Okinawa and previous related literature review in Japan. Hirai J, Hagihara M, Kinjo T, Haranaga S, Fujita J. IDWeek 2016 (October 26–30, 2016, New Orleans, USA)
  - 8) Recent trends of various resistant bacteria and the evaluation of susceptibility to fluoroquinolones in Japan. Hirai J, Kinjo T, Owan T, Fujita J. The 15<sup>th</sup> East Asian Conference on Infection Control and Prevention (EACIC 2016) (November 4–5, 2016, Xiamen, China)
  - 9) Utility of multiplex PCR to diagnose-respiratory tract infection. Kinjo T. 15<sup>th</sup> East Asian conference on Infection Control and Prevention (EACIC 2016) (November 4–5, 2016, Xiamen, China)
  - 10) Testing of mutation in *Bordetella pertussis* to evaluate resistance to macrolide in Okinawa, Japan. Nahar S, Kinjo T, Parrott G, Nabeya D, Fujita J. 21<sup>st</sup> Congress of Asian Pacific Society of Respirology (APSR 2016) (November 12–15, 2016, Bangkok, Thailand)
  - 11) Etiological analysis and epidemiological comparison among adult CAP and NHCAP patients in Okinawa, Japan. Parrott G, Nabeya D, Kinjo T, Haranaga S, Higa F, Tateyama M, Fujita J. 21<sup>st</sup> Congress of Asian Pacific Society of Respirology (APSR 2016) (November 12–15, 2016, Bangkok, Thailand)
  - 12) Evaluation on *in-vitro* activity of tigecycline against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from patients at a tertiary hospital in Okinawa, Japan. Hirai J, Hagihara M, Tome T, Arakaki M, Uechi K, Kinjo T, Haranaga S, Fujita J. The 16<sup>th</sup> Asia-Pacific Congress of Clinical Microbiology and Infection (November 30–December 3, 2016, Melbourne, Australia)

## G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし