

成人の侵襲性インフルエンザ菌感染症の臨床像と細菌学的解析

研究分担者：村上 光一（国立感染症研究所感染症疫学センター）
研究協力者：蜂巢 友嗣（国立感染症研究所感染症疫学センター FETP）
福住 宗久（国立感染症研究所感染症疫学センター）
川上 千晶（国立感染症研究所感染症疫学センター FETP）
久保田 眞由美（国立感染症研究所細菌第二部）
常 彬（国立感染症研究所細菌第一部）
研究代表者：大石 和徳（国立感染症研究所感染症疫学センター）

研究要旨 2013年から2018年の間、10道県における成人の侵襲性インフルエンザ菌感染症は210例が報告された。このうち、NESIDに報告された184症例について詳述する。患者年齢は15-97歳と幅広く分布し、中央値が77歳であった。性比は、男性が51%であった。記載のあった180症例の約8割に何らかの基礎疾患があり、また約3割は免疫抑制状態であった。記載のあった患者のうち菌血症を伴う肺炎を呈した患者が、半数以上を占めた（105/173, 60.7%）。菌血症（原発巣不明）は35.3%、髄膜炎4.7%、関節炎1.8%の順に多かった。65歳以上の症例では、免疫抑制状態の有無に関わらず「菌血症を伴う肺炎」が最も多かった。患者由来184株のうち、176株（95.7%）がnon-typable *Haemophilus influenzae*であった。加えて、e型が3株、f型3株およびb型1株認められた。薬剤耐性については、 β -lactamase negative ampicillin resistantが48株（25.8%）を占めた。今後とも成人の侵襲性インフルエンザ菌感染症分離菌株の継続的な解析が必要であるとともに、各自治体レベルで本感染症の流行を監視していくことが重要であると考えられた。

A. 研究目的

平成25年4月から、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律の一部が改正され、「侵襲性肺炎球菌感染症」および「インフルエンザ菌感染症」が5類感染症に追加された¹⁾。これにより、地方自治体はそれぞれの疾病の発生状況を各自治体レベルで把握することが可能になった。一方、侵襲性肺炎球菌感染症および侵襲性インフルエンザ菌感染症の予防のため、平成25年度から小児を対象としたPCV7またはPCV13、Hibワクチンが、また、平成26年10月から高齢者を対象としてPPV23が公費助成の対象となったことから、本疾病の患者から分離される菌株の血清型に強い関心が寄せられている¹⁾。インフルエンザ菌も成人の市中肺炎の原因菌であるが、本邦における成人の侵襲性インフルエンザ菌感染症に関する詳細はよくわかっていない。そこで本分担

研究では、成人における侵襲性インフルエンザ菌感染症の患者由来菌株について細菌学的検査を実施した。

B. 研究方法

1. 菌株の収集

図1に示すように、患者情報および菌株は、臨床家から関係自治体の機関（保健所、地方衛生研究所等）を介して、国立感染症研究所（感染研）に搬送・搬入される。研究分担者が、この菌株収取過程で様々な役割を果たしている。

2. 患者情報の解析

送付された調査票から、年齢、性別、BMI、患者背景（喫煙歴、アルコール多飲歴、季節性インフルエンザの先行感染の有無）、基礎疾患の有無とその詳細、侵襲性インフルエンザ菌感染症の病型、転帰について、解析を行った。

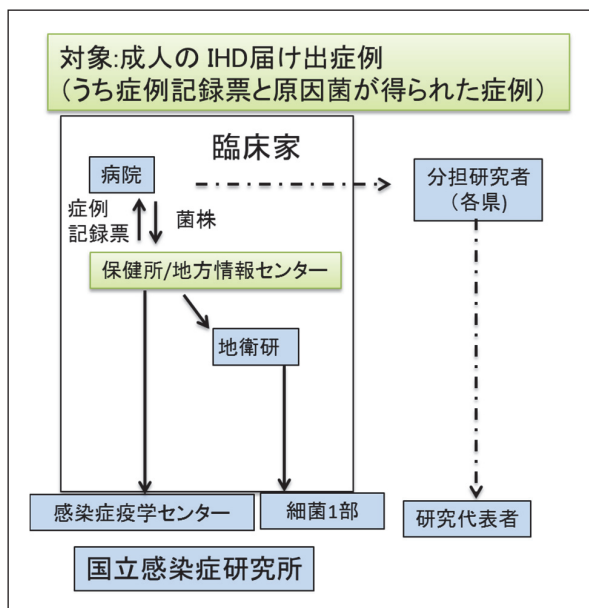


図 1. 成人の侵襲性インフルエンザ菌感染症患者情報と分離菌株の搬送・搬入

3. 侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来菌株の細菌学的検討

地方衛生研究所（地衛研）等から感染研に送付された侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来菌株について、血清型、薬剤感受性について精査した。まず、送付菌株が真にインフルエンザ菌であるかをZhangら（2014）のPCR鑑別法²⁾を用いて検査した。薬剤感受性試験については、アンピシリン（ABPC）、アンピシリン/スルバクタム（ABPC/BT）、メロペネム（MEPM）、セフトキシム（CTX）およびセフトリアキソン（CTRX）の5薬剤について、E test（bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France）およびヘモフィリステスト寒天培地（Becton, Dickinson, Company, Franklin Lakes, NJ, USA）を用いて実施した。莢膜型に関しては、市販抗血清（デンカ生検）を用いて確認するとともに、各莢膜抗原構造遺伝子の特異配列を検出対象としたPCRを用いて確認した³⁻⁵⁾（図2）。

4. Multi locus sequence typing

184菌株のうち搬入時期の早い114分離株を対象に、*adk*、*atpG*、*frdB*、*fucK*、*mdh*、*pgi*および*recA*の7つの遺伝子の変異を指標としたmulti locus sequence typing（MLST）による型別を実施した。方法は*Haemophilus influenzae* MLST Databases（<https://pubmlst.org/hinfluenzae/>、2019年2月6日参照）に準拠した。

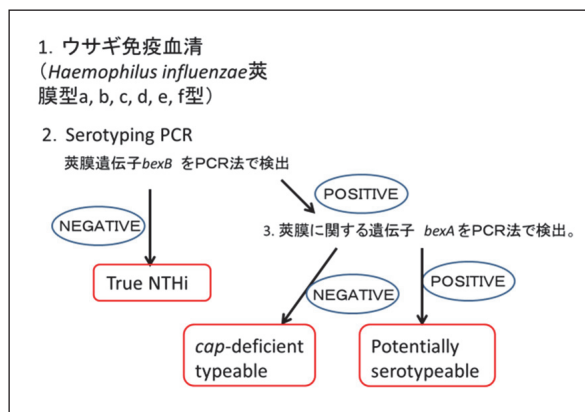


図 2. 菌株の血清型決定方法

表 1. 侵襲性インフルエンザ菌感染症症例の特徴（2013年-2018年, n=184）

		症例数 ^{*1}	(%)
年齢	中央値（範囲）	77歳	（範囲15-97）
	65歳以上	135	(73)
性別	男性	93	(51)
	BMI ^{*2}	中央値（範囲）	20.1（範囲12.8-41.9）
患者背景	喫煙歴あり（現在の喫煙含む）	55/147	(37.4)
	アルコール多飲歴あり	15/153	(9.8)
	先行するインフルエンザ感染あり	4/139	(2.9)
基礎疾患	何らかの基礎疾患あり	148/180	(82.2)
	慢性呼吸器疾患	27/164	(16.5)
	糖尿病	25/163	(15.3)
	心血管障害	21/164	(12.8)
	脳梗塞（陳旧性含む）	16/163	(9.8)
	慢性腎臓疾患	15/163	(9.2)
	慢性心疾患	14/164	(8.5)
	慢性肝臓疾患	7/163	(4.3)
精神疾患	4/133	(3)	

*1. 記載のあった症例を分母として集計

*2. 記載のあった170例について

*3. 免疫抑制状態ありとは、以下のいずれかに該当する症例とした

HIV 感染症、治療中の固形癌・血液癌、抗がん剤治療中、放射線治療中、造血幹細胞移植、臓器移植、ステロイド治療中、免疫抑制剤治療中、生物製剤治療中、自己免疫性疾患、先天性無脾/低形成、脾臓摘出後、補体欠損症

C. 研究結果

1. 侵襲性インフルエンザ菌感染症の臨床像

2013年から2018年11月30日現在までに、10道県において成人の侵襲性インフルエンザ菌感染症は210例が報告された。そのうちNESIDに報告され、かつ調査票が送付された184例について表1に示した。

184症例の年齢分布は、中央値77（範囲：15-97）歳であり、65歳以上がこのうち73%を占めた。性比は、男性が51%だった。データ記載のある180症例の約8割に何らかの基礎疾患があり、また約3割は免疫抑制状態であった。免疫抑制状態の内訳として、悪性腫瘍が12%、ステロイド・免疫抑制剤・生物製剤の治療中11%、自己免疫疾患6.1%の順に多かった（表2）。

病型別では、菌血症を伴う肺炎が60.7%と過半数を占め、菌血症（原発巣不明）は35.3%、髄膜炎4.7%、関節炎1.8%の順に多かった。65歳未満

の症例では、「菌血症（原発巣不明）」と「菌血症を伴う肺炎」の比較において前者がやや多かったが、65歳以上の症例では、免疫抑制状態の有無に関わらず「菌血症を伴う肺炎」が最も多かった（表3）。

入院を要した症例は全体の89.8%で、死亡例は転帰が報告された症例のうち65歳未満では5%であったが、65歳以上の死亡例は転帰が報告された症例のうち20.5%であった。

2. 侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来株の収集状況

184株のすべてがインフルエンザ菌であることを確認した。そのうち、176株（95.6%）が爽膜型別用免疫血清で特異的凝集を示さず、また、PCR法によっても特異的バンドは認められなかったので non-typable *Haemophilus influenzae* (NTHi) と判定した（図2）。また、e型を3株、f型を3株およびb型を各1株認めた。

3. 薬剤感受性試験

ABPC、ABPC/SBT、MEPM、CTX、CTRXの5薬剤の薬剤感受性試験結果は、分離菌株の比較的多くがアンピシリン（64/184、34.8%）に耐性を示した。 β -lactamase産生株は16株であった。 β -lactamase negative ampicillin resistant (BLNA) は48株（25.8%）であった。CTXおよびCTRXに関しては、耐性を示した菌株はなかった。

4. Multi locus sequence typing

図3に示すように、特定のST型の菌株が一部の地域のみから多数分離されるような現象は認められなかった。また、従来指摘されるように、NTHiは、f型、e型およびb型から独立した遺伝子型を示した。

D. 考察

平成25年度から侵襲性肺炎球菌感染症および侵襲性インフルエンザ菌感染症が5類感染症として位置づけられたことや、肺炎球菌に関しては、ワクチン接種に関する公的助成が実施されたことなどから、地方自治体においてこれら疾患の情報収集および分離菌株の性状を把握することは重要である。侵襲性インフルエンザ菌感染症に関しては、インフルエンザ菌b型（Hib）を原因

表2. 侵襲性インフルエンザ菌感染症症例の特徴（2013年4月-2018年12月、n=184）

		症例数 ^{*1}	(%)
免疫抑制状態	免疫抑制状態あり ^{*2}	55/179	(30.7)
	悪性腫瘍（既往を除く）	22/178	(12.4)
	ステロイド/免疫抑制剤/生物製剤治療中	18/164	(11)
	自己免疫疾患あり	10/163	(6.1)
	造血幹細胞移植/臓器移植歴あり	3/179	(1.7)
	その他	8/115	(7)
診断名	菌血症を伴う肺炎	105/173	(60.7)
	菌血症	61/173	(35.3)
	髄膜炎	8/172	(4.7)
	関節炎	3/171	(1.8)
	その他	23/171	(13.5)
	転帰	入院（入院中含む）	149/166
	死亡	30/146	(20.5)

*1. 記載のあった症例を分母として集計

表3. 年齢群別・免疫抑制状態の有無による病型診断の内訳（2013-2018年、診断名の記載のある症例で集計、n=169）

*診断名と免疫状態の記載のある症例で集計

免疫抑制状態	15-64歳		65歳以上	
	あり	なし	あり	なし
症例数	13	31	38	87
菌血症を伴う肺炎	5	8	25	64
菌血症（原発巣不明）	6	20	13	21
髄膜炎	3	2	1	2
関節炎	0	1	2	0
その他	0	14	0	8
調査票記入時点の死亡	0	2	4	21

*髄膜炎（菌血症を伴う）+気管支炎の合併 1例あり（再掲）

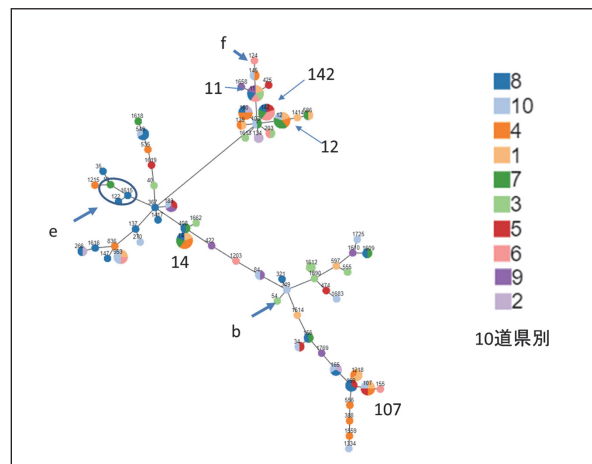


図3. インフルエンザ菌（114株）のmulti locus sequence typing結果（66型）。患者所在地（10道県）別では、特定のSTに集積が認められる道県別菌株もなく、同一STであっても比較的広範な地理的広がりがみられる。血清型b, e, f以外はすべて型別不能株であった。

菌とする小児の敗血症、細菌性髄膜炎のほとんどが、Hibワクチンの導入により世界的レベルで激減している⁶⁾。その一方で、Hibの減少に呼応してNTHiによる侵襲性インフルエンザ菌感染症が報告されるようになった⁷⁾。

侵襲性インフルエンザ菌感染症に関しては、小

児領域においては多くの研究報告がなされているが、成人の侵襲性インフルエンザ菌に関する報告は少ない。今回の結果から、本疾患は特に基礎疾患を有する高齢者に好発し、かつ、莢膜血清型が、5株を除きすべてNTHiであることが判明した。NTHiは、莢膜を有する菌株と比較して、莢膜多糖生合成遺伝子が欠損し莢膜型とは遺伝子レベルで同系列でないと報告がされている⁷⁾。このことから、NTHiは単純に莢膜を欠損したインフルエンザ菌であるとみなすことはできないと考えられる。今後菌株側と生体側との相関関係についての解析が必要であると思われる。なお、分離菌株の莢膜血清型の多くがNTHiであったことから、今後、血清型をさらに詳細に型別する方法の導入も必要であることが示唆された。

薬剤感受性に関しては、ABPCおよびABPC/SBTに、比較的多くの分離株が耐性を示した。小児での調査ではあるが、本邦をはじめとして世界的にも β -lactamase negative ampicillin resistant (BLNAR) および β -lactamase producing ampicillin resistant (BLPAR) の検出事例が多くなっていることから^{7, 8)}、成人においても薬剤耐性に対する監視体制を強化する必要があると思われる。

E. 結論

地衛研から侵襲性肺炎球菌感染症および侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来菌株が順調に送付されつつある。この結果、従来不明であった成人の侵襲性インフルエンザ菌感染症の実態が明らかになりつつある。これらの疾病の血清型などの菌株情報を把握することは、今後のワクチン開発および感染症行政対応における重要な要素であることから、今後も継続していくことが必要であることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許所得：なし

2. 実用新案登録：なし

3. その他：なし

参考文献

- 1) IASR Vol. 34, 2013: 64-66.
- 2) Zhang B, Kunde D, Tristram S. *Haemophilus haemolyticus* is infrequently misidentified as *Haemophilus influenzae* in diagnostic specimens in Australia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014 Dec; 80 (4) : 272-273.
- 3) Falla TJ, Crook DWM, Brophy LN, Maskell D, Kroll JS and Moxon ER. PCR for capsular typing of *Haemophilus influenzae*. *J Clin Microbiol.* 1994; 32: 2382-2386.
- 4) Van Ketel RJ, de Wever B, van Alphen L. Detection of *Haemophilus influenzae* in cerebrospinal fluids by polymerase chain reaction DNA amplification. *J Med Microbiol.* 1990; 33 (4) : 271-276.
- 5) Shuel M, Hoang L, Law DK, Tsang R. Invasive *Haemophilus influenzae* in British Columbia: non: Hib and non-typable strains causing disease in children and adults. *Int J Infect Dis.* 2011; 15 (3) : e167-173.
- 6) Adam HJ, Richardson SE, Jamieson FB, Rawte P, Low DE, Fisman DN. Changing epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* in Ontario, Canada: evidence for herd effects and strain replacement due to Hib vaccination. *Vaccine.* 2010; 28 (24) : 4073-4078.
- 7) Shuel M, Law D, Skinner S, Wylie J, Karlowsky J, Tsang RS. Characterization of non-typable *Haemophilus influenzae* collected from respiratory infections and invasive disease cases in Manitoba Canada. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2010; 58 (2) : 277-284.
- 8) 砂川慶介. 全国小児科外科初診の呼吸器感染症患児より分離された *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* の検討 (2002-2003年) 耐性株の割合および経口抗菌薬に対

する薬剤感受性について. 感染症誌. 2005:
79 (11) : 887-894.

- 9) Sunakawa K, Farrell DJ. Mechanisms, molecular and sero-epidemiology of anti-microbial resistance in bacterial respiratory pathogens isolated from Japanese children. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2007: 13 (6) : 7.