

平成28-30年度
厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書

溶血性レンサ球菌レファレンスセンターの活動

研究分担者	池辺忠義 大西 真	国立感染症研究所 細菌第一部（平成29-30年度） 国立感染症研究所 細菌第一部（平成28年度）
研究協力者	賀澤 優 内田 薫 大屋日登美 山口貴弘 大塚 仁 神田由子 奥野ルミ	福島県衛生研究所 微生物課 富山県衛生研究所 細菌部 神奈川県衛生研究所 微生物部 大阪健康安全基盤研究所 微生物部 山口県環境保健センター 保健科学部 大分県衛生環境研究センター 微生物担当 東京都健康安全研究センター 微生物部

研究要旨 A群レンサ球菌である*Streptococcus pyogenes*は、咽頭炎のようなありふれた病気から劇症型溶血性レンサ球菌感染症のような重篤な感染症を引き起こす。*S. pyogenes*はTタンパク抗原を保有しており、疫学マーカーとして利用されている。本研究では、ラボネットワークを機能的に強化するため、全国の咽頭炎患者分離株および劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株について、T型別を行い、ラボ間での情報の共有などを行った。2015-2017年において咽頭炎由来株のT型は、2015年と2017年はT12型、2016年はT1が最も多かった。一方、劇症型溶連菌感染症患者由来株のT型は2015-2017年全てにおいてT1型が最も多かった。咽頭炎由来株のT1型と劇症型溶連菌感染症患者由来株のT1、TB3264型は、近年パラレルに推移している傾向にあった。

A. 研究目的

A群レンサ球菌である*Streptococcus pyogenes*は、咽頭炎のようなありふれた病気から劇症型溶血性レンサ球菌感染症のような重篤な感染症を引き起こす。本菌種の疫学マーカーとして、TタンパクとMタンパクが知られている。M型別は、力価が低いことや市販の抗血清がないことから、限られた施設でのみ行われている。一方、T型別は市販の抗血清があり、簡易に型別可能であることから、様々な施設で実施可能である。本研究では、全国の咽頭炎患者分離株および劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株について、T型別を行い、ラボ間での情報の共有、および強化することを目的とする。

B. 研究方法

1. 生物材料と培養方法

咽頭炎分離株は、各都道府県の衛生研究所に集められた。劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株は、各都道府県の衛生研究所から各ブロックのレファレンスセンターを通じ国立感染症研究所細菌第一部に集められた。劇症型溶血性レンサ球菌感染症の診断基準は、Working Group on Severe Streptococcal Infections (1993) Defining the group A streptococcal toxic shock syndrome. JAMA 269:390-391.に基づいて定められた感染症法の診断基準に従った。レンサ球菌の生育には、固形培地としてコ

ロンビア 5 % 羊血液寒天培地 (Becton Dickinson) を使用した。

2. ゲノムDNAの調製

血液寒天培地に塗末した菌を 90 μ L の TE (pH8.0) に懸たく後、mutanolysin (Sigma) を添加し、37 $^{\circ}$ C で 1 時間処理した後、DNA 精製キットを用いて精製した。

3. T 血清型別

T 血清型別は、A 群溶血レンサ球菌 T 型別用免疫血清 (デンカ生研) を用い、製品のプロトコールに従い、行った。

C. 研究結果

1. 咽頭炎患者分離株の T 型別

2015-2017 年に全国の衛生研究所に収集された A 群レンサ球菌の菌株総数は、2693 株 (2015 年 1013 株、2016 年 837 株、2017 年 843 株) であり、すべての株に対して T 型別を行った。分離頻度の高かった T 型は、T1 (519/2693, 19.3%)、T12 (500/2693, 18.6%)、TB3264 (384/2693, 14.3%)、T4 (377/2693, 14.0%) であった。T12 型の分離比率は、2016 年以降、増加傾向であった (2015 年, 15.5%、2016 年, 19.2%、2017 年, 21.6%)。T1 型の分離比率は、2015 年以降、増加傾向であったが (2014 年, 11.9%、2015 年, 14.4%、2016 年, 23.5%)、2017 年減少した (2017 年, 20.9%)。TB3264 型の分離比率は、減少傾向にあったが (2014 年, 27.1%、2015 年 15.8%、2016 年, 11.6%)、2017 年増加した (2017 年, 15.1%)。T4 型は、2015 年以降ほとんど同じ分離頻度を示した (2015 年, 4.0%、2016 年 14.0%、2017 年, 14.0%) (図 1)。

2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株の T 型別

2015-2017 年、A 群レンサ球菌による劇症

型溶血性レンサ球菌感染症 (STSS) 患者から分離された菌株が 397 株収集された。最も分離された型は、T1 型であり、分離比率が毎年 30% 以上であった (2015 年, 38.7%; 2016 年, 49.7%; 2017 年, 35.8%)。また、咽頭炎由来株の分離比率 (19.3%) に比べ、高い分離比率を示していた。次いで、TB3264 型が多く、その分離比率は 30% 前後を推移している (2015 年, 25.5%; 2016 年, 16.1%; 2017 年, 21.6%)。次いで T12, T3 型が多かった。この 2 つの型で全体の 50% 以上を占めていた。

D. 考察

T1 型の株は、2015 年から 2016 年にかけて、咽頭炎患者分離株と劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株ともに増加していたが、2017 年ともに減少しており、パラレルに推移している傾向にある。また、TB3264 型も 2012 年頃から急増していることや、2016 年から 2017 年にかけて増加しており、パラレルに推移している。今後どの型が増加傾向にあるか傾向を注視する必要がある。

E. 結論

咽頭炎由来株の T 型は、T1 型と T12 型の分離頻度が高かった。一方、劇症型溶連菌感染症患者由来株の T 型は T1 型が最も多かった。咽頭炎由来株の T1 型と劇症型溶連菌感染症患者由来株の T1、TB3264 型は、近年パラレルに推移している傾向にあった。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

1. Ikebe T, Matsumura T, Nihonmatsu H,

- Ohya H, Okuno R, Mitsui C, Kawahara R, Kameyama M, Sasaki M, Shimada N, Ato M, Ohnishi M. Spontaneous mutations in *Streptococcus pyogenes* isolates from streptococcal toxic shock syndrome patients play roles in virulence. *Sci Rep* 6:28761, 2016.
2. Ikebe T, Okuno R, Sasaki M, Kanda Y, Otsuka H, Kawahara R, Ohya H, Suzuki M, Uchida K, Nihonmatsu H, Ohnishi M, The Working Group for Beta-Hemolytic *Streptococci* in Japan. Molecular characterization and antibiotic resistance of *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis* isolated from patients with streptococcal toxic shock syndrome. *J Infect Chemother.* 24:117-122, 2018.
 3. Yamamura Y, Mihara Y, Nakatani K, Nishiguchi T, Ikebe T. Unexpected Ventriculitis Complication of Neonatal Meningitis Caused by *Streptococcus gallolyticus* Subsp. *pasteurianus*: a Case Report. *Jpn J Infect Dis.* 71:68-71, 2018.
 4. Imai T, Matsumura T, Mayer-Lambertz S, Wells CA, Ishikawa E, Butcher SK, Barnett TC, Walker MJ, Imamura A, Ishida H, Ikebe T, Miyamoto T, Ato M, Ohga S, Lepenies B, van Sorge NM, Yamasaki S. Lipoteichoic acid anchor triggers Mincle to drive protective immunity against invasive group A *Streptococcus* infection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2019 in press
 5. Yoshizawa S, Matsumura T, Ikebe T, Ichibayashi R, Fukui Y, Satoh T, Tsubota T, Honda M, Ishii Y, Tateda K, Ato M. Streptococcal toxic shock syndrome caused by β -hemolytic streptococci: clinical features and cytokine and chemokine analyses of 15 cases. *J Infect Chemother.* 2019 in press
- 学会発表
1. 池辺忠義. 連鎖球菌感染症の疫学 (シンポジウム: 食品媒介連鎖球菌感染症の疫学・食品微生物学・病原機構). 第 39 回日本食品微生物学会学術総会. 9 月 27-28 日, 2018 年, 大阪
 2. 池辺忠義. 劇症型溶血性レンサ球菌について. 2018 年東海北陸ブロック地域レファレンスセンター連絡会議. 11 月 16 日, 2018 年, 愛知
 3. 渡辺美絵, 池辺忠義, 岡村暢大. 劇的な経過を辿った G 群溶血性連鎖球菌感染症の一例. 第 88 回日本感染症学会西日本地方会学術集会. 11 月 16-18 日, 2018 年, 鹿児島
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得
該当なし
 2. 実用新案登録
該当なし
 3. その他
該当なし

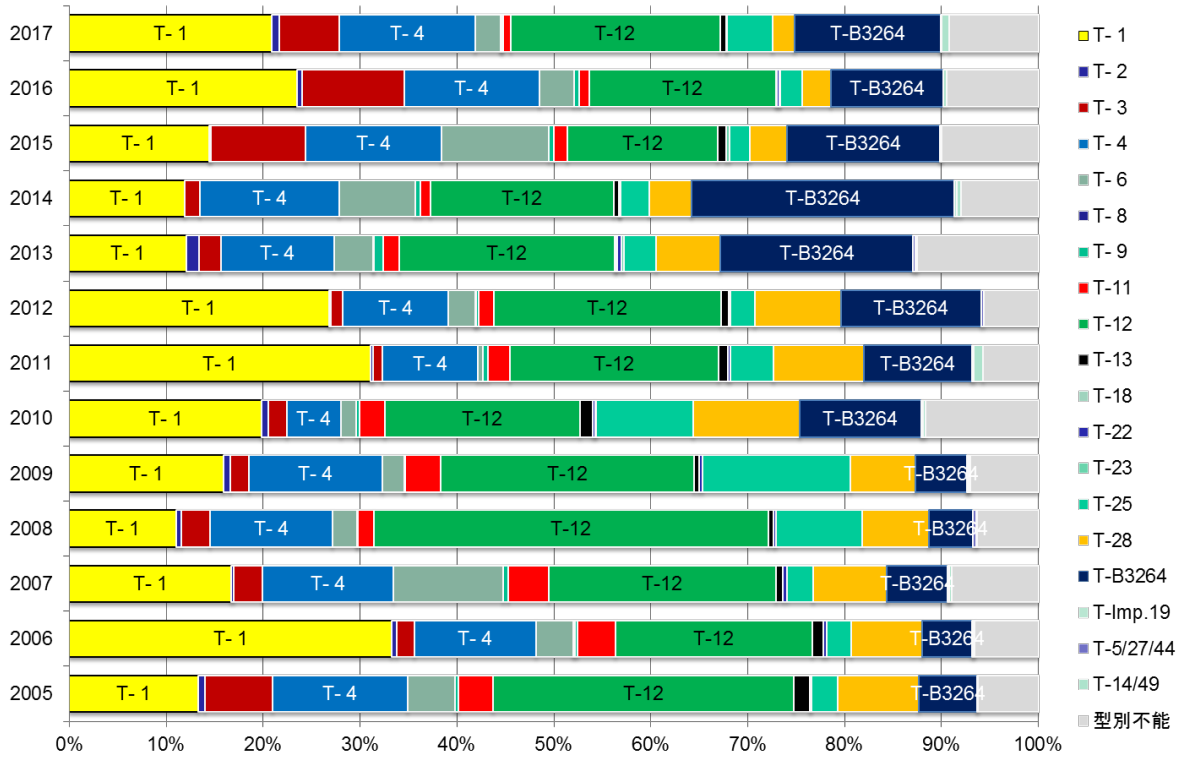


図1. 咽頭炎由来株（A群レンサ球菌）のT型別

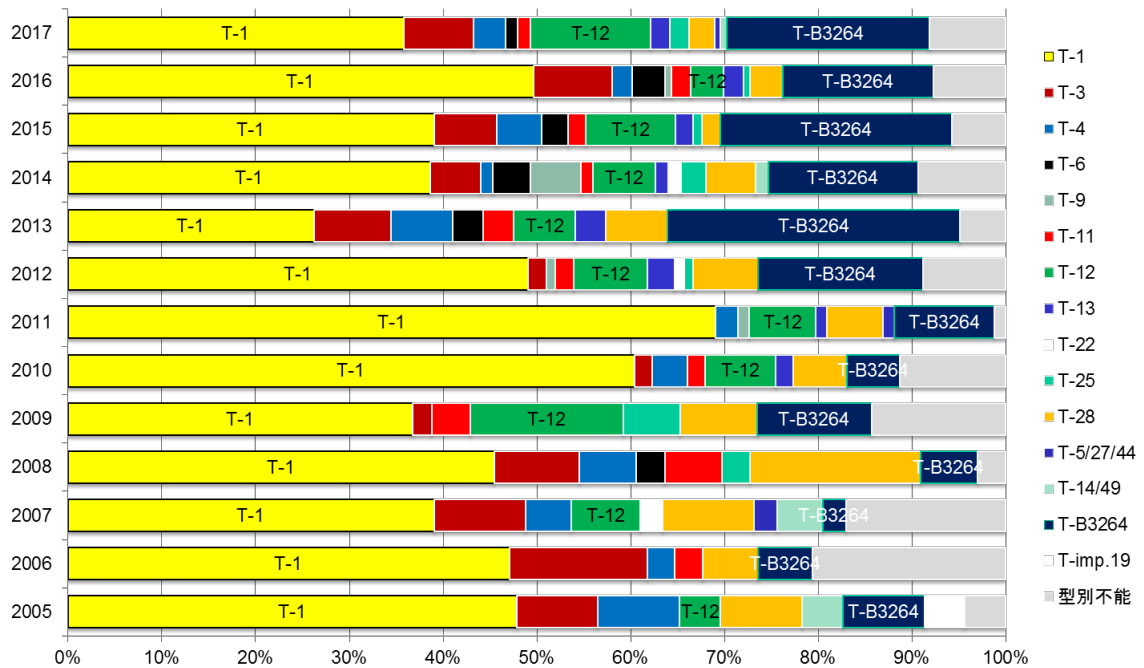


図2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株のT型別