

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を強化するための研究」
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	国立感染症研究所	細菌第一部
研究協力者	賀澤 優	福島県衛生研究所	微生物課
	内田 薫	富山県衛生研究所	細菌部
	大屋日登美	神奈川県衛生研究所	微生物部
	山口貴弘	大阪健康安全基盤研究所	微生物部
	大塚 仁	山口県環境保健センター	保健科学部
	高野真実	大分県衛生環境研究センター	微生物担当
	奥野ルミ	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* は幕表層にTタンパクを保有しており、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。2019年咽頭炎由来株および劇症型溶連菌感染症患者由来株のT型はともに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ムビア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

2019年に全国の衛生研究所に収集されたA群レンサ球菌883株に対してT型別が行われた。分離頻度の高かったT型は、T1 (190/883, 21.5%)、T12 (167/883, 18.9%)、TB3264 (130/883, 14.7%)、T4 (106/883, 12.0%)であった。T1型の分離比率は、2016年以降20%を超えている (2016年, 23.5%、2017年, 20.9%、2018年, 22.1%、2019年, 21.5%)。T12型の分離比率は、昨年とほぼ同じ18%台であった (2018年, 18.3%、2019年, 18.9%)。TB3264型の分離比率は、2018年と比較して減少した (2018年, 19.0%、2019年, 14.7%)。T4型は、昨年とほぼ同じ12%台であった (2018年, 12.3%、2019年, 12.0%)。

2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株の T 型別

2019 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)の報告が 236 症例あった。最も分離された型は、T1 型であり、昨年と程同じ比率であった(2018 年, 39.8%; 2019 年, 39.4%)。また、咽頭炎由来株の分離比率(21.5%)に比べ、高い分離比率を示している。次いで、型別不能が多く、昨年と比較して増加した(2018 年, 15.2%; 2019 年, 21.6%)。次いで、TB3264 型が多く、その分離比率は昨年とほぼ同じであった(2018 年, 18.7%; 2019 年, 16.5%)。

D. 考察

T1 型の株は、2016 年から 2017 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減少していたが、2018、2019 年ともに増加しており、パラレルに推移している傾向にある。また、TB3264 型も 2012 年頃から急増し続けているおり、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、劇症型溶連菌感染症患者由来株の T 型は、ともに T1 型が多かった。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. Matsumura T, Nishiyama A, Aiko M, Ainai A, Ikebe T, Chiba J, Ato M, Takahashi Y. An anti-perfringolysin O monoclonal antibody cross-reactive with streptolysin O protects against streptococcal toxic shock syndrome. BMC Res Notes. 13:419, 2020.
2. Murase K, Nozawa T, Aikawa C, Nagao M, Ikebe T, Yoshida A, Kikuchi T, Nakagawa I. Complete Genome Sequences of *Streptococcus pyogenes* Serotype M3, M28, and M89 Strains Isolated from Human Patients in Japan, 1994 to 2009. Microbiol Resour Announc. 9:e01047-20, 2020.
3. Shinoda Y, Hori T, Sasai H, Ikebe T, Ohnishi H. Neonatal bacteremia caused by *emm* type 80 group A *Streptococcus*: A case report. Pediatr Int. 62:1305-1306, 2020.
4. Hirose Y, Yamaguchi M, Takemoto N, Miyoshi-Akiyama T, Sumitomo T, Nakata M, Ikebe T, Hanada T, Yamaguchi T, Kawahara R,

Okuno R, Otsuka H, Matsumoto Y, Terashima Y, Kazawa Y, Nakanishi N, Uchida K, Akiyama Y, Iwabuchi K, Nakagawa C, Yamamoto K, Nizet V, Kawabata S. Genetic characterization of *Streptococcus pyogenes emm89* strains isolated in Japan from 2011 to 2019. Infect Microbe Dis. 2:160-166, 2020.

5. Shizukuishi S, Ogawa M, Matsunaga S, Tomokiyo M, Ikebe T, Fushinobu S, Ryo A, Ohnishi M. *Streptococcus pneumoniae* highjacks host autophagy by deploying CbpC as a decoy for Atg14L depletion. EMBO Rep. 21:e49232, 2020.

学会発表

1. 池辺忠義. 劇症型A群溶血性レンサ球菌感染症由来株の細菌学的特徴 (シンポジウム: 劇症型 A 群レンサ球菌感染症の謎に迫る). 第 94 回日本感染症学会学術講演会、8月19-21日、2020年、東京.

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