

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）
分担研究報告書

2022年～2024年の10道県における劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株の遺伝子型の分布

研究分担者 池辺 忠義 国立感染症研究所 細菌第一部

A. 研究目的

劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、発病からの病状の進行が急激かつ劇的で、死に至る可能性の高いことが知られている。その主な原因菌は、 β 溶血性レンサ球菌であり、小児に咽頭炎などを引き起こすありふれた病原体である。近年、劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告数が増加している。しかしながら、どのような菌種でどのような型が流行しているか明らかでない。そこで、本研究では、10道県における劇症型溶血性レンサ球菌感染症に注目し、劇症型溶血性レンサ球菌感染症由来株の型別を行うことを目的とした。

B. 研究方法

1. 生物材料と培養方法

劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株が、10道県より集められた。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。溶血性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. emm遺伝子型別

アメリカCDCのホームページの方法に従い、primer 1 (TATT (C/G) GCTTAGAAAATTAA)、primer 2 (GCAAGTCTTC AGCTTGTTT)を用いて、PCRによりemm遺伝子を増幅する。得られたPCR産物をHigh Pure PCR Product purification kit (Roche)を用いて精製し、emm seq2 (TATTCGCTTAGAAAATTAACAGG)プライマーを用いてシーケンス反応を行い、sephadex G-50を用いて精製後、塩基配列を決定した。決定した塩基配列をBlast-emm検索サイト (<http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/streblast.htm>) に必要事項を入力ご送信し、emm遺伝子型を決定した。

(倫理面への配慮)

Helsinki宣言に法り、患者の尊厳を守り、症例記録票では患者氏名は連結可能匿名化するため、プライバシーは保護される。患者情報については診療録から匿名化して情報を抽出し、解析および発表において個々の患者が同定されることはないため、患者に対する不利益は無い。また、インフォームドコンセントの必要性は該当しない。

C. 研究結果

1. 10道県から分離された劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株の群別

2022-2024年に10道県から劇症型溶血性レンサ球菌感染症の患者由来株527株を収集した。道県別では、北海道99株、山形県31株、宮城県30株、新潟県78株、三重県50株、奈良県28株、高知県5株、福岡県136株、鹿児島県23株、沖縄県47株であった。そのうちA群レンサ球菌によるものが246株、G群レンサ球菌によるものが198株、B群レンサ球菌によるものが83株であった(表1)。

2. A群レンサ球菌のemm遺伝子型

A群レンサ球菌のemm遺伝子型を決定した。その結果、最も多い型はemm1型で115株、次いでemm12型が35株、emm89型が29株、emm49型が21株であった。

3. G群レンサ球菌のemm遺伝子型

G群レンサ球菌のemm遺伝子型を決定した。その結果、最も多い型はstG485型とstG6792型でそれぞれ47株、次いでstG652で22株であった。

4. B群レンサ球菌の血清型

B群レンサ球菌の血清型を決定した。その結果、最も多い型はIb型28株、次いでV型が17株であった。

D. 考察

劇症型溶血性レンサ球菌感染症由来のA群レンサ球菌はemm1型が、G群レンサ球菌はstG485型が最も多かった。それぞれのemm型について道県別にみると、特定の道県で分離されておらず、特定の遺伝子型が特定の県で増えていなかった。

E. 結論

- ・10道県で307症例の劇症型溶血性レンサ球菌感染症由来株を収集した。

- ・特定の遺伝子型が特定の県で増えている傾向は見られなかった。

F. 健康危険情報
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Gong W, Ono M, Yamaguchi M, Motooka D, Hirose Y, Higashi K, Kobayashi M, Ikeda E, Sumitomo T, Okuno R, Yamaguchi T, Kawahara R, Otsuka H, Nakanishi N, Kazawa Y, Nakagawa C, Yamaguchi R, Sakai H, Matsumoto Y, Ikebe T, Kawabata S. A comprehensive analysis of antimicrobial resistance of clinical *emm89 Streptococcus pyogenes* in Japan. JAC Antimicrob Resist. 2025 Feb 19;7(1):dlaf017. doi: 10.1093/jacamr/dlaf017.
2. Koizumi N, Shikama Y, Ikebe T, Nagafuchi H, Imagawa T. Toxic shock syndrome caused by *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis*: A report of a rare pediatric case. Cureus. 2025 Feb 5;17(2):e78573. doi: 10.7759/cureus.78573.
3. Ogawa K, Kamiyama J, Ikebe T, Taguchi S, Kiyota K. Streptococcal toxic shock syndrome caused by a *Streptococcus pyogenes emm22* genotype with a CsrS Mutation: a case report. Jpn J Infect Dis. 2024 Nov 21;77(6):348-352. doi: 10.7883/yoken.JJID.2023.332.
4. Ikebe T, Okuno R, Uchitani Y, Yamaguchi T, Isobe J, Maenishi E, Date Y, Otsuka H, Kazawa Y, Fujita S, Kobayashi A, Takano M, Tsukamoto S, Kanda Y, Ohnishi M, Akeda Y, and The Working Group for Beta-Hemolytic Streptococci in Japan. Epidemiological shifts in and impact of COVID-19 on streptococcal toxic shock syndrome in Japan: A genotypic analysis of Group A *Streptococcus* isolates. Int J Infect Dis. 2024 Feb 19;142:106954. doi: 10.1016/j.ijid.2024.01.021.
5. Ikebe T, Okuno R, Uchitani Y, Takano M, Yamaguchi T, Otsuka H, Kazawa Y, Fujita S, Kobayashi A, Date Y, Isobe J, Maenishi E, Ohnishi M, Akeda Y; Working Group for Beta-Hemolytic Streptococci in Japan. Serotype distribution and antimicrobial resistance of *Streptococcus agalactiae* isolates in nonpregnant adults with streptococcal toxic shock syndrome in Japan in 2014 to 2021. Microbiol Spectr. 2023 Feb 14;11(2): e0498722. doi: 10.1128/spectrum.04987-22.
6. Ikebe T, Otsuka H, Chiba K, Kazawa Y, Yamaguchi T, Okuno R, Date Y, Sasaki M, Isobe J, Ohnishi M, Akeda Y. Natural mutation in the regulatory gene (*srrG*) influences virulence-associated genes and enhances invasiveness in *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* strains isolated from cases of streptococcal toxic shock syndrome. EBioMedicine. 2022 Jun 29; 81:104133. doi: 10.1016/j.ebiom.2022.104133.
7. 大泉智哉、阿部良伸、山家研一郎、渡部祐司、大島謙吾、池辺忠義、関雅文、遠藤智之。転帰に差があった家族内発生の *Streptococcus pyogenes* による壊死性筋膜炎の2症例の検討。日本集中治療医学会雑誌 30 (4): 231-234 (2023)。
8. 池辺忠義。A群溶血性レンサ球菌・B群溶血性レンサ球菌・*Streptococcus* 属。小児内科。東京医学社。55 (4): 581-584 (2023)。

2. 学会発表

1. 池辺忠義。劇症型溶血性レンサ球菌感染症の流行の変遷。第28回SRL感染症フォーラム。東京、2024年12月14日。依頼講演。
2. 池辺忠義。劇症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株の細菌学的特徴。令和6年度臨床検査総合部門（公衆衛生・生殖医療分野）研修会。新潟、2024年11月16日。依頼講演。
3. 池辺忠義。溶連菌感染症ー劇症型溶血性レンサ球菌感染症を中心にー。2024年度ネットワーク構築会議。オンライン。2024年10月22日。依頼講演。
4. 池辺忠義，山口貴弘，奥野ルミ，大塚仁，溝腰朗人，池田佳歩，渡邊奈々子，伊達佳美，明田幸宏。Epidemiological shifts in and impact of COVID-19 on streptococcal toxic shock syndrome. 第97回日本細菌学会総会、札幌、2024年8月7-9日。ポスター。

5. 山口貴弘, 安楽正輝, 山本香織, 土井健司, 原田哲也, 河原隆二, 池辺忠義, 河合高生. 大阪で分離した *emm1* 型 A 群溶血性レンサ球菌からの M1UK 株の検出について. 第 97 回日本細菌学会総会、札幌、2024 年 8 月 7-9 日. ポスター.
6. 池田佳歩, 磯部順子, 前西絵美, 木全恵子, 金谷潤一, 齋藤和輝, 池辺忠義, 明田幸宏, 大石和徳. 高齢者施設居住者の腸管内における溶血性レンサ球菌の保菌状況調査. 第 97 回日本細菌学会総会、札幌、2024 年 8 月 7-9 日. ポスター.
7. Weichen Gong, 大野誠之, 山口雅也, 元岡大祐, 広瀬雄二郎, 奥野ルミ, 池辺忠義, 川端重忠. Antimicrobial resistance of *emm89* *Streptococcus pyogenes* isolates from patients throughout Japan. 第 97 回日本細菌学会総会、札幌、2024 年 8 月 7-9 日. ポスター.
8. 池辺忠義. 溶血性レンサ球菌 (*S.pyogenes*) M1UK 株による侵襲性感染症について. 第 3 回地方衛生研究所 Web Mini セミナー. オンライン. 2024 年 1 月 11 日. 依頼講演.
9. 池辺忠義, 大塚仁, 千葉一樹, 賀澤優, 山口貴弘, 奥野ルミ, 伊達佳美, 佐々木麻里, 磯部順子, 大西真, 明田幸宏. *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis* において新規発現制御因子 SrrG の変異が劇症型溶血性レンサ球菌感染症を誘導する. 第 52 回レンサ球菌研究会、仙台、2022 年 7 月 30 日.
10. 秋山徹, 奥野ルミ, 山口雅也, 広瀬雄二郎, 大野誠之, 池辺忠義. 劇症型連鎖球菌感染症原因菌のデータベース構築. 第 96 回日本細菌学会総会、姫路、2023 年 3 月 16 日. 口頭、ポスター.
11. 大野誠之, 山口雅也, 元岡大祐, 広瀬雄二郎, 東孝太郎, 秋山徹, 住友倫子, 池辺忠義, 奥野ルミ, 川端重忠. 侵襲性に関与する *emm89* 型化膿レンサ球菌の因子の探索と分子生物学的解析. 第 96 回日本細菌学会総会、姫路、2023 年 3 月 17 日. ポスター.

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

表 1. 2023年に10道県で分離された劇症型レンサ球菌感染症患者分離株

	A群	B群	G群	計
北海道	57	13	29	99
山形県	9	4	18	31
宮城県	15	3	12	30
新潟県	29	15	34	78
三重県	18	8	24	50
奈良県	10	7	11	28
高知県	1	2	2	5

福岡県	66	20	50	136
鹿児島県	14	3	6	23
沖縄県	27	8	12	47
計	246	83	198	527