

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

2023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

研究要旨

劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、急激に進行する致死性の高い感染症である。その主な原因菌は、 β 溶血性レンサ球菌である。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由来株の *emm* 型を行った。10道県で113症例の劇症型溶血性レンサ球菌感染症を引き起こした溶血性レンサ球菌が収集された。内訳は、A群42株、B群20株、G群51株であり、G群が最も多かった。A群は *emm1* 型、G群は *st66792* 型が最も多かった。B群は、血清型1b型とV型が最も多かった。

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℃で1時間処理した後、DNA精製キットを用いて精製した。

3. 塩基配列の決定

Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer、あるいは、ABI 3500 Genetic Analyzerを用いて、塩基配列を決定した。

4. *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 (GCAAGTTCTTCAGCTTGTTT)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 (TATTCGCTTAGAAAATTAAAAACAGG)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/strepblast.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ない。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

2023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113株を収集した。道県別では、北海道9株、山形県8株、宮城県4株、新潟県13株、三重県14株、奈良県7株、高知県0株、福岡県48株、鹿児島県6株、沖縄県4株であった。そのうちA群レンサ球菌によるものが42株、G群レンサ球菌によるものが51株、B群レンサ球菌によるものが20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13株、次いで*emm12*型が10株、*emm89*型が7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*stG6792*で13株、次いで*stG485*が10株、*stG652*型が9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型とV型で6株ずつ、次いでIa型とIII型が4株筒であった。

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*stG6792*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113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. 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.
2. 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.
3. 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)。
4. 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

該当なし

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	C群	G群	計
北海道	3	1	0	5	9
山形県	3	1	0	4	8
宮城県	1	0	0	3	4
新潟県	3	5	0	5	13
三重県	2	2	0	10	14
奈良県	1	5	0	1	7
高知県	0	0	0	0	0
福岡県	24	5	0	19	48
鹿児島県	3	0	0	3	6
沖縄県	2	1	0	1	4
計	42	20	0	51	113