

主論文の要旨

**Predominance of Serogroup 19 CC320/271 among
Penicillin-Nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae*
Isolates after Introduction of the PCV7 Vaccine in
Several Regions of Japan**

日本における7価肺炎球菌ワクチン導入後のペニシリン非感性肺炎
球菌株での血清型19 CC320/271の流行

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態内科学講座 呼吸器内科学分野

(指導：長谷川 好規 教授)

大舘 満

【背景】

肺炎球菌は気道感染症・中耳炎などの主な起因菌であり、その他に敗血症・化膿性髄膜炎といった侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) の原因となり、抗菌剤が発達した現代においても、しばしば致命的となりうる。1990 年以後、ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) が世界的に流行し、大きな社会問題となった。2000 年に米国で 7 価肺炎球菌抱合型ワクチン (PCV7) が導入されると、IPD は劇的に減少し、特に PCV7 に含まれる莢膜型である 4, 6B, 14, 9V, 18C, 19F, 23F による IPD の発生は劇的に減少した。一方で、PCV7 導入後にワクチンでカバーされていない莢膜型 19A の PRSP の増加についての報告が各国から相次いでいる。これらの莢膜型 19A の PRSP 株はいずれの地域においても遺伝型を調べると、clonal complex 320 (CC320) に属しており、PRSP 株における特定クローンの世界的な流行が示唆されている。わが国では 2010 年に PCV7 が導入され、以後、IPD 発生率は急速に減少している。しかし、日本における PCV7 導入後の PRSP 株を対象とした疫学研究はなく、今回、日本各地の PCV 導入後に臨床現場より分離されたペニシリン低感受性株を対象に莢膜型および multilocus sequence typing (MLST) 解析による遺伝型を調査し、さらに PRSP の耐性化の原因であるペニシリン結合蛋白 (PBP) の遺伝子変異を解析することを目的とした。

【方法】

2010 年から 2014 年にかけて日本各地の臨床現場より収集した肺炎球菌株 1057 株を研究対象とした。ペニシリン最小発育濃度 (PEN MIC) が $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ であった菌株をペニシリン低感受性肺炎球菌 (PNSSP) と定義し、他の抗菌剤への感受性をしらべ、莢膜型や遺伝型を同定し、PBP の遺伝子配列を解析した。

【結果】

PNSSP と定義した PEN MIC $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ の肺炎球菌株は 23 株 (2.2%) であった (Fig. 1, Table 1)。PNSSP 株の他の薬剤に対する耐性率は、セフトキシム (CTX) 耐性株 12 株 (52.2%)、メロペネム (MEM) 耐性株 10 株 (43.5%) であり、エリスロマイシン (ERY) 耐性株 23 株 (100%) であった (Table 1)。

莢膜型の解析では PCV7 のワクチンタイプの莢膜型である 19F (14 株、60.9%) と 23F (4 株、17.4%) が PNSSP 株のなかで多くを占めていた。ノンワクチンタイプの 19A は 3 株 (13%) であった (Table 2)。

MLST 解析では CC320/271 が 16 株 (69.6%) と最も多くを占めたクローンであり、さらに CC320/271 に属するクローンは第三世代セファロスポリンへ高度耐性を示す傾向があった (Table 2, 3)。

PBP 遺伝子変異の解析では、PBP1a および PBP2b における特定のクローンに特徴的なアミノ酸配列は認めなかった。PBP2x では T339A/M339F と M400T のアミノ酸置換が PEN および CTX 耐性株で認められた。また、CTX 高度耐性株 (CTX MIC $\geq 4 \mu\text{g/ml}$) の 2 株において、以前に報告のない特徴的なアミノ酸置換を認めた (Table 4)。

【考察】

PCV7導入後、多剤耐性クローンである莢膜型19A CC320の出現が世界中に問題となっている。しかし、日本ではPCV7導入後のペニシリン耐性株についての疫学研究の報告はなく、特に、MLST解析による分子疫学研究は限られているため、今回、これらの株を対象に研究を行った。

今回我々が収集した肺炎球菌株からはPNSSP株(PEN MIC ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$)は2.2%検出された。同時期のJapan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS)の報告でもPNSSPは2.5%-2.6%の検出率であり、今回の我々の研究と同様であった。しかし、我々の研究のリミテーションとして菌株の臨床情報が限られていることや保菌部位からの検体が多く含まれている可能性があることが挙げられる。このため、今回の結果と、IPDの患者検体で調べた研究からの結論とが若干異なってくる可能性がある。

今回我々は、日本においても諸外国と同様にPCV7導入後にペニシリン耐性株においてCC320が多くを占めていることを示した。さらに、我々が調べたCC320株に対しては β -ラクタム系抗菌薬は高いMICを示し、特に三代セファロスポリンではその傾向が強かった。PBP遺伝子変異の解析ではPBP1aおよびPBP2bではCC320/271に特徴的なアミノ酸置換は認めなかったが、PBP2xでセファロスポリン耐性に重要と考えられているいくつかのアミノ酸置換を保有しており、CC320/271はこれらのアミノ酸置換を保有ことでセファロスポリン耐性と示すことが示唆された。

また、本研究ではPCV7導入後の臨床分離検体にも関わらず、PCV7に含まれる莢膜型19FがPNSSP株で最も多くを占めており、PCV7導入後に世界的に流行している19Aは少数であった。また、同じclonal complexに含まれてはいるものの、アジア各国の19Aで多く報告されているST320ではなく、ST236が多くを占めていた。同様にアジア各国からはCC320に含まれるST271やST236の報告もあり、各国における地域性が示唆された。

19F ST236の流行についてはPCV7導入前の日本でも報告されている。このため、19F ST236はPCV7導入前より存在しており、PCV7導入後もペニシリン耐性株として残っていたものと考えられた。今回検出された19A ST320のPNSSP株は少数ではあったものの、PCV7導入から2年たち、PCV7接種後と推測される2013年の幼児の検体から検出されており、今後は諸外国と同様に19A ST320のPNSSP株が増加してくることが予測される。

2010年にPCV7導入後、6Bや19Fなどのワクチンタイプの莢膜型によるIPDの劇的な減少およびノンワクチンタイプの19Aなどによる肺炎球菌感染の増加が報告されている。しかし、我々のデータではペニシリン耐性株のあいだではPCV7導入後も19F ST236が多くを占めていた。これらの株は、いずれもCC320/271に属するクローンであり、なおかつ β -ラクタムに高度耐性を示すため、今後も注意深く追跡調査を続ける必要がある。

【結論】

PCV7 導入後のペニシリン耐性肺炎球菌株において CC320/271 の流行を認めた。