

千葉県で分離されたA群レンサ球菌について

小岩井健司

Characterization of Group A Hemolytic Streptococci in Chiba Prefecture

Kenji KOIWAI

1 はじめに

A群レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*) は咽頭炎や扁桃炎等の起因菌であるとともに、多臓器不全や軟部組織の壊死等を起こし急激な病態を惹起する劇症型感染症 (Toxic Shock Like Syndrome) 起因菌として知られている。本菌による劇症型感染症は、1992年に清水ら¹⁾が本邦初事例を報告し、以後千葉県の38例をはじめ全国で多くの事例が確認²⁾されている。

A群レンサ球菌による劇症型感染症事例の報告がなされた当時、千葉県内ではA群レンサ球菌の分離状況等の調査はほとんど実施されていなかった。そのため、劇症型感染症発生時の県内におけるA群レンサ球菌の侵淫状況等は全く不明で、流行菌型と劇症型患者由来株の血清型との関係を明確にすることができなかった。そこで著者は1994年2月から2002年3月まで千葉県内の4病院の協力を得て、県内のA群レンサ球菌のT血清型の分布状況やその一部については発熱毒素 (Streptococcal Pyrogenic Exotoxin ; SPE) 遺伝子の保有状況の調査を行い、流行血清型等について若干の知見を得た。また、県内で発生した劇症型A群レンサ球菌感染症由来株についても同様な検査を行ったのでその結果を併せて報告する。

2 材料と方法

1) 供試菌株

成田赤十字病院 (1994年2月から1998年3月)、千葉市立病院 (1994年2月から1998年3月)、国保旭中央病院 (1994年2月から2000年2月) および亀田総合病院 (1994年2月から2002年3月) の4病院の協力により収集された株と他の施設から血清型別を依頼された5,058株を供試した。なお、これらの株はいずれも咽頭、鼻腔等の上気道粘膜から分離された株で、皮膚、膿等の分泌物由来株は含めていない。

劇症型由来株は本感染症が発生した各病院と国立感染症研究所から送付された38株である。

2) 群別と型別

分離株の群別は Phadebact streptococcus test (Pharmacia Diagnostics) で、また、T型別はT型別用免疫血清 (デンカ生研) を用いて行った。

3) PCR法によるSPE遺伝子の保有状況

供試株の一部についてSPEA、BおよびC遺伝子 (*speA*, *speB*, *speC*) の保有状況の調査を、PCR法により実施した。被検菌をTodd Hewitt Broth (BBL) で35℃、1夜培養後、その100 μ lを95℃、10分間加熱したものをDNA抽出液とした。PCRは94℃、30秒、55℃、30秒、72℃、60秒で30サイクル行った。増幅されたDNAは1%アガロースを用いてTBE buffer 中で電気泳動後、エチジウムブロマイド染色し、各遺伝子の有無を確認した。なお、プライマーは岸下ら³⁾の報告によった。

3 成績

1) T血清型の推移

1994年2月から2002年3月までに分離されたA群レンサ球菌5,058株のT型別結果を表1に、主な血清型の年次推移を図1に示した。分離株は17のT型に型別され、総分離株数に対する分離率が10%を超えた血清型はT12 (24.0%)、T1 (18.7%)、T4 (12.3%) で、以下T28 (9.0%)、T6 (7.8%)、TB3264 (6.1%) などであった。

主な血清型について分離率の推移をみると、総株数中の分離率の高いT12、T1は、調査した9年間そのどちらかが常に第1位の分離率であった。また、T4もコンスタントに分離される血清型であった。一方、1994年に15.5% (103株) と高い分離率であったT3は1996年以降激減した。T6もまた特徴的な検出推移を示し、1995年に7株 (1.1%) 分離後、96年6.8%、97年17.1%、98年15.6%と高い分離率を示したものの以後急激に減少し、2001年、2002年には分離されなかった。

次に年毎の各血清型の分離状況であるが、調査を開始した1994年は上に記したようにT3 (15.5%) の分離株数が多く、T1 (21.8%)、T12 (20.9%) に次いだ。希少な血清型であるT14/49が調査期間を通じて唯一分離 (1株) された。1995年はT12の分離率が約4割と非常に高く、次いでT28 (17.4%)、TB3264 (11.6%) であったが、T3は4.1%に減少した。1996年も前年と同様にT12 (26.6%)、T28 (17.0%)、T1 (11.5%) の分離率が高かったが、型別不能株の増加が目立ち13.9% (110株) に及んだ。1997年、1998年はT1、T4、T12、T28が従前と同様に高率の分離傾向を示した他に、T6がそれぞれ17.1%、15.6%と突然流行株となった。また、1999年は今まで0.3%から5.3%程度の分離率であったT25が16.4%と著しく高くなったことが特徴であった。2000年から2002年は供試した株数が減少したが2000年はT12 (33.1%) が、2001年、2002年はT1 (2001年38.1%、2002年36.4%) が分離株数の3割を超える流行株であった。

千葉県衛生研究所

(2002年1月18日受理)

表1 千葉県で分離されたA群レンサ球菌のT血清型の推移

T型	各年のT血清型別分離株数(%)									
	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	計(%)
T 1	<u>145</u> (21.8)	52(8.3)	<u>91</u> (11.5)	262(27.3)	<u>217</u> (23.1)	<u>63</u> (10.1)	<u>55</u> (18.6)	<u>40</u> (38.1)	<u>20</u> (36.4)	945(18.7) ²
T 2	2(0.3)		26(3.3)	13(1.4)	16(1.7)	46(7.4)	43(14.5)	2(1.9)		148(2.9)
T 3	<u>103</u> (15.5)	26(4.1)	3(0.4)	2(0.2)	1(0.1)			1(1.0)		136(2.7)
T 4	42(6.3)	56(8.9)	64(8.1)	143(14.9)	176(18.8)	82(13.2)	43(14.5)	5(4.8)	13(23.6)	624(12.3)
T 6		7(1.1)	54(6.8)	<u>164</u> (17.1)	146(15.6)	23(3.7)	2(0.7)			396(7.8)
T 8	5(0.8)	1(0.2)	2(0.3)	2(0.2)	1(0.1)					11(0.2)
T 9	1(0.2)	3(0.5)	9(1.1)	1(0.1)	1(0.1)	2(0.3)		2(1.9)		19(0.4)
T11	18(2.7)	10(1.6)	24(3.0)	14(1.5)	3(0.3)	8(1.3)	2(0.7)	1(1.0)	1(1.8)	81(1.6)
T12	<u>139</u> (20.9)	247(39.3)	211(26.6)	153(16.0)	155(16.5)	190(30.6)	98(33.1)	18(17.1)	1(1.8)	1212(24.0)
T13	9(1.4)	1(0.2)	2(0.3)	19(2.0)	7(0.7)	5(0.8)	2(0.7)	<u>1</u> (1.0)	10(18.2)	56(1.1)
T14/49	1(0.2)									1(0.0)
T18	30(4.5)	15(2.4)	5(0.6)	4(0.4)	8(0.9)					62(1.2)
T22	11(1.7)	3(0.5)	1(0.1)		19(2.0)		2(0.7)	4(3.8)		40(0.8)
T23		1(0.2)	1(0.1)							2(0.0)
T25	9(1.4)	2(0.3)	4(0.5)	4(0.4)	50(5.3)	102(16.4)	15(5.1)	6(5.7)	2(3.6)	194(3.8)
T28	62(9.3)	109(17.4)	<u>135</u> (17.0)	73(7.6)	44(4.7)	14(2.3)	3(1.0)	12(11.4)	<u>3</u> (5.5)	455(9.0)
TB3264	79(11.9)	73(11.6)	50(6.3)	26(2.7)	30(3.2)	32(5.2)	10(3.4)	6(5.7)	1(1.8)	307(6.1)
U T ¹	8(1.2)	22(3.5)	110(13.9)	79(8.2)	64(6.8)	54(8.7)	<u>21</u> (7.1)	7(6.7)	4(7.3)	369(7.3)
計	664(100)	628(100)	792(100)	959(100)	938(100)	621(100)	296(100)	105(100)	55(100)	5,058(100)

1 : UTは型別不能 2 : 総分離株総数に対する各血清型株数の%
 数字の下の は劇症型感染症が発生した血清型

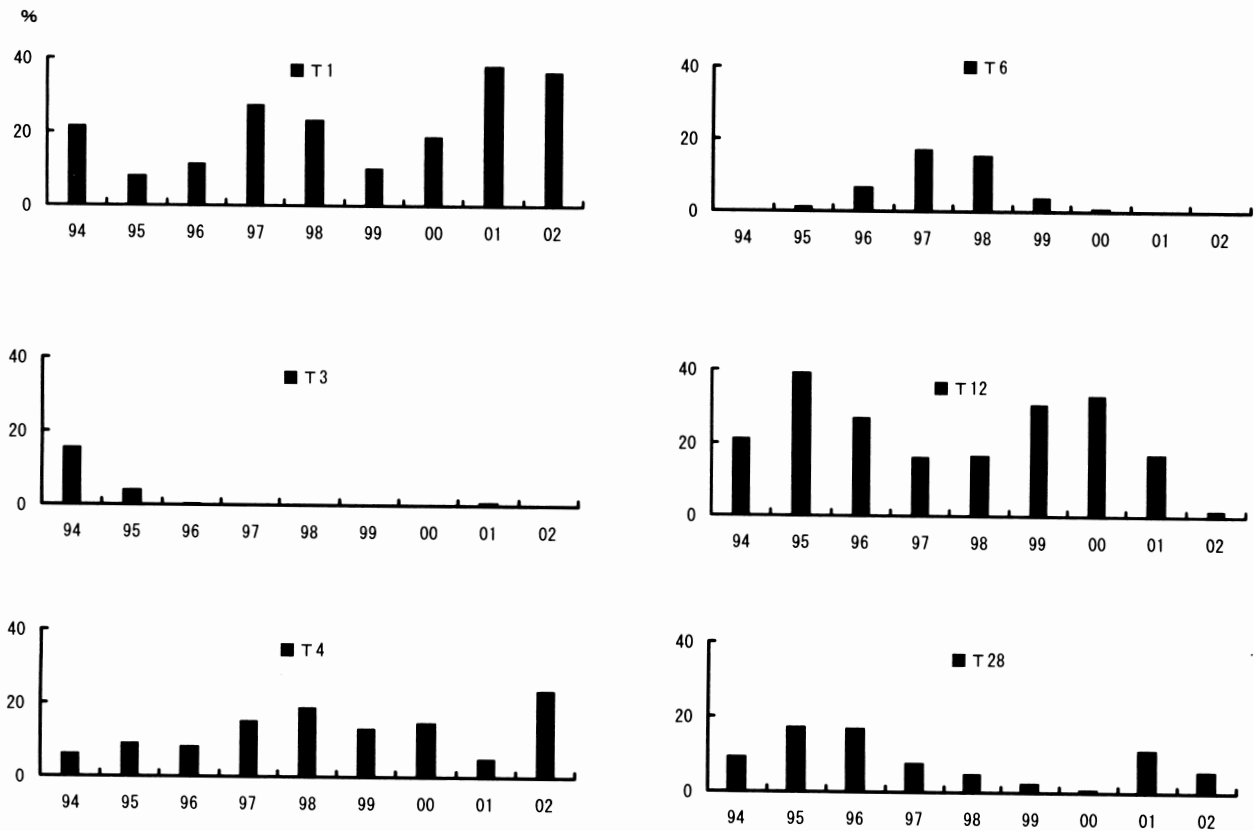


図1 年毎のA群レンサ球菌の主な血清型の分離状況

2) 劇症型感染症から分離されたA群レンサ球菌

表2および図2に1992年6月から2002年12月までに千葉県で発生した劇症型A群レンサ球菌感染症38例の一覧を示す。患者は1993年, 1994年に多発し, それ以後やや減少の傾向が認められたが最近また増加している。死亡者は1995年, 1997年を除き毎年認められ, 転帰が不明の6例を除いた32例中18事例(56.3%)が死亡例で, 高い死亡率を示した。特に, 1992年, 1993年は8事例中7事例が死亡事例であった。発症年齢は表3に示すように20歳以下の患者は1名のみで, 高齢者に多発し, その死亡者も40歳以下4名に対し41歳以上は14名で死亡者の77.8%を占めた。なお, 発症者の男女比はほぼ1:1であった。

分離株のT型は38株中T1が12株(31.6%)と最も多く, 次いでT3が8株(21.1%), T28が5株(13.2%), T4が3株(7.9%), 以下TB3264, UT, 2株, T6, 8, 11, 12, 13および22が各1株であった。劇症型患者から分離された株のT型と県内で分離されたA群レンサ球菌のT型の推移との関係を表1でみると, 調

表2 千葉県で発生した劇症型A群レンサ球菌感染症

事例	発生年月	T型	保有SPE遺伝子	性別	年齢	転帰
1	1992.6	3	A, B	男	44	死亡
2	1992.7	4	B, C	女	6	死亡
3	1993.3	3	A, B	女	29	死亡
4	1993.6	22	B, C	男	37	死亡
5	1993.11	11	B	女	52	死亡
6	1993.12	4	B, C	女	69	治癒
7	1993.12	3	A, B	男	70	死亡
8	1993.12	3	A, B	男	45	死亡
9	1994.1	3	A, B	男	34	治癒
10	1994.2	3	A, B	男	64	死亡
11	1994.3	3	A, B	女	77	治癒
12	1994.4	3	A, B	男	67	治癒
13	1994.5	1	A, B	女	42	死亡
14	1994.9	4	B, C	女	35	治癒
15	1994.12	12	B, C	男	61	治癒
16	1996.2	28	B, C	男	78	死亡
17	1996.4	1	A, B	女	28	死亡
18	1996.5	28	B, C	女	78	死亡
19	1996.12	8	B	女	48	治癒
20	1997.3	6	A, B, C	男	67	治癒
21	1998.2	1	A, B	女	62	治癒
22	1998.3	1	A, B	男	69	死亡
23	1999.6	1	A, B	女	59	死亡
24	1999.12	1	A, B	女	65	死亡
25	1999.12	1	A, B	男	31	治癒
26	2000.1	1	A, B	男	60	死亡
27	2000.2	UT	B	男	57	治癒
28	2000.7	28	B	男	58	治癒
29	2001.2	13	B, C	男		不明
30	2001.7	B3264	B	女	90	死亡
31	2001.8	B3264	B			治癒
32	2001.11	1	A, B	男	42	不明
33	2001.12	UT	B	女	80	不明
34	2002.2	1	A, B	女	34	不明
35	2002.7	28	B	男	70	不明
36	2002.7	1	A, B	女	34	不明
37	2002.9	28	B	女		治癒
38	2002.9	1	A, B	女	68	死亡

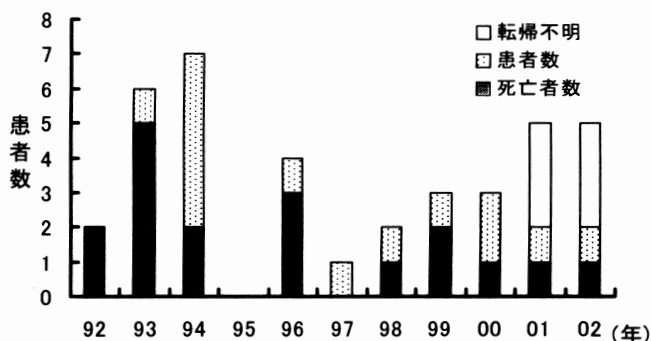


図2 劇症型A群レンサ球菌感染症の発生状況と死亡例

表3 劇症型A群レンサ球菌感染症患者の年齢別患者数, 男女別患者数および死亡者数(%)

年齢	患者数	男	女	死亡者数
0-20	1(2.6)	0	1	1
21-30	2(5.3)	0	2	2
31-40	6(15.8)	3	3	1
41-50	5(13.2)	3	2	3
51-60	5(13.2)	2	3	3
61-70	11(28.9)	7	4	5
71-	5(13.2)	1	4	3
不明	3(7.9)			
計	38(100.0)	16	19	18

査した9年間を通じ主要な流行型であったT1型は劇症型でも最も分離株数が多い血清型であり, 1995年および1997年を除き毎年患者発生が報告された。しかし, 同様に主要な流行型であったT4, T12ではその患者発生は1993年, 1994年のみであり, 血清型による病原性の強弱が示唆された。また, 1994年以前に劇症型感染症の報告の多かったT3型は, 一般臨床由来株の分離が1995年以降激減するとともに患者発生報告もみられなくなった。一方, T6による劇症型感染症はT6の分離がピークを迎えた1997年にその発生が確認された。

3) A群レンサ球菌のS P E遺伝子保有状況

一般臨床由来216株と劇症型由来株38株のS P E遺伝子の保有状況を表4に示した。

血清型により保有する遺伝子に特徴がみられ, SPEB遺伝子は供試株すべてが保有していたがSPEA, SPECを単独で保有する株はなかった。SPEAはT1, 3, 6, 8, 11および13のみにみられ, T3および8の血清型ではSPECの保有株は分離されなかった。

劇症型由来株と一般臨床由来株についてみると, 劇症型由来株はSPEAを55.3%(21/38)が保有していたのに対し, 一般臨床由来株は29.2%(63/216)でその保有率に差が認められた。

主要な流行血清型であったT1, 4, 12についてみると, SPEAを保有するT1による劇症型患者が1995年, 1997年を除いて毎年発生し, 計12名みられたのに対し, SPEAの保有株が認められなかったT4, T12では1994年以前にT4, 3名, T12, 1名の報告があったもののその発生は少なかった。また, T1に次いで劇症型患者発生が多かったT3も供試した全株(8株)がSPEA遺伝子保有株であった。しかし, T8, 11および13では一般臨床由来株にはSPEA遺伝子保有株が認められたものの, 劇症型由来株はSPEA遺伝子を保有していなかった。

表4 A群レンサ球菌の発熱毒素遺伝子保有状況

T型	保有遺伝子	劇症型由来株 (n=38)	一般臨床由来株 (n=216)
1	A, B, C		1
	A, B	12	29
	B, C		1
3	A, B	8	22
4	B, C	3	19
6	A, B, C	1	5
8	A, B		3
	B	1	1
11	A, B, C		2
	B	1	4
	B, C		5
12	B		4
	B, C	1	39
13	A, B, C		1
	B	1	6
18	B, C		10
22	B		1
	B, C	1	8
25	B		5
	B, C	1	3
28	B	3	1
	B, C	2	21
B3264	B	2	21
	B, C		4
UT	B	2	

4 考察

A群レンサ球菌感染症は、幼児や学童を始めとして広く蔓延している疾病であり、旧来から血清疫学あるいは病原性について広く調査研究が行われてきた。しかしながら、千葉県では長期間にわたるT血清型などの調査が行われていなかったため、劇症型A群レンサ球菌感染症発生時にA群レンサ球菌の流行血清型等のバックグラウンドが明確ではなかった。千葉県では1993年に劇症型感染症が多発し、6事例中5事例が死亡例となったことを受けて、劇症型A群レンサ球菌感染症対策¹⁾を実施した。その一環として著者は県内で分離されるA群レンサ球菌の血清型等の調査を開始した。

調査を実施した9年間のA群レンサ球菌のT血清型分離状況を見ると、調査期間を通じてコンスタントに検出される型と大きな流行の波がある型とに分かれる傾向があった。コンスタントに分離される血清型としてT12、T1があり、調査期間中どちらかが常に第1位の分離率であった。また、T4も年次変動が少ない血清型であった。この傾向は全国で分離されるA群レンサ球菌のT型別結果^{2,5)}と同様であり、年次変動が急激な血清型がT6、T25、T3等であったことも全国の解析結果と同傾向であった。

わが国ではA群レンサ球菌の消長はこれまで主としてT血清型による解析によって実施されてきた。そのため、ある血清型の流行があった場合、すべての地域で同一のクローンが流行しているのかあるいは同一の血清型であっても地域によっては他のクロー

ンが流行しているかは依然明らかではない。今後多くの病原細菌の分子疫学調査に応用されているパルスフィールドゲル電気泳動法等による遺伝子解析を併用して調査を行っていくことが、流行株の推測や病原性の強い株の存否等の解析により有効と思われる。

劇症型A群レンサ球菌感染症は千葉県で初事例が報告された後も千葉県での報告が多かったため、県内で分離されるA群レンサ球菌のT血清型分布に全国と比較して相違があるか否かに興味を持たれた。しかしながら、上述したように1994年以降の血清型推移は全国的な傾向とほぼ同様であり、また、表には示さなかったが患者発生報告が多くみられた千葉県北部の病院と他の地域の病院との間にもその血清分布に差は認められなかった。

1992年、1993年のT血清型調査は千葉県では実施していないが、全国の検出率は1992年はT1、T4、T12の順であり、1993年はT4、T12に次いでT3が検出され、一般臨床由来株におけるT3の検出率が急に高くなったことが報告³⁾されている。このT3型は1994年にも高頻度で分離された。血清型の検出状況の推移と千葉県の劇症型発生との関連をみると、千葉県でもT3型による劇症事例は1992年から1994年に集中しており、一般臨床株でT3型が減少した1995年以降はみられていない。しかし、劇症型で最も事例の多いT1型は1994年1例、1996年1例の他、1998年以降にその発生が多くみられ、T1と同様に主要な流行菌型であるT4、T12による劇症型は希であった。全国調査あるいは千葉県での調査期間中T4、T12の検出頻度が常に高かったことを考えるとT血清型の検出頻度と劇症型の発生とは必ずしも一致しなかった。これら流行菌型と劇症型発生者の血清型が一致しない原因としてA群レンサ球菌に対するヒトの感染防御抗体の有無が関与⁴⁾しているともいわれているが流行菌型であるT1型では劇症型事例が多いことなど明らかではないことも多い。

T1型による劇症型感染症は千葉県では1998年以降に急増した。1980年代に分離されたT1型と1990年代に分離されたT1型のクローンは異なっているとの報告⁵⁾もあり、1998年以降の急増はT1型のクローンに変化があったことも考えられ、この点についての検討が必要である。

劇症型A群レンサ球菌感染症の病原因子について、SPEAの関与⁶⁾、劇症型由来株に特有なDNA領域の存在等の報告⁷⁾、感染者側については感染者のA群レンサ球菌のC多糖体に対する抗体が低い人に死亡例が多いという指摘⁸⁾もある。千葉県の事例でもSPEA遺伝子を持つ株による事例が多いのは確かであるが明確な回答は得られていない。

現在まで多くの劇症事例について詳細な検討がなされ、その対応も進みつつあるが劇症型A群レンサ球菌感染症の死亡率は依然として高い。早期に菌側、感染者側の両面から発症機序を明らかにし、その発生防止と治療面でのより一層の発展が望まれる。

謝辞

菌株の収集に御協力戴いた4病院の諸先生方、菌株を分与いただいた前東京都立衛生研究所五十嵐英夫博士、国立感染症研究所の諸先生に深謝する。

5 文 献

- 1) 清水可方, 大山晃弘, 笠間和典, 宮崎増美, 大江健二, 大河内康実 (1993): A群溶血性連鎖球菌による toxic shock like syndrome, 感染症学雑誌, 67(3), 236-239
- 2) 〈特集〉溶血性レンサ球菌感染症 1996~2000, 病原微生物検出情報, 21, 240-241
- 3) 岸下雅通, 山崎伸二, 竹田美文 (1992): A群溶連菌の産生する発赤遺伝子のPCRによる型別判定, 日本臨床, 642, 326-332
- 4) 千葉県衛生部: 平成6年2月3日付け保予第1194号, 劇症型A群レンサ球菌感染症対策について
- 5) 〈特集〉溶連菌感染症 1992.1~1994.8, 病原微生物検出情報, 15, 243-248
- 6) Stevens, D.L. (1995): Streptococcal toxic-shock syndrome: spectrum of disease, pathogenesis, and new concepts in treatment: *Emerg. Infect. Dis.*, 1, 69-78
- 7) 村瀬敏之, 鈴木理恵子, 山井志朗 (1999): *Streptococcus pyogenes* の分子疫学, 日細菌誌, 54(3), 617-629
- 8) Hauser, A.R., Stevens, D.L., Kaplan, E.L., Schlievert, P. M. (1991): Molecular analysis of pyrogenic exotoxins from *Streptococcus pyogenes* isolates associated with toxic shock-like syndrome, *J. Clin. Microbiol.*, 29, 1562-1567
- 9) 稲垣善茂, 渡辺治雄 (1997): A群レンサ球菌の病原因子, 渡辺治雄, 清水可方監修, 劇症型A群レンサ球菌感染症, 近代出版, 東京130-148
- 10) 大江健二: 私信