

研究経過報告書

1. 研究課題名：妊産婦より得られた *S. agalactiae* の莢膜血清型および薬剤感受性の多施設疫学調査
2. 研究代表者氏名：丹野 大樹
3. 研究発表（論文、著書、学会発表等があれば記載してください）

<学会発表予定>

2025年5月8日～10日 第99回日本感染症学会総会・学術講演会

4. 研究実績（必要であれば図を用いても構いません）

【背景・目的】

Streptococcus agalactiae (Group B *Streptococcus* : GBS) は、母子垂直感染により新生児に敗血症や髄膜炎などの重症 GBS 感染症を引き起こすことが知られている。本邦における新生児早発型 GBS 感染症 (Early-onset disease, EOD) 発症率は 0.10~0.12/1,000 出生程度と推測されているが、その死亡率、後遺症残存率はともに 13.6%と高く極めて予後不良である。妊婦の 10~30%は腸管や膣内に GBS を保菌していること、また、発症した場合の重篤性を考慮して、米国疾病予防管理センター (CDC) ガイドラインでは、35~37 週の全妊婦に対して GBS スクリーニング検査を実施することを推奨している。これまで我々は、本邦における妊婦 GBS スクリーニング検査の適正化を目的として、愛育病院 (東京都)、北野病院 (大阪府)、福島県立医科大学附属病院 (福島県)、琉球大学附属病院 (沖縄県) の 4 施設で共同研究を実施し、全国多施設から得られた 1957 件のスクリーニング検体を解析することで、本邦で行われている従来法 (直接培養法) が検査法として不十分であること、また、本邦においても増菌培地を用いた効率的な検査法が推奨されることを報告してきた。本研究は、その際に得られた 430 株の妊婦由来 GBS 株を用いて莢膜血清型分布および薬剤感受性パターンについて地域横断的に解析することで、本邦の妊婦保菌 GBS 株の現状を明らかにすることが目的である。本研究成果は、適切な薬剤が必要な場合に使用するという薬剤耐性 (AMR) 対策に貢献するとともに、妊婦の GBS ワクチン開発の一助となることが期待される。

【方法】

対象は、愛育病院 (東京都)、北野病院 (大阪府)、福島県立医科大学附属病院 (福島県)、琉球大学附属病院 (沖縄県) の 4 施設で、2020 年 3 月~8 月の間でスクリーニング検査を実施して検出された GBS 430 株である。莢膜血清型は、B 群溶血性レンサ球菌型別用免疫血清「生研」(デンカ生研) を用いて、スライド凝集法により Ia、Ib、II、III、IV、V、VI、VII、VIII 型、その他に分類した。その他に分類された株は multiplex PCR 法にて再解析し、Ia~VIII 型に IX 型を加えた 10 種類の血清型に再分類した。薬剤感受性検査は薬剤感受性試験プレート (極東製薬工業) を用いた微量液体希釈法にて実施し、ペニシリン (PCG)、アンピシリン (ABPC)、セファゾリン (CEZ)、セフトキシム (CTX)、クリンダマイシン (CLDM)、エリスロマイシン (EM)、バンコマイシン (VIC)、メロペナム (MEPM)、レボフロキサシン (LVFX)、テトラサイクリン (TC)、オキサリリン (MIPIC)、セファクロル (CCL)、セフトラム (CTM) の 13 薬剤について検討した。愛育病院で検出された 240 株のうち、CLDM \leq 0.5、EM \geq 1 μ g/ml の株はクリンダマイシン誘導耐性を疑い、D-zone test を実施した。MIC のブレイクポイントは CLSI M100-ED33:2023 を参照し、微量液体希釈法、D-zone test は CLSI 法に準じて実施した。

【結果】

各地域の莢膜血清型の上位 5 型は、東京都で III 型 27% (80/292)、V 型 23% (66/292)、Ib 型 19% (55/292)、Ia 型 16% (48/292)、II 型 8% (24/292)、大阪府で V 型 25% (17/69)、III 型 20% (14/69)、Ia 型 20% (14/69)、Ib 型 14% (10/69)、II 型 12% (8/69)、福島県で Ia 型 22% (8/36)、Ib 型 22% (8/36)、V 型 22% (8/36)、II 型 14% (5/36)、III 型 8% (3/36)、沖縄県で V 型 30% (10/33)、Ia 型 24% (8/33)、Ib 型 18% (6/33)、II 型 9% (3/33)、III 型 9% (3/33) であった。外国人由来株は 14 株あり、うちアジア圏出身 (中国、マレーシアなど) が 13 株あった。アジア圏出身の外国人由来株の莢膜血清型の上位は、Ia 型 23% (3/13)、Ib 型 23% (3/13)、II 型 15% (2/13)、V 型 15% (2/13) であった。本研究では、XI 型の GBS 株は認められなかった。

薬剤感受性結果について、全 430 株のうち、PCG 非感性株は 1 株 (MIC=0.25 μ g/ml) あり、EM、LVFX には感性であった。EM 非感性株は全体の 57% (247/430)、CLDM 非感性株は 31% (133/430)、LVFX 非感性株は 30% (127/430) であった。EM 非感性割合は大阪府で 62%と最も高く、LVFX 非感性割合は東京都で 32%と最も高かった。一方、福島県、沖縄県では、EM 非感性割合はそれぞれ 47%、39%と低く、LVFX 非感性割合は福島県で 19%と最も低かった。愛育病院で検出された 240 株のうち、クリンダマイシン誘導耐性株疑いは 27% (64/240) あり、そのうち D-zone test 陽性は 52% (33/64) であった。本研究では、VCM、MEPM に非感性の株は検出されなかった。

【考察】

妊産婦のスクリーニング検査によって得られた GBS の莢膜血清型や薬剤感受性結果の報告例は、本邦では限られている。また、そのどれもが一施設のみの報告であり、本邦における莢膜血清型の分布状況や薬剤感受性パターンを正確に反映しているとは言い切れない。これまで全国多地域で莢膜血清型分布や薬剤感受性パターンを調べた研究は無く、本研究は、同時期に複数の施設で地域横断的に実施された国内初の研究である。

近年、EOD を引き起こす頻度の高い莢膜血清型が明らかにされてきている。GBS の莢膜血清型は 10 種類 (Ia、Ib、II、III、IV、V、VI、VII、VIII、IX) に分けられており、欧米では、妊婦の保菌で多くみられる血清型として、Ia、Ib、II、III、V 型が挙げられている。EOD で最も多い血清型は、Ia 型(30%)、III 型(30%)、V 型(20%)、II 型(15%)とされており、他にも侵襲性株として VI、VIII 型が増えてきているとの報告がある。一方、神奈川県で実施された本邦の血清型分布調査によると、1999 年の報告では VIII 型(36%)、VI 型(25%)が大部分を占めていたものの、2019 年の報告では、Ib 型(16%)、Ia 型(13%)、III 型(13%)、V 型(12%)、II 型(7%)と報告されており、本邦の血清型分布はこの 20 年間で大きく変化していることがわかる。本研究においても、各地域ともに上位 5 型の血清型は Ia、Ib、II、III、V 型であり、本邦の血清型分布は欧米と同様であることが示唆された。興味深いことに、東京都、大阪府では III 型が多いものの、福島県、沖縄県では III 型が少なかった。III 型が都心部で多い血清型なのか、あるいは基礎疾患の有無が関与しているのかは現段階ではわからないが、III 型が多いという血清型の傾向が都心部から地方に広がってくる可能性もあり、今後の動向を注意深く観察する必要がある。EOD を発症した新生児の母親は莢膜多糖体に対する抗体が欠如していることが明らかになっており、妊婦に対する GBS ワクチン開発は EOD の予防手段として期待されている。しかしながら、経年的な血清型調査では、年によって血清型の変動があることが示されている。このような血清型の多様性、変動性は、GBS の強力な免疫回避戦略であり、ワクチンの効力を著しく損なう可能性がある。したがって、GBS ワクチン開発の指針では、各国で起きている血清型分布の変化を今後も注意深く監視することが重要とされている。地域横断的な本研究結果により、本邦の GBS 莢膜血清型の分布は欧米と同様、Ia、Ib、II、III、V 型であることが証明され、今後の GBS ワクチン開発に有用な知見となることが期待された。

近年、GBS のペニシリン耐性株 (PRGBS; MIC 0.25-1 μ g/ml) が出現しており本邦でも報告が散見されるが、妊婦の保菌株におけるペニシリン耐性株ははまだ報告が無い。また、ペニシリン感性にもかかわらず一部の経口セファロスポリン系薬に低感受性を示すペニシリン低感受性 GBS (GBS-RBS) も報告されている。本研究では、東京都株より PCG 非感性株が 1 株 (MIC=0.25 μ g/ml) 検出された。また、GBS-RBS は、PCG \leq 0.12 μ g/ml かつ MPIPC、CCL、CTM に耐性を示すことが報告されており、本研究では該当する株は検出されなかったものの CCL に 1 管差で耐性にならなかった株が 5 株検出された。今後はこれらの株についてシーケンス解析を実施し、PRGBS、GBS-RBS にみられる遺伝子変異がないか確認する予定である。GBS 保菌妊婦やハイリスク群妊婦に分娩の 4 時間以上前から抗菌薬を投与することは EOD の予防に有効であることが知られており、本邦、米国ともに抗菌薬は PCG および ABPC が推奨されている。ペニシリン過敏症がある場合は CEZ、CTX、CLDM、EM などが使用されるが、近年、GBS の EM、CLDM の耐性化が進んできており、米国ではクリンダマイシン耐性株の場合は VCM を予防投与することが推奨されている。本研究では、EM 非感性株は 57%、CLDM 非感性株も誘導耐性株と合わせると約 4 割が耐性になることから、使用する場合は薬剤感受性検査による確認が必須であることが示唆された。また、本研究では、VCM 耐性株 (MIC \geq 2 μ g/ml) は検出されなかったものの、MIC=1 μ g/ml の株が 13 株検出されており、GBS の VCM 耐性動向についても今後注意深く観察していく必要があることが示唆された。

