
 総説

## ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌\*

木村幸司\*\* 荒川宜親\*\*

**要旨** 新生児における敗血症、髄膜炎の筆頭原因菌である B 群連鎖球菌は、これまで国際的にペニシリンを含むβ-ラクタム系抗生物質に耐性を獲得した株は存在しないとみなされてきた。しかしながら、近年、ペニシリンなどのβ-ラクタム系薬に低感受性を獲得した株が報告されるようになってきた。われわれが、それらの株について詳細な解析を行った結果、β-ラクタム系薬の標的の一つであるペニシリン結合蛋白 (PBP2X) に共通のアミノ酸置換を獲得していることが確認され、米国 CDC もそれを追認する研究結果を報告した。今後、この種のペニシリン低感受性株の臨床的な評価とともにそれらの分離動向の監視が緊急の課題となっている。

### はじめに：B 群連鎖球菌に関して

B 群連鎖球菌 (Group B streptococcus : GBS, *Streptococcus agalactiae*) は、新生児の敗血症、髄膜炎の筆頭原因菌であり、一定の割合 (欧米人では約 37%, 日本人では約 15%, 人種間で差があるとされている) で成人女性が膣に無症候性に保菌していることが知られている。GBS による侵襲性感染症を発症した児の約 5% が死亡し、一命をとりとめた場合には、視覚、聴覚障害や精神遅滞が頻発するとされており、特に低出生体重児が GBS 感染症の発症率が高いとされている<sup>1~6)</sup>。GBS は莢膜の構造の違いから、I a, I b, II, III, IV, V, VI, VII, VIII の 9 つの血清型が知られており、侵襲性感染症〔特に生後 1 週間以内に発症する早期型新生児 GBS 感染症 (early-onset infection)〕

から分離される GBS は III 型が多いと報告されている。GBS 侵襲性感染症は、その死亡率の高さ、また、重篤な後遺症を頻発すること、新生児医療の発達から低出生体重児が増加してきていることから、極めて重要な細菌感染症である。そのため、米国の Centers for disease control and prevention (CDC) などは、GBS の新生児への垂直感染を避けるため、GBS を膣などに保菌する妊婦に対し、分娩時にペニシリンなどの抗生物質を投与することを推奨し<sup>7~9)</sup>、多くの先進国で導入され、米国では早期型新生児 GBS 感染症が 1,000 件の出産につき 1.7 件から 0.6 件となり、新生児の GBS 感染症防止に一定の効果をあげている<sup>10)</sup>。わが国においても、多くの医療施設において、GBS を保菌する妊婦に対し、予防的に抗生物質を投与しているようであるが、わが国における GBS 感染症の正

\* Group B streptococcus with reduced penicillin susceptibility : PRGBS

**Key words** : B 群連鎖球菌, GBS, ペニシリン, β-ラクタム, 低感受性

\*\* 国立感染症研究所細菌第二部 Kouji Kimura, Yoshichika Arakawa  
〔〒208-0011 武蔵村山市学園 4-7-1〕

確な発生率が報告されておらず、年次推移は不明である。

一方、GBS は、高齢者や糖尿病、癌などの基礎疾患をもつ患者にも侵襲的な感染症を引き起こすこと、院内感染の原因菌となることが知られている<sup>11,12)</sup>。成人の GBS 感染症においても第一選択薬は、ペニシリン系薬であるとされており、ペニシリンを含むβ-ラクタム系薬に低感受性あるいは耐性を獲得した株の出現は、今後、GBS 感染症の治療において深刻な問題に発展する恐れがある。

詳細は他書に譲るが、分子生物学の発展に伴い、GBS の病原性に関する研究も進展しており、細胞への付着に関する因子 (fibrinogen receptor, lipoteichoic acid)、細胞に障害を与える因子 (β-hemolysin/cytolysin)、宿主の免疫機構から回避するための因子 (C5a peptidase, C protein) などが報告されており、今後、より詳細に解析されていくものと思われる<sup>13,14)</sup>。

## I. β-ラクタム系薬に対する B 群連鎖球菌の薬剤感受性

これまで B 群連鎖球菌は、すべてβ-ラクタム系薬に感受性であると考えられてきた。しかしながら、GBS に関する一部の感受性試験においては、β-ラクタム系薬に非感受性である菌株の存在が、学会などで報告されてきた。ただし、それらの報告は、感受性試験の誤差によるものか、真の非感受性菌株の出現であるかなどが明確ではないものが多かった。そのため、Clinical and laboratory standards institute (CLSI) は、GBS を含むβ-溶血連鎖球菌において、β-ラクタム系薬に耐性を示す菌株は存在しないと、GBS においては、β-ラクタム系薬の resistant, intermediate の判定基準値 (breakpoint) を設定していない<sup>15)</sup>。また、CDC も「GBS においては、β-ラクタム系薬耐性が確認された株はない」としている<sup>7)</sup>。

## II. ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌

2008 年 7 月 30 日現在、分子生物学的に解析されたペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌に関する論文は、われわれによるものと<sup>16)</sup>、米国 CDC を中心としたグループが、数週間遅れて発表した論文<sup>17)</sup>

の 2 報しかない。

われわれは、1995～2005 年に国内において臨床分離された 14 株のペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌 (Group B streptococcus with reduced penicillin susceptibility: PRGBS) について、慎重かつ厳密な菌種同定と薬剤感受性試験を実施するとともに分子生物学的に耐性機構を解析した<sup>16)</sup>。14 株の PRGBS は、すべて喀痰由来の菌株で、分離患者は高齢者であった (表 1)。厳密な最小阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) の測定により、すべての PRGBS は、確かに、ペニシリン、オキサシリン、セフトゾキシムに低感受性を獲得していることが確認された (表 2)。また、一部の PRGBS は、アンピシリン、セファゾリン、セフェピム、セフォタキシムにも低感受性を示した。Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) 解析により、14 株のうち 12 株は、遺伝的な関連性が認められず、多様な遺伝的背景をもつ GBS から PRGBS が発生し得ることが示唆されたが、同一病院から分離された 2 株は遺伝的に近縁であることが確認され、院内感染により GBS 株が患者間を伝播した可能性が強く示唆された。グラム陽性菌におけるβ-ラクタム系薬に対する薬剤耐性化機構としては、これらの薬剤の標的分子であるペニシリン結合蛋白 (penicillin-binding proteins: PBPs) のトランスペプチダーゼドメインのアミノ酸置換が肺炎球菌などで知られている。われわれは、14 株の PRGBS の PBPs (PBP1A, 1B, 2A, 2B, 2X) の遺伝子のシーケンス解析からそれらの推定アミノ酸配列を決定し、β-ラクタム系薬感受性 GBS 2 株の PBP のアミノ酸配列と比較検討した。その結果、PRGBS の PBP1A, 1B, 2A, 2B には、数個のランダムなアミノ酸置換を認めたが、PBP2X はトランスペプチダーゼドメインに多数のアミノ酸置換が集積していた。そのなかで、PRGBS では、1 株を除いてすべての株が、Q557E と V405A のいずれか一方または両方のアミノ酸置換を PBP2X に獲得していた (図)。Q557E, V405A の両アミノ酸置換部位はトランスペプチダーゼドメインの活性中心を形成すると考えられる領域のごく近傍に位置すること、また、Q557E はペニシリン耐性肺炎球菌の PBP2X に認められる Q552E 置

表 1 菌株の特徴と分離場所、分離年

菌株	特徴	血清型	分離場所	分離年
<i>S. pneumoniae</i> ATCC49619	MIC 測定における標準株			
<i>S. agalactiae</i> ATCC BAA-611	ゲノム解析終了株	V		
<i>S. agalactiae</i> ATCC 12403	ゲノム解析終了株	III		
<i>S. agalactiae</i> strain B1	臨床分離株 (喀痰由来)	III	東京 A	1995
B6	臨床分離株 (喀痰由来)	VIII	静岡 A	1997
B7	臨床分離株 (喀痰由来)	III	神奈川 A	1997
B8	臨床分離株 (喀痰由来)	VI	神奈川 B	1997
B10	臨床分離株 (喀痰由来)	III	富山 A	1997
B12	臨床分離株 (喀痰由来)	III	富山 A	1997
B40	臨床分離株 (喀痰由来)	III	富山 A	1997
B60	臨床分離株 (喀痰由来)	III	神奈川 C	1998
B68	臨床分離株 (喀痰由来)	VI	秋田 A	1998
B502	臨床分離株 (喀痰由来)	VI	栃木 A	2005
B503	臨床分離株 (喀痰由来)	I b	静岡 B	2005
B513	臨床分離株 (喀痰由来)	III	千葉 A	2005
B514	臨床分離株 (喀痰由来)	VI	神奈川 D	2005
B516	臨床分離株 (喀痰由来)	III	神奈川 E	2005

分離場所は、匿名化のため、都道府県名とアルファベットで示した。

(文献 16) より引用, 改変)

表 2 9 種類のベータラクタム系薬の PRGBS に対する MIC 値

菌株	PEN	PCV	AMP	OXA	CFZ	FEP	CTX	ZOX	MEM
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	0.25	0.5	0.12	1	1	0.03	0.03	0.12	0.06
<i>S. agalactiae</i> ATCC BAA-611	0.06	0.03	0.12	0.25	0.12	0.06	0.06	0.12	0.03
<i>S. agalactiae</i> ATCC 12403	0.06	0.03	0.12	0.25	0.12	0.06	0.06	0.12	0.03
<i>S. agalactiae</i> B1	0.5	0.25	0.12	4	2	0.5	2	128	0.06
B6	0.25	0.5	0.12	4	1	0.25	1	32	0.06
B7	0.25	0.12	0.12	2	0.5	0.25	0.12	4	0.25
B8	0.25	0.25	0.5	4	1	0.5	0.25	64	0.12
B10	0.5	0.25	0.12	4	1	0.25	0.5	16	0.06
B12	0.25	0.5	0.25	4	1	0.5	0.5	32	0.25
B40	0.5	0.5	0.12	8	1	0.25	0.5	32	0.06
B60	0.25	0.25	0.25	4	1	0.25	0.25	32	0.12
B68	0.5	0.25	0.5	4	0.5	0.5	0.25	4	0.12
B502	0.5	0.25	0.5	4	0.5	0.5	0.25	16	0.25
B503	0.25	0.12	0.5	2	0.5	0.25	0.25	16	0.12
B513	1	1	0.5	8	1	1	1	64	0.25
B514	0.25	0.25	0.5	4	1	0.5	0.25	32	0.25
B516	0.25	0.25	0.25	4	0.5	0.5	0.25	16	0.12

PEN : penicillin G, PCV : penicillin V, AMP : ampicillin, OXA : oxacillin, CFZ : cefazolin, FEP : cefepime,

CTX : ceftotaxime, ZOX : ceftizoxime, MEM : meropenem

(文献 16) より引用, 改変)

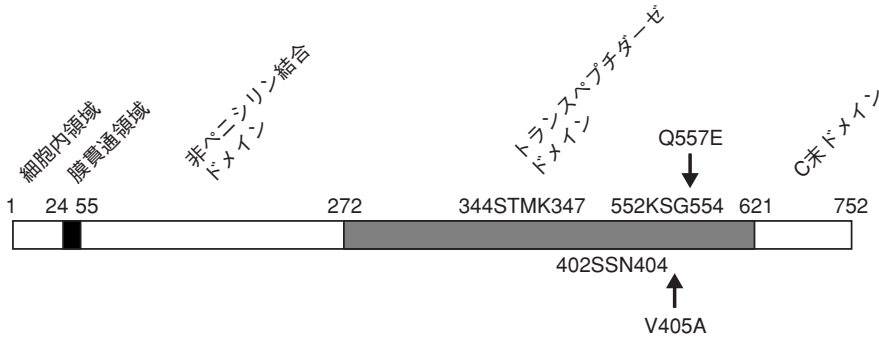


図 GBS の PBP2X の模式図と PRGBS に共通して認められるアミノ酸置換の位置  
 STMK, SSN, KSG は、PBP2X のトランスペプチダーゼドメインの活性中心を形成すると予想されるアミノ酸モチーフ。β-ラクタム系薬は PBP のトランスペプチダーゼドメインの活性中心に結合し、PBP のペプチドグリカン合成を阻害すると考えられている。PRGBS に共通する 2 つのアミノ酸置換 (V405A, Q557E) は、活性中心のごく近傍に位置すると予想される。

換と分子構造上相同と考えられることから、PRGBS で認められた PBP2X の Q557E や V405A のアミノ酸置換が、PRGBS における β-ラクタム系薬低感受性機構の主たる要因であることが考えられた。そこで、Q557E, V405A それぞれのアミノ酸置換をもつ PBP2X 遺伝子を β-ラクタム系薬感受性の GBS 株に相同組み換え (homologous recombination) により導入し allelic exchange (対立遺伝子交換) を実施した。作製された対立遺伝子交換株は、親株の PRGBS と同様にペニシリン、オキサシリン、セフトゾキシムに低感受性を示したことから、PBP2X における Q557E, V405A の両置換が、PRGBS の β-ラクタム系薬低感受性の主たる要因であることが証明された。

CDC を中心としたグループは、米国で 2003 年に高齢者の血液から分離された 4 株の PRGBS について解析し、われわれの報告と同様に PBP2X に共通に Q557E のアミノ酸置換が認められることを明らかにした<sup>17)</sup>。また、4 株の PRGBS は、複数の州から分離されたものの、multilocus sequence typing (MLST) により、4 株すべて st19 という同一のタイプに分類され、遺伝的に同一な背景をもった株が複数の州にまたがって広がっていることを CDC らのグループは示唆している。

### III. 考 察

これまで GBS は β-ラクタム系薬に対しすべて

感受性を示すと考えられてきたが、われわれの詳細な解析により、世界で初めて PRGBS が存在することが確定した。CDC を中心としたグループによっても、米国においても PBP2X に同様のアミノ酸置換を獲得した PRGBS が存在することが確認されたため、今後、CLSI は、GBS の β-ラクタム系薬に対する resistant, intermediate についてのクライテリアやブレイクポイントの設定に向けて検討を開始することになる。

われわれの研究における 14 株の PFGE 解析の結果からは、PRGBS は、特定の遺伝的背景をもった株ではなく、遺伝的に多様な複数の GBS 株から多源的に発生していることが示唆された。また、同一病院で分離された PRGBS が PFGE 解析上、極めて類似したパターンを呈した事例があることから、PRGBS は、医療環境においてヒト-ヒト間で伝播し、院内感染の原因菌となり得る可能性があることも示唆された。他方、米国で分離された PRGBS における MLST 解析では、st19 という同等な遺伝的背景に属する PRGBS 株が異なる州から分離されていることから、MRSA や VRE などの薬剤耐性菌と同様に PRGBS にも epidemic strain (流行株) の存在が示唆されており、今後の PRGBS の拡散が懸念される。

PRGBS は、その存在が確定されて間もないため、今後、解決されなければならない課題が多く存在する。われわれは、厳密な MIC 測定により、PRGBS

はペニシリンに低感受性を獲得していることを示したが、実際に髄膜炎などの治療にペニシリンを用いた場合に、PRGBS株とペニシリン感受性GBS株とによる感染症の間で治療効果に差があるか否かについては、厳密な臨床研究の結果を待つ必要がある。また、そもそも現在までにPRGBSの分離が確認されているのは、高齢者の喀痰および血液であり、PRGBSが新生児に敗血症、髄膜炎などの侵襲性感染症を引き起こす能力をどの程度保持しているか否かも不明である。したがって、GBSによる侵襲性感染症の臨床経過に及ばずPRGBSの影響評価に関する疫学的比較解析研究の実施が重要かつ緊急な課題となっており、そのためには、血液、髄液分離株におけるPRGBSの正確な判定とそれを可能とする簡便な検査法の確立が強く望まれている。

## 文 献

- 1) Baker CJ : Group B Streptococcal Infections. Streptococcal infections. Clinical aspects, microbiology, and molecular pathogenesis (Stevens DL, Kaplan EL eds). Oxford University Press, Oxford, 2000, 222-237
- 2) Schuchat A : Group B streptococcus. Lancet 353 : 51-56, 1999
- 3) Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, et al : Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. N Engl J Med 347 : 240-247, 2002
- 4) Schuchat A : Epidemiology of Group B streptococcal disease in the United States : shifting paradigms. Clin Microbiol Rev 11 : 497-513, 1998
- 5) Heath PT, Balfour G, Weisner AM, et al : Group B streptococcal disease in UK and Irish infants younger than 90 days. Lancet 363 : 292-294, 2004
- 6) Lachenauer CS, Kasper DL, Shimada J, et al : Serotypes VI and VIII predominate among group B streptococci isolated from pregnant Japanese women. J Infect Dis 179 (4) : 1030-1033, 1999
- 7) Centers for disease control and prevention : Prevention of perinatal group B streptococcal disease. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 51 (RR11) : 1-22, 2002
- 8) Committee on Obstetric Practice : Prevention of early-onset group B streptococcal disease in newborns. American College of Obstetricians and Gynecologists, Washington, D. C., 1996
- 9) American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Disease, Committee on Fetus and Newborn : Revised guidelines for prevention of early-onset group B streptococcal (GBS) infection. Pediatrics 99 : 489-496, 1997
- 10) Schrag SJ, Zywicki S, Farley MM, et al : Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. N Engl J Med 342 : 15-20, 2000
- 11) Farley MM, Harvey RC, Stull T, et al : A population-based assessment of invasive disease due to group B streptococcus in nonpregnant adults. N Engl J Med 328 : 1807-1811, 1993
- 12) Jackson LA, Hilsdon R, Farley MM, et al : Risk factors for group B streptococcal disease in adults. Ann Intern Med 123 : 415-420, 1995
- 13) Nizet V, Ferrieri P, Rubens CE : Molecular pathogenesis of group B streptococcal disease in newborns. Streptococcal infections. Clinical aspects, microbiology, and molecular pathogenesis (Stevens DL, Kaplan EL eds). Oxford University Press, Oxford, 2000, 180-221
- 14) Doran KS, Nizet V : Molecular pathogenesis of neonatal group B streptococcal infection : no longer in its infancy. Mol Microbiol 54 (1) : 23-31, 2004
- 15) Clinical and Laboratory Standards Institute : Performance standards for antimicrobial susceptibility testing ; Sixteenth informational supplement M100-S16 26 : 138-140, 2006
- 16) Kimura K, Suzuki S, Wachino J, et al : First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. Antimicrob Agents Chemother 52 : 2890-2897, 2008
- 17) Dahesh S, Hensler ME, Van Sorge NM, et al : Point mutation in the group B streptococcal pbp2x gene conferring decreased susceptibility to beta-lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 52 : 2915-2918, 2008