

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：83201

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18922

研究課題名（和文）潜在的なレジオネラ症患者の実態把握と感染源解明

研究課題名（英文）Prevalence and molecular epidemiology of Legionnaires' disease

研究代表者

金谷 潤一（Kanatani, Jun-ichi）

富山県衛生研究所・細菌部・主任研究員

研究者番号：80463131

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、潜在的なレジオネラ症患者を積極的な喀痰培養検査によって診断し、その患者実態の把握を通じて、患者の感染源を明らかにすることである。189症例の呼吸器検体についてレジオネラ属菌検査を実施した結果、2検体からレジオネラ・ニューモフィラ血清群2（Lp2）が分離された。このLp2の菌株について、全ゲノム配列による系統解析を実施した結果、水たまりから分離された株と近縁な系統であった。したがって、これらの株に感染した患者は、入浴施設ではない場所で感染した可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の尿中抗原検査試薬はLegionella pneumophila血清群1（Lp1）以外の菌種・血清群に対する感度は著しく低いため、Lp1以外のレジオネラ属菌に感染している患者は把握されていない。したがって、現在まで、国内において、Lp1以外を原因菌とする潜在的なレジオネラ症患者の実態はよくわかっていない。本研究により、従来の尿中抗原検査では診断できない、Lp1以外を原因菌とする潜在的なレジオネラ症患者の存在が明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：The objective of this study is to diagnose potential Legionnaires' disease patients through proactive sputum culture testing and to elucidate the sources of infection. Culture testing was conducted on respiratory specimens from 189 cases, resulting in the isolation of Legionella pneumophila serogroup 2 (Lp2) from two specimens. Subsequent phylogenetic analysis of the whole genome sequences of the Lp2 isolates including those from various environmental sources revealed that clinical isolates were closely related to the isolates derived from puddles. Therefore, it was suggested that patients infected with these isolates might have been infected in locations other than bathing facilities.

研究分野：細菌学

キーワード：レジオネラ ゲノム分子疫学解析

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

国内のレジオネラ症患者数は年々増加し、2018年には全国で2,141例の届出がある。レジオネラ症の原因菌であるレジオネラ属菌は、土壌、河川、浴槽水、冷却塔水など環境中から広く検出される。ヒトでは、本菌を含むエアロゾルを吸い込むことで感染が成立するため、その感染源は多様である。本菌は、喀痰など検体中の菌はグラム染色で染まらず、培養にはシス테인を添加した特殊培地を必要とするうえ、分離から同定まで5~7日を要する。このような背景から、国内における届出患者の診断の96%が迅速な尿中抗原検査によるものであり、培養による診断はわずか3%である¹⁾。

従来の尿中抗原検査試薬は、*Legionella pneumophila* 血清群1 (Lp1) 以外の菌種・血清群に対する感度は著しく低いため、Lp1以外のレジオネラ属菌に感染している患者は把握されていない。レジオネラ症の主な病型である劇症型のレジオネラ肺炎は、市中肺炎の原因の約4%を占めるが、これは診断された市中肺炎症例を対象とした後ろ向き調査である²⁾。レジオネラ症を疑う患者喀痰から積極的に培養検査を実施した調査によると、レジオネラ肺炎患者における原因菌の5割以上は、Lp1以外の菌種・血清群とされている³⁾。したがって、Lp1以外を原因菌とするレジオネラ症患者の臨床的な特徴や、その感染源は不明である。

2011年には、患者喀痰からレジオネラ属菌の大半を検出可能な遺伝子検査試薬 (LAMP法) が、2019年1月には、Lp1~Lp15を検出可能な尿中抗原検査試薬 (リボテストレジオネラ) が保険適用となり、潜在的なレジオネラ症患者を把握できる状況となっている。しかしながら現在まで、国内において、Lp1以外を原因菌とする潜在的なレジオネラ症患者の実態はよく判っていない。

2. 研究の目的

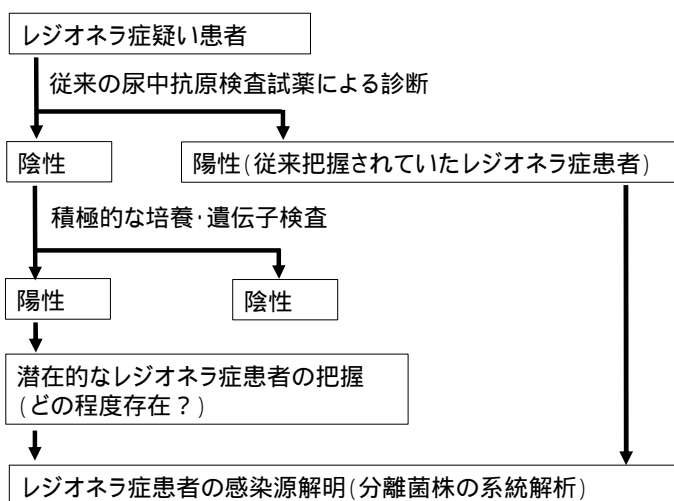
本研究の目的は、前向き調査により潜在的な積極的な喀痰培養検査によって診断し、その患者実態の把握を通じて、感染源を明らかにすることである。行政機関の医療機関と連携し、レジオネラ症を疑う患者について、積極的に培養検査や遺伝子検査など様々な検査を実施し、検査診断の確定に取り組む。また、Lp1も含めた臨床分離株と環境分離株の系統解析を実施し、患者の行動調査と合わせて、とりわけLp1以外を原因菌とするレジオネラ症患者について、その感染源を解明する。レジオネラ症対策において、患者の感染源を明らかにすることは、感染源となりうる施設への衛生指導のあり方にも波及するため、公衆衛生の観点から極めて重要である。

3. 研究の方法

(1) レジオネラ症患者 (疑い症例を含む) の呼吸器検体からの検査診断

行政機関および県内2か所の医療機関と連携し、レジオネラ症と診断された、またはレジオネラ症を疑う患者について呼吸器検体を回収し、培養および遺伝子検査を実施した (図1)。

図1. 研究の流れ図



(2) 分離菌の系統解析

患者から分離されたレジオネラ属菌については、当所に保存されている環境分離株と合わせて、Sequence-based typing (SBT) 法による遺伝子型別または全ゲノム配列情報を用いた単一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) による分子疫学解析 (コアゲノム SNP 解析) を実施した。

4. 研究成果

(1) 呼吸器検体の検査結果

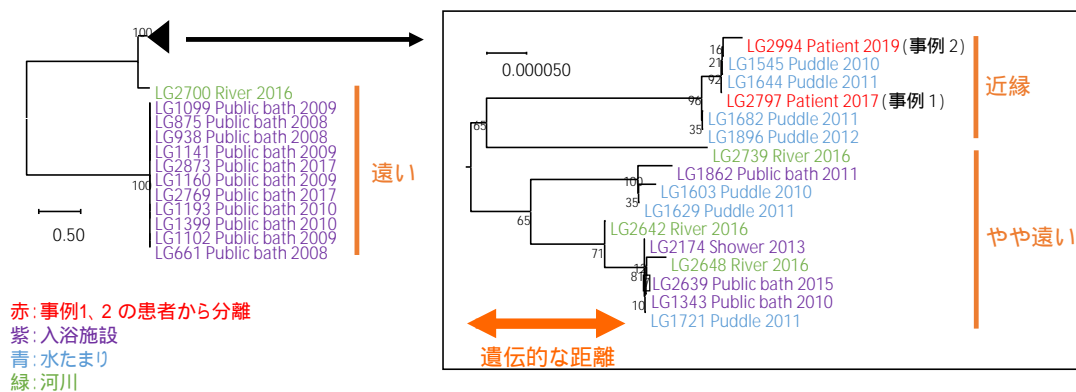
2012年以降に当所に搬入された呼吸器検体 (189症例 201検体) について、レジオネラ属菌検査の結果を解析した。尿中抗原によってレジオネラ症と診断された177検体のうち、65検体

(36.8%) から菌が分離され、すべて Lp1 であった。一方、尿中抗原が陰性であったレジオネラ症疑い患者から採取された 24 検体のうち、2 検体から Lp2 が分離された。

(2) Lp2 のコアゲノム SNP 解析

呼吸器検体から分離された Lp2 の菌株について、過去に当所で様々な環境検体(入浴施設、道路沿いの水たまり、土壌、冷却塔)から分離・保存した Lp2 の菌株も含めてコアゲノム SNP 解析を実施した結果、水たまりから分離された株と近縁な系統であった(図 2)。したがって、これらの株に感染した患者は、入浴施設ではない場所で感染した可能性が示唆された。また、水たまりという自然環境も患者の感染源となりうる環境要因であることが明らかとなった。

図2. Lp2 のコアゲノム SNP による系統解析



(3) Lp1 の遺伝子解析

SBT 法による Lp1 の遺伝子型別の結果、4 種類の遺伝子型 (ST) が 10 名以上の患者から検出された (ST23、ST120、ST502、ST505) (表)。このうち、ST502、ST505 の Lp1 は、入浴施設から多く検出されており、これらが分離された患者は入浴施設で感染したことが示唆された。一方、ST23、ST120 は土壌や水たまりなどからも分離されたため、これらの自然環境も患者の感染源となりうる環境要因であることが明らかとなった。また、臨床分離株の 27.1% (39/144 株) はいずれの環境分離株とも遺伝子型が一致しなかったため、まだ明らかとなっていない感染源が存在する可能性が示唆された。

表. 5 人以上の患者から検出された ST 型

ST	患者 (N = 144)	入浴施設 (N = 215) (浴槽・シャワー・カラン水)	自然環境 (N = 112) (土壌・水たまり・河川)	冷却塔 (N = 7)
ST502	15	23		
ST505	13	18		
ST120	12	3	9	
ST23	11		3	
ST89	7		4	
ST353	6	6		
ST1798	6	4		

本研究により、Lp1 以外を原因菌とする、従来の尿中抗原検査では診断できない潜在的なレジオネラ症患者の存在が明らかとなった。また、Lp1 を原因とする県内のレジオネラ症患者の主な感染源として入浴施設が関連しており、特定の ST が広く生息していることが明らかとなった。更には、まだ明らかとなっていない感染源が存在する可能性も示唆された。

< 引用文献 >

- 1 病原微生物検出情報, 34, 1-2, 2013
- 2 高柳ら, 日本呼吸器学会誌, 44, 906-15, 2006
- 3 村上ら, 臨床とウイルス, 45, 82-6, 2017

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kanatani J, Watahiki M, Kimata K, Kato T, Uchida K, Kura F, Amemura-Maekawa J, Isobe J.	4. 巻 21(1)
2. 論文標題 Detection of Legionella species, the influence of precipitation on the amount of Legionella DNA, and bacterial microbiome in aerosols from outdoor sites near asphalt roads in Toyama Prefecture, Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Microbiology	6. 最初と最後の頁 215
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12866-021-02275-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 金谷潤一、磯部順子、山口友美、武藤千恵子、淀谷雄亮、飯高順子、佐々木麻里、田栗利紹、蔡国喜、川野みどり、倉文明、前川純子	4. 巻 48
2. 論文標題 環境水を用いた各種レジオネラ属菌迅速検査法の有用性の評価	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本防菌防黴学会誌	6. 最初と最後の頁 515-522
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kanatani J, Fujiyoshi S, Isobe J, Kimata K, Watahiki M, Maenishi E, Izumiyama S, Amemura-Maekawa J, Maruyama F, Oishi K.	4. 巻 12(4)
2. 論文標題 Correlation between bacterial microbiome and Legionella species in water from public bath facilities by 16S rRNA gene amplicon sequencing.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Microbiology Spectrum	6. 最初と最後の頁 e0345923
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/spectrum.03459-23.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kanatani JI, Fujiyoshi S, Isobe J, Kimata K, Watahiki M, Maenishi E, Izumiyama S, Amemura-Maekawa J, Maruyama F, Oishi K.
2. 発表標題 Characterization of bacterial microbiome in water from public bath, especially focused on Legionella
3. 学会等名 10th International Conference on Legionella 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金谷潤一、磯部順子、大石和徳
2. 発表標題 富山県のレジオネラ症対策における衛生研究所の取り組みと地域連携
3. 学会等名 第94回日本感染症学会総会・学術講演会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------