

博士論文

腸肝在位 *Helicobacter cinaedi* 感染症の臨床学的特徴、
感染経路、検査法についての研究

荒 岡 秀 樹

腸肝在位 *Helicobacter cinaedi* 感染症の臨床学的特徴、
感染経路、検査法についての研究

東京大学大学院医学系研究科内科学専攻

指導教員：矢富裕教授

申請者：荒岡秀樹

目次

	ページ
1. 要旨	1
2. 序文	2
2.1 緒言： <i>Helicobacter cinaedi</i> とは	2
2.2 <i>H. cinaedi</i> 感染症について、これまでの研究の進捗状況	4
2.3 本研究の目的	12
3. <i>H. cinaedi</i> 菌血症の感染経路についての研究	13
3.1 方法	13
3.1.1 患者と菌株の選択	
3.1.2 パルスフィールドゲル電気泳動法 (Pulsed-field gel electrophoresis)	
3.1.3 倫理	
3.2 結果	16
3.2.1 患者と菌株の選択	
3.2.2 パルスフィールドゲル電気泳動法	
3.3 考察	21
4. <i>H. cinaedi</i> 菌血症の臨床的特徴：菌血症の再発についての研究	23
4.1 方法	23
4.1.1 患者と菌株の選択	
4.1.2 定義	

4.1.3	再発率の算出、統計学的検討	
4.1.4	倫理	
4.2	結果	27
4.2.1	<i>H. cinaedi</i> 菌血症の臨床的特徴	
4.2.2	治療経過と予後	
4.2.3	<i>H. cinaedi</i> 菌血症の再発率	
4.2.4	<i>H. cinaedi</i> 菌血症再発の危険因子	
4.2.5	菌血症再発を予防するための選択的消化管除菌の効果についての 検討	
4.3	考察	35
5.	<i>H. cinaedi</i> の同定における迅速診断法についての研究	41
5.1	方法	41
5.1.1	菌株の選択	
5.1.2	質量分析法 (MALDI-TOF MS)	
5.1.3	倫理	
5.2	結果	43
5.3	考察	46
6.	まとめと今後の展望	47
7.	結論	50
8.	謝辞	51

1. 要旨

腸肝在位 *Helicobacter cinaedi* 感染症について、以下の3点を明らかにした。

1. *H. cinaedi* 菌血症の1つの主要な感染経路として、腸管から血液中への bacterial translocation が起きていることが示唆された。

2. *H. cinaedi* 菌血症の100日累積再発率は18.7%であった。抗癌薬と全身ステロイド投与が、独立した危険因子として抽出された。選択的消化管除菌が菌血症再発のリスクを低下させる1つの治療戦略となりうることを明らかにした。

3. 質量分析法 (MALDI-TOF MS) は *H. cinaedi* の同定において、信頼できる迅速な検査法であることを示した。

2. 序文

2.1 緒言：*Helicobacter cinaedi* とは

Helicobacter 属は2020年9月時点で45菌種認識されている¹⁾。分類学的には、*Proteobacteria* 門、 ϵ -*proteobacteria* 綱、*Campylobacterales* 目、*Helicobacteriaceae* 科、*Helicobacter* 属である。その中で、最も有名な菌種は胃在位菌種である *Helicobacter pylori* である。*Helicobacter* 属は、大きく胃在位菌種と腸肝在位菌種に分類され、ヒトに感染した報告が最も多い腸肝在位菌種が *Helicobacter cinaedi* である。*H. cinaedi* 以外の腸肝在位菌種では、*Helicobacter fennelliae*、*Helicobacter hepaticus*、*Helicobacter bilis*、*Helicobacter canis* などがヒトに感染を起こす菌種として知られている²⁻¹⁰⁾。(図1)

H. cinaedi は MSM (Men who have sex with men) における直腸炎の原因菌 (*Campylobacter* 様細菌：CLO-1a, CLO-1b group) として1984年に報告され、1985年に *Campylobacter cinaedi* と命名された^{11,12)}。'cinaedi' はラテン語で homosexual を意味する。その後、1991年に *Helicobacter* 属へ再分類されて *H. cinaedi* となった¹³⁾。イヌ^{14,15)}、ネコ¹⁵⁾、ハムスター¹⁵⁾などからも分離され、人獣共通感染症と考えられている。

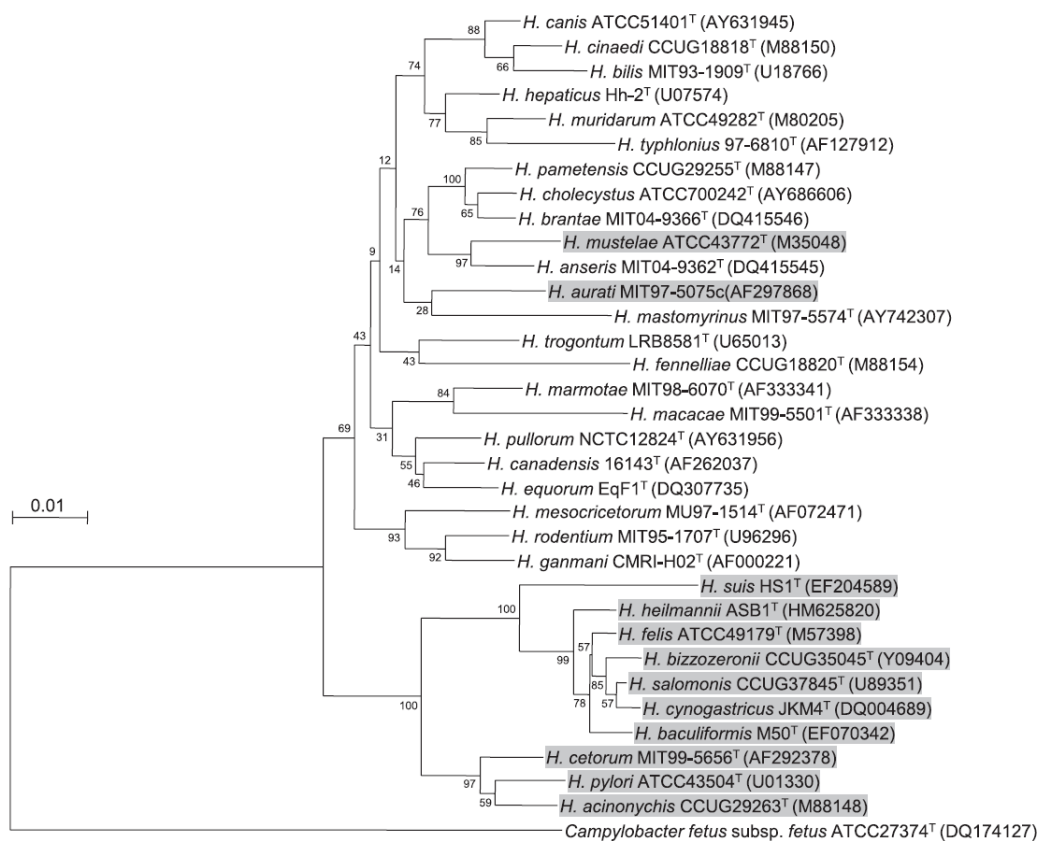


図 1 : 16S rRNA 遺伝子解析を基にした *Helicobacter* 属系統発生的関係図 (文献 10 より引用)

網掛けが胃在位菌種、それ以外が腸肝在位菌種である。

2.2 *H. cinaedi* 感染症について、これまでの研究の進捗状況

本菌による感染症が認知される最初の契機は、血液培養からグラム陰性らせん状桿菌が検出されることであることが多数を占める（図 2-A）、つまり菌血症の状態である。グラム陰性らせん状桿菌が検出された際には、*H. cinaedi* 以外に *Campylobacter* 属菌や他の *Helicobacter* 属菌との鑑別が必要である。特に他の *Helicobacter* 属菌との鑑別は通常の生化学的性状のみでは困難であり、正確な菌種の同定には遺伝子解析が必要とされてきた¹⁰⁾。また、16S rRNA 塩基配列解析でも判別困難な近縁菌種の存在も報告されている¹⁰⁾。

H. cinaedi のコロニーは特徴的である。トリプチケースソイ 5%ヒツジ血液寒天培地（日本ベクトンディッキンソン、東京、日本）にサブカルチャーすると、スローミングにより透明で薄いフィルム状のコロニーが広がる。培地を傾けて反射光によりようやく確認できる程度の極めて薄いコロニーである（図 2-B）。本菌の検出を経験したことがない細菌検査室では、本菌の感染症は見逃されていることも想定される。また、血液培養のグラム染色で *H. cinaedi* を疑うグラム陰性らせん状桿菌が観察された場合でも、血液寒天培地でコロニー形成するまで 3 日以上要し、その時点から遺伝子解析を行うと最終同定までにさらに時間を要する。よって、通常の検査室レベルで施行可能な、正確かつ迅速な診断法の確立が求められている。

本菌による感染症の臨床報告は、2000 年以前は欧米から HIV 陽性患者からの分離例が多くを占めた¹⁶⁻²²⁾。日本では、2003 年に初めて 27 歳の腎移植後の男性

において本菌による菌血症の報告がなされた²³⁾。その後、欧米と日本双方から本菌の感染症例が少数ながら継続して報告されていたが²⁴⁻²⁷⁾、2014年以降はHIV陰性患者における症例報告が日本を中心に急増している。多くが何らかの基礎疾患を有する免疫不全患者における感染例²⁸⁾であるが、なかには免疫正常者による感染も報告されている^{29,30)}。

私が現在臨床感染症科部長を務める虎の門病院では、以前より *H. cinaedi* の分離例が多く、本菌に継続して注目していた。しかしながら、まとまった研究報告は皆無であり、本菌による感染症の研究を進めることは先駆的であると考えた。

はじめに、2009年から2013年の4年間に経験した *H. cinaedi* 菌血症63症例について、血液培養陽性化までの時間と臨床像とを報告した³¹⁾。基礎疾患として、血液透析を含む慢性腎臓病、固形腫瘍、血液悪性疾患、糖尿病などを有している患者が多かった。HIV陽性患者からの検出はなかった。症状としては、蜂窩織炎を呈している患者が最も多かった。蜂窩織炎を伴う本菌の感染症例の報告は多く、経験的には下腿に境界不明瞭な淡い紅斑を呈することが多い(図2-C, D)。

H. cinaedi は皮膚常在菌としての報告は知る範囲ではなく、*H. cinaedi* 菌血症に伴う蜂窩織炎の病態は、菌血症による皮膚の2次的な変化と考えられている³²⁾。皮膚病変の組織病理学的検査では、真皮、皮下のリンパ球と好中球の炎症性浸潤を示したという報告がある³³⁾。*H. cinaedi* は皮膚生検の培養でも、グラム染色やWarthin-Starry染色によっても検出された報告はなく、直接本菌が皮膚病変に存

在した証明はされていない。蜂窩織炎の詳細な機序は未だ明らかにはなっていないが、本菌が細胞致死性の毒素を産生し、細胞の核と細胞質の進行性の膨張を引き起こし、不可逆的な細胞周期の停止を伴うとの報告がある。この毒素が、蜂窩織炎を呈する皮膚損傷の原因となる可能性が示唆されている^{34,35)}。

本菌の検出において、血液培養ボトルは BACTEC (Becton, Dickinson and Company) システムの好気ボトルのみからの検出であり、嫌気ボトルからの検出はなかった。血液培養陽性検体の 2.2%を *H. cinaedi* が占めていた³¹⁾。血液培養陽性までの日数は 5 日以内が 55%、6 日以上が 45%であった (図 3)。血液培養ボトルの観察期間を 5 日で終了すると、半数近くの *H. cinaedi* 菌血症を見逃す可能性があることを初めて明らかにした³¹⁾。また、本菌の菌血症 30 日死亡率は低い (6.3%) が、再発が比較的多い (24%) ことを報告した³¹⁾。再発を起こした症例報告も散見されるが、再発率を明らかにした疫学情報、再発はなぜ起きやすいのか、その危険因子、治療戦略などは研究報告が皆無である。

また、これまでの私たちが経験した臨床例から *H. cinaedi* 菌血症の症例は、下部消化管に何らかの免疫不全を示唆する所見を有するものが多く、消化管からの bacterial translocation が本菌の主要な感染経路と推定した³⁶⁾。さらに、本菌による菌血症症例において、便培養を採取すると半数近くで *H. cinaedi* の陽性が確認できたことも、bacterial translocation を示唆する 1 つの所見と考えた³¹⁾。感染経路を明らかにすることで、本菌による感染症の治療や感染制御にとって、重要な知見となると考えた。

なお、本菌による感染症は、全世界から報告されるようになってきたが、なぜ日本からの報告が相対的に多いかは依然として不明である。調査期間が異なるため単純な比較はできないが、2003年に都内の13施設で前向きに6か月間調査した研究では、血液培養陽性検体の0.2%を *H. cinaedi* が占めており³⁷⁾、虎の門病院の分離頻度は日本の他の施設と比較しても相対的に高いことが示唆された。その理由は、以下が考えられた。第1に、自動血液培養システムでの検出能の違いである。本菌は多くが BACTEC システムの好気ボトルからの検出報告である。その他の血液培養システムから検出された報告は少数である。Miyake らは、院内の血液培養システムが BacT/Alert システム (bioMérieux, Inc.) から BACTEC システムへ変わってから、他の細菌の検出頻度は大きく変化していないにもかかわらず、*H. cinaedi* の検出頻度が増加したことを報告している³⁸⁾。第2に血液培養の観察期間の違いである。虎の門病院では通常7日の観察期間をおいているが、欧米のガイドラインでは5日とされている³⁹⁾。5日で観察期間を終了すると半数程度の本菌による感染症を見逃している可能性もある。第3に、検出感度を上昇させる検査室レベルでの技術的要因である。血液培養ボトルの培養液を遠心し集菌することで、グラム染色とサブカルチャーの感度を向上することができる (図 2-A)。虎の門病院では、血液培養陽性時のグラム染色で菌が確認できない場合でも、微好気培養でサブカルチャーすることにより、しばしば *H. cinaedi* が発育する経験をしている。また、その他に各施設における患者の基礎疾患の分布、院内での水平伝播⁴⁰⁻⁴²⁾、などが疫学に影響を与えている可能性がある

る。

また、近年の研究によって、本菌は動脈硬化との関連性が示唆されており⁴³⁾、免疫不全患者のみにとどまらない知見の集積が必要と考えられる。

以上、研究の背景となるこれまでの研究の歴史を述べたが、*H. cinaedi* 感染症の疫学、診断、感染経路、治療法も含めて、未だ知見は十分とは言えない。

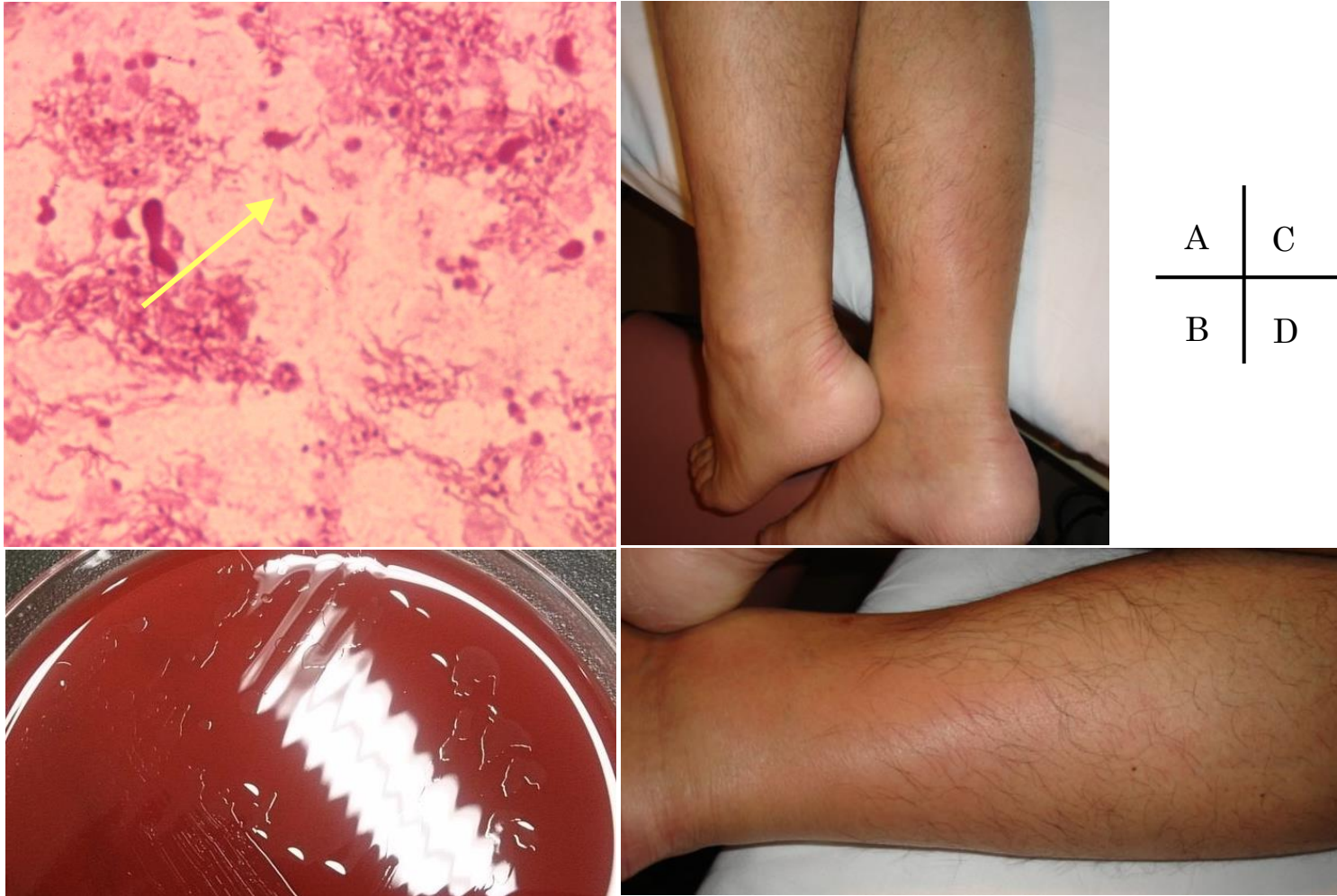


図 2 : *Helicobacter cinaedi* のグラム染色像、コロニー像、臨床症状

A：血液培養ボトル（BACTEC 好気ボトル）の培養液を遠心集菌したもののグラム染色（バーミー法）。菌数が少ない場合に見逃しを防ぐことが期待される。B：血液培養陽性となったボトルから トリプチケースソイ 5%ヒツジ血液寒天培地にサブカルチャーしたもの。スローミングにより透明で薄いフィルム状のコロニーが広がる。培地を傾けて反射光によりようやく確認できる程度の極めて薄いコロニーである。C/D：*H. cinaedi* 菌血症に伴う蜂窩織炎。右足下腿に淡い境界不明瞭な紅斑を認めた。

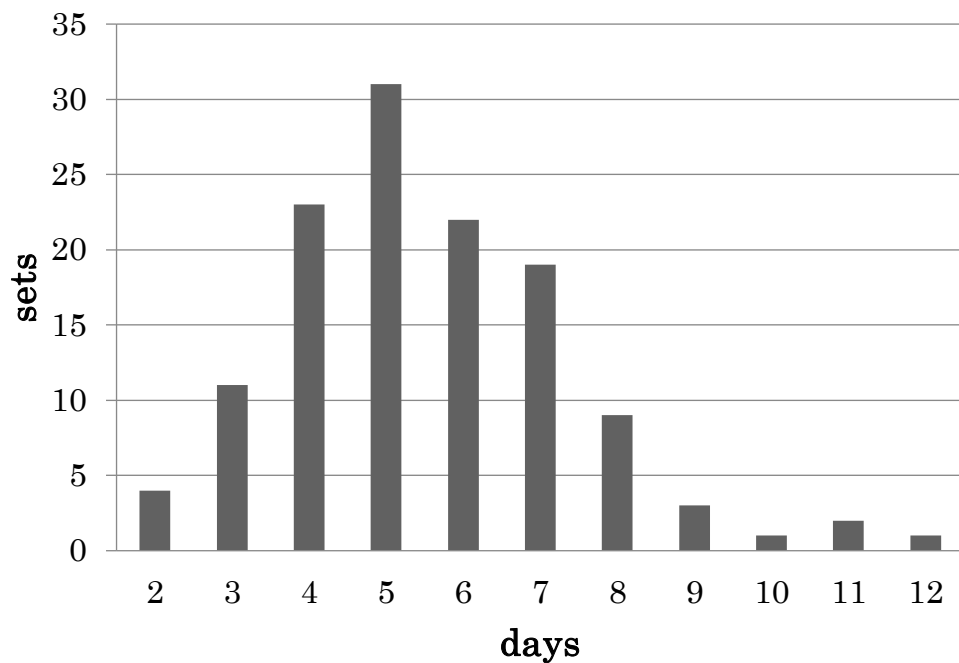


図 3. *Helicobacter cinaedi* が血液培養陽性化までに要する時間

2 日 (4 sets), 3 日 (11 sets), 4 日 (23 sets), 5 日 (31 sets), 6 日 (22 sets), 7 日 (19 sets), 8 日 (9 sets), 9 日 (3 sets), 10 日 (1 set), 11 日 (2 sets), 12 日 (1 set)であった。血液培養陽性化までの日数の中央値は 5 日であった。

2.3 本研究の目的

これらの背景をもとに、本研究では、目的を以下の 3 点に集約することとした。

1. *H. cinaedi* 菌血症の感染経路を明らかにする。
2. 菌血症の再発が比較的多いことに注目した。菌血症の再発率を明らかにし、再発に寄与する危険因子を特定する。また、再発を予防する戦略の確立を試みる。
3. *H. cinaedi* の同定における迅速診断法を確立する。

3. *H. cinaedi* 菌血症の感染経路についての研究

3.1 方法

3.1.1 患者と菌株の選択

2009年3月から2013年5月にかけて、虎の門病院本院と分院で血液培養と便培養の両方から *H. cinaedi* を検出した患者を抽出した。

血液培養システムは BACTEC 9240 と BACTEC FX system (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD, USA) を用いた。血液培養観察期間は7日間とした。*H. cinaedi* の同定は *gyrB* を標的とし、*H. cinaedi* に特異的と考えられる配列を PCR 法で増幅検出することで行った^{41, 44)}。(195 bp; forward primer: 5' - AGGGATTCCACAAAGTGAGC-3' ; reverse primer: 5' - TCTTGTCCTGTGCGTTCATC-3')

得られた菌株は、スキムミルクに懸濁した状態で、-80℃凍結保存した。

臨床指標の定義は以下のとおり行った。Nosocomial bloodstream infection、health care-associated bloodstream infection、community-acquired bloodstream infection の定義は前例に従った⁴⁵⁾。すなわち、Nosocomial bloodstream infection は、入院後48時間以上経過した患者から採取された血液培養が陽性となった場合とした。Health care-associated bloodstream infection は、入院後48時間以内の患者から採取された血液培養が陽性となり、かつ患者が以下の基準のいずれかを満たした場合とした。基準1: 血液培養陽性日より遡って30日以内に、点滴静注を受けた、あるいは創処置を受けた、あるいは経静脈栄養を受けた、あるいは自宅や介護施設で看護師のケアを受けた、あるいは血液透析を受けた、あるいは経静脈的な抗

癌化学療法を受けた。基準 2：血液培養陽性日より遡って 90 日以内に、2 日以上急性期施設に入院した。基準 3：過去 90 日以内に、高齢者福祉施設、長期療養施設に入所していた。Community-acquired bloodstream infection は、外来、入院時、あるいは入院後 48 時間以内の患者から採取された血液培養が陽性となり、かつ health care-associated bloodstream infection の基準を満たさない場合とした。慢性腎臓病の定義は、血清クレアチニン値が ≥ 2.0 mg/dL とした。直近の抗癌薬投与の定義は、最初の *H. cinaedi* 菌血症の時点から遡って 3 か月以内に抗癌薬投与を受けた症例とした。全身ステロイド投与の定義は、最初の *H. cinaedi* 菌血症の時点から遡って 30 日以内に 1 回でも経口あるいは経静脈的にステロイド投与がなされた症例とした。

3.1.2 パルスフィールドゲル電気泳動法 (Pulsed-field gel electrophoresis)

血液培養から検出した *H. cinaedi* と便培養から検出した *H. cinaedi* の相同性を評価するためにパルスフィールドゲル電気泳動法を実施した。

パルスフィールドゲル電気泳動法は以下の条件で実施した⁴⁶⁾。

制限酵素は Spe I (Takara Bio Inc.) を用いた。20 unit の制限酵素で 37° C、一晚反応させた。電気泳動は以下の条件で行った。電圧 6 V/cm, 120° included angle, スイッチングタイム 2.9–17.4 seconds, 泳動時間 27 時間, 1% agarose gels, 0.5×TBE buffer。

3.1.3 倫理

本研究は東京大学（倫理承認番号：11633）、虎の門病院（855、1391-H、1803-

H)、虎の門病院分院（1391-B、1803-B）の倫理委員会の承認を得て行った。説明と同意については、オプトアウトで対応し、拒否の機会を保障した。

3.2 結果

3.2.1 患者と菌株の選択

研究期間内に 71 症例の *H. cinaedi* 菌血症患者が抽出された。そのなかで、血液由来の *H. cinaedi* 菌株と便由来の *H. cinaedi* 菌株が両方評価可能な状態で保存されていたものが 21 症例あった。

21 患者、42 株のパルスフィールドゲル電気泳動を解析したところ、評価可能だったものは 9 患者、18 株であった。12 患者、24 株のパルスフィールドゲル電気泳動はバンドが検出されず、評価できなかった。

評価可能であった 9 患者、18 株について再度同じ条件下でパルスフィールドゲル電気泳動解析を行った。

評価対象となった 9 患者の臨床的特徴を表 1 に示した。男性が 5 例、女性が 4 例、平均年齢は 62 歳（範囲 38～78 歳）であった。2 例が community-acquired bloodstream infection、2 例が health care-associated bloodstream infection、5 例が nosocomial bloodstream infection であった。基礎疾患は慢性腎臓病が 2 例、血液悪性腫瘍が 2 例、固形腫瘍が 1 例、糖尿病が 2 例で、明らかな基礎疾患がない患者が 1 例であった。HIV 感染は 7 例で検査され、全員陰性であった。ステロイド投与がなされていた患者が 6 例、抗癌薬投与がなされていた患者が 3 例あった。症状は発熱を 8 例に認め、うち 2 例が発熱性好中球減少症の状態であった。6 例に蜂窩織炎の合併を認めた。

表 1 : Pulsed-field gel electrophoresis の対象となった *Helicobacter cinaedi* 菌血症 9 症例の臨床的特徴

Patient	Sex	Age	Underlying disease	Symptoms	Steroids	Anticancer chemotherapy	CA/HA/N	HIV	Systemic antimicrobial treatment	Duration of systemic antimicrobial treatment	Outcome
1	M	56	Diabetes mellitus	Fever; cellulitis	No	No	CA	Negative	Cefotiam; meropenem	21 days	Survived
2	M	73	Lung cancer; colon cancer	Fever (febrile neutropenia)	Yes	Yes	N	Negative	Cefepime; ampicillin/sulbactam	28 days	Survived
3	W	38	None	Cellulitis	No	No	CA	Negative	Amoxicillin	35 days	Survived
4	M	42	Acute lymphoid leukemia; post cord blood transplantation; diabetes mellitus	Fever (febrile neutropenia)	No	Yes	N	Negative	Piperacillin/tazobactam	22 days	Survived
5	W	75	Cushing's disease	Fever; cellulitis	Yes	No	N	N/A	Cefazolin; amoxicillin	21 days	Survived
6	W	65	Chronic kidney disease; post renal transplantation; hepatitis C	Fever; cellulitis	Yes	No	N	Negative	Amoxicillin	21 days	Survived
7	M	57	Hearing loss; cochlear implant	Fever; cellulitis	Yes	No	N	Negative	Flomoxef; amoxicillin	28 days	Survived

8	M	72	Chronic kidney disease; hemodialysis; granulomatosis with polyangiitis	Fever; cellulitis	Yes	No	HA	Negative	Meropenem	42 days	Survived
9	W	78	Follicular lymphoma	Fever	Yes	Yes	HA	N/A	Ceftriaxone; piperacillin/tazobactam; amoxicillin	30 days	Survived

略語 : M, man; W, woman; CA, community-acquired bloodstream infection; HA, health care-associated bloodstream infection; N, nosocomial bloodstream infection; N/A, not applicable

3.2.2 パルスフィールドゲル電気泳動法

図4にパルスフィールドゲル電気泳動解析結果を示した。

全9患者において、便由来の *H. cinaedi* と血液由来の *H. cinaedi* のパルスフィールドゲル電気泳動型は一致した。

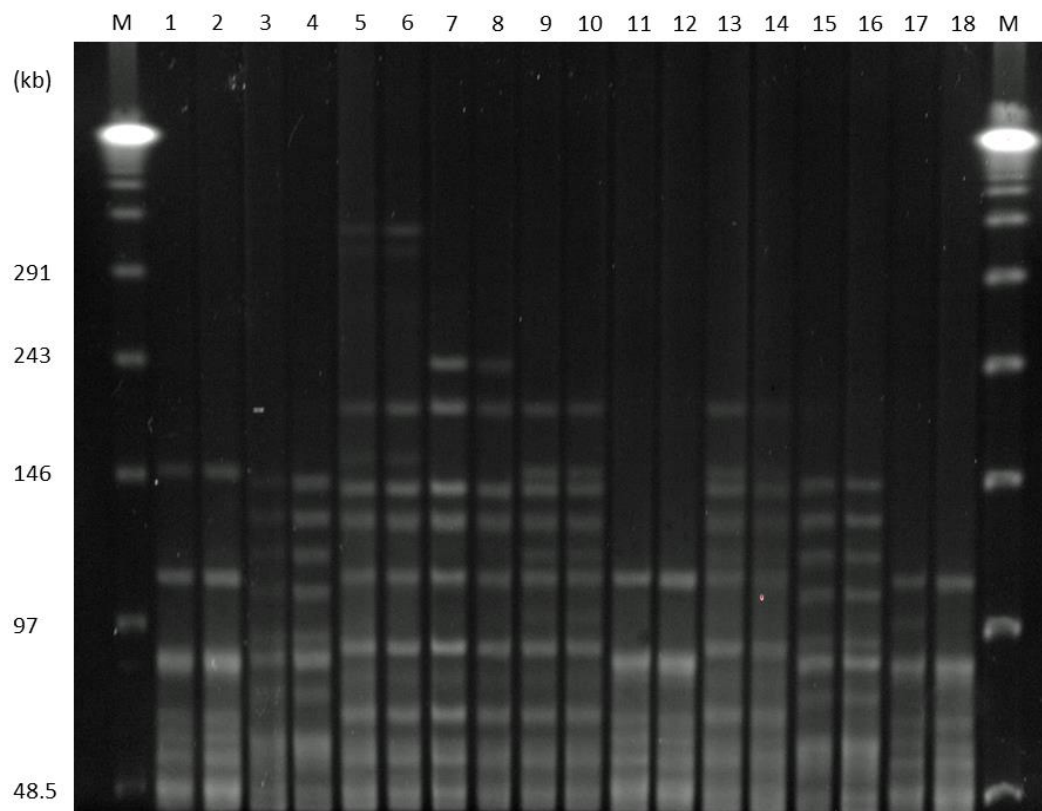


図 4 : 9 患者 18 株の *Helicobacter cinaedi* のパルスフィールドゲル電気泳動法解析結果

Lines 1/2, No. 1 患者の血液/便由来検体; lines 3/4, No. 2 患者の血液/便由来検体; lines 5/6, No. 3 患者の血液/便由来検体; lines 7/8, No. 4 患者の血液/便由来検体; lines 9/10, No. 5 患者の血液/便由来検体; lines 11/12, No. 6 患者の血液/便由来検体; lines 13/14, No. 7 患者の血液/便由来検体; lines 15/16, No. 8 患者の血液/便由来検体; lines 17/18, No. 9 患者の血液/便由来検体; line M, lambda ladder (Bio-Rad).

3.3 考察

H. cinaedi 感染症の感染経路はこれまで明らかになっていなかったが、糞口感染であることが推定されている。*H. cinaedi* が腸管に定着し、腸管が粘膜ダメージを受けることによって、**bacterial translocation** が生じることが、菌血症の発症機序として考えられる。マウスの実験系においては、経口接種後に腸管から培養され、その後経時的に除去された。また、脾臓、肝臓、腎臓、肝臓、膀胱などの臓器からも一時的に培養されることが示されている⁴⁷⁾。私たちの先行研究においても、菌血症に先行する腸管穿孔や **cholecystectomy**、慢性下痢症の存在があり、腸管からの **bacterial translocation** を強く示唆する複数の症例が確認されている³⁶⁾。

また、私たちの他の先行研究において、菌血症 41 例中 24 例の便から *H. cinaedi* が培養された³¹⁾。多くの便培養が、菌血症が判明し、抗菌薬の投与が開始された後で採取されていた。よって、より多くの患者で *H. cinaedi* が腸管に存在していたことが想定される。

今回の研究で、血液由来の *H. cinaedi* と便由来の *H. cinaedi* の遺伝子型が一致することを証明することができた。これにより、菌血症の主要な発症経路の 1 つとして、腸管から血液中への **bacterial translocation** であることが示唆された。

今回解析を行った 9 患者の臨床背景を考察すると、多くの症例で免疫不全を有していた。また、抗癌薬やステロイド投与を受けていた患者も多く、腸管免疫の低下があったことが想定される。このような因子を有する患者群で、腸管からの **bacterial translocation** が生じていることが推定される。

一方、Case 3 のように、明らかな基礎疾患を有していない患者でも *H. cinaedi*

菌血症を発症していた。このような患者群で、なぜ腸管に定着し、bacterial translocation を起こしたかは明らかではない。既報においても明らかな免疫不全を有さない患者において、*H. cinaedi* 菌血症を発症することは報告されているが多数を占めるものではない^{29,30)}。健常人の腸管に *H. cinaedi* がどのくらいの割合で存在するか、を調査した研究はこれまでなされておらず、今後の研究課題と考えられる。

本研究における主要な limitation を以下に考察する。まず、パルスフィールドゲル電気泳動でバンドが得られず、評価できなかつた菌株が存在したことがあげられる。この理由は明らかでないが、*Campylobacter* 属において、高頻度に DNA 分解酵素 (DNase) を菌体外に放出し、intact な染色体 DNA を回収することが困難なことがあることが報告されている^{48,49)}。本研究では、42 菌株中 24 菌株がパルスフィールドゲル電気泳動法で解析できなかつた。一方、1 回目のパルスフィールドゲル電気泳動で評価可能であった菌株は、再現性を持って 2 回目のパルスフィールドゲル電気泳動においてもバンドを得ることができた。評価可能であった 9 患者 18 株で血液由来の株と便由来の株のパルスフィールドゲル電気泳動型が完全一致しており、本研究の目的は達成することができたと考えられる。パルスフィールドゲル電気泳動法は菌株の相同性を検証する標準的な方法として用いられてきた。近年、multilocus sequence typing (MLST) や clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) などの技術を用いた方法も採られるようになってきた。MLST⁴⁶⁾や CLISPR⁵⁰⁾を用いて、*H. cinaedi* の院内での同一クローンの拡散を検証した報告も存在する。今後、これらの手法を用いた疫学的検討の追加が必要と考えられた。

4. *H. cinaedi* 菌血症の臨床的特徴：菌血症の再発についての研究

4.1 方法

4.1.1 患者と菌株の選択

2009年3月から2016年12月にかけて、虎の門病院本院と虎の門病院分院で *H. cinaedi* 菌血症と診断された全ての患者を抽出し、後ろ向きに検討を行った。血液培養システムは BACTEC 9240 と BACTEC FX system (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD, USA) を用いた。血液培養観察期間は7日間とした。*H. cinaedi* 菌血症の既往がある症例や臨床的に *H. cinaedi* 感染症が疑われた症例においては、臨床医から要請があった場合に、血液培養が7日目に陰性であっても、ブラインド下でサブカルチャーを行い、さらに7日間の観察を行った。

血液培養が陽性化し、グラム染色で *Helicobacter* を疑うグラム陰性らせん状桿菌が観察された場合には、トリプチケースソイ5%ヒツジ血液寒天培地（日本ベクトンディッキンソン、東京、日本）および/またはチョコレートII寒天培地（日本ベクトンディッキンソン、東京、日本）に菌を塗布し、アネロパック・微好気（三菱ガス化学、東京、日本。O₂ level、6-12%；CO₂ level、5-8%）を使用し、35°C、7日間微好気性培養を行った。

便の微好気培養は、*H. cinaedi* のみの検出を標的とし、変法スキロー培地 EX（日水製薬株式会社、日本）を用いて35°Cで7日間行った。

H. cinaedi の同定は *gyrB* を標的とし、菌種特異的な PCR 法で行った^{41,44}。(195 bp; forward primer: 5' -AGGGATTCCACAAAGTGAGC-3' ; reverse primer: 5' -

TCTTGTCCTGTGCGTTCATC-3')

得られた菌株は、スキムミルクに懸濁した状態で、-80℃凍結保存した。

4.1.2 定義

Nosocomial bloodstream infection、health care-associated bloodstream infection、community-acquired bloodstream infection の定義は前例に従った⁴⁵⁾。慢性腎臓病の定義は、血清クレアチニン値が ≥ 2.0 mg/dL とした。慢性肝疾患の定義は肝硬変、慢性 B 型肝炎、慢性 C 型肝炎の場合とした。慢性呼吸器疾患の定義は、慢性閉塞性肺疾患、気管支喘息、間質性肺炎、気管支拡張症を含む気道や肺の構造に異常を有する場合とした。心血管系異物の定義は、ペースメーカー、植込み型除細動器、人工弁、血管内の異物を有する場合とした。

直近の抗癌薬投与の定義は、最初の *H. cinaedi* 菌血症の時点から遡って 3 か月以内に抗癌薬投与を受けた症例とした。全身ステロイド投与の定義は、最初の *H. cinaedi* 菌血症の時点から遡って 30 日以内に 1 回でも経口あるいは経静脈的にステロイド投与がなされた症例とした。

併存疾患の指標として Charlson comorbidity index⁵¹⁾を用い、*H. cinaedi* 菌血症の重症度評価として Pitt bacteremia score⁵²⁾を用いた。好中球減少は、末梢血の好中球数が < 500 /mm³ の場合と定義した⁵³⁾。下痢の重症度は National Cancer Institute (NCI) Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE v4.03)⁵⁴⁾を用いて評価した。ペニシリン系薬、セフェム系薬、カルバペネム系薬、フルオロキノロン系薬を含む治療レジメンの定義は、それぞれの抗菌薬を 7 日間以上投与した場合とした。*H. cinaedi* 菌血症の再発の定義は、*H. cinaedi* に対する全身抗

菌薬投与が終了し臨床状態が改善したのち、2 日以上経過してから採取した血液培養で *H. cinaedi* が検出された場合とした。菌血症が複数回再発した症例については、初回の再発時のみ抽出した。

再発を予防する目的で投与されていた選択的消化管除菌 (Selective Digestive Decontamination) の定義は以下とした。経口のカナマイシンが 1 日 2000mg、7 日間以上されていたもの。1 日 2000mg は 1 回 500mg 1 日 4 回、あるいは 1 回 1000mg 1 日 2 回のいずれかであり、高度腎機能低下症例は、減量の対象とした。

4.1.3 再発率の算出、統計学的検討

再発率は、累積発生率分析を使用して推定し、死亡を競合リスクとして扱った。Gray's test と Fine-Gray 比例ハザードモデルを使用して、再発を分析した。Fine-Gray 比例ハザードモデルを使用した解析では、ハザード比 (HR) と 95%信頼区間を算出した。単変量解析 (Gray's test) で $P \leq 0.15$ を示した変数について、多変量解析 (Fine-Gray 比例ハザードモデル) を行った。多変量解析で $P \leq 0.15$ をしきい値としたステップワイズ法 (変数減少法) を用いて、最終モデルとした。最終モデルにおける比例ハザード性の仮定に対して、共変量の影響が時間依存性でないことを確認した。すなわち、時間と共変量の交互作用項をモデルに含め、すべての交互作用項が 0 であるという包括帰無仮説に対してカイ二乗検定を行った。 $P \leq 0.05$ を統計的に有意であると見なした。 *H. cinaedi* 菌血症の再発リスクを低下させる選択的消化管除菌の有効性を評価するために、選択的消化管除菌の開始を時間依存性共変量として扱った比例ハザードモデル解析を行った。統計学的検討は、比例ハザード性の検討を除き、R (R Foundation for Statistical

Computing, Vienna, Austria)を改変した EZR (自治医大さいたま医療センター, 日本)を用いて行った⁵⁵⁾。比例ハザード性の検討は、SAS 9.4 software (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA)を用いて行った。

4.1.4 倫理

本研究は東京大学（倫理承認番号：11633）、虎の門病院（1391-H）、虎の門病院分院（1391-B）の倫理委員会の承認を得て行った。説明と同意については、オプトアウトで対応し、拒否の機会を保障した。

4.2 結果

4.2.1 *H. cinaedi* 菌血症の臨床的特徴

研究期間内に 168 症例の *H. cinaedi* 菌血症患者が抽出された。*H. cinaedi* 菌血症の治療が終了してからの観察期間の中央値は 422 (範囲, 1-2655) 日であった。患者群の臨床学的特徴を表 2 に示した。男性 88 人、女性 80 人、年齢の中央値は 66 (範囲, 26-88) 歳であった。基礎疾患の上位 3 つは、慢性腎臓病 (52 例)、固形腫瘍 (48 例)、血液悪性腫瘍 (40 例) であった。168 症例中 7 例が明らかな基礎疾患を有していなかった。Nosocomial bloodstream infection が 79 例、health care-associated bloodstream infection が 82 例、community-acquired bloodstream infection が 7 例であった。127 症例で HIV 感染の有無を検査し、全例の陰性を確認した。*H. cinaedi* 菌血症発症日に、13 例が中心静脈カテーテルを、58 例が末梢静脈カテーテルを、15 例が心血管系異物を、それぞれ挿入されている状態であった。また、63 例において直近 3 か月以内に抗癌薬投与が、82 例において直近 30 日以内に全身ステロイド投与がなされていた。18 例において発症時に下痢症状があった。

H. cinaedi 菌血症発症時の症状で、最も頻度の高いものは蜂窩織炎であり、168 症例中 54 例において認めた。多くの蜂窩織炎症例は、下肢に圧痛を伴う境界不明瞭な淡い紅斑を呈していた。168 症例中 78 例は発熱のみであり、うち 15 例は好中球減少時の発熱であった。

168 症例中 114 例で便の培養がなされており、うち 58 例 (51%) で *H. cinaedi* が陽性であった。便培養が採取された 114 例のうち、97 例 (85%) は既に抗菌薬投与がなされている状態で、便検体が採取されていた。便培養が抗菌薬投与前に

採取されていた 17 例では、うち 14 例 (82%) において便培養陽性であった。

4.2.2 治療経過と予後

H. cinaedi 菌血症に対する抗菌薬投与の治療期間の中央値は 21 (範囲, 0-130) 日であった。ペニシリン系抗菌薬が 103 例に、セフェム系抗菌薬が 70 例に、カルバペネム系抗菌薬が 23 例に、フルオロキノロン系抗菌薬が 16 例に投与されていた。同時に 2 系統以上の抗菌薬を併用して投与していた症例はなかった。*H. cinaedi* 菌血症の 30 日死亡率は 6.0% (10/168) であった。

4.2.3 *H. cinaedi* 菌血症の再発率

H. cinaedi 菌血症の再発は 34 例 (34/168, 20.2%) で認められた。菌血症再発の 100 日累積発症率は 18.7% (12.2%-24.7% : 図 5) であった。抗菌薬治療終了後から再発までの中央値は 26 (範囲, 2-443) 日であった。

4.2.4 *H. cinaedi* 菌血症再発の危険因子

単変量解析

菌血症再発の危険因子を単変量解析で検討した結果、3 か月以内の抗癌薬投与 (HR, 3.75; 95% CI, 1.86–7.58; $P < 0.001$)、30 日以内の全身ステロイド投与 (HR, 3.79; 95% CI, 1.70–8.45; $P = 0.0011$)、血液悪性腫瘍患者 (HR, 3.18; 95% CI, 1.64–6.19; $P < 0.001$) が抽出された (表 3)。

3 か月以内の抗癌薬投与と同様に、1 週間以内、2 週間以内、1 か月以内の抗癌薬投与も危険因子の 1 つであった。また、30 日以内の全身ステロイド投与と同

様に、1週間以内、2週間以内の全身ステロイド投与、累積量として >700 mg の prednisone 投与も危険因子の1つであった（表3）。

年齢、性別、他の基礎疾患、カテーテル留置、心血管系の異物、Pitt bacteremia score、Charlson comorbidity index、抗菌薬の種類、抗菌薬の投与期間は危険因子として抽出されなかった。

フルオロキノロン系抗菌薬を投与されていた群は、再発率が高い傾向にあったが、統計学的な有意差は認めなかった (HR, 1.57; 95% CI, 0.60–4.12; P = 0.36)。また、抗菌薬投与期間が <21 日の群も、再発率が高い傾向にあったが、統計学的な有意差は認めなかった (HR, 1.80; 95% CI, 0.92–3.50; P = 0.08)。

多変量解析

ステップワイズ法による多変量解析で、3 か月以内の抗癌薬投与 (HR, 2.47; 95% CI, 1.19–5.12; P = 0.015) と 30 日以内の全身ステロイド投与 (HR, 2.40; 95% CI, 1.03–5.61; P = 0.044) が菌血症再発の独立した危険因子と特定された（表3）。

なお、最終モデルにおける比例ハザード性の仮定に対して、共変量の影響が時間依存性でないことを確認した (P = 0.84)。

4.2.5 菌血症再発を予防するための選択的消化管除菌の効果についての検討

H. cinaedi 菌血症 168 症例中、47 例で菌血症再発を予防するための選択的消化管除菌が実施されていた。選択的消化管除菌を行った群（47 例）と行わなかった群（121 例）を比較すると、便培養陽性であった率が選択的消化管除菌を行った群で有意に高かった (35/47 v.s. 23/121; P < 0.001)。患者の重症度 (Pit bacteremia

score; $P = 0.13$, Charlson comorbidity index; $P = 0.18$) や基礎疾患 (全身ステロイド投与; $P = 1.0$, 抗癌薬投与; $P = 0.11$, 血液悪性疾患; $P = 0.69$, 慢性腎障害; $P = 1.0$) には偏りを認めなかった。なお、選択的消化管除菌が行った群に占める固形腫瘍患者の比率は、選択的消化管除菌を行わなかった群と比較して低かった (7/47 v.s. 41/121; $P = 0.014$)。選択的消化管除菌を行った 47 例中 42 例においては、選択的消化管除菌の治療は全身抗菌薬治療の終了前から既に開始されていた。5 例においては、全身抗菌薬治療の終了後に選択的消化管除菌が開始されていた。選択的消化管除菌としての経口カナマイシンの投与量は以下の通りであった。1 回 500 mg 1 日 4 回 (23 例)、1 回 1000 mg 1 日 2 回 (15 例)、1 回 500 mg 1 日 3 回 (5 例)、1 回 500 mg 1 日 2 回 (1 例)、1 回 250 mg 1 日 3 回 (3 例)。選択的消化管除菌の期間の中央値は 21 (範囲, 7-77) 日であった。選択的消化管除菌開始後に便培養で *H. cinaedi* が陰性化したことは全例で確認されていた。選択的消化管除菌施行群における再発率は 14.9% (7/47)、選択的消化管除菌非施行群における再発率は 22.3% (27/121) であった。

Gray's test では、選択的消化管除菌は菌血症再発を減らす傾向にあったが有意差を認めなかった (HR, 0.46; 95% CI, 0.18-1.18; $P = 0.11$; 表 3)。

しかしながら、選択的消化管除菌の開始を時間依存性共変量として扱った比例ハザードモデル解析においては、選択的消化管除菌は *H. cinaedi* 菌血症の再発頻度を統計学的に有意に減少させた (HR, 0.36; 95% CI, 0.13-1.00; $P = 0.050$)。

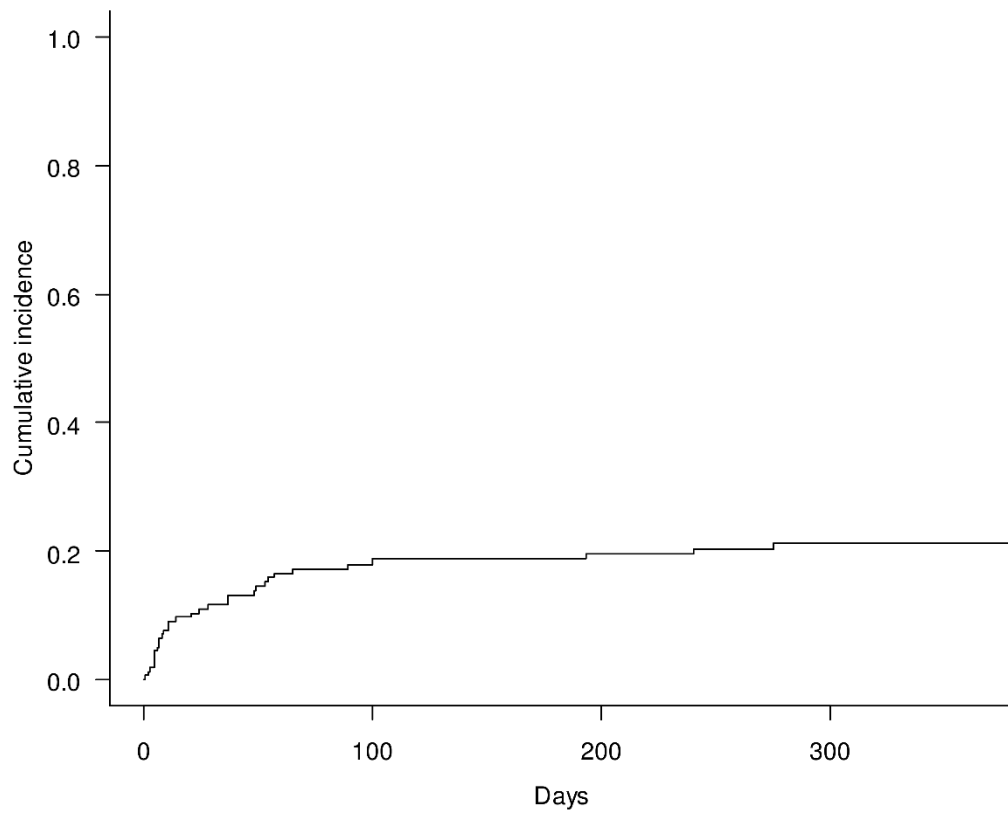


図 5 : *Helicobacter cinaedi* 菌血症再発の累積発症率曲線

表 2 : *Helicobacter cinaedi* 菌血症 168 例の臨床的特徴

Patient characteristic	No. (n = 168)
Age, median (range), years	66 (range 26 – 88)
Sex	
Male/Female	88/80
Underlying disease	
Solid tumor	48
Hematological malignancy	40
Chronic renal failure	52
Hemodialysis	25
Diabetes mellitus	18
Chronic hepatic diseases	22
Post-orthopedic surgery	5
Respiratory diseases	13
Cardiovascular diseases	6
None	7
HIV positive/negative	0/127
Central venous catheter	13
Peripheral venous catheter	58
Cardiovascular device	15
Anticancer chemotherapy within 3 months	63
Within 1 week	46
Within 2 weeks	55
Within 1 month	57
Systemic steroid within 30 days	82
Within 1 week	67
Within 2 weeks	76
>700mg of prednisone	70
Charlson comorbidity index, median (range)	3 (range 0 – 10)
0/1-2/3-4/≥5	12/70/40/46
Pitt bacteremia score, median (range)	0 (range 0 – 4)
0/1/2/3/4	120/27/14/4/3
Neutropenia	15
Diarrhea	18
Grade 1/Grade2/Grade3	15/1/2
Cellulitis	54

表 3 : 菌血症再発に関与する危険因子の単変量解析と多変量解析結果

Parameter	No. (%) for group		Univariate analysis		Multivariate analysis	
	Recurrence group (n = 34)	Non-recurrence group (n = 134)	Hazard ratio (95% CI)	P-value	Hazard ratio (95% CI)	P-value
Age > 65 years	15 (44)	75 (56)	0.69 (0.35 – 1.36)	0.28		
Sex (Male)	18 (53)	70 (52)	0.96 (0.49 – 1.89)	0.92		
Underlying diseases						
Solid tumor	7 (21)	41 (31)	0.76 (0.33 – 1.76)	0.52		
Hematological malignancy	16 (47)	24 (18)	3.18 (1.64 – 6.19)	<0.001		NR
Chronic renal failure	6 (18)	46 (34)	0.42 (0.17 – 1.02)	0.056		NR
Hemodialysis	3 (9)	22 (16)	0.51 (0.15 – 1.73)	0.28		
Diabetes mellitus	2 (6)	16 (12)	0.49 (0.12 – 2.03)	0.33		
Chronic hepatic diseases	1 (3)	21 (16)	0.20 (0.027 – 1.52)	0.12		NR
Chronic respiratory diseases	4 (12)	9 (7)	1.46 (0.50 – 4.24)	0.48		
Central venous catheter	1 (3)	12 (9)	0.39 (0.057 – 2.72)	0.34		
Peripheral venous catheter	14 (41)	44 (33)	1.61 (0.82 – 3.17)	0.17		
Cardiovascular device	1 (3)	14 (10)	0.29 (0.039 – 2.17)	0.23		
Anticancer chemotherapy within 3 months	22 (65)	41 (31)	3.75 (1.86 – 7.58)	<0.001	2.47 (1.19 – 5.12)	0.015
Within 1 week	15 (44)	31 (23)	2.50 (1.28 – 4.89)	0.0075		
Within 2 weeks	19 (56)	36 (27)	3.15 (1.61 – 6.17)	<0.001		
Within 4 weeks	19 (56)	38 (28)	3.03 (1.55 – 5.93)	0.0012		
Systemic steroids within 30 days	26 (76)	56 (42)	3.79 (1.70 – 8.45)	0.0011	2.40 (1.03 – 5.61)	0.044
Within 1 week	19 (56)	48 (36)	1.98 (1.01 – 3.87)	0.047		
Within 2 weeks	25 (74)	51 (38)	3.75 (1.74 – 8.10)	<0.001		
> 700mg of prednisone	20 (59)	50 (37)	2.10 (1.06 – 4.15)	0.034		

Pitt bacteremia score ≥ 1	10 (29)	38 (28)	1.24 (0.59 – 2.59)	0.58	
Charlson comorbidity index ≥ 5	5 (15)	41 (31)	0.53 (0.21 – 1.37)	0.19	
Neutropenia	4 (12)	11 (8)	1.85 (0.68 – 5.05)	0.23	
Diarrhea	2 (6)	16 (12)	0.60 (0.13 – 2.68)	0.50	
Cellulitis	13 (38)	41 (31)	1.27 (0.64 – 2.51)	0.50	
Antibiotic treatment <21 days	19 (56)	59 (44)	1.80 (0.92 – 3.50)	0.08	NR
Antibiotic treatment <14 days	10 (29)	35 (26)	1.34 (0.64 – 2.77)	0.44	
SDD (already started SDD on completion of a course of systemic antimicrobial therapy)	6 (18)	36 (27)	0.46 (0.18 – 1.18)	0.11	NR
Stool culture positive	15 (44)	43 (32)	0.86 (0.66 – 1.13)	0.29	
Penicillin-containing regimens	18 (53)	85 (63)	0.69 (0.36 – 1.35)	0.28	
Cephem-containing regimens	15 (44)	55 (41)	1.13 (0.58 – 2.20)	0.73	
Carbapenem-containing regimens	4 (12)	19 (14)	0.83 (0.31 – 2.24)	0.72	
Fluoroquinolone-containing regimens	5 (15)	11 (8)	1.57 (0.60 – 4.12)	0.36	

略語 : SDD, selective digestive decontamination; CI, confidence interval; NR, not retained in the multivariate analysis model

4.3 考察

これまで、*H. cinaedi* 菌血症の臨床像を記述した症例報告は限られたものしかなかった^{25,31,40}。本研究は、最大の症例数を有する報告であり、以下の主要な3点を明らかにすることができた。すなわち、*H. cinaedi* 菌血症の100日累積再発率、菌血症の再発に寄与する危険因子、菌血症の再発を予防する選択的消化管除菌の有効性、である。

H. cinaedi 菌血症の100日累積再発率は18.7%であった。本研究においては、再発のエピソードは初回のみ抽出したが、3患者においては2回以上の再発を認めていた。Pitt bacteremia scoreの中央値は0であり、菌血症の30日死亡率は6.0%と高くはなかったが、一方再発率が高いことが明らかとなった。よって、*H. cinaedi* 菌血症の治療戦略の確立が求められる。

本研究において、*H. cinaedi* 菌血症の再発に寄与する危険因子が、抗癌薬投与と全身ステロイド投与であることを明らかにした。一方、Charlson comorbidity index や Pitt bacteremia score は危険因子として抽出されなかった。

H. cinaedi 感染症の感染経路は糞口感染が想定されており、私たちは1つの主要な感染経路として消化管内に定着した *H. cinaedi* が bacterial translocation によって、菌血症に至ることを示している。

本研究においても、114例中58例(51%)で便培養から *H. cinaedi* を検出しえた。また、抗菌薬治療開始前に便培養を採取することができた17例に限定すると、14例(82%)で *H. cinaedi* を検出しえた。便培養で検出できなかった3例については、検出感度の問題を第1に考え、消化管内に本菌が定着していることが

強く示唆される。これをサポートするデータとして、「*Helicobacter cinaedi* による菌血症後、腸炎発症時の腸管粘膜から病理学的・細菌学的に同菌を検出したびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫の 1 症例」が報告されており⁵⁶⁾、我々の知る限り初めて *H. cinaedi* が腸管粘膜に存在することを証明したものである。

では、どのような症例で、どのような機序で *H. cinaedi* 菌血症が再発するのであろうか。本研究結果から、抗癌薬投与で消化管の粘膜障害が生じることが1つの繰り返し生じる菌血症の要因であることが示唆される。18 例については、下痢症状も認めていた。投与されていた抗癌薬の種類に特定の傾向を認めなかったが、直近 3 か月以内の抗癌薬投与のみならず、直近 1 週間、2 週間、1 か月に限って検討を行っても、同様の傾向を認めた。

また、全身ステロイド投与によって、宿主の免疫能の低下、好中球の機能低下など、様々な機序を介して、繰り返し菌血症に至る 1 つの要因となりうる。例えば、ステロイドは IFN- γ を産生することで細胞内寄生菌に対する免疫を担う Th1 を低下させる^{57, 58)}。また、好中球が血管壁に接着して血管外の炎症部位へ遊走することをステロイドは抑制する⁵⁹⁾。さらには、免疫グロブリンも低下させる⁶⁰⁾ など液性免疫低下も引き起こすことが知られている。本研究では、細胞性免疫、液性免疫、好中球遊走能など、個々の免疫状態を十分に評価することはできていないが、直近 30 日以内の全身ステロイド投与のみならず、直近 1 週間以内、2 週間以内、さらに prednisone 換算 700mg を超える累積投与量が再発に寄与する危険因子として抽出された。

最近の研究では、直近 30 日以内の比較的短期間のステロイド投与や、低用量 (<20 mg of prednisone) の投与であっても、敗血症のリスクを上昇させるとされ

る⁶¹⁾。他の研究では、ステロイド投与に伴う感染症のリスクは、その時点の投与量依存性であり⁶²⁾、prednisone 累積投与量 <700 mg であれば、必ずしも感染症のリスクを上昇させないと報告しているものもある⁶²⁾。以上より、たとえ短期間であっても、直近の全身ステロイド投与自体が感染症発症の、本研究においては *H. cinaedi* 菌血症再発の危険因子となりうると考えられる。

投与された抗菌薬の種類、投与期間は本研究では *H. cinaedi* 菌血症の再発の危険因子と特定されなかった。フルオロキノロン系抗菌薬投与群においては、やや再発が多い傾向があったが、有意差は認めなかった。*H. cinaedi* の薬剤感受性の情報は限られたものしか報告されていない。一般的には、カルバペネム系抗菌薬、アミノグリコシド系抗菌薬、テトラサイクリン系抗菌薬の minimum inhibitory concentration (MIC) 値は相対的に低く、ペニシリン系抗菌薬、セファロスポリン系抗菌薬の MIC 値は中等度、フルオロキノロン系抗菌薬とマクロライド系抗菌薬の MIC 値は相対的に高いことが知られている¹⁰⁾。本研究結果とあわせると、フルオロキノロン系抗菌薬での標的治療は避けた方がよいと考えられるが、臨床例でのさらなる検討が必要である。抗菌薬の投与期間についての検討では、投与期間が <21 日の群において、再発率が高い傾向にあったが、統計学的な有意差は認めなかった。これまで、*H. cinaedi* 菌血症の治療期間については、エキスパート・オピニオンとして比較的長期間の推奨がなされることが多かった^{18, 25, 63)}。本研究結果とあわせて、私たちは 21 日以上の治療期間を推奨したい。この点についても、今後のさらなる検討が必要である。

私たちは、選択的消化管除菌が *H. cinaedi* 菌血症の再発率を低下させる 1 つの治療戦略となりうると考えた。選択的消化管除菌は一般的に 2 種類の方法に分

けられる^{64,65}。第1に、4日程度の静注抗菌薬を投与することで、内因性感染のリスクを低下させることも目的とする。第2に、非吸収性の抗菌薬（ポリミキシンE、トブラマイシン、アムホテリシンBなど）を局所投与することで、口腔咽頭や下部消化管の菌を除菌し、2次的な内因性感染のリスクを低下させる。

本研究における選択的消化管除菌の目的は、主に第2の方法である。腸管内の *H. cinaedi* を除菌することで、菌血症の再発リスクを低下させる戦略である。カナマイシンは、非吸収性の抗菌薬で *H. cinaedi* に対する MIC 値が低値であることが報告されていた^{18,66}。

本研究においては、追跡開始時点での選択的消化管除菌の実施を共変量とした Gray's test の解析では、選択的消化管除菌は再発を低下させる可能性がある (HR, 0.46) とされたが、統計学的な有意差は認められなかった (P = 0.11)。一方、選択的消化管除菌の開始を時間依存性共変量として扱った比例ハザードモデル解析では、選択的消化管除菌は有意に *H. cinaedi* 菌血症の再発を低下させるという結果であった (HR, 0.36; P = 0.050)。

上記より、選択的消化管除菌は *H. cinaedi* 菌血症の再発率を低下させる1つの有望な治療戦略と言える。私たちの一連の研究で、消化管からの bacterial translocation が主要な *H. cinaedi* 菌血症の感染経路であることが示唆されている。よって、カナマイシンによる選択的消化管除菌によって消化管の *H. cinaedi* を除菌し、菌血症再発のリスクを低下させることができる可能性を考える。

選択的消化管除菌は元来、特に critically ill patients において、重症感染症を予防し、死亡率を低下させる戦略の際に用いられる⁶⁴。また、熱傷後患者において bacterial translocation を防ぐ目的でも用いられる⁶⁷。

近年、選択的消化管除菌は本研究内の目的と同様に、繰り返す *Helicobacter* 属や *Campylobacter* 属菌血症の治療戦略として全身抗菌薬投与と併用する形で用いられることがあり、治療成功例が報告されている^{68,69)}。

以上の研究結果より、選択的消化管除菌は特に抗癌薬投与や全身ステロイド投与がなされている再発の高リスク群において、有用な治療戦略である可能性がある。一方、診療担当科と臨床感染症科の合議により実施された限られた症例数を後ろ向きに検討したものであり、今後前向きに十分な症例数による検討が必要であること、さらには選択的消化管除菌自体が薬剤耐性菌感染のリスクを増加させるという議論⁶⁵⁾があることから、慎重に検討を重ねる必要がある。

今回の研究の主要な **limitation** は以下の 4 点である。

第 1 に、本研究が後ろ向き研究であることである。*H. cinaedi* 菌血症の再発は、多くの場合患者が発熱し、臨床医が血液培養採取を指示した場合にのみ診断される。血液培養が採取されない限り、再発の診断には至らないため、実際はさらに再発率が高い可能性がある。

第 2 に、*H. cinaedi* 菌血症の「recurrence (再発)」の診断に至ったとき、そのエピソードが「再燃 (reactivation)」か、「再感染 (reinfection)」かを判別することができていないことである。さらには、抗菌薬治療終了後ごく短期間で再発している症例もあることから、*H. cinaedi* 菌血症再発の厳密な定義も設定が困難であった。理想的には、初回の原因菌株と 2 回目以降の原因菌株の比較解析を PFGE やゲノム解析で実施する必要がある。今回の研究では、*H. cinaedi* 菌血症に対する抗菌薬治療終了後から菌血症再発までの期間の中央値が 26 日であった。比較的短期間での再発であり、再感染 (reinfection) より再燃 (reactivation) を想定し

ている。また、SNP解析を用いた菌血症再発に関する1つの研究では、1回目の菌血症の菌株と2回目の菌血症の菌株を比較し、再燃（reactivation）であったと結論づけている⁷⁰⁾。

第3に、*H. cinaedi* 菌株の薬剤感受性が測定できていないことである。現在、*H. cinaedi* の薬剤感受性を測定する方法の標準的なガイドラインはない。寒天希釈法（agar dilution method）は基本的な検査法であるが、多大な時間や労力が必要である⁶⁶⁾⁷¹⁾。これまでの報告では、微量液体希釈法での*H. cinaedi* の薬剤感受性測定は、菌の発育が遅いことから、非常に測定自体が困難であるとされてきた¹⁶⁾。最近、Tomidaらは、*H. cinaedi* 菌株の微量液体希釈法での感受性測定方法を確立したと報告している⁷²⁾。現時点では、実際の臨床現場では*H. cinaedi* 菌株の薬剤感受性試験が広く実施されている状況ではない。今後、菌株の薬剤感受性試験を実施し、得られた結果と各治療レジメンの臨床効果との相関を検討し、治療方法の確立を目指す。

第4に、今回私たちは、*H. cinaedi* 菌血症の再発に寄与する危険因子を特定したが、後ろ向き研究であったため、危険因子として適切な臨床指標を拾い切れておらず、他に真の危険因子が隠れている可能性を排除できない。そもそも*H. cinaedi* 菌血症とその再発自体が、患者の基礎疾患の重症度や関連する免疫不全の1つの指標にすぎない可能性もある。

5. *H. cinaedi* の同定における迅速診断法についての研究

5.1 方法

5.1.1 菌株の選択

2015年6月から2017年7月にかけて、虎の門病院本院と分院で血液培養から検出した *H. cinaedi* 菌株を対象とした。

血液培養システムは BACTEC 9240 と BACTEC FX system (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD, USA) を用いた。

H. cinaedi の同定は *gyrB* を標的とし、菌種特異的な PCR 法^{41,44)}を gold standard とした。(195 bp; forward primer: 5' -AGGGATTCCACAAAGTGAGC-3' ; reverse primer: 5' -TCTTGTCCTGTGCGTTCATC-3')

得られた菌株は、スキムミルクに懸濁した状態で、-80℃凍結保存した。

H. cinaedi は、トリプチケースソイ 5%ヒツジ血液寒天培地（日本ベクトンディッキンソン、東京、日本）および/またはチョコレート II 寒天培地（日本ベクトンディッキンソン、東京、日本）で数回継代培養した。

5.1.2 質量分析法 (MALDI-TOF MS)

MALDI-TOF MS (Microflex LT, flex control 3.4.135.0, MALDI Biotyper 1.0; Bruker Daltonics、ブレーメン、ドイツ) は直接同定法で行った。はじめに、寒天培地から1つのコロニーを選び、それを鋼製プレート (MSP 96 target polished steel BC) に薄く塗布した (Bruker Daltonics、ブレーメン、ドイツ)。その後、室内で乾燥させ、1 μ L のマトリックス溶液 (Bruker Daltonics、ブレーメン、ドイツ) を追加

し、MALDI-TOF MS で同定した。

また、MALDI-TOF MS スコア値 2.0 を超えた全ての分離株、スコア値 1.7-1.999 のなかからランダムに選択した 2 株、スコア値 1.7 未満の全ての分離株を対象にして、16S rRNA 遺伝子を標的とした塩基配列解析による菌名同定を行った (27F & 1492R および 10F & 1492R)。

5.1.3 倫理

本研究は東京大学（倫理承認番号：11633）、虎の門病院（1391-H）、虎の門病院分院（1391-B）の倫理委員会の承認を得て行った。説明と同意については、オプトアウトで対応し、拒否の機会を保障した。

5.2 結果

研究期間内に 54 株の臨床分離株を得た。全 54 株において MALDI-TOF MS で行った同定結果の best match organism は *H. cinaedi* であった。全データを表 4 に示した。54 株中 2 株が 2.0 以上の score value を、50 株が 1.7~1.999 の score value を、2 株は 1.7 未満の score value を示した。Score value 2.0 以上の全 2 株と 1.7~1.999 のランダムに選択した 2 株は 16S rRNA 塩基配列解析でも *H. cinaedi* であることが確認された。

Score value 1.7 未満であった 2 株についての詳細な結果を以下に示す。1 株は best match organism が *H. cinaedi* (score value 1.629)、second match organism が *Pseudomonas indica* (score value 1.339) であり、もう 1 株は best match organism が *H. cinaedi* (score value 1.56)、second match organism が *H. cinaedi* (score value 1.362) であった。これら 2 株は 16s RNA 塩基配列解析においても *Helicobacter species* の同定に留まった。

表 4 : 54 菌株の polymerase chain reaction (PCR)、Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)、16S rRNA 解析による同定結果

No. of strain	PCR	MALDI-TOF MS				16S rRNA
		Organism (best match)	Score value	Organism (second best match)	Score value	
1	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.804	<i>H. cinaedi</i>	1.72	
2	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.873	<i>H. cinaedi</i>	1.803	<i>H. cinaedi</i>
3	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.861	<i>H. cinaedi</i>	1.857	
4	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.887	<i>H. cinaedi</i>	1.817	
5	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.881	<i>H. cinaedi</i>	1.646	
6	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.778	<i>H. cinaedi</i>	1.604	
7	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.805	<i>H. cinaedi</i>	1.744	
8	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.931	<i>H. cinaedi</i>	1.796	
9	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.986	<i>H. cinaedi</i>	1.961	
10	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.629	<i>P. indica</i>	1.339	<i>Helicobacter</i> species
11	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.56	<i>H. cinaedi</i>	1.362	<i>Helicobacter</i> species
12	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.928	<i>H. cinaedi</i>	1.852	<i>H. cinaedi</i>
13	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.924	<i>H. cinaedi</i>	1.881	
14	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.867	<i>H. cinaedi</i>	1.745	
15	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.797	<i>H. cinaedi</i>	1.791	
16	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.815	<i>H. cinaedi</i>	1.668	
17	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.793	<i>H. cinaedi</i>	1.764	
18	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.91	<i>H. cinaedi</i>	1.79	
19	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.864	<i>H. cinaedi</i>	1.855	
20	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.815	<i>H. cinaedi</i>	1.639	
21	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.896	<i>H. cinaedi</i>	1.803	
22	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.755	<i>H. cinaedi</i>	1.701	
23	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.804	<i>H. cinaedi</i>	1.695	
24	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.862	<i>H. cinaedi</i>	1.812	
25	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.905	<i>H. cinaedi</i>	1.837	
26	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.906	<i>H. cinaedi</i>	1.875	
27	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.769	<i>H. cinaedi</i>	1.674	
28	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.738	<i>H. cinaedi</i>	1.689	
29	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.717	<i>H. cinaedi</i>	1.705	
30	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.791	<i>H. cinaedi</i>	1.71	
31	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.817	<i>H. cinaedi</i>	1.777	
32	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.857	<i>H. cinaedi</i>	1.855	
33	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.963	<i>H. cinaedi</i>	1.926	
34	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.825	<i>H. cinaedi</i>	1.812	

35	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.808	<i>H. cinaedi</i>	1.805	
36	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.876	<i>H. cinaedi</i>	1.768	
37	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.778	<i>H. cinaedi</i>	1.742	
38	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.901	<i>H. cinaedi</i>	1.794	
39	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	2.004	<i>H. cinaedi</i>	1.832	<i>H. cinaedi</i>
40	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.815	<i>H. cinaedi</i>	1.769	
41	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.96	<i>H. cinaedi</i>	1.896	
42	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.884	<i>H. cinaedi</i>	1.858	
43	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.95	<i>H. cinaedi</i>	1.924	
44	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.988	<i>H. cinaedi</i>	1.885	
45	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.936	<i>H. cinaedi</i>	1.888	
46	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.767	<i>H. cinaedi</i>	1.763	
47	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.765	<i>H. cinaedi</i>	1.755	
48	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.988	<i>H. cinaedi</i>	1.736	
49	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.711	<i>H. cinaedi</i>	1.673	
50	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.735	<i>H. cinaedi</i>	1.378	
51	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.827	<i>H. cinaedi</i>	1.375	
52	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.806	<i>H. cinaedi</i>	1.52	
53	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	1.905	<i>H. cinaedi</i>	1.833	
54	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. cinaedi</i>	2.008	<i>H. cinaedi</i>	1.883	<i>H. cinaedi</i>

略語: *H. cinaedi*, *Helicobacter cinaedi*; *P. indica*, *Pseudomonas indica*

5.3 考察

H. cinaedi の同定における MALDI-TOF MS の有用性を人からの分離株を用いて評価した初めての研究である。谷口らは、ヒト、イヌ、ネコ、ハムスターから分離した *Helicobacter* 属菌種 68 株を MALDI-TOF MS で同定しえたことを報告している¹⁴⁾。今回の研究は、人の血液培養から分離した *H. cinaedi* についても MALDI TOF-MS による同定が信頼できることを示唆するデータとなりうる。これにより、菌が培地で発育してからの同定は速やかに可能であることが明らかになった。

本研究には limitation が存在する。54 株中 2 株が 1.7 未満のスコアを示したことである。この理由は以下の 2 つが考えられる。(1) 菌種が MALDI-TOF MS のライブラリに登録されていなかった。本研究の遂行にあたっては MALDI Biotyper 1.0 を使用したため、結果が現在更新されているデータを反映していない可能性がある。(2) *gyrB* を標的とした PCR 法では鑑別することが難しい *H. cinaedi* の近縁種であった可能性がある。今回の研究では *gyrB* を標的とした PCR 法を gold standard としたが、MALDI TOF-MS、16S rRNA 塩基配列解析も含めていずれの方法も同定には限界があることが考えられる。腸肝在位 *Helicobacter* 属の種を特定することは容易でなく、近年多くの新種が報告されている⁷³⁾。今回の研究においても、16S rRNA 塩基配列解析においても最終的に菌種の同定を行うことができなかった。

6. まとめと今後の展望

腸管在位 *H. cinaedi* 感染症の臨床的特徴、感染経路、検査法についての研究を行った。それぞれの項目について、独自の新知見を得ることができ、*H. cinaedi* 感染症の研究の発展に寄与することができたと考える。また、関連するその他の腸管在位 *Helicobacter* 属のヒトへの感染例も報告されており、これらの臨床像や感染経路、検査法の解明についての契機となりうる研究である。

以下、感染経路、臨床的特徴、検査法について、まとめと今後の展望を記載する。

1. 感染経路について

H. cinaedi 菌血症の1つの主要な感染経路として、腸管から血液中への bacterial translocation が起きていることが示唆された。*H. cinaedi* のヒトへの感染は、恐らく糞口感染が先行し、腸管に定着した菌が bacterial translocation により血管内に侵入し、菌血症として認識されると考えられる。この点は、今後の *H. cinaedi* 感染症のヒトにおける市中での広がりや院内での広がりの評価するうえで、重要な示唆を与えるものである。

本菌は Nosocomial bloodstream infection、あるいは health care-associated bloodstream infection として認識されることが多い。つまり、院内でヒト-ヒト感染、あるいは環境を介した感染が成立しうるものか、今後の重要な研究課題である。一方、community-acquired bloodstream infection として認識されることがあることも重要である。市中の健常人が本菌を腸管内に保菌することがあるのか、あるいは通過菌として感染することがあるのか、これも今後の研究課題である。

この疑問点を解決するために、今後パルスフィールドゲル電気泳動法以外に、Multilocus Sequence Typing (MLST) などの手法を用いて、蓄積している多くの菌株を対象に、菌株の基礎的な解析を進めていく予定である。さらには、多施設共同研究の形で、日本の疫学について研究を進め、*H. cinaedi* の日本における広がりについて考察を深めていきたい。

2. 治療法について

H. cinaedi 菌血症の再発に注目し、以下のことを明らかにした。100 日の累積発症率は、18.7%であった。抗癌薬投与と全身ステロイド投与が菌血症再発の独立した危険因子として抽出された。選択的消化管除菌は菌血症再発のリスクを低下させる 1 つの治療戦略となりうる。

今後は、*H. cinaedi* 菌血症に対する治療戦略を確立したい。そのためには、最適な全身抗菌薬投与を選択、確立する必要がある。今後は、蓄積している菌株の薬剤感受性試験を実施したい。多施設共同研究の形で、微量液体希釈法で薬剤感受性を測定することを計画している。得られた感受性データと、保存している臨床データを照合し、どの抗菌薬を標的治療として用いるのがよいか（再発率を低下させるか）を明らかにしていく。

3. 菌種の同定について

質量分析法 (MALDI-TOF MS) は *H. cinaedi* の同定において、信頼できる検査法であることを明らかにした。これにより、菌株が得られてからの同定は速やかに可能となったが、血液培養ボトルの陽性シグナルがなった際に、直接 MALDI-TOF MS へかけた場合はどうかの検討が今後望まれる。直接同定が可能となれば、同定までの期間をさらに 3 日程度短縮することが可能となる。

さらに、MALDI-TOF MS について、最新のライブラリに更新した段階で、改めて蓄積している菌株について再度研究を実施する。併せて、MALDI-TOF MS、16S rRNA 塩基配列解析で同定できなかった菌株について、他施設共同研究として菌株の詳細な解析を行う。新菌種である可能性もあり、腸肝在位 *Helicobacter* 属の研究をさらに前進させることが期待できる。

4. おわりに

H. cinaedi 感染症と他の疾患の関連についても注目している。同じ *Helicobacter* 属である *H. pylori* は胃癌との関連が判明したことにより、研究が大きく進んだ。*H. cinaedi* は既報で動脈硬化との関連が報告されているが、経験症例をさらに深く考察することにより、これまで見えてこなかった他の疾患との関連についても注目しながら研究を進めていきたい。

7. 結論

本研究の遂行により、*H. cinaedi* 感染症について、以下のことを新知見として得ることができた。

感染経路：*H. cinaedi* 菌血症の1つの主要な感染経路として、腸管から血液中への bacterial translocation が起きていることが示唆された。

H. cinaedi 菌血症の再発：100日の累積発症率は、18.7%であった。抗癌薬投与と全身ステロイド投与が菌血症再発の独立した危険因子として抽出された。選択的消化管除菌は菌血症再発のリスクを低下させる1つの治療戦略となりうる。

検査法：質量分析法（MALDI-TOF MS）は *H. cinaedi* の同定において、信頼できる検査法である。

8. 謝辞

本研究は主として、東京大学医学部臨床病態検査医学 矢富裕教授（指導教官）、東京大学医学部感染制御部 森屋恭爾教授、国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 臨床感染症科 米山彰子先生（前部長）のご指導の下で行われました。心よりのお礼を申し上げます。

また、東京大学医学部 感染制御部技師（佐藤智明技師、日暮芳己技師）、統計学的なサポートをいただきました東京大学医学部附属病院臨床研究推進センター 川原拓也先生、国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 臨床感染症科 医師（木村宗芳先生、阿部雅広先生）、国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 臨床感染症部技師（稲川裕子技師、岡田千香子技師、藪崎礼子技師、山中まゆみ技師、馬場勝技師、綿引典子技師、馬場浩美技師、芳野智恵美技師、椿智宏技師、山田愛子技師、高村亜弓技師、遠藤勇祐技師）をはじめとした多くの皆様のご協力に深く感謝いたします。

9. 文献

1. The List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN): Genus *Helicobacter*. <https://www.bacterio.net/genus/helicobacter> last accessed 10th October, 2020.
2. Saito S, Tsukahara M, Ohkusu K, Kurai H. *Helicobacter fennelliae* Bacteremia: Three Case Reports and Literature Review. *Medicine (Baltimore)*. 95(18): e3556, 2016.
3. Hamada T, Yokota K, Ayada K, Hirai K, Kamada T, Haruma K, Chayama K, Oguma K. Detection of *Helicobacter hepaticus* in human bile samples of patients with biliary disease. *Helicobacter*. 14(6): 545-51, 2009.
4. Segura-López FK, Avilés-Jiménez F, Güitrón-Cantú A, Valdéz-Salazar HA, León-Carballo S, Guerrero-Pérez L, Fox JG, Torres J. Infection with *Helicobacter bilis* but not *Helicobacter hepaticus* was Associated with Extrahepatic Cholangiocarcinoma. *Helicobacter*. 20(3): 223-30, 2015.
5. Murata H, Tsuji S, Tsujii M, Fu HY, Tanimura H, Tsujimoto M, Matsuura N, Kawano S, Hori M. *Helicobacter bilis* infection in biliary tract cancer. *Aliment Pharmacol Ther*. 20 Suppl 1: 90-4, 2004.
6. van der Vusse ML, van Son WJ, Ott A, Manson W. *Helicobacter canis* bacteremia in a renal transplant patient. *Transpl Infect Dis*. 16(1): 125-9, 2014.
7. Abidi MZ, Wilhelm MP, Neff JL, Hughes JG, Cunningham SA, Patel R. *Helicobacter canis* bacteremia in a patient with fever of unknown origin. *J Clin Microbiol*. 51(3): 1046-8, 2013.
8. Prag J, Blom J, Krogfelt KA. *Helicobacter canis* bacteraemia in a 7-month-old child. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 50(2): 264-7, 2007.

9. Alon D, Paitan Y, Ben-Nissan Y, Chowers M. Persistent *Helicobacter canis* bacteremia in a patient with gastric lymphoma. *Infection*. 38(1): 62-4, 2010.
10. Kawamura Y, Tomida J, Morita Y, Fujii S, Okamoto T, Akaike T. Clinical and bacteriological characteristics of *Helicobacter cinaedi* infection. *J Infect Chemother*. 20(9): 517-26, 2014.
11. Fennell CL, Totten PA, Quinn TC, Patton DL, Holmes KK, Stamm WE. Characterization of *Campylobacter*-like organisms isolated from homosexual men. *J Infect Dis*. 149(1): 58-66, 1984.
12. Totten PA, Fennell CL, Tenover FC, Wezenberg JM, Perine PL, Stamm WE, Holmes KK. *Campylobacter cinaedi* (sp. nov.) and *Campylobacter fennelliae* (sp. nov.): two new *Campylobacter* species associated with enteric disease in homosexual men. *J Infect Dis*. 151(1): 131-9, 1985.
13. Vandamme P, Falsen E, Rossau R, Hoste B, Segers P, Tytgat R, De Ley J. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. *Int J Syst Bacteriol*. 41(1): 88-103, 1991.
14. Misawa N, Kawashima K, Kondo F, Kushima E, Kushima K, Vandamme P. Isolation and characterization of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Anaerobiospirillum* strains from a puppy with bloody diarrhea. *Vet Microbiol*. 87(4): 353-64, 2002.
15. Taniguchi T, Sekiya A, Higa M, Saeki Y, Umeki K, Okayama A, Hayashi T, Misawa N. Rapid identification and subtyping of *Helicobacter cinaedi* strains by intact-cell mass spectrometry profiling with the use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. 52(1): 95-102, 2014.
16. Sacks LV, Labriola AM, Gill VJ, Gordin FM. Use of ciprofloxacin for successful

- eradication of bacteremia due to *Campylobacter cinaedi* in a human immunodeficiency virus-infected person. Rev Infect Dis. 13(6): 1066-8, 1991.
17. Decker CF, Martin GJ, Barham WB, Paparello SF. Bacteremia due to *Campylobacter cinaedi* in a patient infected with the human immunodeficiency virus. Clin Infect Dis. 15(1): 178-9, 1992.
 18. Kiehlbauch JA, Tauxe RV, Baker CN, Wachsmuth IK. *Helicobacter cinaedi*-associated bacteremia and cellulitis in immunocompromised patients. Ann Intern Med. 121(2): 90-3, 1994.
 19. Burman WJ, Cohn DL, Reves RR, Wilson ML. Multifocal cellulitis and monoarticular arthritis as manifestations of *Helicobacter cinaedi* bacteremia. Clin Infect Dis. 20(3):564-70, 1995.
 20. Tee W, Street AC, Spelman D, Munckhof W, Mijch A. *Helicobacter cinaedi* bacteraemia: varied clinical manifestations in three homosexual males. Scand J Infect Dis. 28(2):199-203, 1996.
 21. Sullivan AK, Nelson MR, Walsh J, Gazzard BG. Recurrent *Helicobacter cinaedi* cellulitis and bacteraemia in a patient with HIV Infection. Int J STD AIDS. 8(1):59-60, 1997.
 22. Hung CC, Hsueh PR, Chen MY, Teng LJ, Chen YC, Luh KT, Chuang CY. Bacteremia caused by *Helicobacter cinaedi* in an AIDS patients. J Formos Med Assoc. 96(7): 558-60, 1997.
 23. Murakami H, Goto M, Ono E, Sawabe E, Iwata M, Okuzumi K, Yamaguchi K, Takahashi T. Isolation of *Helicobacter cinaedi* from blood of an immunocompromised patient in Japan. J Infect Chemother. 9(4): 344-7, 2003.
 24. Simons E, Spacek LA, Lederman HM, Winkelstein JA. *Helicobacter cinaedi*

- bacteremia presenting as macules in an afebrile patient with X-linked agammaglobulinemia. *Infection*. 32(6) :367-8, 2004.
25. Uçkay I, Garbino J, Dietrich PY, Ninet B, Rohner P, Jacomo V. Recurrent bacteremia with *Helicobacter cinaedi*: case report and review of the literature. *BMC Infect Dis*. 6: 86, 2006.
 26. Kitamura T, Kawamura Y, Ohkusu K, Masaki T, Iwashita H, Sawa T, Fujii S, Okamoto T, Akaike T. *Helicobacter cinaedi* cellulitis and bacteremia in immunocompetent hosts after orthopedic surgery. *J Clin Microbiol*. 45(1): 31-8, 2007.
 27. Kikuchi H, Asako K, Tansho S, Ueda T, Koshio O, Ubagai T, Asahara M, Kawakami S, Ono Y. Recurrent *Helicobacter cinaedi* cellulitis and bacteremia in a patient with systemic lupus erythematosus. *Intern Med*. 51(22): 3185-8, 2012.
 28. Mandai S, Kasagi Y, Kusaka K, Shikuma S, Akita W, Kuwahara M. *Helicobacter cinaedi* kidney cyst infection and bacteremia in a patient with autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Infect Chemother*. 20(11): 732-4, 2014.
 29. Uwamino Y, Muranaka K, Hase R, Otsuka Y, Hosokawa N. Clinical Features of Community-Acquired *Helicobacter cinaedi* Bacteremia. *Helicobacter*. 21(1): 24-8, 2016.
 30. Sugiyama A, Mori M, Ishiwada N, Himuro K, Kuwabara S. First adult case of *Helicobacter cinaedi* meningitis. *J Neurol Sci*. 336(1-2): 263-4, 2014.
 31. Araoka H, Baba M, Kimura M, Abe M, Inagawa H, Yoneyama A. Clinical characteristics of bacteremia caused by *Helicobacter cinaedi* and time required for blood cultures to become positive. *J Clin Microbiol*. 52(5): 1519-22, 2014.
 32. van der Ven AJ, Kullberg BJ, Vandamme P, Meis JF. *Helicobacter cinaedi* bacteremia associated with localized pain but not with cellulitis. *Clin Infect Dis*.

- immunocompetent hosts after orthopedic surgery. *J Clin Microbiol.* 45(1): 31-8, 2007.
41. Minauchi K, Takahashi S, Sakai T, Kondo M, Shibayama K, Arakawa Y, Mukai M. The nosocomial transmission of *Helicobacter cinaedi* infections in immunocompromised patients. *Intern Med.* 49(16): 1733-9, 2010.
42. Rimbara E, Mori S, Kim H, Matsui M, Suzuki S, Takahashi S, Yamamoto S, Mukai M, Shibayama K. *Helicobacter cinaedi* and *Helicobacter fennelliae* transmission in a hospital from 2008 to 2012. *J Clin Microbiol.* 51(7): 2439-42, 2013.
43. Khan S, Rahman HN, Okamoto T, Matsunaga T, Fujiwara Y, Sawa T, Yoshitake J, Ono K, Ahmed KA, Rahaman MM, Oyama K, Takeya M, Ida T, Kawamura Y, Fujii S, Akaike T. Promotion of atherosclerosis by *Helicobacter cinaedi* infection that involves macrophage-driven proinflammatory responses. *Sci Rep.* 4: 4680, 2014.
44. Hannula M, Hänninen ML. Phylogenetic analysis of *Helicobacter* species based on partial *gyrB* gene sequences. *Int J Syst Evol Microbiol.* 57(Pt 3): 444-9, 2007.
45. Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, McGarry SA, Trivette SL, Briggs JP, Lamm W, Clark C, MacFarquhar J, Walton AL, Reller LB, Sexton DJ. Health care-associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med.* 137(10): 791–7, 2002.
46. Rimbara E, Mori S, Matsui M, Suzuki S, Wachino J, Kawamura Y, Shen Z, Fox JG, Shibayama K. Molecular epidemiologic analysis and antimicrobial resistance of *Helicobacter cinaedi* isolated from seven hospitals in Japan. *J Clin Microbiol.* 50(8): 2553-60, 2012.
47. Taniguchi T, Saeki Y, Okayama A, Hayashi T, Misawa N. Extraintestinal infection of *Helicobacter cinaedi* induced by oral administration to Balb/c mice. *Microbiol*

- Immunol. 61(2): 57-63, 2017.
48. Gibson JR, Sutherland K, Owen RJ. Inhibition of DNase activity in PFGE analysis of DNA from *Campylobacter jejuni*. Lett Appl Microbiol. 19: 357-358, 1994.
49. Zhou P, Oyarzabal OA. Application of pulsed field gel electrophoresis to type *Campylobacter jejuni*. In Jordan K, Dalmasso M (ed), Pulse Field Gel Electrophoresis: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 1301. Humana Press, Springer Science + Business Media New York 2015, 2011: 139-56.
50. Tomida J, Morita Y, Shibayama K, Kikuchi K, Sawa T, Akaike T, Kawamura Y. Diversity and microevolution of CRISPR loci in *Helicobacter cinaedi*. PLoS One. 12(10): e0186241, 2017.
51. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. J Chronic Dis. 40(5): 373-83, 1987.
52. Chow JW, Yu VL. Combination antibiotic therapy versus monotherapy for Gram-negative bacteraemia: a commentary. Int J Antimicrob Agents. 11: 7–12, 1999.
53. Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, Boeckh MJ, Ito JI, Mullen CA, Raad II, Rolston KV, Young JA, Wingard JR; Infectious Diseases Society of America. Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 52: e56–e93, 2011.
54. US Department of Health and Human Services; National Institutes of Health. National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.03, June 14, 2010. Available at: https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03/CTCAE_4.03_2010-06-

55. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant*. 48: 452-8, 2013.
56. 西尾久明, 浅越康助. *Helicobacter cinaedi* による菌血症後、腸炎発症時の腸管粘膜から病理学的・細菌学的に同菌を検出したびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫の 1 症例. *感染症誌*. 92; 133-7, 2018.
57. Olnes MJ, Kotliarov Y, Biancotto A, Cheung F, Chen J, Shi R, Zhou H, Wang E, Tsang JS, Nussenblatt R; CHI Consortium. Effects of systemically administered hydrocortisone on the human immunome. *Sci Rep*. 6: 23002, 2016.
58. Franchimont D, Louis E, Dewe W, Martens H, Vrindts-Gevaert Y, De Groote D, Belaiche J, Geenen V. Effects of dexamethasone on the profile of cytokine secretion in human whole blood cell cultures. *Regul Pept*. 73(1): 59-65, 1998.
59. Fauci AS, Dale DC, Balow JE. Glucocorticosteroid therapy: mechanisms of action and clinical considerations. *Ann Intern Med*. 84(3): 304-15, 1976.
60. Settipane GA, Pudupakkam RK, McGowan JH. Corticosteroid effect on immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol*. 62(3): 162-6, 1978.
61. Waljee AK, Rogers MA, Lin P, Singal AG, Stein JD, Marks RM, Ayanian JZ, Nallamotheu BK. Short term use of oral corticosteroids and related harms among adults in the United States: population based cohort study. *BMJ*. 357: j1415, 2017.
62. Stuck AE, Minder CE, Frey FJ. Risk of infectious complications in patients taking glucocorticosteroids. *Rev Infect Dis*. 11(6): 954-63, 1989.
63. Lasry S, Simon J, Marais A, Pouchot J, Vinceneux P, Boussougant Y. *Helicobacter cinaedi* septic arthritis and bacteremia in an immunocompetent patient. *Clin Infect Dis*. 31(1): 201-2, 2000.

64. Silvestri L, van Saene HK. Selective decontamination of the digestive tract: an update of the evidence. *HSR Proc Intensive Care Cardiovasc Anesth.* 4(1): 21-9, 2012.
65. Daneman N, Sarwar S, Fowler RA, Cuthbertson BH; SuDDICU Canadian Study Group. Effect of selective decontamination on antimicrobial resistance in intensive care units: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 13(4): 328-41, 2013.
66. Kiehlbauch JA, Brenner DJ, Cameron DN, Steigerwalt AG, Makowski JM, Baker CN, Patton CM, Wachsmuth IK. Genotypic and phenotypic characterization of *Helicobacter cinaedi* and *Helicobacter fennelliae* strains isolated from humans and animals. *J Clin Microbiol.* 33(11): 2940-7, 1995.
67. Aboelatta YA, Abd-Elsalam AM, Omar AH, Abdelaal MM, Farid AM. Selective digestive decontamination (SDD) as a tool in the management of bacterial translocation following major burns. *Ann Burns Fire Disasters.* 26(4): 182-8, 2013.
68. Okada H, Kitazawa T, Harada S, Itoyama S, Hatakeyama S, Ota Y, Koike K. Combined treatment with oral kanamycin and parenteral antibiotics for a case of persistent bacteremia and intestinal carriage with *Campylobacter coli*. *Intern Med.* 47(14): 1363-6, 2008.
69. Fujiya Y, Nagamatsu M, Tomida J, Kawamura Y, Yamamoto K, Mawatari M, Kutsuna S, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Mezaki K, Hashimoto M, Ishii S, Ohmagari N. Successful treatment of recurrent *Helicobacter fennelliae* bacteraemia by selective digestive decontamination with kanamycin in a lung cancer patient receiving chemotherapy. *JMM Case Rep.* 3(5): e005069, 2016.
70. Sawada O, Gotoh Y, Taniguchi T, Furukawa S, Yoshimura D, Sasaki S, Shida H, Kusunoki Y, Yamamura T, Furuya K, Itoh T, Horita T, Hayashi T, Misawa N. Genome

- sequencing verifies relapsed infection of *Helicobacter cinaedi*. Open Forum Infect Dis. 6(5): ofz200, 2019.
71. Orlicek SL, Welch DF, Kuhls TL. Septicemia and meningitis caused by *Helicobacter cinaedi* in a neonate. J Clin Microbiol. 31: 569-71, 1993.
72. Tomida J, Oumi A, Okamoto T, Morita Y, Okayama A, Misawa N, Hayashi T, Akaike T, Kawamura Y. Comparative evaluation of agar dilution and broth microdilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Helicobacter cinaedi*. Microbiol Immunol. 57(5): 353-8, 2013.
73. Kawamura Y, Tomida J, Miyoshi-Akiyama T, Okamoto T, Narita M, Hashimoto K, Cnockaert M, Vandamme P, Morita Y, Sawa T, Akaike T. Proposal of *Helicobacter canicola* sp. nov., previously identified as *Helicobacter cinaedi*, isolated from canines. Syst Appl Microbiol. 39(5): 307-12, 2016.