

論文の内容の要旨

論文題目 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

氏名 荒岡 秀樹

Helicobacter 属は 2020 年 9 月時点で 45 菌種認識されている。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。*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。'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。イヌ、ネコ、ハムスターなどからも分離され、人獣共通感染症と考えられている。

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、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検査が必要とされてきた。また、16S rRNA 解析でも判別困難な近縁菌種の存在も報告されている。また、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。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。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、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。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

て、血液培養陽性化までの時間と臨床像とを報告した。研究期間中、血液培養陽性検体の2.2%を *H. cinaedi* が占めていた。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。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。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。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。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。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。

これらの背景をもとに、本研究では、目的を以下の3点とした。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。

1. *H. cinaedi* 菌血症の感染経路

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。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ところ、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。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。

2. *H. cinaedi* 菌血症の臨床的特徴：菌血症の再発について

2009年3月から2016年12月にかけて、*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。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%) 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。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。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。*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; $P < 0.001$)。患者の重症度や基礎疾患には偏りを認めなかった。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 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; $P = 0.11$)。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; $P = 0.050$)。

3. *H. cinaedi* の同定における迅速診断法について

2015 年 6 月から 2017 年 7 月にかけて、血液培養から検出した *H. cinaedi* 菌株を対象とした。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。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)。

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。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 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 株については、16s RNA 解析においても *Helicobacter species* の同定に留まった。

結論として、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ことを明らかにした。検査法：質量分析法

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