

感染症発生動向調査事業

秋田県内で分離されたジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* の解析

関谷優晟 今野貴之 伊藤佑歩 高橋志保

1. はじめに

Corynebacterium ulcerans は、ジフテリアの起因菌である *C. diphtheriae* の近縁種である。一部の菌株はジフテリア毒素を産生し、ジフテリアに類似した疾患を引き起こすことがある。ジフテリアが感染症法上における二類感染症として届出が義務付けられている一方で、本感染症は届出の対象外であり、積極的疫学調査等の行政の介入が規定されていない。しかし、2002年11月に厚生労働省健康局結核感染症課長通知が発出されており、地方自治体及び医療機関に対して発生に係る情報提供が求められている。今般、秋田県内において *C. ulcerans* の感染症例が確認され、医療機関からの情報提供をもとに、当センターにて分離株の毒素産生性及び遺伝子解析を実施したので報告する。

2. 症例

患者は70代女性で、2024年某日救急搬送され入院となった。入院数か月前より両下腿に浮腫が出現しており、一週間ほど前から痛みで体動困難な状況にあった。入院時には、両下腿に紫斑・潰瘍、右前胸部に紫斑を認め、X線CTにより同部位に蜂窩織炎、肺炎像が確認された。血液検査により、炎症、貧血、心筋逸脱酵素上昇を認めた。抗菌薬投与による治療を開始したが、入院2日後に死亡した。入院時に採取された皮膚病巣と血液培養2セットからグラム陽性桿菌が確認され、質量分析により *C. ulcerans* と同定された。

3. 方法

患者の皮膚及び血液から分離された *C. ulcerans* 2株（それぞれDI-18、DI-19）について、16S rRNA遺伝子及び *rpoB* 遺伝子の相同性解析¹⁾を実施した。PCR法²⁾によりジフテリア毒素遺伝子の保有を、寒天内沈降反応法（Elek法）³⁾

により同毒素産生性をそれぞれ確認した。

7種類のハウスキーピング遺伝子（*atpA*, *dnaE*, *dnaK*, *fusA*, *leuA*, *odhA*, *rpoB*）についてシークエンス解析を実施し、各遺伝子の allele number 及び MLST 型を決定した⁴⁾。ジフテリア毒素遺伝子についてもシークエンス解析⁵⁾を実施し、登録配列との比較を行った。

4. 結果

相同性解析の結果、16S rRNA、*rpoB* 両遺伝子とも *C. ulcerans* の登録配列と 100%一致した。PCR法によりジフテリア毒素遺伝子の保有が確認され、Elek法を実施した結果、沈降線が認められたため同毒素の産生が確認された（図1）。以上により、本事例の分離株はジフテリア毒素産生性の *C. ulcerans* であることが判明した。

疫学解析の結果、allele number は全て1で、MLST型はST1に分類された（表1）。ジフテリア毒素遺伝子の配列はGeneBankに登録されたAB602354と1塩基違いで、99.9%一致した。

5. 考察

本感染症は、ジフテリアによる健康被害が比較的少ない先進国において特に注目されている⁶⁾。日本国内においても、2001年に初めて発生が確認されて以降、2020年までに36件が報告され、死亡事例も2件確認されている⁷⁾。症状としては、風邪様症状や咽頭における偽膜形成等の呼吸器症状が約7割を占め、皮膚病変等の非呼吸器症状の症例は少ない。呼吸器症状は中高齢者に多く重症化しやすい一方で、非呼吸器症状は比較的若い年齢での発症が多く、重症度は低い傾向がある。本事例の患者は独居であったため、皮膚病変が認められるも早期受診につながらず、入院加療に至るまでに長い時間がかかっており、菌の同定結果が担当医に報告されたのは患者の死亡の数時間前であった。

表1 分離株の MLST 解析

	allele number							MLST 型
	<i>atpA</i>	<i>dnaE</i>	<i>dnaK</i>	<i>fusA</i>	<i>leuA</i>	<i>odhA</i>	<i>rpoB</i>	
DI-18	1	1	1	1	1	1	1	ST1
DI-19	1	1	1	1	1	1	1	ST1

C. ulcerans は、疫学解析により、ヒト、犬、猫からの分離菌で構成される「ヒト犬猫圏」と、野生動物からの分離菌で構成される「野生動物圏」の2種類の菌群に分類可能である⁴⁾。本事例の分離株は、MLST で ST1 に分類され、ジフテリア毒素の配列は GeneBank に登録されている AB602354 とほぼ同じ配列であり、「ヒト犬猫圏」に分類される遺伝子型であった。患者の動物の飼育歴等を確認することはできなかったが、疫学解析の結果から犬や猫等との接触が原因で感染した可能性が高いことが推察された。また、ST1 は日本で初めて報告されたヒト感染事例を含め、国内で広く分離されている MLST 型であり^{8,9)}、遺伝的に近縁な菌株が日本国内に広く伝播している可能性が示唆された。

日本国内では、ほとんどの *C. ulcerans* 感染事例で伴侶動物からの感染が疑われている⁶⁾。動物と触れ合った後の手洗いの実施等、一般的な衛生管理が感染リスクの低減に有効である。本事例は管轄保健所から厚生労働省に対する報告等が行われたが、前述したとおり本感染症は症例の全数把握が行われておらず、潜在的には更に多数の感染者が存在するとの予想もある⁹⁾。今後も関係機関で連携し、本感染症についての啓発と注意喚起に努めていきたい。

参考文献

- 1) Khamis, A., et. al.: *rpoB* Gene Sequencing for Identification of *Corynebacterium* Species, *J. Clin. Microbiol.*, **42**, 9, 2004, 3925-31.
- 2) Nakao, H., et.al.: Development of a direct PCR assay for detection of the diphtheria toxin gene, *J. Clin. Microbiol.*, **35**, 7, 1997, 1651-5.
- 3) Reinhardt, DJ., et. al.: Antitoxin-in-Membrane and Antitoxin-in-Well Assays for Detection of Toxigenic *Corynebacterium diphtheriae*, *J. Clin. Microbiol.*, **36**, 1, 1998, 207-210.
- 4) Katsukawa, C., et.al.: Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* isolated from a hunting dog and its diphtheria toxin antibody titer, *Microbiol. Immunol.*, **60**, 3, 2016, 177-86.
- 5) Seto, Y., et. al.: Properties of corynephage attachment site and molecular epidemiology of *Corynebacterium ulcerans* isolated from humans and animals in Japan, *Jpn. J. Infect. Dis.*, **61**, 2, 2008, 116-122.
- 6) 岩城正昭他：コリネバクテリウム・ウルセラス感染症、モダンメディア, **66**, 7, 2020, 191-195.
- 7) 山本明彦他：コリネバクテリウム・ウルセラス感染症の発生状況について、病原微生物検出情報, **44**, 2023, 25-27.
- 8) 阿部祐樹他：愛媛県におけるネコのジフテリア毒素原性 *Corynebacterium ulcerans* 保有状況、愛媛県立衛生環境研究所年報, **21**, 2018, 1-7.
- 9) 畑中章生他：茨城県で初めて確認された *C. ulcerans* によるジフテリア症例について、病原微生物検出情報, **32**, 2011, 19-20.

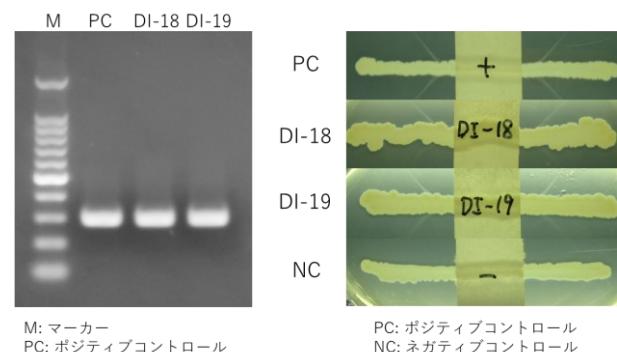


図1 ジフテリア毒素確認試験
ジフテリア毒素遺伝子検出 PCR (左)
Elek 法 (右)