

腎移植患者における *Pneumocystis Pneumonia* Outbreak の分子疫学的解析

卜部 尚久

東邦大学医学部内科学講座呼吸器内科学分野 (大森)

背景: *Pneumocystis pneumonia* (PCP) は, *Pneumocystis jirovecii* (*P. jirovecii*) を起因菌とした日和見感染症であり, 時に重症化して致死的な経過も取り得る. 現時点において *P. jirovecii* は培養検査が不可能であるため, 伝播様式や感染症発症様式, 病原因子などの詳細は解明されていない. 近年, 腎移植患者に対する集団感染が各国で報告されており, 活動性 PCP 患者からのヒト-ヒト感染が示唆されている. 東邦大学医療センター大森病院 (当院) 腎センターにおいて, 2011 年 11 月 18 日~12 月 7 日までの 3 週間の間に 5 名の腎移植後の患者が PCP の発症を認めた. われわれはこの 5 名の患者が同一株の *P. jirovecii* による感染かどうかを, 分子疫学的手法を用いて解析した.

方法: 腎センターで集団発生した 5 名に加えて, 2007~2014 年の 8 年間に当院で PCP を発症した 20 名の患者から得られた気管支肺胞洗浄液残余検体から抽出した DNA を鋳型として multilocus sequence typing を実施. 計 25 名の患者背景を表に示す (Table 1). 得られた DNA 塩基配列情報を結合し近隣結合法にて系統解析を実施し, *P. jirovecii* の遺伝的類似性を比較した. また, サンガー法による DNA 塩基配列決定の際に DNA 塩基が重複して判別できなかった箇所について, 次世代シーケンサーを使用して重複した塩基の種類とその比率について解析した.

結果: 腎センターで 3 週間の期間に PCP を発症した 5 名の患者のうち 4 名の患者および, 2011 年の集団感染から 2 年後の 2013 年に腎センターで PCP を発症した腎移植後の患者 2 名の気管支肺胞洗浄液中の *P. jirovecii* に由来する DNA 塩基配列は相同性が高かった (Fig. 1). また, サンガー法にて DNA 塩基が重複し塩基を決定することができなかった遺伝子は 14 箇所認められた. 次世代シーケンサーによる重複塩基の解析結果から, 2 種類の異なる塩基がほぼ同一の割合で含まれていた.

考察: 腎センター外来通院患者で 2011 年 9 月に PCP を発症し, 11~12 月にかけての PCP 集団発症患者との外来

接触が確認されている 1 人の PCP 患者が存在する (Fig. 2). この患者は, 気管支肺胞洗浄液の保存検体が存在していなかったため遺伝子解析は施行できていないが, PCP を集団発症した 5 名の患者と外来ブースを共有していた. *P. jirovecii* の遺伝子型の相同性が高い 4 名の患者はこの活動性 PCP 患者から感染したと考えれば, 潜伏期は 11~12 週間であり過去の報告と一致する. また, 2011 年から 2 年経過した 2013 年に PCP を発症した 2 名の患者は, 2011 年に集団発症した患者と遺伝子型の相同性は高かったが, これらの患者は 2011 年の集団発症した患者と腎センター外来受診日を共有していなかった. この 2 名の患者は, 医療従事者など無症候性キャリアーからの感染や, 待合室などの環境からの感染, 2011 年に同一株 *P. jirovecii* に感染していたが, 発症せず保菌状態であった他の患者を介しての感染などが考えられた. 現在, PCP の発症様式は, 定着菌の再賦活化ではなく新規感染による発症と考えられており, いずれの仮説にせよ 2013 年の発症直前に感染した可能性が高いと考える. 今回対象とした遺伝子の DNA 塩基配列は, サンガー法にて 2 種類の異なる塩基が重複し判読できなかった箇所が認められた. 次世代シーケンサーを使用した解析結果から, 重複した 2 種類の塩基はほぼ同じ割合であった. 今回の結果から, 多くの遺伝子で 2 種類の異なる塩基はほぼ同じ比率で含まれることが明らかとなった. この結果は *P. jirovecii* が diploid cell であるため, 2 組の染色体遺伝子がそれぞれ別の塩基で構成されていたことに起因する可能性が示唆された.

結論: 当院で経験した PCP 集団発症が同一株による outbreak である可能性が高いことを示した. さらに, 2 種類の異なる塩基の存在は, *P. jirovecii* が diploid cell であることに起因すると思われた.

本講演の要旨は, Clin Microbiol Infect. 2016; 22: 365-71 (Epub 2015 Dec 25) に掲載された内容である.

Table 1 *Pneumocystis pneumonia* 患者背景

(Clin Microbiol Infect. 2016 ; 22 : 365-71. (Epub 2015 Dec 25))

Case number	Age (Sex)	Day of diagnosis	Clinical status	Microscopy-positive	PCR-positive
1	43 (M)	18 Nov 2011	Renal transplantation	Yes	Yes
2	37 (M)	25 Nov 2011	Renal transplantation	No	Yes
3	57 (F)	29 Nov 2011	Renal transplantation	No	Yes
4	56 (F)	2 Dec 2011	Renal transplantation	No	Yes
5	26 (F)	3 Dec 2011	Renal transplantation	No	Yes
6	35 (M)	9 Feb 2007	HIV	Yes	Yes
7	39 (M)	8 July 2007	HIV	Yes	Yes
8	56 (M)	17 Oct 2007	HIV	Yes	Yes
9	63 (F)	22 Nov 2008	HIV	No	Yes
10	42 (M)	15 Jan 2009	HIV	Yes	Yes
11	36 (M)	21 May 2009	HIV	Yes	Yes
12	38 (M)	10 Mar 2010	HIV	Yes	Yes
13	34 (M)	5 Oct 2010	HIV	Yes	Yes
14	86 (F)	5 Jan 2012	Autoimmune disorder	No	Yes
15	70 (M)	12 Feb 2012	Cholesterol crystal embolisation	Yes	Yes
16	32 (F)	21 Mar 2013	Renal transplantation	No	Yes
17	41 (F)	6 Apr 2013	Autoimmune disorder	No	Yes
18	66 (M)	8 Apr 2013	Renal transplantation	No	Yes
19	78 (F)	15 June 2013	Autoimmune disorder	No	Yes
20	60 (M)	26 June 2013	Malignant tumour	No	Yes
21	75 (F)	23 Aug 2013	Autoimmune disorder	No	Yes
22	39 (M)	28 Jan 2014	HIV	Yes	Yes
23	83 (F)	31 Mar 2014	Malignant tumour	No	Yes
24	74 (M)	2 June 2014	Autoimmune disorder	No	Yes
25	65 (F)	17 Oct 2014	Renal transplantation	No	Yes

M: male, F: female, HIV: human immunodeficiency virus, PCR: polymerase chain reaction

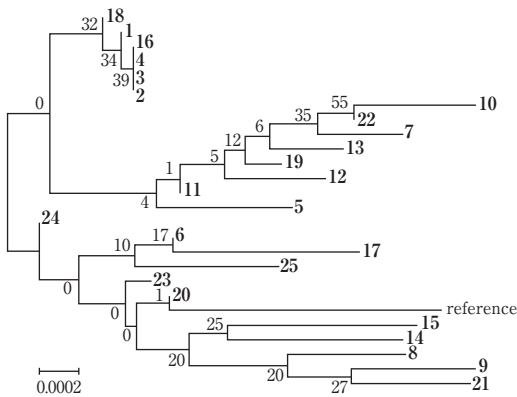
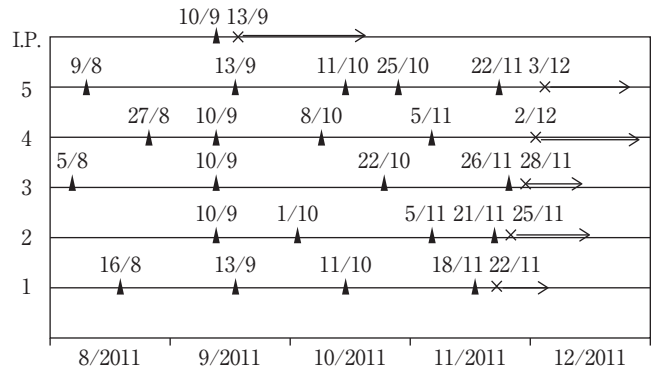


Fig. 1 4カ所のハウスキーピング遺伝子 (β -TUB/mt26S/SOD/CYB)を対象に polymerase chain reaction (PCR)を施行, 得られた4種類のハウスキーピング遺伝子のDNA塩基配列情報を結合し, Clustal WでDNA塩基配列の multiple alignmentを行い, さらに MEGA6を用いて近隣結合法にて系統解析を実施した. 腎センターにて2011年11~12月に *Pneumocystis pneumonia*を発症した患者No. 1~5の5名のうち, 1, 2, 3, 4の4名と, 2013年に腎センターにて発症した患者16, 18から分離された *Pneumocystis jirovecii*のDNA塩基配列情報は同一性が高かった.

(Clin Microbiol Infect. 2016; 22: 365-71. (Epub 2015 Dec 25))



▲ Date of outpatient visits
 × Admission date with PCP
 → Hospitalization period

Fig. 2 腎センターにて2011年11~12月にPCPを発症した患者No. 1~5の5名と, 2011年9月にPCPを発症し, 同時期に外来で患者No. 1~5と接触のあった患者I.P.の transmission map. I.P.は9月10日に患者No. 2, 3, 4と外来ブースを共有しており, 9月13日に患者No. 1, 5と外来ブースを共有している.

(Clin Microbiol Infect. 2016; 22: 365-71. (Epub 2015 Dec 25))
 PCP : *Pneumocystis pneumonia*, I.P. : index patient

ト部尚久先生 略歴



- 2008年3月 東邦大学医学部卒業
4月 第102回医師国家試験合格（医籍登録番号第475489号）
東邦大学医療センター大森病院研修医
2010年4月 東邦大学医学部内科学講座呼吸器内科学分野（大森）レジデント
2011年9月 日本内科学会認定医取得（第46042号）
2012年4月 東邦大学大学院医学研究科医学専攻博士課程入学
2016年3月 同 卒業
医学博士取得

DOI : 10.14994/tohoigaku.2016.r009