研究成果報告書

1．研究課題名：高病原性肺炎桿菌による菌血症の臨床的特徴と抗菌薬耐性の包括的解析

2．研究代表者氏名：渡辺　直樹

3．研究発表

Watanabe N, Watari T, Otsuka Y, Matsumiya T. Five-biomarker definition for hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection and abscess complications, Japan, 2022–2024. Emerg Infect Dis. 2026. https://doi.org/10.3201/eid3211.260825

4．研究実績

1.　本研究の背景と目的

高病原性の肺炎桿菌（Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, hvKp）は、通常の肺炎桿菌（classical *K. pneumoniae*, cKp）より侵襲的な感染症を引き起こす。世界保健機関 WHO は hvKp の監視を各国に呼びかけているが、日本における hvKp 感染症の実態はいまだ不明である。本研究では hvKp が引き起こす菌血症に着目し、①hvKp 症例と cKp 症例の死亡率や重症化の頻度を比較し、hvKp が臨床転帰に与える影響を評価すること、②ゲノム解析により hvKp 菌株の遺伝子型と抗菌薬耐性遺伝子を明らかにすることを目的とした。

2.　方法

(1) 対象とデータ収集

2022～2024 年に亀田総合病院で血液から *K. pneumoniae* species complex（肺炎桿菌複合体）が分離された 288 症例（同一患者は初回エピソードのみ。臨床データ不足または保存菌株がない 2 例を除く）を対象とした。対象菌株は、日常検査の MALDI-TOF MS を用いた同定検査で *K. pneumoniae* または *K. variicola* として同定された菌株であった。電子カルテと検査システムを参照し、患者情報および微生物学的検査の結果を収集した。本研究は亀田総合病院倫理審査委員会の承認（承認番号：25-016）を得て、オプトアウト方式で実施した。

(2) 菌種の分類

日常的な微生物検査では、*K. pneumoniae* と類似菌種である *K. variicola* や *K. quasipneumoniae* を正確に鑑別できない株が存在する。そこで、本研究では菌種特異的 PCR[1] を用いて、*K. pneumoniae*、*K. variicola* および *K. quasipneumoniae* を分類した。

(3) hvKp と cKp の分類

本研究では、5 つの病原性バイオマーカーによる hvKp 分類法 [2, 3] を用いて、菌種特異的 PCR で *K. pneumoniae* と同定された菌株を対象に、hvKp と cKp の分類を行った。5 つの病原性バイオマーカー *rmpA*、*rmpA2*、*iucA*、*iroB* および *peg-344* を標的とした PCR[2] を実施し、全ての遺伝子を保有する *K. pneumoniae* を hvKp、その他を cKp と分類した。

(4) hvKp と cKp のデータ比較

主要評価項目は膿瘍合併率とした。副次的評価項目として 30 日死亡率、および重症化（昇圧薬の使用、人工呼吸器の使用）を評価した。膿瘍合併は年齢、性別、チャールソン併存疾患指数で調整した多変量ロジスティック回帰分析で評価した。30 日死亡はイベント数が限られることから、年齢とチャールソン併存疾患指数で調整した Firth 法（罰則付き尤度による推定の偏りの補正）を用いたロジスティック回帰分析で評価した。

(5) hvKp 株の全ゲノム解析

5 つのバイオマーカーに基づき hvKp と分類された 28 株を対象に、全ゲノム解析を実施した。菌株から抽出した DNA から Illumina DNA Prep (M) Tagmentation を用いてライブラリを調製し、Illumina NovaSeq X Plus によるシーケンス（外部委託）を実施した。得られた配列は、解析ツールである Pathogenwatch、Kleborate、

AMRFinderPlus を用いて、分離株のシーケンスタイプ（ST）、カプセル型、薬剤耐性遺伝子を解析した。

3. 結果

(1) 菌株の分類結果

菌種特異的 PCR の結果、207 株が *K. pneumoniae*、52 株が *K. variicola*、29 株が *K. quasipneumoniae* とそれぞれ同定された。5 つの病原性バイオマーカー *rmpA*、*rmpA2*、*iucA*、*iroB* および *peg-344* を標的とした PCR の結果、207 株中 28 株（14%）の *K. pneumoniae* は hvKp、179 株（86%）が cKp と分類された。

(2) hvKp と cKp の症例比較：患者背景と臨床転帰

患者年齢の中央値は hvKp 群 76 歳、cKp 群 78 歳であった。男性患者の割合は hvKp 群で高く、hvKp 群 75%、cKp 群 60%であった。hvKp 群では cKp 群より併存疾患が少ない傾向にあり、チャールソン併存疾患指数 2 以上の割合は hvKp 群 57%、cKp 群 80%であった。

膿瘍合併は、207 症例中 40 症例で観察された。膿瘍合併を認めた 40 症例の内訳は、hvKp 17 症例（17/28、61%）と cKp 23 症例（23/179、13%）であり、hvKp 群で膿瘍合併率が高かった。ロジスティック回帰分析の結果、hvKp は cKp に対して膿瘍合併に関連する独立因子であった（調整オッズ比 10.7、95%信頼区間 4.4–26.2）。

30 日死亡率は hvKp 群 15%（4/27）、cKp 群 20%（34/170）であった（生存状況が不明な例を除く）。Firth 法を用いたロジスティック回帰分析では、hvKp と 30 日死亡との間に明らかな関連は認められなかった（調整オッズ比 0.9、95%信頼区間 0.3–2.4）。昇圧薬の使用は hvKp 群 25%、cKp 群 28%と両群でほぼ同等であった。一方、人工呼吸器の使用は hvKp 群で多く、hvKp 群 14%、cKp 群 3%であった。昇圧薬の使用と人工呼吸器の使用についてはイベント数が限られたことから、多変量解析は実施しなかった。

(3) hvKp のゲノム解析の結果

hvKp の Sequence type（ST)とカプセル型（KL）は、ST23/KL1（10/28、36%）や ST65/KL2（8/28、29%）が優勢であった。膿瘍合併に着目すると、ST23/KL1 では 10 例中 9 例で膿瘍合併が観察された。一方、ST65/KL2 では 8 例中 5 例、ST412/KL57 では 4 例中 1 例で膿瘍が観察された。

hvKp 28 株のうち、3 株は extended-spectrum β-lactamase（ESBL）産生株であり、カルバペネマーゼ遺伝子は検出されなかった。ESBL 産生株のうち、2 株は ST412/KL57 で $bla_{\text{CTX-M-15}}$ 遺伝子を保有し、残りの 1 株は ST893/KL20 で $bla_{\text{CTX-M-55}}$ 遺伝子を保有していた。

表 1. Hypervirulent *K. pneumoniae* 菌株の遺伝子型

ST	No.	K-locus	ESBL 産生株, No. (%)	膿瘍合併, No. (%)
ST23	10	KL1	0 (0)	9 (90)
ST65	8	KL2	0 (0)	5 (63)
ST412	4	KL57	2 (50)	1 (25)
ST86	2	KL2	0 (0)	1 (50)
Other	4	KL1, KL20, KL54	1 (25)	1 (25)

ST, Sequence type; ESBL, extended-spectrum β-lactamase.

4. 総括と今後の課題

5 つの病原性バイオマーカーによる hvKp の定義では、*K. pneumoniae* の 14%が hvKp と分類された。この定義に基づく hvKp 群では膿瘍合併率が cKp 群より高く、この分類により臨床的に重要な症例群を特定できる可能性が示唆された。一方、30 日死亡率および昇圧薬の使用には両群で明らかな差を認めなかった。人工呼吸器の使用は hvKp 群で多かったが、イベント数が少なく多変量解析は行えなかった。hvKp には、世界的に報告が多い ST23/KL1 や

ST65/KL2 が本研究でも多く、限られた症例数で比較解析できなかったが、膿瘍合併率には hvKp 内でも多様性が存在する可能性が示された。今後の研究では、さらに多くの hvKp 菌株を膿瘍合併や死亡率などの臨床情報と合わせて解析し、病原性バイオマーカーを保有する hvKp 内における特徴の違いや臨床的な役割を明らかにする必要がある。また、hvKp 28 株中 3 株が ESBL 遺伝子を保有しており、カルバペネマーゼ遺伝子は検出されなかったものの、高病原性と薬剤耐性を併せ持つ株が低頻度ながら存在した。hvKp の診断や治療の最適化に向けて、臨床で利用可能な hvKp 診断法の整備と、高病原性と薬剤耐性の収束を監視するゲノムサーベイランスの継続が必要である。

5. 参考文献

(1) Barrios-Camacho H, Silva-Sánchez J, Cercas-Ayala E, et al. Arch Microbiol. 2022;204(1):73.
(2) Russo TA, Olson R, Fang CT, et al. J Clin Microbiol. 2018;56(9):e00776-18.
(3) Russo TA, Lebreton F, McGann PT. Emerg Infect Dis. 2025;31(1):1-3.