

## [症 例]

新種の *Capnocytophaga leadbetteri* を胸水から分離・同定できた  
胃食道接合部癌手術後の膿胸の 1 例

佐藤延子<sup>1)</sup>・大楠清文<sup>2)</sup>・佐々木裕子<sup>1)</sup>・勝見真琴<sup>1)</sup>・加藤真帆<sup>1)</sup>・阿部裕子<sup>1)</sup>  
 遠藤真知子<sup>1)</sup>・長沢光章<sup>1)</sup>・柴田 近<sup>4)</sup>・矢野寿一<sup>3)</sup>・山本夏男<sup>3)</sup>  
 國島広之<sup>3)</sup>・平潟洋一<sup>3)</sup>・佐々木 巖<sup>4)</sup>・江崎孝行<sup>2)</sup>・賀来満夫<sup>3)</sup>

- <sup>1)</sup> 東北大学病院診療技術部検査部門  
<sup>2)</sup> 岐阜大学大学院医学系研究科病原体制御学分野  
<sup>3)</sup> 東北大学大学院感染制御検査診断学分野  
<sup>4)</sup> 東北大学大学院生体調節外科学分野

(平成 21 年 3 月 30 日受付, 平成 21 年 6 月 29 日)

胃食道接合部癌の術後、第 5 病日より胸水貯留を認め、膿胸を併発した症例を経験した。症例は 58 歳男性で平成 18 年 8 月より食後のつかえ感があり、精査の結果、食道胃接合部癌と診断された。手術前に化学療法を行ったのち、平成 19 年 3 月 12 日に悪性腫瘍全摘出術（下部食道切除・胃全摘）が施行された。3 月 15 日に採取した胸水から *Capnocytophaga* 属と推定される菌種が検出された。生化学的なキットを用いた同定では属レベルの結果にとどまったため、16S rRNA 遺伝子の塩基配列を決定して、既存の菌種の配列と相同性を比較した。その結果、最も高い相同性を示した *Capnocytophaga ochracea* でも 95.9% の一致率と 97% 以下の値であったことから、本属の新種であることが判明した。その後、新種登録の準備を進めていたなかで、2008 年 2 月に登録された *C. leadbetteri* と 16S rRNA 遺伝子の塩基配列や生化学性状が一致することが明らかになった。感染症の起炎菌として新種 *C. leadbetteri* を初めて分離・同定できた症例を経験したので報告する。

**Key words:** *Capnocytophaga leadbetteri*, 新菌種, 16S rRNA 遺伝子, 系統樹解析, 膿胸

## 序 文

*Capnocytophaga* 属の菌種は通性嫌気性のグラム陰性桿菌で、一般にヒトの口腔内に常在し、歯周病関連の疾患に関与する<sup>1)</sup>。わが国における本属菌による感染症の報告例としては *C. canimorsus*, *C. sputigena*, *C. ochracea* などが原因の敗血症が主である<sup>2)~4)</sup>。その多くは、白血病や担癌患者、脾臓摘出患者などの易感染性宿主における発症である<sup>5)~7)</sup>。今回われわれは、胸水の培養にて *Capnocytophaga* 属を疑う特徴あるコロニー形態を呈したものの、菌種の確定までに至らなかったことから遺伝子解析を追加実施して、本分離菌株が既存の菌種でないことを明らかにした。新種の *C. leadbetteri* が分離・同定された初めての症例として報告する。

## 症 例

1. 症 例: 59 歳, 男性

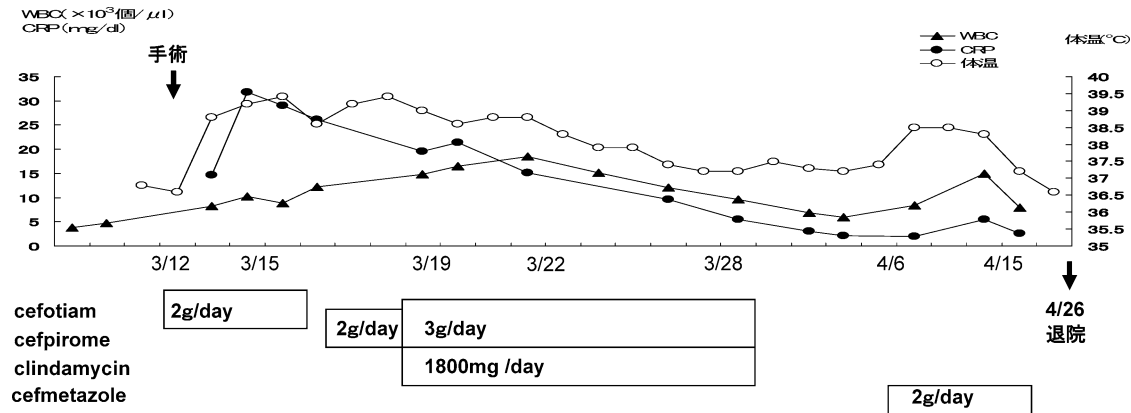
2. 既往歴: 網膜症

3. 家族歴: 特になし

4. 主 訴: 嚥下時のつかえ感

5. 現病歴: 2006 年 8 月頃より嚥下時につかえ感があり、12 月 5 日、消化器内科受診。精査の結果、食道胃接合部癌と診断。明らかなリンパ節転移、他臓器転移はなく手術目的にて 12 月 13 日、胃腸外科紹介となる。腫瘍が巨大なことから抗癌剤テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウムとシスプラスチンによる術前化学療法を施行。2007 年 3 月 8 日に食道胃接合部癌の手術目的で入院となる。

6. 臨床経過 (図 1): 2007 年 3 月 12 日手術。術式により開胸、開腹となったため左胸腔ドレーン、縦隔ドレーンを留置。術後、胸部創の痛みと 38 度台の熱が継続し cefotiam 2 g/日を投与した。3 月 14 日の胸部レントゲン写真にて左肺野の透過性の減少および胸水貯留を認めた。胸腔内からのドレーン液の混濁は明



3/15 (胸水) *Capnocytophaga* sp.

3/22 (血液培養) 陰性

3/23 (腹水培養) 陰性

3/19 胸水 *S.anginosus*, *P.melaninogenica*, *S.aureus*

膿汁(縦隔トレン内) *S.anginosus*

穿刺液(横隔膜下) *S.anginosus*, *P.melaninogenica*, *S.aureus*, *P.buccae*

4/6 膿汁(腹腔内) *S.anginosus*

図1. 臨床経過

らから3月15日に胸水の培養検査を行った。直接塗抹標本で白血球は陽性であったが細菌の存在は確認できなかった。3月17日左下肺に無気肺、縦隔ドレーン排液に混濁を認め縦隔炎を疑い、cefpiromeの投与(2g/日)を開始した。3月18日、肺尖部の胸腔ドレーンにも混濁を認め、胸部CT検査にて両側の胸水を認め、肺炎および膿胸が強く疑われた。3月19日から3月29日まで、cefpiromeを3g/日に増量するとともに、clindamycin 1,800mg/日を併用投与した。

その後、臨床症状、検査所見の改善がみられたものの、4月2日、第VII肋間部のドレーンより膿苔の排出を認め、4月5日より再び発熱があり、横隔膜下の膿瘍・縦隔炎を疑ってcefmetazole 2g/日を4月7日から4月15日まで投与した。手術創から淡黄色の排液があり皮下膿瘍を認め、切開排膿を行った。4月10日、創部の発赤は改善、排液も減少し、4月18日ドレーン抜去、4月26日退院となった。

## 7. 微生物学的検査

### 1) 初回に採取された胸水の細菌検査

塗抹標本のグラム染色は、フェイバーGセットFニッスイ(日水製薬)を用いて行った。培養検査は炭酸ガス環境下にてニッスイプレート羊血液寒天培地(日水製薬)、バイタルメディアチョコレート寒天培地(極東製薬)、通常環境でBTBドリガルスキー寒天培地(バクトンデッキンソン)を用いた。嫌気性菌用に

表1. 分離した *Capnocytophaga* 属の性状

グラム染色	紡錘状陰性桿菌
オキシダーゼ	(-)
カタラーゼ	(-)
運動性	(+)
コロニー性状	ranging, 遊動性のコロニー
色素産生	黄～オレンジ色(2～3日後)

はブルセラ HK 寒天培地(極東製薬)、HK 半流動培地(極東製薬)を使用した。直接塗抹標本では細菌を確認できなかったが、培養で発育したコロニーの性状とグラム染色所見から *Capnocytophaga* 属の菌と推定した(表1)。本菌株は嫌気性環境下で羊血液寒天培地のみで発育を認め、*Capnocytophaga* 属の滑走運動による特有な形態を示した。

菌種の同定はRapID™ ANA II (Remel社)とIDテストNH20ラピッド(日水製薬)を用いて実施した。両キットともに *Capnocytophaga* sp. の同定成績を得た(表2,3)。属レベルの同定結果だったことや当検査室で過去に経験した *Capnocytophaga* 属の菌種とは異なり、嫌気性条件でしか発育しなかったことから、遺伝子学的な解析を岐阜大学へ依頼した。

菌株からDNAを抽出した後、16S rRNA 遺伝子のほぼ全長をPCR法で増幅した。産物を精製後、シーケンス解析を実施して塩基配列を決定した。この配列の相同性をデータベース(BLAST)を利用して検索

表 2. RapID TMANA II における性状

Test code	Reactive ingredient	Result
URE	Urea	(-)
BLTS	p-Nitrophenyl-β,D-disaccharide	(-)
αARA	p-Nitrophenyl-α,L-arabinoside	(-)
ONPG	p-Nitrophenyl-β,D-galactoside	(+)
αGLU	p-Nitrophenyl-α,D-galactoside	(+)
βGLU	p-Nitrophenyl-β,D-galactoside	(-)
αGAL	p-Nitrophenyl-α,D-galactoside	(+)
αFUC	p-Nitrophenyl-α,L-fucoside	(-)
NAG	p-Nitrophenyl-n-acetyl-β,D-gulucosaminde	(+)
PO4	p-Nitrophenylphosphate	(+)
LGY	Leucyl-glycine-β-naphthylamide	(+)
GLY	Glycine-β-naphthylamide	(+)
PRO	Proline-β-naphthylamide	(+)
PAL	Phenylalanine-β-naphthylamide	(+)
ARG	Arginine-β-naphthylamide	(+)
SER	Serine-β-naphthylamide	(+)
PYR	Pyrrolidonyl-β-naphthylamide	(-)
IND	Tryptophane	(-)

Value total による Microcode: 035771  
*Capnocytophaga* sp. と同定

表 3. ID テスト NH-20 ラピッドにおける性状

Test code	Reactive ingredient	Result
ALA	アラニンアミノペプチダーゼ	(+)
PHO	フォスファターゼ	(+)
NIT	硝酸塩還元	(+)
URE	尿素	(-)
ODC	オルニチン	(-)
IND	インドール	(-)
GLS	グルコシダーゼ	(+)
PRO	プロリンアミノペプチダーゼ	(+)
γGA	γ-グルタミルアミノペプチダーゼ	(+)
GLU	ブドウ糖	(+)
MLT	マルトース	(+)
FRU	果糖	(+)
MAS	マンノース	(+)
MAN	マンニトール	(-)
TRE	トレハロース	(-)
SUC	白糖	(-)
LAC	乳糖	(-)
XYL	キシロース	(-)
ONP	β ガラクトシダーゼ	(+)
NIR	亜硝酸塩還元	(-)
βLA	β ラクタマーゼ	(-)

Value total による Microcode: 7077101  
*Capnocytophaga* sp. と同定

した結果, *C. ochracea* 基準株 (ATCC 33596<sup>T</sup>) の配列 (Accession No. L14635) と最も高く 95.9% の一致率であった。よって, 既存の菌種とはすべて 97% 未満の相同性であったことから, 本属の新種であることが判明した。その後, 新種登録を計画していたが, 2008

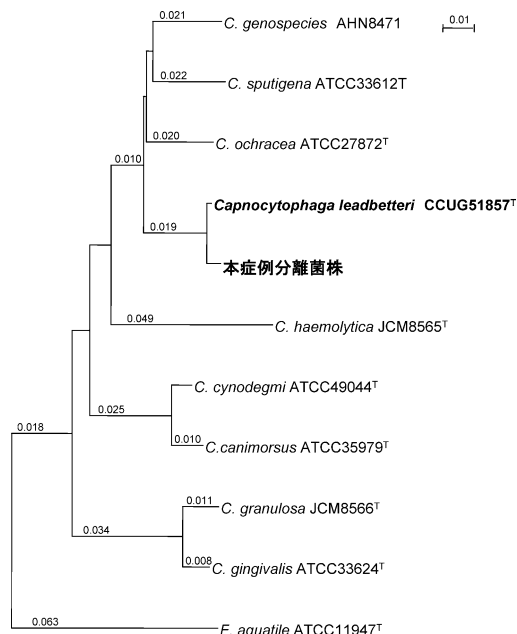


図 2. 16S rRNA 遺伝子の塩基配列に基づく系統樹解析

表 4. 薬剤感受性成績

抗菌薬	MIC (μg/ml)	抗菌薬	MIC (μg/ml)
PCG	≤0.06	IPM	≤0.12
ABPC	0.12	AMPC/C	≤0.12
PIPC	≤0.5	CLDM	≤0.06
CZX	≤0.5	MINO	≤0.12
CMZ	≤0.5	SPFX	0.25
FMOX	≤0.5	CP	4

年 2 月に登録された *C. leadbetteri* と 16S rRNA 遺伝子の塩基配列や生化学性状が一致することが明らかになった。すなわち, 本分離菌は 16S rRNA 遺伝子の塩基配列が *C. leadbetteri* の基準株 (CCUG 51857<sup>T</sup>) の DNA 配列 (Accession No. DQ 009623) と 99.4% (1428/1436) の一致率を示し, 系統解析においても同じクラスターを形成していた (図 2)。さらに, *C. leadbetteri* を類縁菌種と鑑別するうえで重要な性状であるショ糖非分解と硝酸塩還元能が陽性であることも確認した。

薬剤感受性試験は, ドライプレート栄研 DP23 (栄研化学) を使用して嫌気性環境にて最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。12 薬剤すべてに対して良好な感受性を示した (表 4)。

## 2) 2 回目以降に採取された胸水の細菌検査

4 日後の 17 日に採取された胸水の鏡検では, グラ

ム陽性球菌が確認された。培養にて *Streptococcus anginosus* が培養・同定された。その2日後19日の胸水では、鏡検でグラム陽性球菌に加えてグラム陰性桿菌も観察され、培養検査で *S. anginosus* と *Prevotella melaninogenica*, および *Staphylococcus aureus* (methicillin-sensitive; MSSA) が分離・同定された。横隔膜下穿刺液からも同様に *S. anginosus* と *P. melaninogenica*, MSSA が検出されたほか、*P. buccae*, *Neisseria subflava* も分離された。

## 考 察

*Capnocytophaga* 属は、1982年に米国の微生物学者 Leadbetter らによって提案・記載され、2009年3月現在、9菌種が登録されている。2008年2月に9菌種目として記載<sup>11)</sup>されたのが、今回我々が分離に成功した *C. leadbetteri* であり、学名の種形容はこの微生物学者の功績を称えたものとなっている。9菌種のうち、*C. canimorsus* と *C. cynodegmi* の2菌種は主にイヌやネコの口腔内に常在する一方で、*C. gingivalis*, *C. granulosa*, *C. haemolytica*, *C. ochracea*, *C. sputigena*, そして *C. leadbetteri* はヒトの口腔内に存在する。事実、新種 *C. leadbetteri* は小児の口腔内から分離された *Capnocytophaga* 属62菌株の中から multilocus enzyme electrophoresis (MLEE), 16S rRNA 遺伝子の塩基配列による系統解析によって5菌株が見いだされた<sup>8)</sup>。

臨床微生物検査室で *Capnocytophaga* 属の菌種を分離・同定するにあたって、次の3点が重要と考える。一つは、上述のように *Capnocytophaga* 属の菌種は常在する宿主が異なることから、イヌやネコによる咬傷や搔傷に起因する感染症であるかを患者背景から推察することである。すなわち、①イヌやネコとの接触がある、②グラム染色像で菌体が明瞭な紡錘状を示さない、③オキシダーゼ試験とカタラーゼ試験がともに陽性、の場合には *C. canimorsus* と *C. cynodegmi* の2菌種が想定される。とりわけ、*C. canimorsus* では動物による咬傷や搔傷後に敗血症に至るケースが増えており、なかには多臓器不全で劇症型の経過をたどった症例も散見される<sup>9), 10)</sup>。さらには、老人の髄膜炎や新生児の髄膜炎例も報告されており、飼いイヌとの共有環境を回避することの提案がなされている<sup>11)</sup>。一方、直接的な接触がなくても、イヌを飼っている医療スタッフから医療行為のなかで易感染性患者への伝播が示唆された事例も報告<sup>12)</sup>されており、まれではあるが間接的な要因も考慮する必要がある。今後はペットブームという社会的な背景からも、パストレラ症やバ

ルトネラ症のみならず *C. canimorsus* も分離されることを視野に入れる必要がある。

二つ目は、ヒトに常在する *Capnocytophaga* 属の菌が、さまざまな病態を呈する可能性があることである。実際には、*C. haemolytica* による心内膜炎<sup>13)</sup>, *C. gingivaris* による菌血症<sup>14)</sup> や化膿性関節炎<sup>15)</sup>, *C. sputigena* による菌血症<sup>2)</sup> も報告されている。さらには、歯科領域において、*C. gingivaris*, *C. ochracea*, *C. sputigena* などが起因菌となった歯肉炎例も報告されている。抜歯後に一時的な菌血症となることはよく知られているが、*Capnocytophaga* 属の菌種もその例から漏れない。事実、抜歯後に *C. ochracea* による敗血症そして脳膿瘍を併発した症例<sup>16), 17)</sup> や重篤な敗血症と電撃性紫斑病の症例がある。これらの症例は患者が易感染性の状態であったケースが多い。したがって、特に患者の免疫学的な背景を考慮しながら検査を進めることが重要である。今回のケースでも、癌手術前に化学療法を受けたことや侵襲の大きい手術の後であったことから患者は易感染状態にあったと考えられる。癌の手術前に *C. leadbetteri* が口腔内に常在していた可能性が強く示唆され、誤嚥によって肺へ移行したか、あるいは手術によって血行性に波及した可能性が推察された。

三つ目として、*Capnocytophaga* 属菌は発育条件が厳しく、菌種の決定が困難なことである。本属の菌は炭酸ガス要求性のことが多く、集落の形成に2~4日間を要する。さらに、血液培養では好気ボトルには発育しないで嫌気ボトルのみ陽性であることもまれではない。この際にはサブカルチャーにおいては炭酸ガス環境で集落を形成してくることがあることにも留意すべきである。しなしながら、今回のケースでは嫌気培養のみ陽性であったことから、嫌気性のグラム陰性桿菌を念頭に入れていた。幸い、グラム染色所見にて紡錘状を示していたことから *Capnocytophaga* 属を念頭に入れながら検査を進めた。同定に関しては、新種の *C. leadbetteri* がキットのデータベースに含まれていないので、菌種レベルの同定が困難であるが、逆に属レベルの同定にとどまった場合には、今回のような新種の可能性も想定して、遺伝子検査を追加実施することの必要性を痛感した。*Capnocytophaga* 属の9菌種は、菌種間での16S rRNA 遺伝子の塩基配列がバリエーションに富むため(図2)、本配列の相同性一致率検索によって精度高く容易に同定できる。したがって、生化学的な同定が困難だった場合には、遺伝子学的な解析を選択し実施することも一考に値する。なお、同定キットで *C. leadbetteri* を他の類縁菌種と鑑



別するには、ショ糖分解が陰性であることが重要である。

*C. leadbetteri* が分離されたのは依頼された検体培養検査の中で最初の胸水のみからであった。本菌の良好な薬剤感受性が奏効して速やかに治療することができたものと思われた。事実、本菌が検出された日において炎症反応は経過中一番高い値であった。また、その後は *C. leadbetteri* が分離されることなく *S. anginosus*, *P. melaninogenica* などの口腔内関連の菌種が分離されたことから、本症例の侵入門戸として口腔内細菌の関与が強く示唆された。口腔内常在菌が全身にかかわる感染症と関連することが問われ始めて久しい。その分離菌株の同定を断念することなく精査した延長線上に、新たな菌種 *C. leadbetteri* が始めに感染症を惹起し、胃食道接合部癌の手術後に膿胸に至った感染症の一例を見いだすことができた。臨床微生物検査室における *Capnocytophaga* 属の検出・同定のピットホールとその改善策を提示しながらここに報告した。

#### 文 献

- 1) Morita, M., T. Yamamoto, T. Watanabe. 1991. Identification by biotinylated DNA probes of *Capnocytophaga* species isolate from supragingival calculus. *J. Dent. Res.* 70: 1048-1051.
- 2) 舟田 久, 真智俊彦, 米山 宏, 他. 1993. 急性白血病中に合併した *Capnocytophaga sputigena* 菌血症. *感染症学雑誌* 67: 622-628.
- 3) 中野義隆, 栗原直嗣, 高松健次. 1990. 肺癌放射線療法後に発症した *Capnocytophaga ochracea* 敗血症の 1 例. *感染症学雑誌* 64: 342-349.
- 4) 菊池一美, 江原和志, 宮坂淳子, 他. 2005. *Capnocytophaga canimorsus* による敗血症の 1 症例. *日臨微誌* 15: 9-12.
- 5) Ndon, J. A. 1992 *Capnocytophaga canimorsus* septicemia caused by a dog bite in a hairy cell leukemia patient. *J. Clin. Microbiol.* 30: 211-213.
- 6) Khawari, A. A., J. W. Myers, D. A. Ferguson, Jr., et al. 2005. Sepsis and meningitis due to *Capnocytophaga cynodegmi* after splenectomy. *Clin. Infect. Dis.* 40: 1709-1710.
- 7) Wald, K., A. Martinez, S. Moll, 2008. *Capnocytophaga canimorsus* infection with fulminant sepsis in an asplenic patient: Diagnosis by review of peripheral blood smear. *Am. J. Hematol.* 83: 879.
- 8) Frandsen, E. V., K. Poulsen, E. Kononen, et al. 2008. Diversity of *Capnocytophaga* species in children and *Capnocytophaga leadbetteri* sp. nov. and *Capnocytophaga genospecies* AHN 8471. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 324-336.
- 9) Kleijnen-Grebien, B., S. Boorsma, F. S., Stals, et al. 2008. Fatal case of sepsis with *Capnocytophaga canimorsus* after a minor dog bite, *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 152: 1882-1885.
- 10) Völl, K., G. Haase, H. Fritz, et al. 2007. Septic shock with purpura fulminans after a dog bite. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 132: 1321-1324.
- 11) Rosenman, J. R., J. K., Reynolds, et al. 2003. *Capnocytophaga canimorsus* meningitis in a newborn: An avoidable infection. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 22: 204-205.
- 12) Risi, Jr., G. F., C. A. Spangler, 2006. *Capnocytophaga canimorsus* meningitis after routine myelography: A sentinel event identifies multiple opportunities for improvement of standard practices in radiology. *Am. J. Infect. Control* 34: 540-542.
- 13) Gutierrez-Martin, M. A., O. A. Araji, J. M. Barquero, et al. 2007. Aortic valve endocarditis by *Capnocytophaga haemolytica*. *Ann. Thorac. Surg.* 84: 1008-1010.
- 14) Mantadakis, E., V. Danilatou, A. Christidou, et al. 2003. *Capnocytophaga gingivalis* bacteremia detected only on quantitative blood cultures in a child with leukemia. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 22: 202-204.
- 15) Rodgers, G. L., J. E. Mortensen, D. P. Goldsmith. 2001. Pyogenic arthritis caused by *Capnocytophaga gingivalis* in an immunocompetent three-year-old male. *J. Clin. Rheumatol.* 7: 265-267.
- 16) Wang, H. K., Y. C. Chen, L. J. Teng, et al. 2006. Brain abscess associated with multidrug-resistant *Capnocytophaga ochracea* infection. *J. Clin. Microbiol.* 45: 645-647.
- 17) Desai, S. S., R. A. Harrison, M. D. Murphy. 2006. *Capnocytophaga ochracea* causing severe sepsis and purpura fulminans in an immunocompetent patient. *J. Infect.* 54: 107-109.

A Case of Pyothorax Caused by a New Species *Capnocytophaga leadbetteri* in an Elderly Patient after Surgery of the Gastroesophageal Junction Cancer

Nobuko Sato,<sup>1)</sup> Kiyofumi Ohkusu,<sup>2)</sup> Yuko Sasaki,<sup>1)</sup> Makoto Katumi,<sup>1)</sup> Maho Kato,<sup>1)</sup>  
Yuko Abe,<sup>1)</sup> Machiko Endo,<sup>1)</sup> Mituaki Nagasawa,<sup>1)</sup> Chikashi Sibata,<sup>4)</sup>  
Hisakazu Yano,<sup>3)</sup> Natuo Yamamoto,<sup>3)</sup> Hiroyuki Kunishima,<sup>3)</sup>  
Yoichi Hirakata,<sup>3)</sup> Iwao Sasaki,<sup>4)</sup> Takayuki Ezaki,<sup>2)</sup> Mituo Kaku<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Division of Clinical Laboratory, Department of Laboratory Medicine, Tohoku University Hospital

<sup>2)</sup> Department of Microbiology, Gifu University of Graduate School of Medicine

<sup>3)</sup> Department of Infection Control and Laboratory Diagnostics, Internal Medicine, Tohoku University Graduate School of Medicine

<sup>4)</sup> Division of Biological Regulation & Oncology, Department of Surgery

We report a patient suffered from acute pleural effusion and pyothorax, 5 days after surgery of gastroesophageal junction cancer. The patient is a 59-year-old man, who had a sense of postprandial blocking of the chest, in August 2006. He was clinically diagnosed with gastroesophageal junction cancer. On March 12, 2007, his malignant tumors were totally removed by resection of lower esophagus and all stomach after adjuvant chemotherapy. During his recovery, a minor complication of pyothorax occurred on March 15, 2007. The biochemical profile of the isolate produced by a RapID ANA II identification system disclosed *Capnocytophaga* species. Further identification of the isolate was performed by 16S rRNA gene sequencing. The sequence data obtained were then compared with known 16S rRNA gene sequences in the GenBank database by BLAST search. However, the sequence of the isolate failed to provide an unequivocal identification, as the closest 16S rRNA gene maximum identity was 95.9% (*Capnocytophaga ochracea*; GenBank accession no. L14635). After several months of the search, repeated the BLAST analysis revealed that the sequence corresponded to the new species *Capnocytophaga leadbetteri* with 99.4% identity. To our knowledge, this is the first report of an infection in an elderly patient associated with this microorganism.