

平成15年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

目 次

課題番号

20030933A KH51041	臍帯血を用いた移植・再生医療に関する研究	梨井 康 …… 1
934A KH51042	組換えDNA食品遺伝子産物の慢性経口毒性評価モデルの確立	廣瀬 雅雄 …… 5
935A KH51043	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦 善治 …… 10
936A KH51044	細胞内脂質輸送系に着目した血清脂質改善薬の開発のための基礎的研究	最上 知子 …… 16
KH51045	粘膜インフルエンザワクチンの実用化に関する研究	佐多 徹太郎 …… 21
937A KH51046	日本人糖尿病感受性遺伝子に基づく脂肪細胞を分子標的とした糖尿病・肥満の予防及び治療薬の開発	門脇 孝 …… 24
938A KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチン開発のための基礎研究	竹森 利忠 …… 27
939A KH51048	ノーウォークウイルスの超高感度核酸定量システム、及びベッドサイド抗原検出システムの開発	武田 直和 …… 31
940A KH51049	ワクチン創製の新テクノロジーと新規ワクチンの開発	小島 朝人 …… 38
941A KH51050	食品および環境中の食中毒原因菌の病原因子に対する免疫学的高感度検出法に関する研究	五十君 静信 …… 43
942A KH51051	安全なアジュバントを用いた粘膜ワクチンの開発に関する研究	後藤 紀久 …… 48
943A KH51052	リポソーム表面結合型抗原のアレルギー予防・治療への応用に関する研究	内田 哲也 …… 55
944A KH51053	肺炎球菌感染症の標準的抗体価測定方法の確立に関する研究	岡部 信彦 …… 61
945A KH51054	PPAR α をターゲットとした生活習慣病予防薬の開発	片山 茂裕 …… 64
946A KH51055	感染症領域における先端的遺伝子診断技術の開発に関する研究	薄井 貢 …… 68
947A KH51056	乳幼児下痢症の原因ウイルス検出法に関する研究	西尾 治 …… 71
948A KH51057	可溶性ウイルス受容体等によるウイルス吸着阻止を利用した抗ウイルス剤の開発に関する研究	田口 文広 …… 77
949A KH51058	EPA・DHA含有エステル交換構造脂質の体脂肪蓄積抑制効果に関する研究	斎藤 衛郎 …… 86
950A KH51059	エネルギー消費調節機構に立脚した生活習慣病予防薬に関する基礎研究	大坂 寿雅 …… 89
951A KH51060	遺伝子解析によるヒトエンテロウイルス同定の標準化	清水 博之 …… 93
952A		

肺炎球菌感染症の標準的抗体価測定方法の確立に関する研究

所属国立感染症研究所 感染症情報センター
研究者 岡部信彦

研究要旨 標準的抗体測定方法の評価、自然感染肺炎球菌感染症の診断へ応用に関する評価、抗体価とオプソニン活性の相互関連による肺炎球菌感染症の予防に関する評価を目的として下記の実験を行った。抗体価の測定方法は、肺炎球菌ワクチンに使用されている、精製ポリサッカライドを固層化した ELISA プレートを用いた。健常人および慢性呼吸疾患感染者に肺炎球菌 23 価ポリサッカライドワクチンを接種し、ワクチン接種前後の抗体価の変化を ELISA で測定したところ、抗体価を測定した血清型 6B、血清 14A、血清型 19F、血清型 23F のそれぞれの血清型に対して血清型 6B では平均約 4 倍、14A では平均約 30 倍、19F では平均約 4 倍、23F では平均約 8 倍の上昇を確認でき、標準血清を用いることで定量的に抗体価の測定が可能であった。HIV 感染者に肺炎球菌 23 価ポリサッカライドワクチンを接種し、抗体価の上昇とオプソニン活性の相関を比較した。その結果、HIV 感染者では抗体価が大きく上昇したグループほどオプソニン活性が低い結果が観察された。以上の結果から精製ポリサッカライドを用いた ELISA は定量的に抗体価を測定することが可能で、抗体価とオプソニン活性の比較に応用が可能であった。

分担研究者

- (1) 新井 智(国立感染症研究所感染症情報センター)、大谷明(国立感染症研究所)
- (2) 高野昇一、齊藤剛(株式会社BML研究開発本部)
- (3) 永井英明(国立療養所東京病院)
- (4) 大石和徳、松本慶蔵(長崎大学熱帯医学研究所)
- (5) 高橋透(万有製薬(株)研究開発本部)
- (6) 島田馨(東京専売病院)

A. 研究目的

標準的抗体測定方法の評価。自然感染肺炎球菌感染症の診断へ応用に関する評価。抗体価とオプソニン活性の相互関連による肺炎球菌感染症の予防に関する評価を目的とした。

B. 研究方法

健常人と慢性呼吸器患者に肺炎球菌23価ポリサッカライドワクチンを接種し、ワクチン接種前後の抗体価の上昇をELISAで測定し、ワクチンの効果を比較した。ELISAでは、標準血清として肺炎球菌23価ポリサッカライドワクチン接種後のヒト血清を標準血清として大量と必要とするため、ヒト以外の動物の血清を標準血清として使用できると簡便に高力価の免疫血清を用意することが可能となる。そこで、二次抗体に

ProteinGが使用可能か検討した。

免疫抑制者に対して、ELISA 測定法が有効かどうか HIV 感染者に対して肺炎球菌 23 価ポリサッカライドワクチンを接種し、オプソニン活性と抗体価の上昇に関連性が認められるか比較した。HIV 感染者に関しては、東アフリカ、ウガンダにおいて成人の HIV 感染者 64 名(無症候者 35 名、肺炎患者 29 名)および HIV 非感染者 30 名について、血清中の血清型 3 および血清型 9 特異 IgG 抗体濃度を reciprocal titer で測定した(半定量法)。血清型 3 肺炎球菌および血清型 9 肺炎球菌に対する血清中補体依存性オプソニン活性を、非働化血清とヒト好中球を用いてケミルミネッセンス法で測定した。また、無症候性 HIV 感染者 35 名については末梢血 CD4 数および血清中 HIV-1 ウイルス量とオプソニン活性との相関について検討した。

倫理面への配慮は、血清採取時にはインフォームドコンセントをとってから採取し、個人情報 は可能な限り扱わないように配慮した。

C. 結果と考察

健常人と慢性呼吸器疾患患者に肺炎球菌ワクチンを接種したところ、どちらのグループにも明らかな抗体価の上昇が認められた。抗体価の測定は、二次抗体にProteinGに変更しても十分測定が可能であった。HIV感染者など、免疫反応の抑制されたグループに肺

肺炎球菌23価ポリサッカライド株林を接種し、抗体価の上昇とオプソニン活性の関連を比較した。成人における肺炎球菌性下気道感染症由来の161株の血清型分布は、136株(84.5%)が23価肺炎球菌ワクチン含有の血清型に属していた。ワクチン含有主要血清型としては、PRSP, PISPに比較的頻度の高い血清型である19F, 6B, 23Fが全体の40.4%を占めていた。

慢性肺疾患患者の血清中血清型特異IgG濃度は、接種前に比較して接種1ヶ月後に6B, 19F, 23FいずれのCPSの場合も有意に増加した。23F肺炎球菌に対する血清中オプソニン活性は接種1ヶ月後に有意に増加し、23F血清型特異IgG抗体濃度と23F株に対する血清オプソニン活性は有意な正の相関を示した。

PRSPに頻度の高い6B, 19F, 23F血清型に特異的なIgG抗体濃度は、23価ワクチン接種後に有意に上昇した。また、23F CPS特異的IgG濃度と23F株に対する血清オプソニン活性は正相関を示した。これらの血清免疫学的検討から、高齢の慢性呼吸器疾患における肺炎球菌ワクチン接種は病原性肺炎球菌に対するオプソニン活性を血清特異的IgG抗体濃度の増加を介して上昇させることを明らかにしている。これらの効果は高齢者や慢性肺疾患における侵襲性肺炎球菌性感染症の発症予防効果を支持し、菌血症を伴わない肺炎球菌性肺炎の重症化を阻止する可能性を示唆している。

ウガンダのHIV感染者64名の血清中肺炎球菌ポリサッカライドに対する特異IgGは、HIV非感染の30名と比較して有意に高値を示した(血清型3特異IgGは 8.34 ± 0.93 Vs 7.07 ± 1.02 、血清型9特異IgGは 10.13 ± 1.32 Vs 7.50 ± 1.01 、いずれも $P < 0.001$)。

HIV感染者において血清中特異IgG濃度とオプソニン活性の相関を検討したところ、特異抗体価の低い血清のオプソニン活性は高く、特異抗体価の高い血清のオプソニン活性が低いことが示された。さらに、健常なHIV感染者の末梢血CD4数および血中HIV-1ウイルス量と血清中オプソニン活性の相関を検討した。血清型3, 9いずれも血清オプソニン活性と末梢血CD4数は正相関傾向を示した。また、血清型3, 9いずれも血清オプソニン活性と血中HIV-1ウイルス量は逆相関を示した。世界におけるHIV感染者はその70%以上がサハラ以南のアフリカに存在する。また、この地域のHIV感染者においてはしばしば侵襲性肺炎球菌感染症が認められる。今回の検討において、HIV感染症の血清中血清型特異的

IgG濃度は高いものの、血清オプソニン活性は抗体濃度の増加につれ、低下する傾向が明らかになった。さらに、HIV-1感染者の血中ウイルス量が増加し、末梢血CD4 T細胞数が低下するほど、血清オプソニン活性も低下する傾向が明らかになった。以上の成績は、臨床的にHIV感染者では肺炎球菌に対する血清オプソニン活性が低下し、その侵襲性肺炎球菌感染症に対するリスクを高めることを示唆している。また、上記の成績はHIV-1自身が肺炎球菌に対する血清中オプソニン活性を直接抑制する事を示唆しており、今後HIV-1と血清型特異的IgGおよび補体との相互干渉を検討する必要がある。

E. 結論

慢性呼吸器疾患患者に肺炎球菌23価ポリサッカライドワクチンを接種すると、優位な抗体価の上昇を得ることが可能であった。最近全国から収集した成人の下気道感染症を惹起した呼吸器病原性肺炎球菌161株の血清型分布の検討では、その84.5%が23価肺炎球菌ワクチン含有血清型であり、PRSP, PISPに比較的頻度の高い血清型である19F, 6B, 23Fが全体の40.4%を占めていた。HIV感染症の血清中血清型特異的IgG濃度は高いものの、血清オプソニン活性は抗体濃度の増加につれ、低下する傾向が明らかになった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- ◆ Takahashi H, Oishi K, Yoshimine H, Kumatori A, Moji K, Watanabe K, Nalwoga H, Buguruka S, Kebba A, Mugerwa R, Mugenyi P. Decreased serum opsonic activity for *Streptococcus pneumoniae* in HIV-infected Ugandan adults. Clin Infect Dis. 37: 1534-40, 2003.
- ◆ 大石和徳. 肺炎球菌ワクチン. 日本呼吸器学会雑誌, 41巻(増刊号)p25, 2003.
- ◆ 大石和徳, 呼吸器感染症ワクチンの動向:肺炎球菌ワクチン 分子呼吸器病学 7:441-447,2003.
- ◆ 大石和徳, 成人における肺炎球菌ワクチンの今日的な位置づけ. 呼吸, 2004(印刷中).
- ◆ 岡部信彦, 予防接種・ワクチン総合臨床. 52(増): 676-681. 2003.
- ◆ 岡部信彦感染症対策・予防接種の知識. 調剤と情報. 9(12): 1678-16

83. 2003.

- ◆ 岡部信彦. 感染症の現状、感染症サーベイランス、感染症ワクチンの現状. 分子予防環境医学 P.139-149. 編集・分子予防環境医学研究会. 本の泉社. 2003.12.

2. 学会発表

- ◆ 齊藤剛、新井 智、高野昇一、岡部信彦. 肺炎球菌 第3回抗体測定法研究会. 2003年.
- ◆ 齊藤剛、永井英明、新井 智、高橋透、岡部信彦、高野昇一. 第76回日本細菌学会総会(熊本)「肺炎球菌莢膜多糖類特異的抗体のELISA法による定量
- ◆ 齊藤若奈、永井英明、鈴木純子、益田公彦、馬場基男、田村厚久、長山直弘、赤川志のぶ、川辺芳子、町田和子、倉島篤行、四元秀毅、齊藤剛、新井智、岡部信彦. 2004年4月 第44回日本呼吸器学会総会にて発表予定。
- ◆ 佐藤弘、永井英明、齊藤剛、新井智、多屋馨子、大石和徳、岡部 信彦 第52回日本感染症学会東日本地方会総会(第50回日本化学療法学会東日本支部総会、第86回日本細菌学会関東支部総会との合同学会)

G. 知的財産権の出願・登録状況

平成15年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

平成16年9月30日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル（小伝馬町駅前）4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社