

II. 分担研究報告書

ワクチンの有用性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究

小児侵襲性 *Haemophilus influenzae* 感染症分離菌の解析 に関する研究

分担研究者 宮村達男 国立感染症研究所 所長

研究要旨 Hib コンジュゲートワクチンの有効性を疫学的に実証するため9道県において小児の *Haemophilus influenzae* type b 侵襲性感染症を全数把握しワクチン導入前後における罹患率等の変化を追跡する。本分担研究は症例からの分離菌を収集し、血清型、薬剤感受性等を調べワクチン普及に伴う変化を捉えることを目的とする。2007年～2008年1月に9道県のうち7県で分離された32株の生物型別、血清型別、薬剤感受性試験、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）解析を行った。血清型はすべてb型であり、生物型は1型が優勢であった。4株（12.5%）がβ-ラクタマーゼを産生し、その遺伝子型はすべてTEM-1型であった。現在標準的に使用されているセフトキシム（CTX）とメロペネム（MEPM）に対して感受性カテゴリー内にはとどまるものの、MICが高い菌株が少なくなかった。耐性化の問題からもワクチンの早期の普及が望まれる。

研究協力者

荒川宜親、佐々木次雄、新谷三春、
加藤はる、佐々木裕子、久保田（松岡）眞由美

（国立感染症研究所 細菌第二部）

A. 研究目的

Haemophilus influenzae type b (Hib, b型インフルエンザ菌) 侵襲性感染症は、小児の髄膜炎や喉頭蓋炎など重篤な感染症であるが、近年 Hib コンジュゲートワクチンの普及により先進諸国では過去の感染症となった。我が国でも平成19年1月に同ワクチンが認可されたがまだ市販には至っていない。このワクチンの有効性を疫学的に実証し、ワクチンの普及

ひいては定期接種化に資するため9道県において小児の当該感染症を全数把握しワクチン導入前後における罹患率等の変化を追跡する。本分担研究はそのうち8県の症例からの分離菌を収集し、血清型、薬剤感受性等を調べワクチン普及に伴う変化を捉えることを目的とする。今年度は分離菌の同定確認、生物型別、血清型別、薬剤感受性試験、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）解析を行った。

B. 研究方法

供試菌株：2007年～2008年1月に、7県の共同研究者から送付された臨床分離株32株（1症例1菌株とした）

を用いた。これらの菌株は侵襲性感染症（髄膜炎、敗血症、喉頭蓋炎、肺炎）患児の髄液または血液から分離され *H. influenzae* と同定されたものである。

同定確認：菌をチョコレート寒天培地上で再分離し、グラム染色を行い、ID テスト・HN-20 ラピッド「ニッスイ」（日水製薬）を用いて再同定した。

生物型別：ID テスト・HN-20 ラピッド「ニッスイ」（日水製薬）を用いた。

血清型別：インフルエンザ菌莢膜型別用免疫血清「生研」（デンカ生研）を用いた。

薬剤感受性試験：Etest (AB BIODISK) を用い、試験用培地には Haemophilus Test Medium (ベクトン・ディッキンソン) を用いた。薬剤としてアンピシリン (ABPC)、スルバクタム / アンピシリン (ABPC/SBT)、ピペラシリン (PIPC)、メロペネム (MEPM)、セフォタキシム (CTX)、セフトリアキソン (CTRX) を用いた。

β -ラクタマーゼ活性検出：ID テスト・HN-20 ラピッド「ニッスイ」（日水製薬）を用いた。

β -ラクタマーゼ遺伝子型別：TEM-1 型及び ROB-1 型に特異的なプライマー (表 1 番号 1, 2) を用い PCR 法により行った。

ペニシリン結合蛋白 (PBP) 3 変異の検出： β -ラクタマーゼ産生菌株について表 1 の番号 3, 4 のプライマーを用い、PCR 法により行った。

パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE)：制限酵素として *Sma*I を用い、常法に従って行った。データ解析には Fingerprinting II (BIO-RAD) を用いた。

C. 研究結果

生物型については 1 型が最も多く (22 株、69%)、次いで 2 型 (25%)、4 型 (6%) の順であった (表 2)。莢膜血清型はすべて b 型であった。

β -ラクタマーゼ産生株は 32 株中 4 株 (12.5%) で、 β -ラクタマーゼの遺伝子型は 4 株すべてが TEM-1 型であった。また PBP の変異を調べたところ 4 株のうち 2 株が β -lactamase-nonproducing ampicillin-resistant (BLNAR) 型変異、1 株が Low-BLNAR 型変異を併せ持っていた。

β -ラクタマーゼ産生株 3 株を含む 27 株の薬剤感受性を表 3, 4 に示した。まだ供試株数は少ないが全薬剤で MIC 分布の 2 峰化がみられた (表 4, 図 1)。アンピシリンでは中間株も多かった。

7 県からの 26 株 (うち 2 株は同一患児の異なる部位由来) の PFGE パターンおよびデンドログラムを図 2 に示した。3 つのクラスターに分けられた。まだ株数が少ないこともあり地域による偏りは明瞭でなかった。

D. 考察

欧米での報告によれば *H. influenzae* の生物型は分離部位や莢膜血清型と相関があり、b 型株では 1 型が圧倒的に優位であるという。日本では b 型株の生物型分布に関する最近のデータは少ないが、1 型が優位であるが 2 型も 1 型の 1/3 程度の分離頻度であることがわかった。

Hib コンジュゲートワクチン普及以前の欧米諸国と同様に侵襲性感染症由来分離株の血清型はすべて b 型であった。同ワクチン普及後に b 型以外の血清型菌による侵襲性感染症が増加する可能性があり、血清型の監視は常に必要である。

β -ラクタマーゼ産生株は 4 株 (12.5%) で、約 30% という米国、カナダでの報告より頻度は低かった。国内では 10% 前後の頻度が安定して続いて来た。この差はペニシリン系薬剤の使い方の違いを反映していると思われる。これら 4 株のうち 2 株が BLNAR 型変異、1 株が Low-BLNAR 型変異を併せ持っていた。

ペニシリン系薬剤については β -ラクタマーゼ非産生で、アンピシリンに対し中間耐性を示す株が 11 株あった。 β -ラクタマーゼ非産生株すべてがピペラシリンには良好な感受性を示した。

現在小児侵襲性 *H. influenzae* 感染症に対する第一選択薬剤とされるセフトキシムとメロペネムの MIC が高い菌株が多く、感受性カテゴリーの上限 (それぞれ 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、CLSI の基準に拠る) に達している株も多かった。

上記は PBP3 変異による可能性が高く、今後調べる予定である。我が国では欧米に比べ、ペニシリン系よりもセフェム系が多用されることから欧米よりも BLNAR の出現率が高く、治療法ガイドライン等についても国毎の耐性化状況の違いをも考慮するべきと思われる。耐性化の問題からもワクチンの早期の普及が望まれる。

H. influenzae type b の PFGE パターンは、まだ収集菌株が少ないこともあり、今回の条件では比較的均一性

が高かった。今後解析菌株数を増すとともに他の条件も検討したい。

E. 結論

2007 年に 7 県の小児侵襲性感染症由来 *H. influenzae* の性状を調べたところ、血清型はすべて b 型であり、生物型は 1 型が優勢であった。現在標準的に使用されているセフトキシムとメロペネムに対して感受性カテゴリー内にはとどまるものの、MIC が高い菌株が少なくなかった。

F. 健康危険情報

髄膜炎等重篤な小児侵襲性 *H. influenzae* 感染症から、ペニシリン系、第三世代セフェム系、カルバペネム系薬剤に耐性あるいは非感受性に近い MIC を示す菌株が高頻度で分離された。既に認可されている Hib コンジュゲートワクチンの早期の普及が望まれる。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)
なし

表 1. 使用した各種プライマー

名称	配列	遺伝子	部位	産物のサイズ
TEM-F	5'-TGGGTGCACGAGTGGGTAC-3'	<i>bla</i> _{TEM-1}	321-340	526 bp
TEM-R	5'-TTATCCGCTCCATCCAGTC-3'		827-846	
ROB-F	5'-ATCAGCCACACAAGCCACCT-3'	<i>bla</i> _{ROB-1}	419-438	692 bp
ROB-R	5'-GTTTTCGATTTGGTATGCGA-3'		991-1110	
PBP3S-S	5'-GATACTACGTCCTTAAATTAAG-3'	<i>fts</i> _{IRD KW20}	1048-1070	551 bp
PBP3S-R	5'-GCAGTAAATGCCACATACTTA-3'		1578-1598	
PBP3BLN-S	5'-TTCAAGTAACCGTGGTGTGAC-3'	<i>fts</i> _{IME870}	1134-1154	465 bp
PBP3BLN-R	5'-GCAGTAAATGCCACATATTTC-3'		1578-1598	

表 2. 生物型別分離頻度 (32 株)

生物型	分離株数 (割合、%)
1	22 (69)
2	8 (25)
4	2 (6)
総計	32 (100)

表 3. 薬剤感受性分布 (27 株)

薬剤	MIC 範囲	株数		
		感受性	中間	耐性
ABPC	0.25 ~ >256	13	9	5
ABPC/SBT	0.25 ~ 8	24	—	3
PIPC	0.016 ~ >256	24	—	3
MEPM	0.016 ~ 0.5	27	—	—
CTX	0.016 ~ 2	27	—	—
CTRX	0.004 ~ 0.5	27	—	—

表 4. MIC 分布 (27 株)

薬剤	MIC (μg/ml)													計
	0.004	0.008	0.016	0.032	0.064	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	>256	
ABPC							6	4	3	9	2		3	27
ABPC/SBT							6	4	3	11	2	1		27
PIPC			1	7	9	6	1						3	27
MEPM			1	3	7	2	5	9						27
CTX			1	5	2	4	1	3	6	5				27
CTRX	5	2	4	2		2	11	1						27

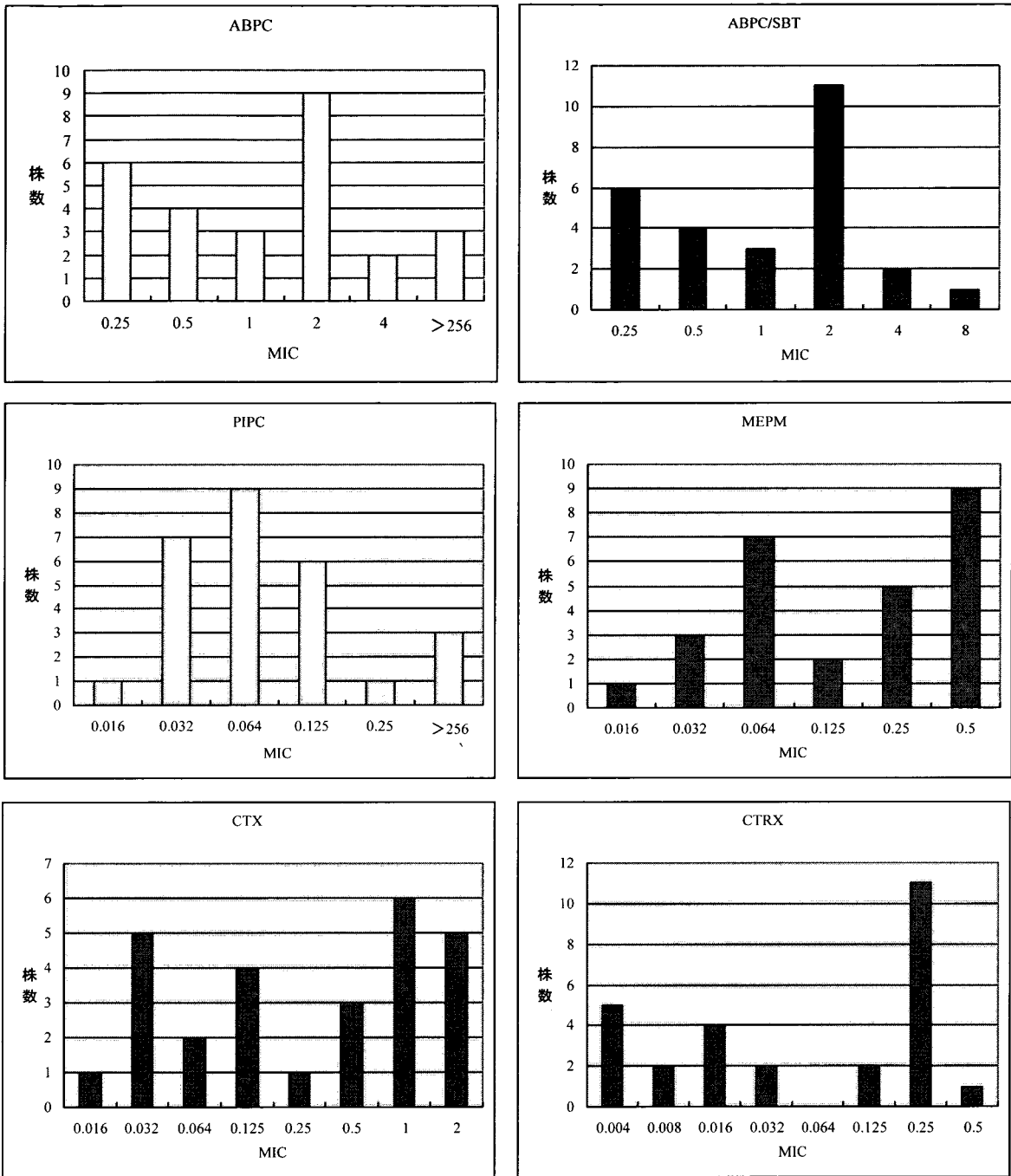


図1. 分離菌株に対する抗菌薬のMIC分布 (27株)

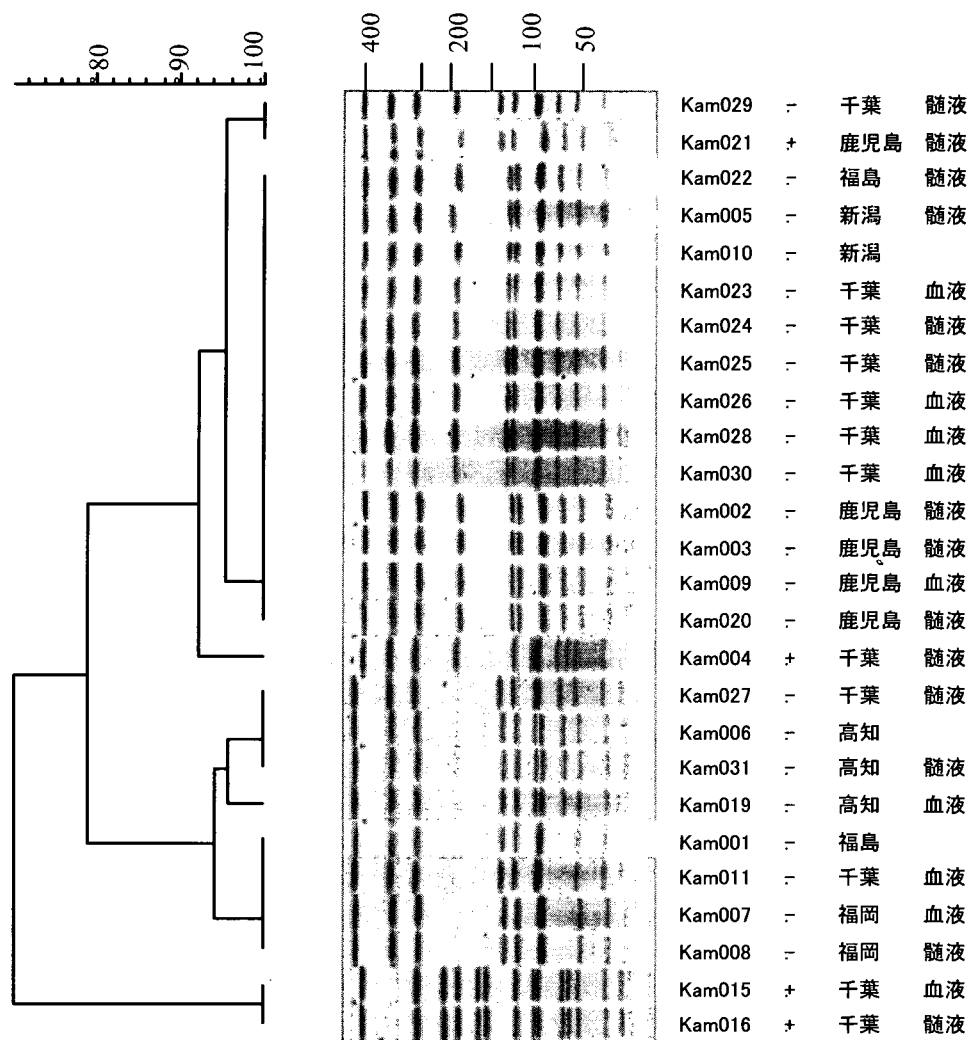


図2. 分離菌株の PFGE パターン及びデンドログラム

厚生労働科学研究費補助金

「ワクチンの有効性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究」

分担研究報告書

小児における髄膜炎ならびに侵襲性感染症由来の肺炎球菌の疫学的解析

分担研究者 宮村達男 国立感染症研究所所長

協力研究者 和田昭仁 同細菌第一部

研究要旨

2007年8月より2008年1月まで、6県から27症例に由来する27株の肺炎球菌が集められた。膨潤法による血清型別の結果、6Aまたは6Bの菌は10株(37%)、19Fの菌は4株(14.8%)であり、7価コンジュゲートワクチンのカバー率は88.9%であった。このワクチンに含まれない型として、3、15C、19Aが各1株分離された。微量液体希釈法による薬剤感受性測定の結果、PSSP 14株(51.9%)、PISP 11株(40.7%)、PRSP 2株(7.4%)であったが、PSSP 14株中12株はペニシリンGのMICが0.03-0.06 µg/mLと感受性の低下がみられた。血清型6A/Bの分離菌は、様々なパルスフィールドゲル電気泳動パターンを示したが、マルチローカスシーケンスタイピング解析ではクラスター化が見られた。ワクチン導入前後の疫学的比較調査を継続する必要があると考えられた。

A. 研究目的

欧米においては、すでに小児用肺炎球菌コンジュゲートワクチンが導入され、ワクチンタイプの肺炎球菌による侵襲性感染に対する有効性が示されている。ワクチンによる効果を見るためには、導入前後の広範な疫学的調査が必要であるが、欧米においては、導入前の分離菌の疫学的な調査が十分ではなかったために、分離菌がどのように変化していったかの情報が得られていない。この分担研究は、主としてワクチン導入前に分離される菌の

調査を行い、導入後の比較対象としての情報を提供することを目的とする。

A. 研究方法

送付された小児侵襲性感染症由来の肺炎球菌に対し、血清型別、薬剤感受性試験、必要に応じ、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)解析、マルチローカスシーケンスタイピング(MSLT)解析を行った。Statens Serum Institute製血清をもちいた膨潤法にて血清型別を行った。薬剤感受性試験にはCSLIの基準(M100-S15)

に準拠した微量液体希釈法をもちいた。PFGE は既出の方法に従い、また MLST は <http://spneumoniae.mlst.net/> に記載された手法で解析を行った。

B. 研究成果

2007年8月より2008年1月まで、6県から27症例に由来する27株の肺炎球菌が集められた。血清型別の結果を表1に示す。

表1

血清型	分離株数 (%)
6B	8 (29.6%)
19F	4 (14.8%)
9V	3 (11.1%)
6A	2 (7.4%)
14	2 (7.4%)
18C	2 (7.4%)
23F	2 (7.4%)
4	1 (3.7%)
3	1 (3.7%)
15C	1 (3.7%)
19A	1 (3.7%)
計	27

(太字はワクチンタイプの血清型)

6B型ワクチン投与でも有効性があるとされる6Aの分離数と6Bの分離数を合わせると10株(37%)であり、7価コンジュゲートワクチンがカバーする血清型は88.9% (24/27)であった。このワクチンに含まれない型として、3, 15C, 19Aが各1株分離された。薬剤感受性測定の結果、PSSP 14株(51.9%)、PISP 11株(40.7%)、PRSP 2株(7.4%)であったが、PSSP14株中12

株はペニシリン G の MIC が 0.03-0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と感受性の低下を認めた。ペニシリン G の MIC が ≤ 0.015 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった2株の血清型は4と18C(各1株)であった。この2株を除く25株のセフォタキシムの MIC は 0.12-2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、PSSP であってもセファロスポリンに対する低感受性が広く見られた。イミペネムの感受性は PRSP 1株で 0.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であったが(血清型 19F)、他の26株は 0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下の MIC を示した。

血清型 6A/B の菌は、分離頻度が高く、様々な地域から分離されていることから、これらの菌から6株を選び、その PFGE パターンを成人由来の 6A/B 型菌のパターンと比較したところ、非常に多くのパターンが見られ、単一または少数クローンが小児に対し侵襲性感染を起こしているという考え方は否定的であった(data not shown)。PFGE よりも識別能力は劣るが、より大まかな菌株間の比較が可能な MLST 解析を 6A/B 分離菌 10 株に対して行ったところ、2つのクラスターが見られ、各クラスターには3株、5株が属することが示された(図1)。各クラスターに属する分離菌に地域性は見られなかった。

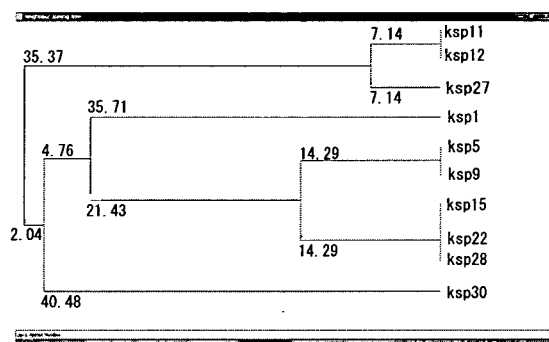
C. 考察

半年間の収集期間であるにもかかわらず、2007年発症の侵襲性感染症由来肺炎球菌が27株集まった。今後の研究期間で7価コンジュゲートワクチンのカバー率を算出するのに十分

な数の菌株を集めることができると予想される。ワクチンカバー率は88.9%であったが、本邦では成人において血清型 3 の分離頻度が高く(約15%)、海外での分離頻度に基づき開発されるワクチンの国内での有効性を注意してフォローする必要がある。今年度の調査でも血清型 3 による小児侵襲性感染が、1 例見られている。過去においては血清型 3 の肺炎球菌の薬剤感受性は良好であったが、近年分離されるこの血清型の菌は PSSP であるもののセフトキシムに対して感受性が低下しており、治療上の問題となっている。本調査による分離菌もペニシリンGのMICが0.03 µg/mL であるにもかかわらず、セフトキシムのMICは0.25 µg/mL であった。今後、注視する必要がある血清型である。

海外においては、7 価コンジュゲートワクチンの導入後にワクチンタイプ以外の血清型の菌による感染症の増加が見られている。本研究により、ワクチン導入前の分離菌について、様々な疫学情報が得られることが期待され、ワクチン導入前に十分な調査が行われなかった海外の疫学データの補完が可能になるであろう。ワクチン導入後もこのような調査が継続的に行われれば、本邦における問題点が明らかになり、より有効なワクチンの導入や開発が可能になると期待される。

図 1



厚生労働科学研究「医薬品・医用機器等レギュトリーサイエンス総合研究事業」
「ワクチンの有用性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究」

主任研究者 神谷 齊

分担研究報告書

疾病の流行状況とワクチンの意義及び健康教育、情報伝達に関する研究

分担研究者	岡部 信彦	国立感染症研究所感染症情報センター センター長
研究協力者	栗屋 豊	聖母病院小児科 部長
	伊与田邦昭	広島市民病院小児科部長
	栗原まな	神奈川県総合リハビリテーションセンター小児科部長
	永井利三郎	大阪大学医学系研究科保健学教授
	多屋 馨子	国立感染症研究所感染症情報センター第三室室長
	山本(上野)久美	国立感染症研究所感染症情報センター第三室研究員
	佐藤 弘	国立感染症研究所感染症情報センター第三室研究員
	宮崎千明	福岡市立西部療育センター センター長

研究要旨

本研究班でのこれまでの調査研究をまとめたものとして「神経疾患を持つ小児に対する予防接種ガイドブック」が栗屋らによって単行本として発刊された。臨床に密着した実用的な書となっている。

麻疹に関する情報と、2008年4月から改正された麻疹風疹に関する定期予防接種制度を伝達するために、今回新たに定期予防接種の対象となった者ならびに一般国民に対する情報伝達手段として、麻疹に関する教育啓発用DVDを作成し、HP上に公開すると共に、作成したDVDを希望のあった自治体、保健所、医療機関、教育機関等に配布した。

A. 研究目的

本研究の分担テーマは、「疾病の流行状況とワクチンの意義及び健康教育、情報伝達に関する研究」であり、予防接種の意義あるいはその効果、副反応等の発生状況などについて、多くの人々(予防接種担当あるいは予防接種を受ける側の人々)に対する解説、説明などの啓発を如何に行うかの研究、或いは

実際に行ったかについての成果等についてまとめ、さらにその方法等に関する情報を関係者の間で共有することを目的とする。

本研究班の班会議においては、協力研究者から関連する多くの研究発表が行われているが、その概要は別にまとめられているので、ここではそのなかで研究成果について特に広く公表したという意味で、二つの出版物についてまとめた。

B. 研究方法

1. 神経疾患を持つ小児に対する予防接種ガイドブックの作成：これまでにいわゆる平山班において行われていた「予防接種による副反応の評価に関する研究班」の中の、予防接種神経系副反応グループ(グループ長・前川喜平教授)の研究、発表等をまとめたものを、ガイドブックとした。作成には、編集にあたった栗屋博士他3名を研究協力者としたが、その他多くの小児神経専門家が執筆者として協力している。

内容は、1)けいれん性疾患を持つ小児に対する予防接種」2)重症心身障害児(者)に対する予防接種」と大別し、前者は熱性けいれんとてんかんについて記載してある。またそれぞれについて一般的注意事項や特殊な状況下での注意などを解説し、神経疾患をもつ小児(人)たちに対して臨床現場にいる小児科医が予防接種を考える際に、安全と思われる条件あるいはトラブルを避けるための条件設定、過剰と思われる注意の排除、さらに万一の反応が生じた時の対策など、基本的な記述と共に Q&A 形式でわかりやすく解説したものである。

2. 麻疹教育啓発用 DVD の作成：2007 年の麻疹全国流行をうけて、「麻疹に関する特定感染症予防指針(平成19年12月28日付け厚生労働省告示第442号)」が告示され、流行の中心であった中学生・高校生世代の者に2回目の麻疹および風疹ワクチンの接種機会を付与

することが決定された。この決定を受けて、中学1年生相当年齢の者(第3期)ならびに高校3年生相当年齢の者(第4期)に対して、2008年4月1日から5年間の時限措置として、定期予防接種として麻疹ならびに風疹ワクチンの接種が実施されることが決定した。そこで、初年度の対象となる平成19年度高校2年生の30数名に対して麻疹に関する意識調査を実施した。「どのような気持ちになったら予防接種を受けに行こうと思うか？」の質問に対して、麻疹についての正しい知識を伝えること、麻疹の重症度を正確に伝えること、学校で受けさせること、費用負担をなくすことなど、の意見が得られた。そこで、中学生・高校生、一般国民を対象として、麻疹に関する正確な情報と、予防の必要性、予防接種を受ける際の注意点について、動画で説明することを企画し、麻疹に関する教育啓発用 DVD を作成した。作成した DVD は多くの人に見てもらうことを目的に、国立感染症研究所感染症情報センターのホームページに公開し、希望者には DVD を配布した。(作成協力：宮崎徹子、江木香苗、山本明史、谷口無我、竹本小児科医院竹本桂一院長、宏知会ばば小児科医院馬場宏一院長、永寿堂医院松永貞一院長)

C. 研究結果

1. 単行本として出版：ガイドブックとしてまとめたものは、診断と治療社より「神経疾患を持つ小児に対する予防接種ガイドブック」として、出版された。
3. 麻疹教育啓発用 DVD の作成：2008 年

2 月末に完成し、国立感染症研究所感染症情報センターのホームページ上(2008年3月現在 URL:<http://idsc.nih.go.jp/disease/measles/Video/measlesVideo.html>)に公開した。また、3月10日に、同ホームページ上に、DVDでの配布を記載したところ、医療機関、保育所・学校、保健所、自治体、医療関係企業等から、多数の希望が寄せられ、2008年3月末現在で1,500件以上に配布した。

教育関係機関については、文部科学省から、全国の中学校、高等学校への配布につき、本DVDの提供依頼があり、本研究班の成果物として提供をした。

なおこれらの内容は、厚生労働省、文部科学省における麻疹対策全体の啓発資料としても用いられた。

D. 考察

熱性けいれん、てんかん、その他のけいれん性疾患、あるいは重症心身障害児(者)の予防接種は、諸外国ではこれらをハイリスクと考えることなく、むしろ感染症罹患時にはハイリスクになると考えて積極的に勧めていくところが多い。一方わが国においては、危険ではないかという考えが少なくなかったが、本研究の成果から、予防接種に携わる多くの人々が、神経疾患をもつ小児(人)たちに対して予防接種を考える際に、安全と思われる条件あるいはトラブルを避けるための条件設定、過剰と思われる注意の排除、さらに万一の反応が生じた時の対策などを理解し、対象者たちの感染症予防対策がすすむことが期待され

る。

今後の研究班活動の中では、さらにその安全性、効果についてのさらなる検討、或いは本ガイドブックの検証、必要に応じた改訂などについて研究を本グループは継続して行う予定である。

麻疹に関しては、2008年4月から大きく変更される予防接種制度を正しく伝え、対象者ならびに一般国民に麻疹予防の重要性を伝えることが、国内からの麻疹排除にも繋がると考えられる。また接種を受ける者が麻疹に対して正確な知識をもたなければ、接種の必要性を認識できず、また、予防の重要性を伝えることは困難であると考えるところから、医療機関や自治体・学校からの情報提供に加えて、国民1人1人に情報を伝達する方法として、教育啓発用DVDを作成した。今後の麻疹の状況を検証し、中高校生らの反応を得ることによって、改訂版を出していくことも検討したい。

本研究班の成果が、麻疹排除に貢献できることを期待したい。

本研究班の発足当時より、旧平山班で行われていたAND調査(担当・宮崎千明博士)についての議論も、本グループで行われた。AND調査は、これまでの小児神経疾患の発生状況を知る数少ない多施設多地域調査であったが、広範な調査が資金的あるいは人的に困難な状態となってきた。現在その一部は厚生科学研究新興再興感染症のいわゆる「予防接種研究班(主任研究者・岡部信彦)」でも、宮崎博士によって引き継がれているが、感染症法第5類全数把握疾患に「急性脳炎(インフルエンザ脳症などの感染をき

っかけとする脳症も含む)」が加えられたこと
もあり、AND 調査の今後についてはどのように
することがもっとも効率的に小児神経疾患の
疫学を知ることができるかについて、さらに議
論を重ねることとした。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

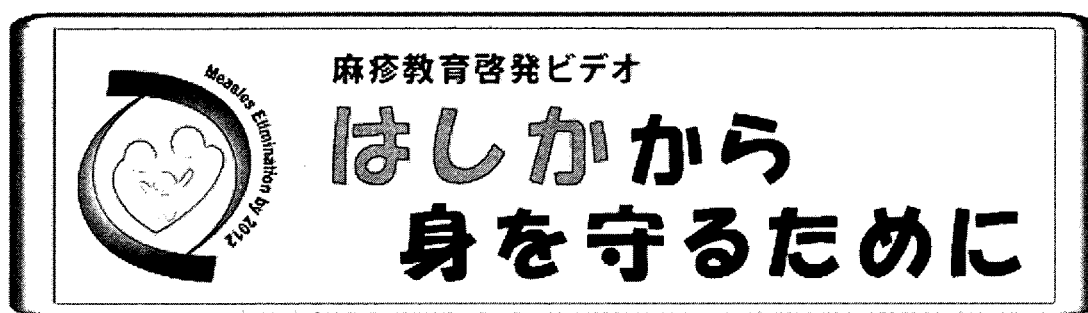
2. 学会発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし

図 麻疹教育啓発ビデオ



2008年3月現在 URL: <http://idsc.nih.go.jp/disease/measles/Video/measlesVideo.html>

ワクチン有用性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究（主任研究者：神谷 齊）
インフルエンザ随伴症状の発現状況に関する調査研究（分担研究者：廣田 良夫）

○研究内容

平成 18 年度研究班（横田班）から厚生労働省が貸与を受けた調査票を解析する。実作業は CRO（医薬品開発業務受託機関）に委託する。

○班構成

分担研究者：廣田良夫（大阪市立大学 公衆衛生学）

研究協力者：奥村彰久（順天堂大学 小児科学）、小笹晃太郎（京都府立医科大学 地域保健医療疫学）、鈴木宏（新潟大学 国際感染医学）、中村好一（自治医科大学 公衆衛生学）、細矢光亮（福島県立医科大学 小児科学）、森雅亮（横浜市立大学 発生成育小児医療学）、森満（札幌医科大学 公衆衛生学）、山口直人（東京女子医科大学 衛生学公衆衛生学）

共同研究者：伊藤一弥（大阪市立大学 公衆衛生学）、田邊卓也（市立枚方市民病院 小児科）、中野貴司（国立病院機構三重病院 国際保健医療研究室）、福島若葉（大阪市立大学 公衆衛生学）

○班会議：第 1 回（19. 8.22）～第 11 回（20.2.18）、第 10 回は中止

○現在まで得られた結果

- 1) 医師用・患者家族用調査票ペア 9,358 症例、医師用調査票のみ 876 症例、患者家族用調査票のみ 674 症例について、データベース構築（回収数：692 施設から 11, 661）。
- 2) 医師を対象に、未記入項目等について 5,313 症例の追加調査。返答 4,774 症例。
- 3) 現在まで、医師用調査票に基づき、10,316 症例のデータを整理。
- 4) タミフル使用例は、79.3%（7870/9929）。
- 5) 異常行動を、14.7%（1478/10038）に認めた。重度の異常行動（A 群）「事故につながったり、他人に危害を与えたりする可能性がある異常な行動」は、3.2%（47/1459）。
- 5) 異常行動に対するタミフルの crude-OR

全症例	実データ	0.38 (0.34-0.43)	リスク過大見積り	0.50 (0.44-0.56)
10 歳以上	実データ	0.52 (0.39-0.67)	リスク過大見積り	0.65 (0.50-0.84)
- 6) 異常行動（A 群）に対するタミフルの crude-OR

全症例	実データ	0.41 (0.22-0.78)	リスク過大見積り	0.58 (0.32-1.06)
10 歳以上	実データ	0.47 (0.17-1.29)	リスク過大見積り	0.58 (0.22-1.54)
- 7) 異常行動自由記載判定結果の一致度（κ 係数：異常行動に該当/該当せず/要検討）
異常行動 0.40、異常行動 A 0.76、その他 0.54～0.59

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
研究報告書

肺炎球菌コンジュゲートワクチンの成人における血清免疫学的効果と血清オプソニン活性測定の意義

大石和徳、大阪大学微生物病研究所

研究要旨：肺炎球菌コンジュゲートワクチン(CV)を東アフリカウガンダの健常人および末梢血 CD4 数が 200/ μ l 以上の HIV 感染者に接種し、接種前後の血清中特異 IgG 濃度測定した。また、血清中の opsonophagocytic killing 活性(OPK)を分化させた HL-60 細胞を用いて測定し、接種前後の特異 IgG 濃度と OPA の相関を検討した。HIV 感染の有無にかかわらず、CV 接種後の血清中特異 IgG および OPK 活性は有意に増加し、その増加の程度はほぼ末梢血 CD4 数に依存していた。HIV 感染者では CV 接種前の血清中 IgG 濃度と OPK 活性の相関は弱かったが、CV 接種後にそれらの相関は改善した。CV 接種後 8 ヶ月は HIV 感染成人においても OPK 活性は接種前より高値を維持していた。アフリカの健常人、末梢血 CD4 数 200/ μ l 以上の HIV 感染成人において CV の単回接種は有用である。また、HIV 感染成人においては血清中特異 IgG 濃度が OPK 活性と相関しない場合があるため、肺炎球菌ワクチン接種による血清免疫学的効果の判定には、特異 IgG 濃度測定より OPK 活性の測定が推奨される。

A. 研究目的

本研究では、健常成人と HIV 感染成人における 7 価肺炎球菌コンジュゲートワクチン (CV) 接種前後の血清中特異 IgG 抗体濃度とその血清オプソニン (OPK) 活性を測定することで、CV の免疫血清学的効果を明らかにし、OPK 活性測定の意義を明らかにする。

B. 研究方法

1) ウガンダ、カンパラ市の Joint Clinical Research Center, Uganda で Group I: HIV 感染者で末梢血 CD4 細胞数 200-500/ μ l (n=30, 平均 36.7 歳)、Group II: HIV 感染者で CD4 細胞 500/ μ l 以上 (n=28, 平均 37.1 歳)、Group III: HIV

非感染者 (n=29, 平均 26.8 歳)を登録した。
2) CV 接種前、CV 接種後 2 ヶ月、8 ヶ月の血清を採取し、血清中の血清型 14 と 4 特異 IgG 抗体濃度と OPK 活性を測定した。特異 IgG 抗体は第三世代 ELISA 法を、オプソニン活性は retinoic acid で多核白血球に分化させた HL-60 細胞を用いて測定した。CV は 7 価 CV (Prevnar[®]) を使用した。

C. 研究結果

1) CV 接種 2 月後の血清型 4 および 14 特異 IgG 濃度は有意に増加し、血清中 OPK 活性との相関が認められた。また、オプソニン活性の増加は HIV 非感染者に比較して、HIV 感染者では低下しており、末梢血 CD4 数に依存していた。

2) HIV感染者において、CV接種前の血清中特異IgG濃度とOPK活性との相関は有意でないか、弱かった。これに対し、CV接種後には両者の相関は改善した。さらに、CV接種8ヶ月後の血清中特異IgG抗体濃度とOPK活性は低下傾向を示したが、血清中OPK活性はHIV感染にかかわらずCV接種前値以上を維持していた。

D. 考察

CV接種により、アフリカのHIV感染成人においても血清中特異IgG抗体濃度とともにOPK活性は有意に増加し、CD4数200/ μ l以上のHIV感染者においてはCV接種により低オプソニン状態が解消され、さらに少なくとも8ヶ月は接種前値より高いOPK活性を維持することが明らかになった。従って、本研究は末梢血CD4 200/ μ l以上のHAART療法導入前のHIV感染者に対する肺炎球菌感染症の予防戦略としての有用性を示唆している。

また、本研究においてHIV感染成人においては血清中特異IgG濃度とOPK活性の相関が無い、あるいは弱い場合があることが判明し、特異IgG測定よりOPK活性測定が推奨される。

E. 結論

1) アフリカの健常人および末梢血CD4数200/ μ l以上のHIV感染成人において、CV単回接種は有用であると推察される。これらの対象者に対するCV接種による肺炎球菌感染症に対する予防効果についての検証が待たれる。

2) HIV感染成人における肺炎球菌ワクチン接種の血清免疫学的効果判定には血清

中特異IgG測定よりOPK活性測定が推奨される。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Chen M, Hisatomi Y, Furumoto A, Kawakami K, Masaki H, Nagatake T, Sueyoshi Y, Iwanaga T, Aizawa M, Oishi K. Comparative immune response of patients with chronic pulmonary diseases during the 2-year period after pneumococcal vaccination. Clin. Vac. Immunol 14:139-145, 2007
2. Koyama J, Ahmed K, Zhao J, Saito M, Onizuka S, Oma K, Watanabe K, Watanabe H, Oishi K. Strain-specific pulmonary defense achieved after repeated airway immunizations with non-typeable *Haemophilus influenzae* in a mouse model. Tohoku J Exp Med. 211:63-79, 2007
3. Anh DD, Huong PLT, Watanabe K, Nguyet NT, Anh NTH, Thi NT, Dung NT, Phuong DM, Tanimura S, Ohkusa Y, Nagatake T, Watanabe H, Oishi K. Increased rates of intense nasopharyngeal bacterial colonization of Vietnamese Children with radiological pneumonia. Tohoku J Exp Med 213: 167-172, 2007.
4. Watanabe K, Anh DD, Huong PH, Nguyet NT, Anh NTH, Thi NT, Dung NT, Phong DM, Rusizoka OS, Nagatake T, Watanabe H, Oishi K. Drug-resistant pneumococci in children with acute lower respiratory

infections in Vietnam. *Pediatrics International* (in press)

5. Watanabe H, Batuwanthudawe R, Thevanesam V, Kaji C, Qin L, Nishikiori N, Saito W, Saito M, Watanabe K, Oishi K, Abeysinghe N, Kunii O. Possible prevalence and transmission of acute respiratory tract infections caused by *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* among the internally displaced persons in tsunami disaster evacuation camps of Sri Lanka. *Intern Med.* 46:1395-1402, 2007.

6. 川上健司、大石和徳. 肺炎球菌ワクチンの最新事情と渡航者の接種. *日本医事新報* 4366:71-74, 2007.

7. 川上健司、大石和徳. 予防接種の現状と対策2 細菌に対するワクチン *治療学* 41:18-20, 2007.

8. 大石和徳. 肺炎球菌ワクチン再接種の是非. *日本医事新報*, 4354: 98-99, 2007.

9. 大石和徳. *日本内科学会雑誌*. 肺炎球菌ワクチン-5年後の再接種の是非-. *日本内科学会雑誌*, 2008 (印刷中).

2. 学会発表

1. 陳 蒙、黒木麗喜、吉嶺裕之、有吉紅也、大石和徳: HIV感染成人による肺炎球菌コンジュゲートワクチンによる血清中オプソニン活性と増強効果. 第55回日本化学療法学会西日本支部総会, 神戸, 2007年10月29-31日.

2. 古本朗嗣、大日康史、大石和徳: 慢性肺疾患患者における急性増悪びに対する肺炎球菌ワクチンとインフルエンザワクチンの相加的効果. 第11回日本ワクチン学会、横浜、2007年12月8-9日.

3. 大石和徳、高橋俊司. アナライザーワークショップ: β 溶血性連鎖球菌. 第19回に本臨床微生物学会総会、東京、2008年1月26-28日.

4. Oishi K. Antibiotic resistance of pneumococci and other respiratory bacteria in Asian countries: 12th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim 4-6 December 2007, Haikou, Hainan, China

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得: なし

2. 実用新案登録: なし

3. その他: なし

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
研究報告書

肺炎球菌ワクチン接種による末梢血自然免疫リンパ球と血清抗体価の変動と
その関連性に関する臨床免疫学的研究

川上和義、東北大学医学部保健学科

研究要旨：一般市中病院の呼吸器内科に通院中の慢性呼吸器疾患患者 24 症例を対象に、肺炎球菌ワクチン（ニューモバックス®）の接種前後における末梢血自然免疫リンパ球（NKT 細胞、 γ δ T 細胞）の動態及び血清抗体価（血清型 6B、23F）の変動について解析した。ワクチン接種後早期（2 週後）に自然免疫リンパ球数が増加する例と減少する例がみられ、増加例では 2 週後と 3 ヶ月後にピークを有する傾向があった。血清抗体価は 4 週から 3 か月後にピークを示し、その接種前値に対する増加率と 2 週後の自然免疫リンパ球の増加数との関係では、CD4+NKT 細胞で負の相関傾向、CD4-CD8-NKT 細胞で正の相関傾向が認められた。これらの結果から、まだ症例数が少ないものの、肺炎球菌ワクチンによる抗体産生への自然免疫リンパ球の何らかの関与が推察された。

A. 研究目的

肺炎は高齢者の主要な死亡原因であり、高齢化社会を迎えたわが国ではその予防が重要な対策となる。肺炎球菌は成人肺炎の最も頻度の高い起炎菌であり、65 歳以上の高齢者や慢性心肺疾患を有する患者では肺炎球菌ワクチンの接種が推奨されている。しかしながら、わが国のワクチン摂取率は欧米に比べて極めて低く、高齢者のわずか 4%にとどまっているのが現状である。その背景としては、肺炎球菌ワクチンの低い認知度や接種経費の問題、被接種者の副作用に対する不安などに加えて、本ワクチンの作用機序が必ずしも十分に解明されていないことや、臨床の有効性についてのわが国のエビデンスが十分に確立されていないことが重要な要因となっている。

現行の肺炎球菌ワクチンは 23 価の荚膜多糖体を含んだもので、胸腺非依存性抗原であることから、産生される抗体の class switching や affinity maturation が限定

され、メモリー細胞が誘導されないことからブースター効果は期待できない。このような免疫学的特徴とも関連して、敗血症や髄膜炎など侵襲性感染症への予防効果はみられるものの、肺炎や中耳炎など粘膜領域感染症ではその臨床的効果がエビデンスとして未だ十分には確立されていない。また、ワクチン接種後経年的に抗体価が低下するものの、副反応の問題などからわが国では再接種が認められていない。

このような背景から、本研究では、肺炎球菌ワクチンの臨床的効果とその免疫学的機序との関連性について明らかにする目的で、ワクチン接種症例を対象とした臨床免疫学的解析を実施した。

B. 研究方法

本研究では、宮城県白石市の公立刈田総合病院（内山美寧呼吸器内科部長）との共同研究を実施している。今年度は、同病院呼吸器内科外来に通院中の慢性呼吸器疾患患者 24 症例から得られた末梢血及び