

1. 表

表1. 北海道で発症した小児期細菌性髄膜炎（2007年、2008年）

表2. 北海道で発症した小児期細菌性髄膜炎の細菌学的検査所見

表3. 細菌性髄膜炎症例報告者

表1. 北海道で発症した小児期細菌性髄膜炎 (2007、2008年)

合計 39例 (男23例、女16例)

起因菌

インフルエンザ菌	24例
肺炎球菌	7例
B群溶連菌	4例
大腸菌	2例
リステリア菌	1例
髄膜炎菌	1例

発症年齢

1か月未満	3例 (B群溶連菌2例、大腸菌1例)
～1歳未満	15例 (インフルエンザ菌9例、肺炎球菌3例、 B群溶連菌2例)
1～5歳未満	17例 (インフルエンザ菌14例、肺炎球菌3例、 リステリア菌1例)
5歳以上	4例 (インフルエンザ菌1例、肺炎球菌2例、 髄膜炎菌1例)

予後 発達遅延、視力障害、尿崩症1例 (B群溶連菌1か月男児)  
水頭症2例 (肺炎球菌1歳女児、リステリア菌2歳女児)  
難聴2例 (肺炎球菌1歳女児、インフルエンザ菌1歳女児)

発症頻度 (5歳未満10万人人口あたり)

インフルエンザ菌髄膜炎	23例	5.5
肺炎球菌	5例	1.2

表 2. 北海道で発症した小児期細菌性髄膜炎の細菌学的検査所見

インフルエンザ菌	b 型 (19/20、95%)
	gBLNAR 9 例
	glowBLNAR 3 例
	gBLPAR 2 例
	gBLPACR-II 3 例
	gBLNAS 1 例
肺炎球菌	6 A (gPISP、PCV13 含有)
	6 B (gPRSP、PCV7 含有)
	19F (gPRSP、PCV7 含有)
	23F (gPRSP、PCV7 含有)
	34 (gPSSP)
B 群溶連菌	I b、III、V
髄膜炎菌	Y/W135

表3. 細菌性髄膜炎症例報告者(順不同)

1. 名寄市立病院 室野晃一、平野至規
2. 北海道社会保険病院 澤田博行、中山承代
3. 帯広協会病院 青柳勇人、泉 岳
4. 北見赤十字病院 三河 誠、小林一郎
5. 市立釧路病院 足立憲昭、池本 亘
6. 国立療養所西札幌病院 長尾雅悦
7. 函館五稜郭病院 遠藤満智子、岩井 崇
8. 釧路赤十字病院 永島哲郎、濱野貴通、佐藤泰征、藤原伸一
9. 小樽協会病院 飯田一樹
10. 札幌徳洲会病院 岡 敏明、喜屋武 元、大島美保
11. 帯広厚生病院 松本憲則、藤原伸一
12. 旭川医科大学 藤枝憲二、古谷野 伸
13. 手稲溪仁会病院 窪田 満
14. 市立函館病院 依田弥奈子、橋本 真
15. 市立江別病院 梶井直文、信太 知
16. 天使病院 飯塚 進、脇口定衛、小笹菜穂
17. 日鋼記念病院 岩田正道、小杉山清隆
18. 旭川厚生病院 坂田 宏
19. 富良野協会病院 角谷不二雄、藤保洋明
20. 岩見沢市立病院 佐藤俊哉
21. 函館中央病院 山田 豊、石倉亜矢子
22. 網走厚生病院 立花幸晃
23. 王子総合病院 内藤宏行、兼次洋介、鈴木秀久
24. KKR 札幌医療センター 高橋 豊、盛一享徳、佐藤泰征
25. 苫小牧市立病院 小原敏生、久保憲昭
26. 北海道小児総合保健センター 皆川公夫、大柳玲嬉

図1. インフルエンザ菌性髄膜炎の年齢、性別発症数

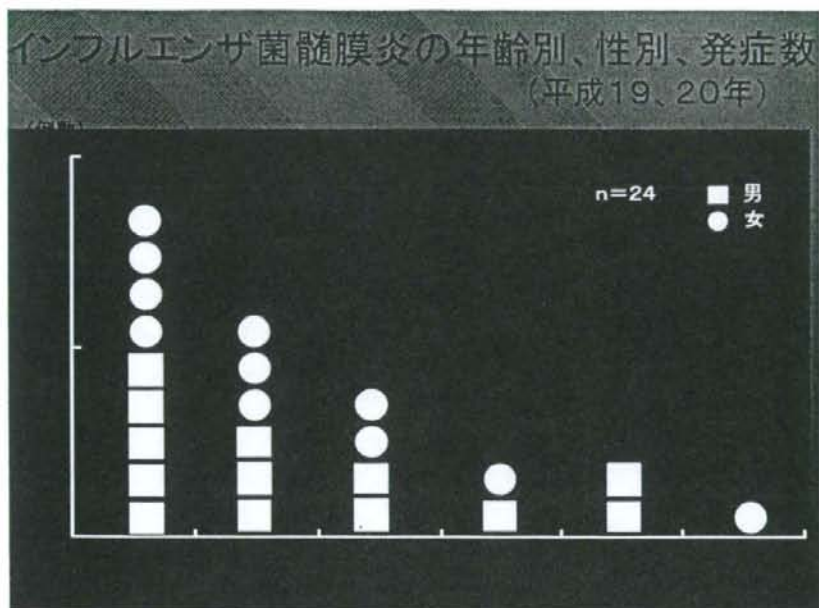
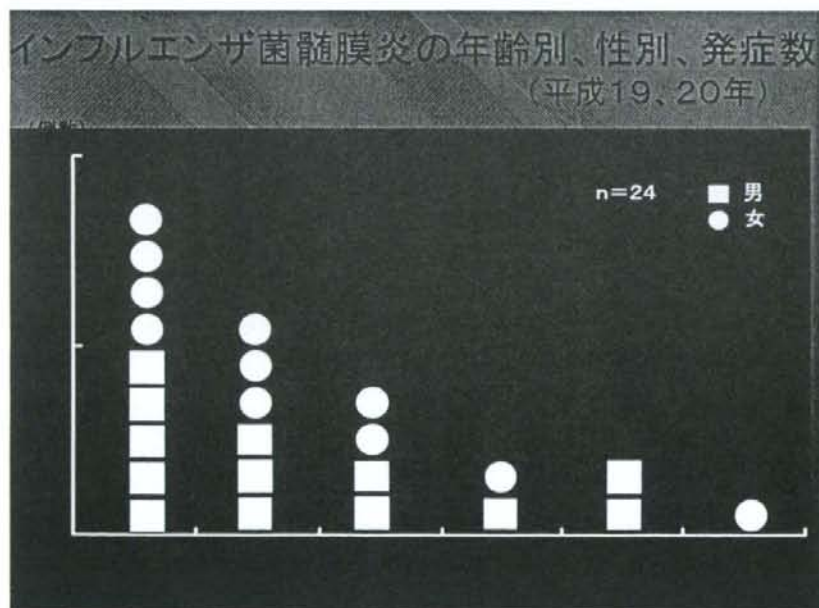


図2. インフルエンザ菌性髄膜炎の月別、性別発症数





予防接種で予防可能疾患の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究

分担研究者 浅野喜造（藤田保健衛生大学小児科教授）

**研究要旨** 水痘ワクチンの定期接種化を目指し、これまで小児科、内科を対象とした水痘、ムンプス関連の入院症例についてのアンケート調査を行なった。これまでの研究成果を踏まえ、平成16年1月1日～17年12月31日までの二年間に愛知県下の内科、小児科、皮膚科、泌尿器科、耳鼻科へ水痘帯状疱疹ウイルスあるいはムンプスウイルス感染により入院した症例について後方視的に調査した。その結果、水痘ウイルス再活性化に伴う帯状疱疹による入院例が極めて多いことが明らかとなった。また、耳鼻科、泌尿器科などにおいてもそれぞれ各科に特徴的な合併症により入院例が少なからず存在することが明らかとなった。また、平成17年1月1日～18年12月31日までの二年間に愛知県下の内科、小児科、皮膚科を対象として、水痘の重症化例の把握を目的としたアンケート調査を実施した。さらにその後、対象を全国に拡大し、水痘の重症化に伴い入院を要した症例の把握に努めた。また、LAMP法による水痘野生株とワクチン株の簡便な鑑別方法の開発を行った。

**A. 研究目的**

米国では1995年に水痘ワクチンの universal immunization がスタートし、接種率の向上に伴い水痘罹患例と入院例の減少が報告されている。一方、我が国では未だその接種率は25%程度と低迷しており、毎年冬から春にかけ水痘の流行が認められている。また、ムンプスワクチンも未だ定期接種化されておらず、年長児や成人例での重症例の存在が懸念されている。なるべく早く、他の先進国並みに有効なワクチンを定期接種化することにより、わが国の小児ならびに成人を vaccine preventable disease から守ることが我々に求められている重大なテーマである。これまでの研究で、成人の入院患者が比較的多いことや大学病院や規模の大きな基幹病院では、免疫不全患者の水痘罹患例があることが明らかになった。

そこで平成18年度の研究では、水痘に加え帯状疱疹や Ramsay Hunt 症候群を対象に加えると共に、ムンプス感染でも難聴や睾丸炎の合併例を把握するために、小児科、内科に加え皮膚科、泌尿器科、耳鼻科、産婦人科も対象としてアンケート調査を行なった。また、平成19年度の研究では、水痘重症化例の発生頻度、臨床的バックグラウンドを明らかにするため愛知県内でアンケート調査を実施した。さらに、将来的にワクチンが定期接種化された後、水痘性皮膚疾患患者においてはワクチン株か野生株かの迅速な判別が必要となる。米国ではリアルタイム PCR 法による鑑別法が開発されているが、本研究では loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法による、より迅速で簡便な判別法の確立を目指した。また、最終年度の研究では、免疫不全患児に発生した重症水痘の全貌を明らかにするため、調査対象を全国の入院施設のある小児科へ拡大し、アンケート調

査を行った。

**B. 研究方法**

**1. 平成18年度研究**

対象は愛知県内の内科（284施設）、小児科（157施設）、皮膚科（168施設）、泌尿器科（113施設）、耳鼻科（100施設）、産婦人科（92施設）を標榜している入院設備のある病院で、方法はアンケート用紙を郵送することによる後方視的研究である。観察期間は平成16年1月1日から17年12月31日の二年間。調査項目は、はじめに水痘、帯状疱疹、ムンプスあるいはそれらのワクチン接種による副反応で入院した症例の有無ならびに症例数について尋ねた。さらに入院症例があった場合には症例調査票の記入を求め、その中には患者の年齢、性別、入院理由、転帰を記入してもらうこととした。

**2. 平成19年度研究**

**1) 水痘重症化例のアンケート調査**

対象は愛知県内の内科（283施設）、小児科（156施設）、皮膚科（168施設）を標榜している入院設備のある病院で、方法はアンケート用紙を郵送することによる後方視的研究である。観察期間は平成17年1月1日から18年12月31日の二年間。調査項目は、水痘、帯状疱疹による重症化例の有無、年齢、性別、基礎疾患、臨床像、予後。

**2) LAMP法による VZV 野生株とワクチン株の鑑別**

プライマー：ワクチン株と野生株の間での遺伝子変異が多く見られる、ORF62内の2箇所の SNPs を標的としてプライマーを設計（VR-1とVR-2 VZV LAMP）。

ウイルス：岡親株、Kawaguchi 株を野生株として使用、Oka-vaccine 株をワクチン株として使用。臨



床的有用性を検討するため、本学で水痘患児の皮膚からのぬぐい液を20検体採取し使用した。LAMP法、リアルタイムPCR法：既知の方法と同様。

### 3. 平成20年度研究

1) 医原性免疫不全宿主における水痘あるいは帯状疱疹重症化例についてのアンケート調査

対象は、小児科入院施設を持つ全国の病院3357施設へ、ハガキによるアンケート調査を行った。観察期間は平成19年1月1日から20年12月31日の二年間。医原性免疫不全宿主に発症した、水痘あるいは帯状疱疹に関連した重症例(肺炎、肝炎、脳炎、播種性or出血性水痘、帯状疱疹汎発化)と死亡例について調査した。

2) LAMP法によるVZV野生株とワクチン株の鑑別

LAMP法によるDNA増幅起点はダンベル構造にある。ワクチン、野生株を識別するため、遺伝子変異が多く見られるORF62を標的としてプライマーを設計した。今回のプライマー設計の特徴は、FIP、BIPによって生じるループのDNA伸長ポイントに遺伝子変異部を配置し、野生株、ワクチン株においてプライマーがマッチしない場合はダンベル構造ができず、以降のLAMP反応が進行しない様にした。

ワクチン株、野生株それぞれの標的領域をサブクローニングし、コピー数を決定したプラスミドを段階希釈して以下の検討を行った。最初にワクチン株特異的プライマーの設計を行った。

## C. 研究結果

### 1. 平成18年度研究

アンケートについては内科284施設中105施設(37.0%)、小児科157施設中76施設(48.4%)、皮膚科168施設中69施設(41.1%)、耳鼻科100施設中48施設(48.0%)、泌尿器科113施設中51施設(45.1%)、産婦人科92施設中46施設(50.0%)から結果が返送されてきた。

水痘に伴う入院症例は94例あり、入院患者数が最も多いのは皮膚科の53例(57%)で、次いで小児科が37例(39%)、内科と産婦人科が各2例(2%)ずつを占めた。皮膚科に入院した水痘患者の平均年齢は30.5歳と若かった。帯状疱疹の入院症例は水痘よりもはるかに多く520例に達した。この場合も皮膚科からの報告が最も多く418例(80%)、次いで内科が51例(10%)、泌尿器科が12例(2%)、小児科が8例(2%)だった。また耳鼻科からはRamsay Hunt症候群の入院例が31例(6%)報告された。尚、皮膚科からの報告例の中に1例脳炎による死亡例があり、内科からの報告例の中にも2例の死亡例があった。また、泌尿器科からの12例の報告中4例は腎移植後の患者であった。

一方、ムンプスに伴う入院症例は144例あり、小児科が126例(88%)と最多で、次いで泌尿器科が9例(6%)、耳鼻科が7例(5%)、内科が2例(1%)だった。泌尿器科からの報告例は全例精巣炎、耳鼻科からの報告は全例難聴だった。小児科の入院症例126例の内訳は、やはり無菌性髄膜炎が最多で76例(60%)を占め、ムンプスのみが28例(23%)、熱性痙攣が7例(6%)、肺炎が4例(3%)、精巣炎と難聴が各1例ずつあった。

### 2. 平成19年度研究

1) 水痘重症化例のアンケート調査

アンケートについては内科283施設中110施設(38.9%)、小児科156施設中92施設(60.0%)、皮膚科168施設中61施設(36.3%)から結果が返送されてきた。

水痘に伴う入院症例は7例あり、3例が小児科でそのうち2例は免疫不全宿主(ALLと再生不良性貧血)。内科1例、皮膚科が3例で、免疫不全宿主はいなかった。免疫不全宿主の2小児例は臨床経過を詳しく調査した。

2) LAMP法によるVZV野生株とワクチン株の鑑別

VR-1、VR-2 VZV LAMP共に、感度は100コピー/tube、特異性も確認された。VR-1 VZV LAMPはSac II、VR-2 VZV LAMPについてはSma IにてLAMP産物を切断後、アガロースゲル電気泳動にて切断パターンに差が認められ判別が可能であった。

水痘患児20例からの水疱ぬぐい液は、DNA抽出することなく直接LAMP法でウイルスDNAが増幅可能で、増幅されたLAMP産物はいずれも野生株の切断パターンを示した。さらに、そのうち5株についてはシーケンシングを行い、予想通りのSNPsを確認した。

### 3. 平成20年度研究

1) 医原性免疫不全宿主における水痘あるいは帯状疱疹重症化例についてのアンケート調査結果

アンケートについては、1829施設(54.4%)から結果が返送された。そのうち解析可能なものは1686施設(50.2%)で、8施設から症例ありとの報告があった。7例について患児情報についての記載があった。各症例の概要は以下の通りである。症例1：18歳の腎疾患男児で、水痘罹患に伴い腎不全の悪化。症例2：4歳のファロー四徴症の女児で、水痘脳炎に罹患。症例3：5歳の悪性腫瘍男児で、肺炎、肝炎の合併。症例4：5歳の悪性腫瘍女児で、水痘脳炎発症。症例5：7歳の悪性腫瘍男児で、播種性水痘を発症し死亡。症例6：4歳の悪性腫瘍男児で、水痘脳炎発症。症例7：4歳の悪性腫瘍男児でDICを合併。

2) LAMP法によるVZV野生株とワクチン株の鑑別

#### ① プライマーの検討



表1にワクチン株特異的プライマーによる感度を示す。すべてのワクチン株プライマーセットで野生株との交差反応が認められた。

表1. 各プライマーにおける感度

ワクチン プライマー		感度		識別能
FIP	BIP	ワクチン	野生株	
VA-FIP1	VA-BIP1	$10^3$	$10^6$	$10^3$
VA-FIP1	VA-BIP1	$10^3$	$10^7$	$10^4$
VA-FIP2	VA-BIP1	$10^2$	$10^8$	$10^6$
VA-FIP1	VA-BIP2	$10^4$	$10^7$	$10^3$

#### ① クチン株 LAMP 法の条件設定

Mg と d-NTP 濃度について、それぞれ 2.8mM、4mM、6.4mM (Mg 濃度)、300  $\mu$ M、500  $\mu$ M、800  $\mu$ M (d-NTP) の 3 濃度について LAMP 反応の条件設定を行った。最も優れた感度を示したのは、Mg 濃度 4mM、d-NTP 800  $\mu$ M の組み合わせで、ワクチン株は反応あたり 10 コピーまで検出できるのに対し、野生株を検出するには  $10^8$  コピーが必要で、交差反応をかなり抑えることができた。

#### ② ワクチン特異的 LAMP 法の特異性

高いコピー数 ( $10^8$  コピー/反応) の野生株では交差反応が認められたが、他のヒトヘルペスウイルスとの交差反応は認められなかった。

## D. 考察

対象科を皮膚科、泌尿器科、耳鼻科、産婦人科にまで拡大し、また帯状疱疹を対象疾患に加えたことにより水痘帯状疱疹ウイルス、ムンプスウイルス感染に伴う入院症例の新たな傾向が明らかになった。アシクロビルの導入により小児の水痘症例はほとんどが軽症のため、入院例についてはむしろ成人例のほうが多かった。さらに、水痘ウイルス再活性化による帯状疱疹の入院症例数ははるかに多く、ワクチン導入のための医療経済学的評価をする際に重大な影響を与える可能性が示唆された。また、症例数はそれほど多くないものの、腎移植後の帯状疱疹例が 4 例報告されたことから、今後免疫抑制剤服用中の患者における重症水痘、帯状疱疹患者の割合を把握することは重要と考えられる。

ムンプスに伴う入院例はやはり小児例が最多で、無菌性髄膜炎が最も多い入院理由であった。一方成人例では、精巣炎の報告が多く今後より詳細な調査が必要と考えられる。

アンケート調査により、調査期間中の 2 年間で 7 例の水痘あるいは帯状疱疹重症化例が見つかった。小児例 3 例のうち 2 例はいわゆる免疫不全宿主の重症化で、いずれも長期間の抗ウイルス療法により救命されている。今後全国規模の調査で、全国でどれくらいの重症化例が発生しているのか明らかにすることが重要と思われる。

LAMP 法による水痘野生株とワクチン株の判別

法を確立した。本方法は簡便な機器で実施可能な上、DNA 抽出操作を省略し得る。米国ではリアルタイム PCR 法による判別法が開発されているが、LAMP 法はリアルタイム PCR 法とは異なるアドバンテージがあるため、極めて有用な方法と考えられる。

アンケート調査により、調査期間中の 2 年間で全国の 8 施設から該当症例の報告があった。回収率が 50% 程度と低いため、現在再度報告依頼を行っている。今後、アンケートの信頼性を上げるため、70% 程度の回収率を目指している。今回のアンケート対象となっている、医原性免疫不全症例における水痘あるいは帯状疱疹重症化例は、大学病院、小児病院や地域の基幹病院に入院することが多いと予想される。よって、このような病院からの回収率を上げることが調査の信頼性を向上させることになるため、何らかの方策を考えてゆきたい。

7 例の水痘あるいは帯状疱疹重症化例のうち、症例 2 については医原性免疫不全宿主には該当しない可能性があり、二次調査で明らかにしてゆきたい。今回の調査では、先のファロー四徴症徴症患児を含め水痘脳炎が 3 例見つかった。水痘脳炎は一般に二次性脳炎と考えられており、医原性免疫不全あるいは基礎疾患のある患児で特に合併頻度が上昇するとは考えにくい。今後二次調査において、これら患児に発症した脳炎の病態解明につながる情報収集が必要と考えられる。

重症例の中で 1 例は死亡しており、高額な医療資源が投入されたことがうかがわれる。その他の症例も含め、水痘ワクチンの定期接種化を目指す基礎データとするためには、これら症例の医療費がどの程度かかっているか明らかにすることが重要と思われる。そのためには、各病院の医療事務部署の協力が必要となり、なかなか十分な情報が得られない懸念はあるが、今後実施する二次調査の重要課題ととらえ努力してゆきたい。

## E. 結論

1. 研究対象ならびに対象疾患を拡大することにより、水痘ウイルス、ムンプスウイルス感染に伴う入院症例がかなり多く、且つ広範な診療科におよんでいることが明らかとなった。
2. 免疫不全宿主における水痘重症化例の重要性が、特に小児において明らかとなった。水痘野生株とワクチン株の迅速な鑑別法の開発に成功した。
3. 免疫不全宿主における水痘重症化例の重要性が、特に小児において明らかとなった。水痘野生株とワクチン株の迅速な鑑別法の開発に成功した。LAMP 法による、より簡便な VZV ワクチン株、野生株鑑別法作成のための基礎的検討を行った。



**F. 健康危険情報**

なし。

**G. 研究発表**

**I. 論文発表**

Discriminating between varicella-zoster virus vaccine and wild type strains by loop-mediated isothermal amplification. Higashimoto Y, Ihira M, Ohta A, Inoue S, Usui C, Asano Y, Yoshikawa T. J Clin Microbiol 2008 ;46:2665-70.

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

アンケート調査のため知的財産権の出願・登録は行っていない。

**I. 共同研究者**

吉川哲史（藤田保健衛生大学医学部小児科）

肺炎球菌および Hib ワクチン接種の基盤となる分離細菌の分子疫学研究

研究分担者 生方 公子

(北里大学北里生命科学研究所 病原微生物分子疫学研究室 教授)

研究要旨 平成 18 年 1 月から平成 20 年 12 月までの 3 年間に、全国から収集された肺炎球菌とインフルエンザ菌について、ワクチン接種の基礎となる莢膜型別、耐性遺伝子からみた薬剤耐性化動向について解析を行った。同時期の急性中耳炎(AOM)由来の肺炎球菌についても莢膜型と薬剤耐性化状況を解析した。

- 1) インフルエンザ菌は総計 380 株の送付を受け、そのうち 98.4%は Hib であった。遺伝子変異を伴う  $\beta$ -ラクタム系薬耐性菌の gBLNAR は、3 年間のうちに 44.9%から 56.7%へと増加していた。
- 2) 肺炎球菌は合計 123 株であったが、遺伝子変異を有する gPRSP は 34.6%へと減少傾向が認められた。7 価コンジュゲートワクチン(PCV7)のカバー率は 75%前後、PCV13 のそれは 84.5%であった。
- 3) AOM 由来肺炎球菌に対する PCV7 のカバー率は 50%弱、PCV13 で 82%であった。
- 4) 両菌種とも耐性菌が多いこと、予後不良例が多いことから、生後早い時期からのワクチン接種が必要であると結論された。

研究協力者

- ・ 「化膿性髄膜炎全国サーベイランス研究」協力者 (285 医療施設の細菌検査技師)
- ・ 北里大学・北里生命科学研究所  
村山 琮明, 千葉 菜穂子, 諸角 美由紀, 岸井 こずゑ, 小野 暁子

A. 研究目的

市中において発症する小児の細菌性化膿性髄膜炎(髄膜炎)は、抗菌薬の発達した現在においても、重度の後遺症や致命率の高い疾

患である。

加えて、これらの疾患ではいかに早く正確に診断され、適切な抗菌薬がタイムリーに投与できるかで予後が大きく異なるといわれている。また、化膿性髄膜炎の主要な起炎菌であるインフルエンザ菌と肺炎球菌において、治療の第一選択薬として推奨されてきた  $\beta$ -ラクタム系薬に耐性を示す菌が急速に増加し、治療上問題化している。

重篤な侵襲性感染症を防ぐためには、予防対策としてのワクチン接種が望ましいが、ワクチン導入後の効果を判断する上でも現在

分離されている細菌に対し、当該ワクチンがどの程度カバーでき得るのか明らかにしておく必要がある。このため、分担研究においては、1999年から私どもが組織してきた「化膿性髄膜炎全国サーベイランス研究」参加施設を通じて菌株が収集された。小児の主に化膿性髄膜炎由来株と、急性中耳炎（AOM）由来の肺炎球菌について、ワクチン接種の基盤となる莢膜型、耐性遺伝子解析に基づく耐性菌の動向について分子疫学解析をすることを目的とした。

## B. 研究方法

**被験菌株：**菌株は、自主参加の「化膿性髄膜炎全国サーベイランス研究」への協力者（参加医療機関（細菌検査室）：285施設）によって、個人情報に連結不可能にされたイニシャルのみの依頼用紙（症例担当医によるインフォームドコンセント実施済みに関するサインが記載されている）とともに、北里大学北里生命科学研究所、病原微生物分子疫学研究室へ送付を受けた。

3年間に収集されたインフルエンザ菌は380株、肺炎球菌は123株であった。AOM由来の肺炎球菌も収集された。

**莢膜型の解析：**インフルエンザ菌の莢膜型はPCRによる遺伝子解析でtype bとそれ以外の型を保持する株、莢膜を有しない株(NT)とに区別した。肺炎球菌の莢膜型は、Serum Institute(デンマーク)より購入した型別用抗血清を用いて、莢膜膨化試験により型別を行った。

**耐性遺伝子解析：**肺炎球菌とインフルエンザ菌の薬剤耐性遺伝子の解析には、生方によって構築され、キット化されているPCR試薬（湧永製薬株）を使用して行った。

## (倫理面への配慮)

菌株収集にあたっては、各症例担当の主治医に対し、①患者家族に対して分離された菌株の精査を他施設で実施すること、②その理由は、治療上、現在使用している抗菌薬が適切であるか、専門家によって遺伝子解析していただきたいこと、③その成績は自施設で行われている成績と併せて治療上の参考にしたいこと、等のインフォームドコンセントが実施された。菌株送付時にはインフォームドコンセントを実施した旨の文書コピーの同封をお願いした。なお、菌株受領の際には症例の個人情報に配慮し、イニシャルのみの記載とし、研究室においては一連番号で管理され、個人は特定できないシステムとなっている。また、データ保管には十分な配慮が払われた。

## C. 研究結果

### 1. インフルエンザ菌

3年間に侵襲性感染症由来株として総計380株の化膿性髄膜炎由来株の送付を受けた。その他に敗血症、化膿性関節炎、喉頭蓋炎、蜂窩織炎などから分離されたインフルエンザ菌も収集されたが、それらもほとんどがHib株であった。

図-1にはこれらの症例の年齢分布とHib株の割合を示す。発症年齢は1歳未満が38.7%を占め、1歳の29.5%と併せると、1歳以下が68.2%を占めた。これらの起炎菌は6例を除き、莢膜bを保持するHib(98.4%)株であった。

分離株中に占める耐性菌の割合は、低年齢層ほど遺伝子学的解析によるβ-ラクタマーゼ非産生アンピシリン耐性インフルエンザ菌(gBLNAR)の分離が多かった。

380株に占める耐性パターンの異なる菌株



別の成績は図-2 に示す。gBLNAR が 48.9%と突出しており、その他の gLow-BLNAR は 22.6%、gBLPACR-I は 4.5%、gBLPACR-II は 7.1%、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生の gBLPAR は 2.4%、遺伝子変異を持たない感性菌の gBLNAS は 14.5%とわずかであった。

図-3 には、1999 年から 2008 年までの化膿性髄膜炎由来インフルエンザ菌における耐性化動向を示すが、経年的耐性化動向では依然として gBLNAR は増加傾向にあることが注目された。この成績は治療抗菌薬の幅が著しく狭まっていることを意味し、ワクチンによる予防対策が急務であることを示している。さらに、今後は  $\beta$ -ラクタマーゼと PBP3 の遺伝子変異のふたつの耐性メカニズムを保持する gBLPACR-II の動向に注目する必要があると示唆された。

なお、インフルエンザ菌の発症例においては、明らかな基礎疾患を有する症例は少なかった。退院時でも正確な予後についてのアンケートは難しく、明確なデータは得られなかった。

## 2. 肺炎球菌

図-4 には、3 年間に収集された肺炎球菌による化膿性髄膜炎 123 症例における年齢分布と、分離菌株の PBP 遺伝子変異に基づく感性/耐性の分類を示す。耐性度と遺伝子の関係は gPISP(*pbp2x*)、あるいは gPISP(*pbp1a+pbp2x*)のように記される。遺伝子変異のみられない株は gPSSP、そして *pbp1a*、*pbp2x*、および *pbp2b* の 3 遺伝子変異した株は gPRSP と表記した。

発症例の 39.8%が 1 歳未満、1 歳が 26.8%、1 歳以下の割合は 66.6%であった。また、gPRSP による発症例が多く認められた。

分離菌における感性/耐性の内訳では、図

-5 に示すように、gPSSP の分離は 12.2%と極めて少なく、分離菌の大半は何らかの遺伝子変異を持つ gPISP と gPRSP(44.7%)であった。

ワクチン接種の基盤となるこれらの菌株の荚膜型は図-6 に示す。gPRSP の多い 19F と 6B が最も多く、肺炎例が多い 14 型であった。7 価 PCV のカバー率は 75.9%、13 価 PCV のそれは 84.5%であった。他としたワクチンに組み込まれていないタイプによる発症例が増加しつつあるようにみえる成績であった。

一方、AOM では肺炎球菌の重症例が多いが、それらの症例より分離された菌株の荚膜型の成績を図-7(1998~2000 年)と図-8(2006~2008 年)に示す。化膿性髄膜炎由来株とは異なり、ムコーズ中耳炎を引き起こすムコイドコロニーの 3 型が 23%と急速に増加していた。しかし、この型は PCV7 には含まれず、PCV13 に含まれる型である。従って、AOM 由来の肺炎球菌に対する PCV7 のカバー率は 48.8%、PCV13 のそれは 82.2%であった。

## D. 考察

小児(主に生後 6 ヶ月以降)の化膿性髄膜炎は、インフルエンザ菌あるいは肺炎球菌による例が最も多いが、これらの原因菌に耐性菌が増加しており、初期治療が適切な治療薬と投与量で行われたか否かが、その予後に大きく影響する。Hib ワクチンが認可されて任意接種が開始されたが、Hib 化膿性髄膜炎は急速には減少しないと思われる。

結果で述べたように、発症例が 1 歳未満へと母体からの移行免疫が消失する低年齢層へシフトしつつあることを考えると、生後可能な限り早期に Hib ワクチン、および肺炎球菌 PCV7 の定期接種が必要と思われる。

## E. 結論

市中で発症する最も重篤な疾患である小児の化膿性髄膜炎の起炎菌であるインフルエンザ菌と肺炎球菌について、耐性菌が極めて多いこと、それらはワクチン接種によって予防できる型であることを明らかにした。

## F. 研究発表

### 1) 論文発表

- ・生方公子, 中山栄一: タイトル: 治療上問題となる耐性菌: 化膿性髄膜炎の起炎菌を中心として. 小児科, (印刷中), 2009
- ・Ubukata K.: Simultaneous and rapid detection of causative pathogens in community-acquired pneumonia by real-time PCR. Japan Medical Association Journal (JMAJ), 51: 46-50, 2008
- ・Hope L. Johnson, K. Ubukata, et al.: pneumococcal global serotype project. Summary report. (GAVI's PneumoADIP), 2007
- ・Chiba N., Murayama S. Y., Morozumi M., Nakayama E., Okada T., Iwata S., Sunakawa K., and Ubukata K.: Rapid detection of eight causative pathogens for the diagnosis of bacterial meningitis by real-time PCR. J Infect Chemother., (印刷中), 2009
- ・Chiba N., Morozumi M., Sunaoshi K., Takahashi S., Takano M., Komori T., Sunakawa K., Ubukata K., and IPD surveillance study group: Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal disease in Japan. Epidemiology and Infection, (印刷中), 2009
- ・砂川慶介, 生方公子, 千葉菜穂子, 長谷川恵子, 野々山勝人, 岩田敏, 秋田博伸, 佐藤吉壮: 本邦における小児化膿性髄膜炎の動向(2005-2006). 感染症学雑誌, 82: 187-197,

## 2008

- ・黒川いく, 真崎純子, 千葉菜穂子, 生方公子: 急性中耳炎例の中耳貯留液から分離された肺炎球菌の莢膜型と薬剤耐性遺伝子解析. 日本臨床微生物学雑誌(印刷中), 2009
- ・糸山泰人, 亀井聡, 細矢光亮, 志賀裕正, 佐藤滋, 石川晴美, 市山高志, 岩田敏, 生方公子, 賀来満夫, 岸田修二, 楠原浩一, 佐藤吉壮, 砂川慶介, 高野真, 辻省次, 春田恒和, 三木健司, 山本知孝, 渡邊治雄, 倉田毅, 高須俊明, 細菌性髄膜炎の診療ガイドライン作成委員会. 日本神経治療学会治療ガイドライン. 細菌性髄膜炎の診療ガイドライン(解説). 神経治療学 24(1): 69,71-132, 2007
- ・生方公子, 千葉菜穂子, 砂川慶介: 肺炎球菌の耐性化とワクチン, 小児科, 49: 301-307, 2008
- ・Matsubara K., Fukuyama T., Ubukata K., Meng Chen, Nigami H., Harigaya H., Nozaki H., Tanaka T.: Recurrence of occult pneumococcal bacteremia by an identical strain in an apparently healthy child. Journal of Infection, 2006
- ・坂田宏, 生方公子, 千葉菜穂子: 侵襲性肺炎球菌感染症の小児から分離された *Streptococcus pneumoniae* の血清型と耐性遺伝子の検討. 感染症学雑誌, 80: 91-96, 2006
- ・江里口義明, 金澤勝則, 上田豊, 吉田博明, 生方公子, 砂川慶介: マウスを用いた BLNAR 化膿性髄膜炎モデルに対するメロペネムの治療効果. 臨床と微生物, 2006

## 2) 学会発表

- Chiba N, Morozumi M., Ubukata K., Sunakawa K.: Serotype distribution and antimicrobial resistance in invasive pneumococcal disease (IPD) in Japan. Poster No. C2-257, 48<sup>th</sup> ICAAC/IDSA,
- 青木泰子, 千葉菜穂子, 生方公子: 成人における肺炎球菌菌血症の臨床, および細菌学的検討. 日本感染症学会総会, **2009**
- 生方公子: 市中感染症における抗菌薬耐性. シンポジウム 2. 耐性菌の進化, その耐性機構. 第 54 回日本化学療法学会総会(京都), **2006**
- 千葉菜穂子, 小林玲子, 諸角美由紀, 長谷川恵子, 中山栄一, 岩田敏, 生方公子: real-time PCR 法による肺炎球菌の薬剤耐性遺伝子検査検索. 第 54 回日本化学療法学会総会(京都), **2006**
- K. Ubukata: Molecular detection to predict antimicrobial resistance of respiratory tract infection pathogens. (Symp. Antimicrobial susceptibility testing 2006), 46<sup>th</sup> ICAAC, **2006**
- Kimiko Ubukata: Simultaneous and rapid detection of causative pathogens in community-acquired pneumonia by real-time PCR. Japan Medical Association Journal (JMAJ), 51:46-50, 2008
- 生方公子: 耳鼻咽喉科領域における起炎微生物とその薬剤耐性化(第 4 回札幌耳鼻咽喉科感染症フォーラム, 特別講演) 2007
- 生方公子: 上気道感染症における耐性菌の現状と抗菌薬適正使用のために何が必要か(第 74 回日本耳鼻咽喉科学会島根県地方部会, 特別講演) 2007
- 千葉菜穂子, 長谷川恵子, 諸角美由紀, 小林玲子, 生方公子, 砂川慶介: 化膿性髄膜炎, 急性中耳炎等由来の検査材料に対する real-time PCR 法の有用性. 第 55 回日本化学療法学会総会 **2007**
- 荒畑幸絵, 北澤克彦, 生方公子, 砂川慶介他 11 名: 同時にペニシリン耐性肺炎球菌による菌血症を発症した兄弟例. 第 39 回日本小児感染症学会

## G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし



図-1. 症例の年齢分布と分離株の耐性遺伝子型

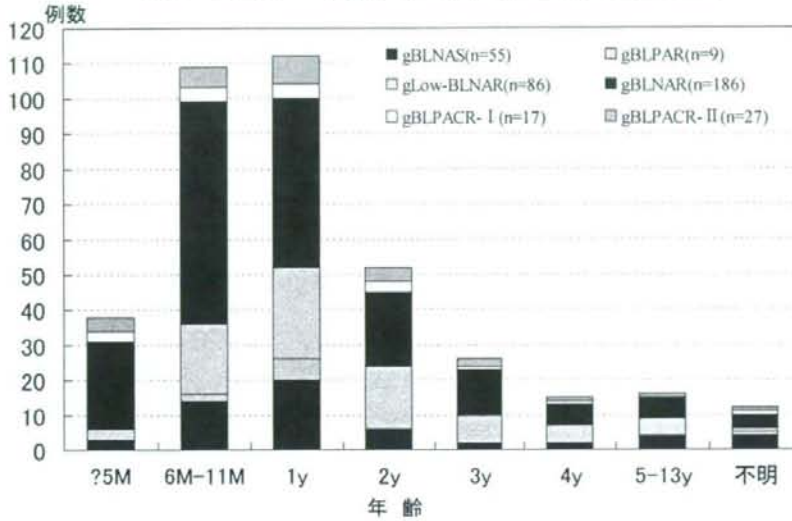
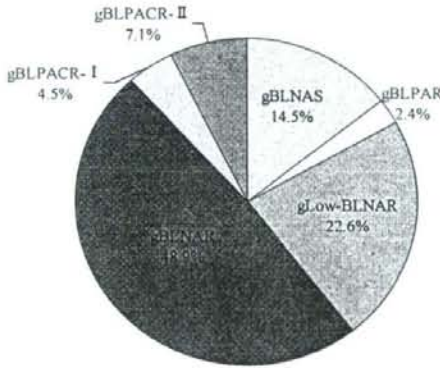


図-2. インフルエンザ菌の耐性遺伝子別に見た耐性菌の割合



	$\beta$ -lactamase (TEM-1, ROB-1)		PBP3( <i>ftsI</i> )変異	
	1ヶ所	2ヶ所	1ヶ所	2ヶ所
gBLNAS	-	-	-	-
gBLPAR	+	-	-	-
gLow-BLNAR	-	+	-	-
gBLNAR	-	-	+	+
gBLPACR-I	+	+	-	-
gBLPACR-II	+	-	+	+

gBLNAS:  $\beta$ -lactamase-nonproducing ABPC-susceptible *H. influenzae*  
 gBLPAR:  $\beta$ -lactamase-producing ABPC-resistant *H. influenzae*  
 gBLNAR:  $\beta$ -lactamase-nonproducing ABPC-resistant *H. influenzae*  
 gBLPACR:  $\beta$ -lactamase-producing amoxicillin/clavulanic acid-resistant *H. influenzae*

図-3. 化膿性髄膜炎由来インフルエンザ菌の経年的耐性化(n=1165)

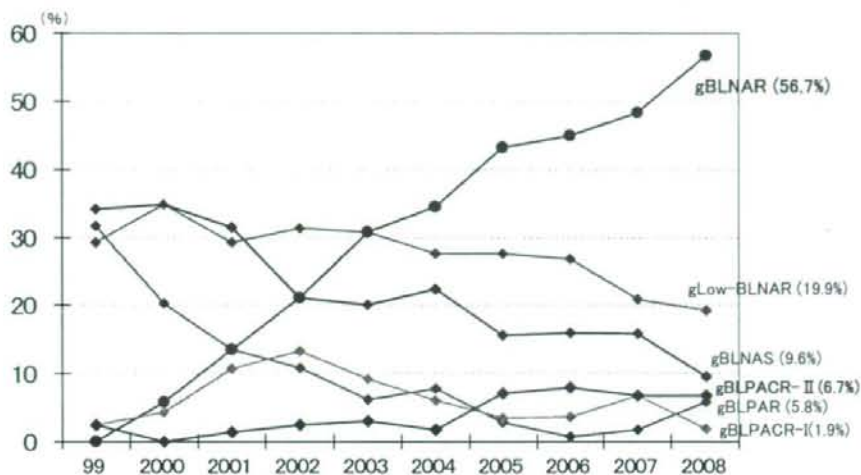


図-4. 発症年齢と耐性遺伝子との関係 (n=123)

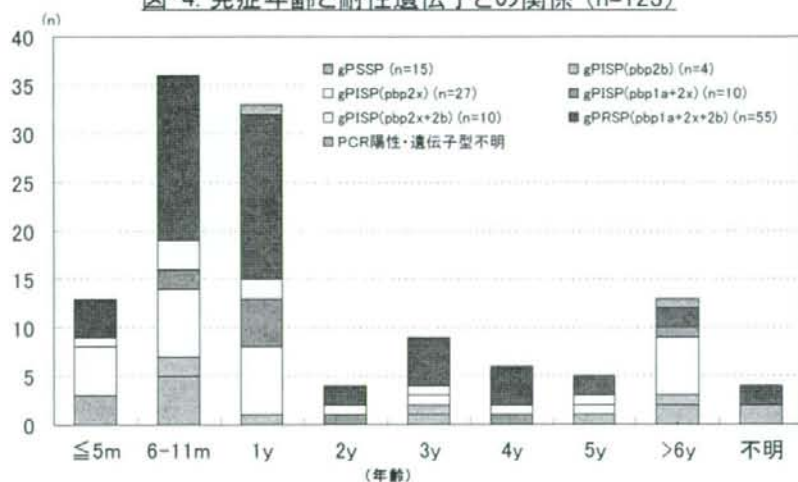


図-5. 分離された肺炎球菌の耐性遺伝子型 (n=123)

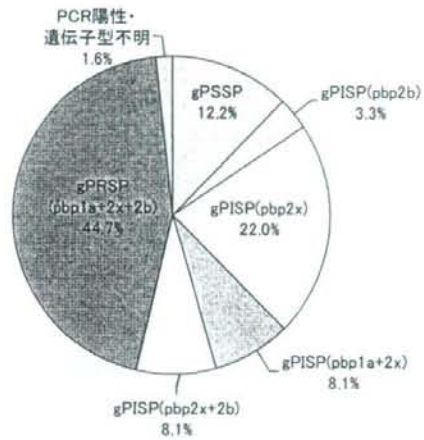


図-6. 耐性遺伝子と荚膜血清型との関係 (n=116)

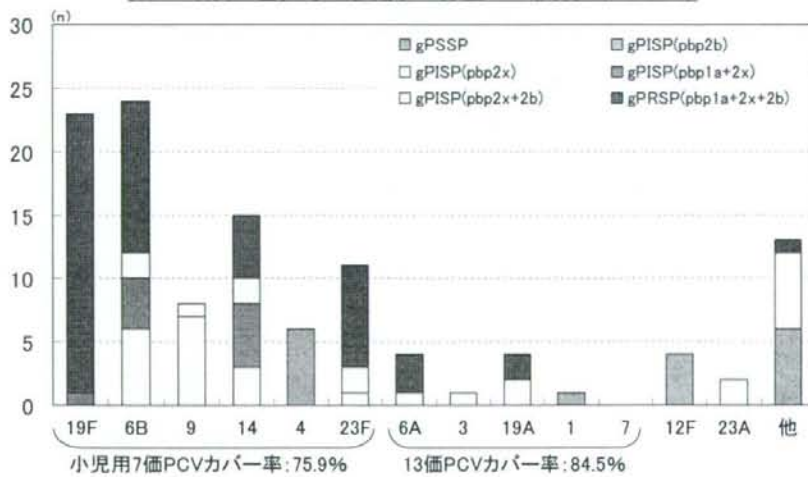




図-7. 急性中耳炎由来肺炎球菌の荚膜型 (1998 ~ 2000年)

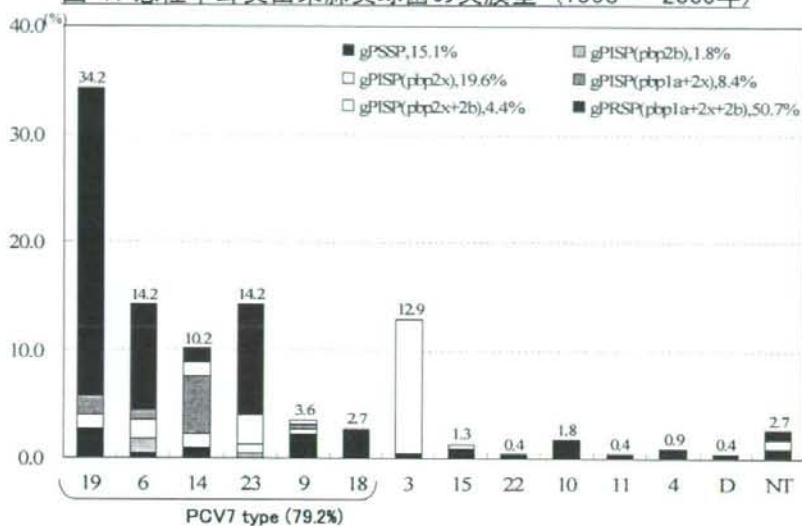
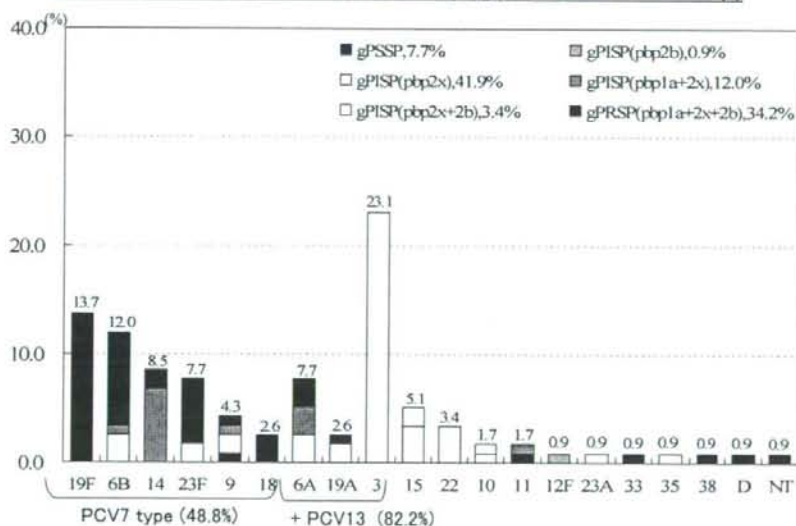


図-8. 急性中耳炎由来肺炎球菌の荚膜型 (2006 ~ 2008年)



## ムンプスの臨床像と今後の対策

分担研究者 庵原俊昭（国立病院機構三重病院小児科）  
研究協力者 中野貴司、神谷 齊（国立病院機構三重病院小児科）  
落合 仁（落合小児科）  
渡辺正博（すずかこどもクリニック）  
二井立恵、伊佐地真知子（白子クリニック小児科）

**研究要旨** ムンプス以外にも急性耳下腺腫脹をきたす疾患があり、ムンプスの診断は困難である。ワクチン歴に関わらず、ムンプス流行時の急性耳下腺腫脹の原因はムンプスであり、ムンプス非流行時の急性耳下腺腫脹の原因はムンプス以外であった。ムンプスの血清学的診断方法である急性期血清 IgM 抗体の検出は、キャプチャー法の方が血清吸着除去法よりも感度が良好であった。また、ムンプス初感染の血清学的診断基準によると、ムンプスワクチン不全の 70%は二次性ワクチン不全 (SVF) であり、接種した株により VF 時のウイルス分離率および臨床像に相違が認められ、臨床的に初感染と思われる症例の中に血清学的に再感染例が認められた。

登校登園停止期間の検討では、ほぼ同時期に耳下腺が腫脹した症例では、耳下腺腫脹開始後 6 日を越えると、耳下腺や顎下腺が腫脹していたとしても唾液からムンプスウイルス分離されなくなり、一方、片側の耳下腺腫脹開始から 6~9 病日経過して反対側の耳下腺が腫脹した例では、反対側の耳下腺腫脹時の唾液からウイルスは分離された。この結果から、ほぼ同時期に耳下腺が腫脹した症例では、腫脹後 6 病日を超えると登園登校を許可してよく、片側の耳下腺しか腫脹しなかった例では、9 病日までは反対側が腫脹するリスクを伝え、腫脹したときは休校休園すべきである。

### A. 研究目的

ムンプスは、パラミクソウイルス科に属するムンプスウイルスの飛沫感染により、ヒトヒト感染する全身性ウイルス感染症である。潜伏期間は 16~18 日間であり、2 日以上持続する急性耳下腺腫脹が臨床上的特徴である。しかし、ムンプス以外にも急性耳下腺腫脹をきたす疾患があり、ムンプスの診断に時に苦慮することがある。なかでも、ムンプスワクチン歴がある小児に急性耳下腺腫脹を認めたときは、診断が困難であり、適切に診断しないと、ムンプスワクチンに対する不信を招く危険性がある。

初年度はムンプス臨床診断に有用な因子について検討するとともに、測定キットによるムンプス発症時の血清 IgM 抗体の検出感度について検討した。次年度はムンプスワクチン不全 (VF) の血清診断基準について検討するとともに、接種したワクチン株による VF 例の臨床像の相違について検討した。最終年度は、ワクチン歴がないムンプス例における唾液中へのウイルス排泄期間について検討し、ムンプスの登校登園停止期間について提案した。

### B. 研究方法

1) 初診時におけるムンプス臨床診断に有用な因子についての検討

2003 年 6 月から 3 年 6 ヶ月間に急性耳下腺腫脹を主訴に受診した 393 例（ワクチン歴あり 95 例、ワクチン歴なし 298 例）を対象に、地域のムンプス流行を確認するとともに、唾液からのウイルス分離と急性期血清ムンプス IgM 抗体と IgG 抗体を酵素免疫法 (EIA 法：キャプチャー法) で測定し、同時に白血球数、CRP、血清アミラーゼも測定した。なお、唾液からのウイルス分離陽性または血清 IgM 抗体陽性のいずれかを満たしたとき、ムンプスと診断した。

2) 測定キットによるムンプス IgM 抗体検出率の検討

ムンプス流行に関わらず急性耳下腺腫脹を認めた 119 例（ワクチン歴あり 39 例、ワクチン歴なし 80 例）を対象に、唾液からのウイルス分離と急性期血清 IgM 抗体を測定した。なお、IgM 抗体は、キャプチャー法 (A 社) と血清吸着除去法 (B 社) の 2 方法で測定し、結果を比

較した。

### 3) ワクチン歴による急性耳下腺腫脹時のムンプス IgM 抗体・IgG 抗体の検討

ムンプス流行時に急性耳下腺腫脹を認めた 106 例 (ワクチン歴あり 16 例、ワクチン歴なし 90 例) を対象に、唾液からのウイルス分離と急性期血清ムンプス IgM 抗体と IgG 抗体を酵素免疫法 (EIA 法) で測定した。

### 4) ワクチン後の自然ムンプス罹患例における株ごとの臨床像の特徴

ムンプスワクチン歴があり、ムンプス流行時に急性耳下腺腫脹を認めた 75 例を対象に、ウイルス学的特徴と臨床的特徴について検討した。なお、ワクチン接種から耳下腺腫脹までの期間は、星野株接種群  $52.9 \pm 30.2$  ヶ月、鳥居株接種群  $49.9 \pm 24.3$  ヶ月と有意な差は認めなかった。

### 5) 唾液中へのムンプスウイルス排泄期間の検討

対象は、耳下腺腫脹開始後 2 病日以内の唾液からムンプスウイルスが分離され、腫脹開始 3 病日以降に 2 回目のウイルス分離を行ったムンプスワクチン歴のない 35 例である。片側の耳下腺腫脹開始後 24 時間以内に反対側の耳下腺腫脹した同時腫脹例が 25 例 (同時腫脹群)、片側の耳下腺腫脹開始後 6 日以上経過して反対側の耳下腺が腫脹した隔日腫脹例が 10 例 (隔日腫脹群) である。唾液を採取し、Vero 細胞を用いてウイルス分離を行った。統計学的解析は t 検定を用いて行った。

## C. 研究結果

### 1) 初診時におけるムンプス臨床診断に有用な因子についての検討

ウイルス学的にムンプスと診断されたのは、393 例中 290 例 (73.8%) であった。ワクチン歴なし群のムンプス診断率は 298 例中 240 例であったのに対し、ワクチン歴あり群では 95 例中 50 例 (52.6%) と有意に低率であった。ロジステック回帰分析によると、ワクチン歴の有無に関わらずムンプス診断に有用な因子は、流行あり、白血球数正常 ( $< 8,000/\text{cmm}$ ) であり (表 1)、血清アミラーゼ値はムンプス診断の有用な因子と認められなかった。

### 2) 測定キットによるムンプス IgM 抗体検出率の検討

ワクチン歴なし群 80 例を対象にウイルス分

離結果と IgM 抗体陽性との関係を検討すると、A 社のキットでは、ウイルス分離陽性 47 例中 IgM 抗体陽性 45 例 (95.7%)、判定同等 (±) 2 例であり、ウイルス分離陰性 33 例では、IgM 抗体陽性 5 例、同等 1 例、陰性 27 例 (81.8%) となり、ウイルス分離との一致率は 90%、同等 3.8% であった (表 2)。一方 B 社のキットでは、ウイルス分離陽性例では、IgM 抗体陽性 34 例 (72.3%)、同等 11 例 (23.4%)、陰性 2 例であり、ウイルス分離陰性例では、IgM 抗体陽性 1 例、同等 4 例、陰性 28 例 (84.8%) となり、ウイルス分離との一致率は 77.5%、同等率 18.8% と、A 社に比較し同等率が有意に高率であった。

ワクチン歴あり群 39 例を対象に行った A 社の IgM 抗体陽性との関係では、ウイルス分離陽性 17 例では、IgM 抗体陽性 8 例、同等 1 例、陰性 8 例であり、ウイルス分離陰性 22 例では、IgM 抗体陽性 3 例、同等 3 例、陰性 16 例となり、ウイルス分離との一致率 61.5%、同等率 10.3% であった。一方 B 社のキットでは、ウイルス分離陽性例では、IgM 抗体陽性 6 例、同等 5 例、陰性 6 例であり、ウイルス分離陰性例では、IgM 抗体陽性 1 例、同等 4 例、陰性 17 例となり、ウイルス分離との一致率 59.0%、同等率 23.1% と、A 社との間に差を認めなかった。

### 3) ワクチン歴による急性耳下腺腫脹時のムンプス IgM 抗体・IgG 抗体の検討

ワクチン歴なし群 90 例中ウイルス学的にムンプスと診断されたのは 85 例であり、IgM 抗体が 2.5 抗体指数未満は 5 例 (5.9%)、IgG 抗体が 25.8EIA 単位以上は 7 例 (8.2%) と少数であった (表 3)。一方ワクチン歴あり群 16 例中ムンプスとウイルス学的に診断した 10 例の急性期 IgM 抗体は、7 例が 2.5 抗体指数未満であり、3 例は 10 抗体指数以上であった。また IgM 抗体が 2.5 抗体指数未満の 7 例の IgG 抗体はすべて 25.8EIA 値以上であった。

### 4) ワクチン後の自然ムンプス罹患例における株ごとの臨床像の特徴

ムンプスワクチン後にムンプス流行期間中急性耳下腺腫脹を認めた星野株接種群 44 例中、唾液からウイルスが分離されたのは 21 例 (47.7%) であったのに対し、鳥居株接種群では 31 例中 25 例 (80.6%) からウイルスが分離され、鳥居株接種群の方が分離率は高率であった ( $P=0.00359$ )。臨床症状では、発熱率は星野株