

全国規模で収集された化膿性髄膜炎由来・インフルエンザ菌(Hib)と肺炎球菌の
分子疫学解析に関する研究

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)
研究協力者 「化膿性髄膜炎全国サーベイランス研究班」参加者(285 医療施設の細菌検査技師)
研究協力者 小野 暁子, 千葉 菜穂子, 諸角 美由紀, 岸井 こずゑ

研究要旨 平成 21 年 1 月から 12 月の 1 年間に、「化膿性髄膜炎全国サーベイランス研究」によって全国から収集された肺炎球菌とインフルエンザ菌(Hib)について、莢膜型別と耐性遺伝子解析による薬剤耐性化動向について解析を行った。インフルエンザ菌は総計 85 株の送付を受けたが大多数は莢膜型 b(Hib)株であった。発症年齢は 1 歳以下が 70%近くを占めた。遺伝子変異を伴う β -ラクタム系薬耐性の **gBLNAR 株は 64.1%と増加**していた。過去 10 年間に於ける死亡例は 1.5%であったが、重篤な後遺症を残した例が 16.6%認められた。肺炎球菌は合計 39 株、遺伝子変異を有する gPRSP は 34.6%であった。7 価ワクチンと関連する莢膜型に gPRSP が多く、それらは 6B, 23F, 19F, 14 等であった。肺炎球菌に対する 7 価 PCV のカバー率は 74%, 13 価 PCV のそれは 85%前後で過去 10 年間、ほとんど変動していなかった。両菌種において、i)耐性菌が著しく多いこと、ii)低年齢で発症していること、iii)死亡例や予後不良例が多いことから、医療経済的にもすべての小児に対する Hib ワクチンと PCV7 接種が必要であると結論された。

A. 研究目的

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。これらの疾患ではいかに早く的確に診断され、適切な抗菌薬がタイムリーに投与されるか否かでその予後が大きく異なるといわれる。

また、これらの重症感染症の主たる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 β -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には、予防としてのワクチン接種が望ましいことはいうまでもない。また、Hib ワクチンは既に任意接種が開始され、肺炎球菌の 7 価コンジュゲートワクチン(PCV7)も承認されたが、それら導入後の効果を判断する上でも、化膿性髄膜炎からの分離菌に対するカバー率を毎年算出しておくことは必要である。

平成 21 年度は、同年 1 月から 12 月までの間に、「化膿性髄膜炎全国サーベイランス研究」を通じ、全国規模で収集されたインフルエンザ菌と肺炎球菌を対象とし、菌の遺伝子

レベルでの耐性化と、現状でのワクチンカバー率を算出、さらに過去 10 年間の経年的耐性化状況と、発症後の予後に関するアンケート解析を行い、その実態を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

被験菌株は、自主参加の「化膿性髄膜炎全国サーベイランス研究班」協力者によって、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のサインがされている)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。菌は小児の化膿性髄膜炎を含む侵襲性感染症由来株である。研究班への参加医療機関(細菌検査室)は 285 施設である。

1 年間に収集されたインフルエンザ菌は、85 株、肺炎球菌は 39 株であった。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 型菌(Hib)とそれ以外の型を保持する株、莢膜を有しない株 non-typable(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型別を行った。

両菌種における薬剤耐性遺伝子の解析は私どもが開発した PCR 用キット(湧永製薬株)を用いて行った。

(倫理面への配慮)

菌株収集に際しては、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の施設で実施すること、②理由は治療抗菌薬が適切であるか否か専門家によって解析していただき至急確認したいこと、③その成績を自施設の成績と併せて治療上の参考にしたこと、等のインフォームドコンセントが文書

にて実施された。

菌株送付時には、当該文書のコピーが同封されてきた。

なお、菌株受領の際には、症例の個人情報に配慮し、イニシャルのみとして個人が特定できないようにするとともに、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

化膿性髄膜炎由来として、インフルエンザ菌 85 株の送付を受けた。1 株が莢膜を有しない NT 株であったが、残り 84 株は Hib であった。

図 1 に示すように、分離株中に占める遺伝子学的に解析した耐性菌の割合は、 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)が 64.1%と突出して高い割合を示した。gLow-BLNAR は 14.1%、 β -ラクタマーゼ産生 gBLPAR は 3.8%、遺伝子変異を持たない感性菌の gBLNAS はわずか 6.4%に過ぎなかった。

その他に、 β -ラクタマーゼを産生し、PBP 変異も有する gBLPACR-II が 7.7%と増加していた。

表 1 には、過去 10 年間に私どもへ送られてきたインフルエンザ菌 1,401 株の疾患の内訳を小児と成人由来とに分けて示す。

小児由来が 1,360 株と圧倒的に多く、しかも化膿性髄膜炎由来が 1,248 株(91.8%)を占めていた。その他には、化膿性関節炎、蜂窩織炎、咽喉頭蓋炎などの化膿性疾患が 2.7%、膿胸が 0.9%認められた。

成人例は 27 例と少なかったが、化膿性髄膜炎の 17 例(63%)、敗血症の 7 例(25.9%)が主なものであった。

成人を含む化膿性髄膜炎例 1,276 例の年齢

とβ-ラクタム系薬耐性化状況について図2に示す。発症年齢は年々低年齢化し、しかもgBLNARによる発症例が多くを占めていることが明らかにされた。

小児例(<20歳)の中では、図3に示すように、1歳未満が37.8%を占め、1歳の30.0%と合わせると、1歳以下が67.8%を占めていた。これらの起炎菌は、4例(0.3%)を除いてHib株であった。

図4には、症例の担当医から予後について回答を受けた結果を示す。アンケート回収率は1248例中47.4%と約半数であったが、死亡例は9例(1.5%)と少数であったものの、退院時に明らかな後遺症のみられた例が98例(16.6%)となっていた。後遺症の内訳は図5に示すように、重篤なものが多くなっているが、退院時に明らかな後遺症が認められていなくても、1歳未満の発症例が多いことを考えると、聴覚障害や運動機能障害などといった障害を有する児の割合はさらに高まると推定された。

ここには示さなかったが、重篤な後遺症を残した例と残さなかった例とにわけ、どのような項目が予後不良と関係しているのかを解析した成績では、i)1歳以下であること、ii)発症から24時間以上経過していること(ただし死亡例は例外でむしろ発症1日以内が多くを占める)、iii)合併症があること、iv)CT所見上異常が認められること、v)痙攣、意識障害、視覚異常が認められたこと、の5項目が関連していた。

過去10年間にわたる化膿性髄膜炎例から分離されたインフルエンザ菌の耐性化状況について図6に示す。gBLNARの割合が40%を越えた2005年頃からその増加率が弱まったかにみえたが、2009年には60%を超えており、現在私どもへ精査を依頼される菌株に

はgBLNASと確認する方が珍しい状況となっている。

2. 肺炎球菌

図7には、今までの10年間に収集された肺炎球菌性化膿性髄膜炎例について、小児(n=366)と成人(n=265)に分け、2年間ずつに区切った耐性化状況を示す。

小児では2003年頃から最もgPRSPの割合が高く55%に達していたが、その後は減少傾向に転じている。

一方、成人例では、gPRSPの割合は20-30%程度と小児に比して明らかに少ないが、gPISPの割合が高く、しかもgPIISP(*pbp2b*)の割合が急速に増加していることが注目された。

小児由来株と成人由来株の莢膜型の推移は、3年間ずつにまとめた成績をそれぞれ図8と図9に示す。PCV7に含まれる型(6B,19F,23F,14,9V,4,18C)、PCV13に含まれる型(PCV7+1,3,5,7F,6A,19A)、そしてそれらに含まれない型に分けて集計している。PCV7のカバー率は70%~75%、PCV13のそれは89%~85%であった。

成人に対するPPV23のカバー率は80%程度であった。

D. 考察

小児化膿性髄膜炎の原因菌としては、インフルエンザ菌(Hib)と肺炎球菌が最も重要である。

Hibワクチンの任意接種が開始されたが、結果で述べたように、その発症例の70%近くが1歳以下であり、とりわけ1歳未満が40%近くを占めている。この背景には、耐性菌の増加でHibの保菌率が上昇していることに加え、保育園児の増加も影響している。

問題は死亡率が低いにも関わらず、重篤な

後遺症を残す例が 16%認められることである。しかも 1 歳未満児が多いため、正確には把握できておらず、後遺症残存率はさらに高い可能性がある。

この事実は、Hib ワクチンの接種は任意ではなく定期接種であることが望ましく、しかも生後できるだけ早い時期、少なくとも 2 回目接種が生後 6 ヶ月までに行われていることが必要であろう。

同様のことは肺炎球菌ワクチンにも言えることである。一方、近年、成人の重症感染症において従来ほとんど分離されていなかった莢膜型の肺炎球菌による発症例が増加しているが、小児においても今後ワクチンに組み込まれていない莢膜タイプによる発症例が増加する懸念は残されている。化膿性髄膜炎を含む侵襲性感染症由来の肺炎球菌の莢膜型の動向には、引き続き注目していく必要がある。

E. 結論

市中で発症する化膿性髄膜炎の起炎菌として最も主要なインフルエンザ菌(Hib)と肺炎球菌について、耐性菌が急速に増加していること、しかしそれらはワクチン接種によって予防できる型の多いことを明らかにした。

F. 研究発表

1) 論文発表

1. Chiba N, Murayama SY, Morozumi M, Nakayama E, Okada T, Iwata S, Sunakawa K, and Ubukata K. Rapid detection of causative eight pathogens for diagnosis of bacterial meningitis by real-time PCR. *J Infect Chemother.* 2009; 15: 92-98.
2. Murayama SY, Seki C, Sakata H, Sunaoshi K, Nakayama E, Iwata S, Sunakawa K, Ubukata

K. and the Invasive Streptococcal Disease Working Group. Capsular type and antibiotic resistance in *Streptococcus agalactiae* isolates from patients, ranging from Newborns to the Elderly, with invasive infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53: 2650-2653.

3. Oikawa J, Ogita J, Ishiwada N, Okada T, Endo R, Ishiguro N, Ubukata K. and Kohno Y. Human bocavirus DNA detected in a boy with plastic bronchitis. *Pediatric Infection Journal.* 2009; 28: 1035-6.
4. Takahashi T, Sunaoshi K, Sunakawa K, Fujishima S, Watanabe H, and Ubukata K. Clinical aspects of invasive infections with *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis* in Japan: differences with respect to *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus agalactiae*. *Clin Microbiol Infect.* DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.03047.x
5. Peuchant O, Ménard A, Renaudin H, Morozumi M, Ubukata K. Bébéar CM, and Pereyre S. Increased macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in France directly detected in clinical specimens by real-time PCR and melting curve analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2009; 64: 52-8.
6. Matsui H, Sekiya Y, Nakamura M, Murayama SY, Yoshida H, Takahashi T, Imanishi K, Tsuchimoto K, Uchiyama T, Sunakawa K, and Ubukata K. CD46 transgenic mouse model of necrotizing fasciitis caused by *Streptococcus pyogenes* infection. *Infect Immun.* 2009; 11: 4806-4814.
7. Sunaoshi K, Murayama SY, Adachi K, Yagoshi M, Okuzumi K, Chiba N, Morozumi M, and Ubukata K. Molecular *emm* genotyping and antibiotic susceptibility of

- Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* isolated from invasive and noninvasive infections. J Med Microbiol. 2010; 59: 82-8.
8. Chiba N, Morozumi M, Sunaoshi K, Takahashi S, Takano M, Komori T, Sunakawa K, **Ubukata K**, and the IPD surveillance Study Group. Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal disease in Japan. Epidemiol Infect. 2010; 138: 61-8.
9. Hasegawa M, Hashimoto K, Morozumi M, **Ubukata K**, Takahashi T, and Inamo Y. Spontaneous pneumomediastinum complicated by pneumonia in children infected with 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus. Clinical Microbiology and Infection. 2010; 16: 195-9.
10. Hasegawa M, Inamo Y, Fuchigami T, Hashimoto K, Morozumi M, Takahashi T, Watanabe H, and **Ubukata K**. Bronchial Casts due to 2009 Pandemic Influenza A(H1N1).
11. Yoshino M, Murayama SY, Sunaoshi K, Wajima T, Takahashi M, Masaki J, Kurokawa I, and **Ubukata K**. Nonhemolytic *Streptococcus pyogenes* isolates that lack large regions of the sag operon mediating streptolysin S production. J Clin Microbiol. 2010; 48: 635-8.
12. Kishii K, Chiba N, Morozumi M, Hamano-Hasegawa K, Kurokawa I, Masaki J, and **Ubukata K**. Diverse mutations in the *ftsI* gene in ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* isolates from pediatric patients with acute otitis media. J Infect Chemother. 2010 Jan 21. [Epub ahead of print]
13. 生方 公子 : 我が国における細菌性髄膜炎の現況とその迅速診断の必要性。神経内科学会誌, 2009; 14:1-8.
14. 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, 2009
15. 生方 公子 : 世界標準にはるかに及ばない我が国の予防接種体制。肺炎球菌ワクチン。日本医師会雑誌, 2009; 4: 715-718.
16. 諸角美由紀, 生方 公子 : マルチプレックス呼吸器ウイルスゲノム・リアルタイム検査。臨床と微生物 2009; 36: 61-6.
17. 岸井こずゑ, 生方 公子 : PRSP と BLNAR。臨床と微生物 2009; 36: 95-101.
18. 諸角美由紀, 生方 公子 : Real-time PCR法を活用した細菌学的検索。臨床と微生物 2010; 37: 9-15.
19. 生方 公子, 中山 栄一 : 肺炎球菌の耐性化とワクチン。小児科, 2009;49: 301-307.

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. 耐性遺伝子別にみたインフルエンザ菌の割合

2009年, 化膿性髄膜炎由来株: n = 85

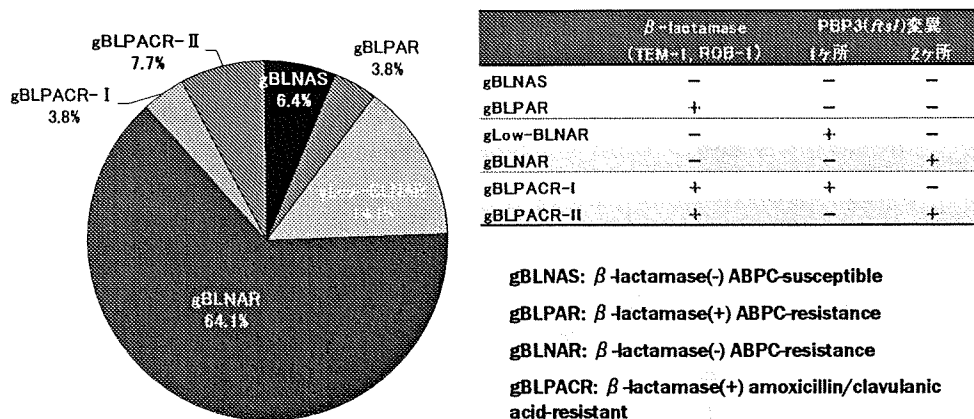


表1. 10年間に解析されたインフルエンザ菌性侵襲性感染症

疾患名	小児	成人	年齢不明
髄膜炎	1248(91.8)	17(63.0)	11(78.6)
敗血症	53(3.9)	7(25.9)	2(14.3)
肺炎+敗血症	6(0.4)	2(7.4)	
肺炎・膿胸	12(0.9)		1(7.1)
化膿性関節炎	17(1.3)		
蜂窩織炎・蜂巣炎	14(1.0)		
化膿性心膜炎	2(0.1)		
化膿性骨髄炎	2(0.1)		
咽喉頭蓋炎	2(0.1)		
その他	4(0.3)	1(3.7)	
合計	1,360	27	14

注: 小児ではNT株は9株のみ

図2. 症例の年齢分布と耐性菌の割合 (n=1,276)

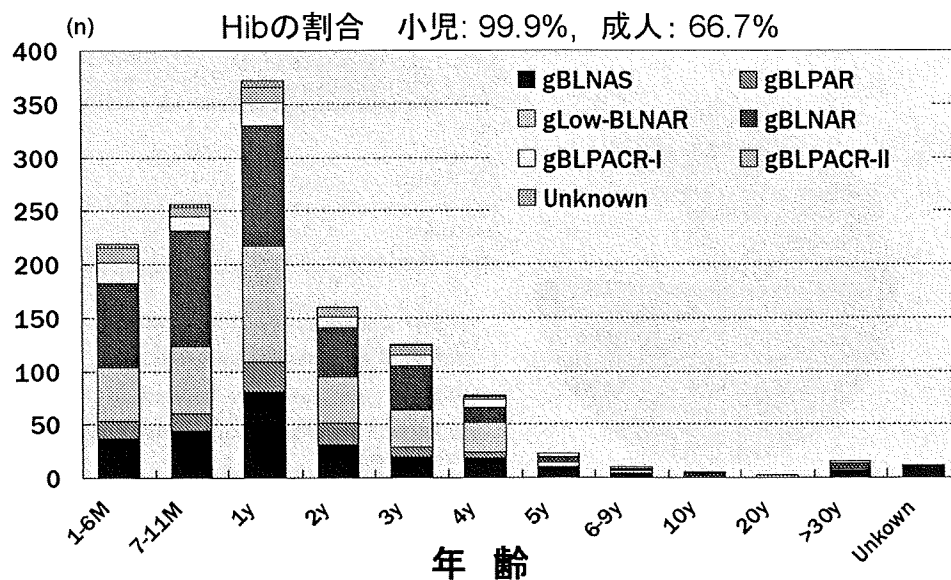


図3. 小児(<20y)発症例の年齢累積分布 (n=1,248)

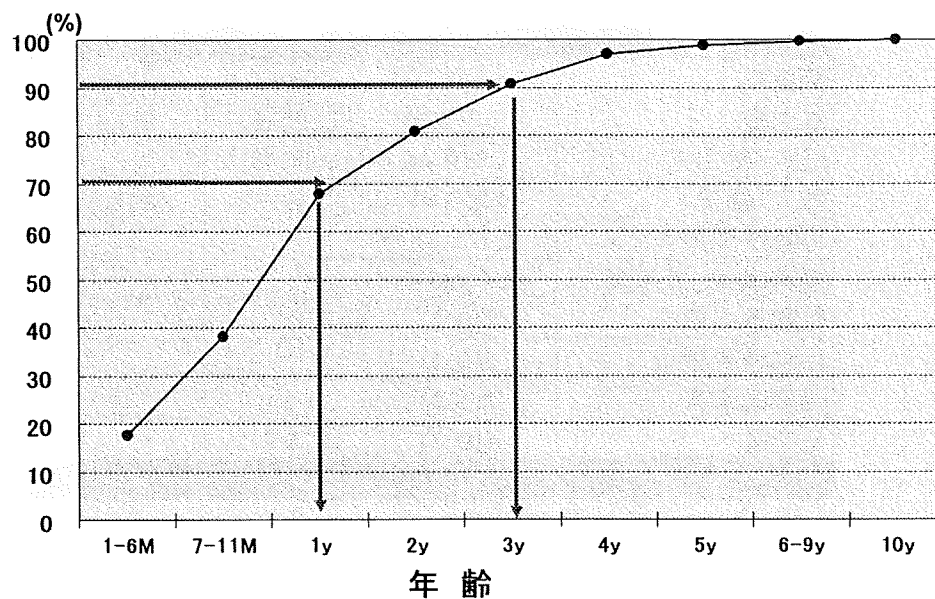


図4. 小児のHib化膿性髄膜炎における予後調査

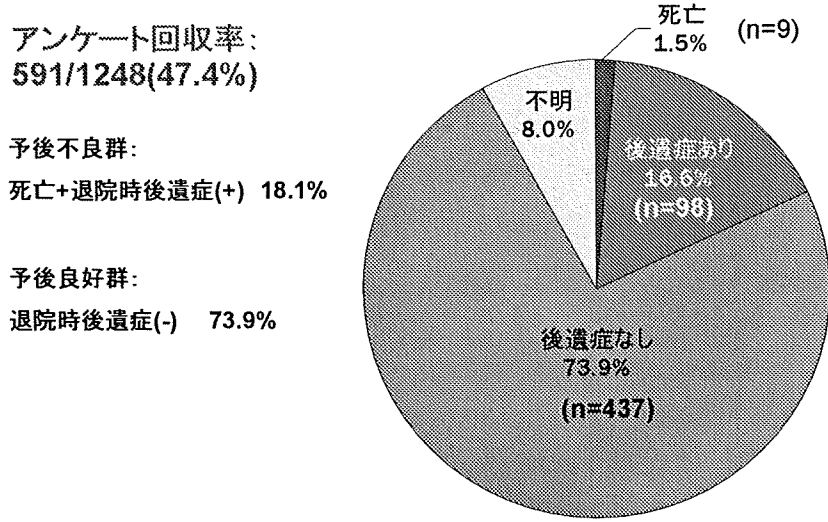


図5. 予後不良例の内訳(延べ数)

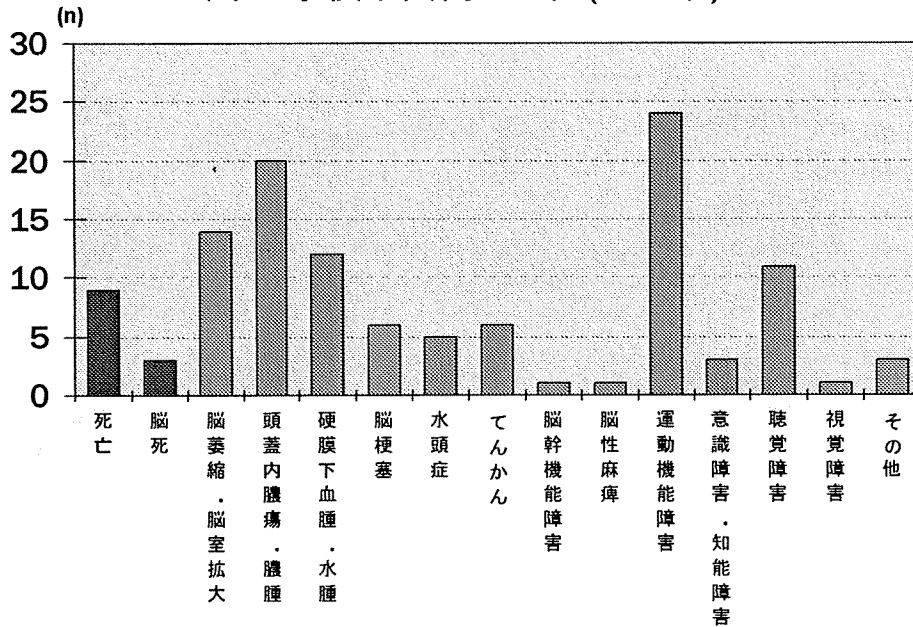


図6. 化膿性髄膜炎由来インフルエンザ菌の経年的耐性化状況
(n=1, 248)

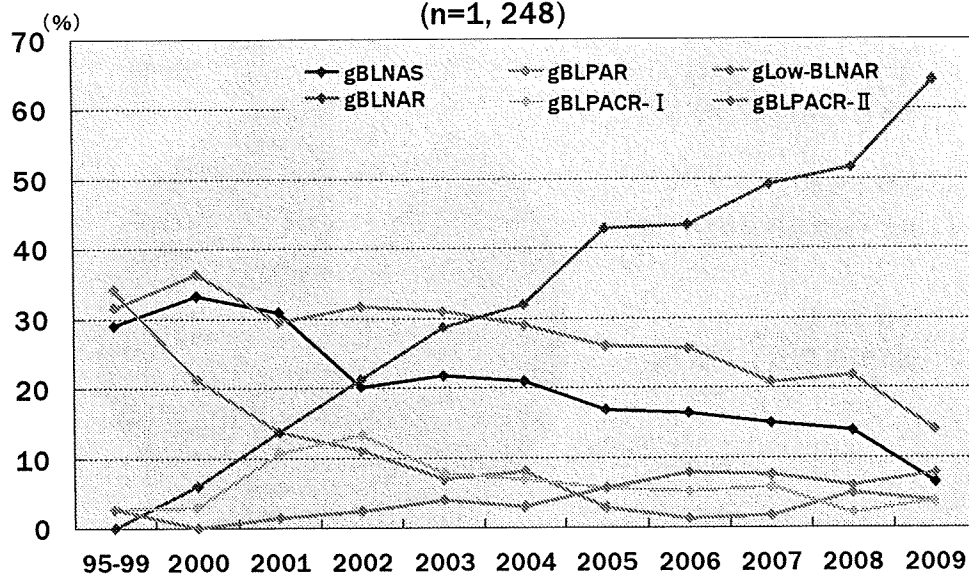


図7. 耐性肺炎球菌の年次推移

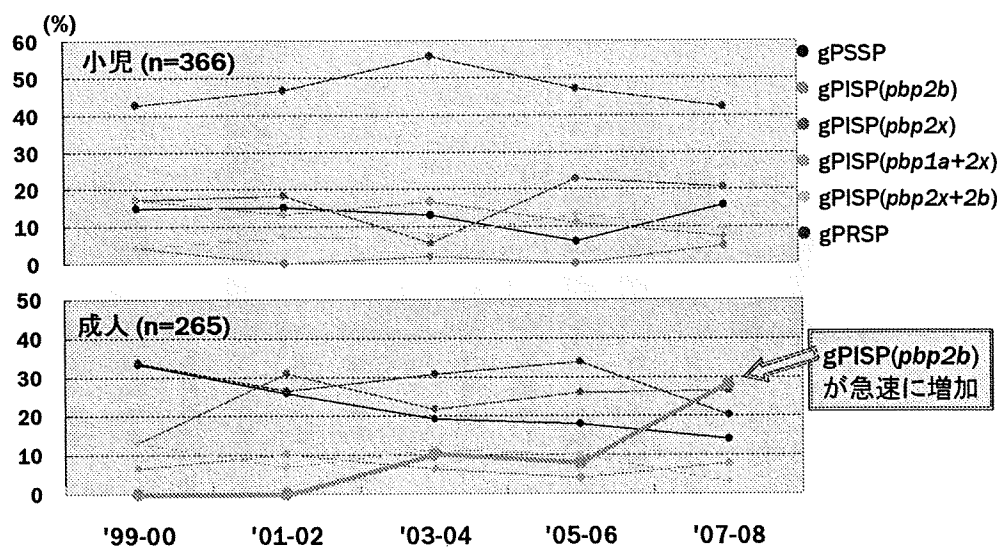


図8. 小児化膿性髄膜炎：莢膜型の年次的変化

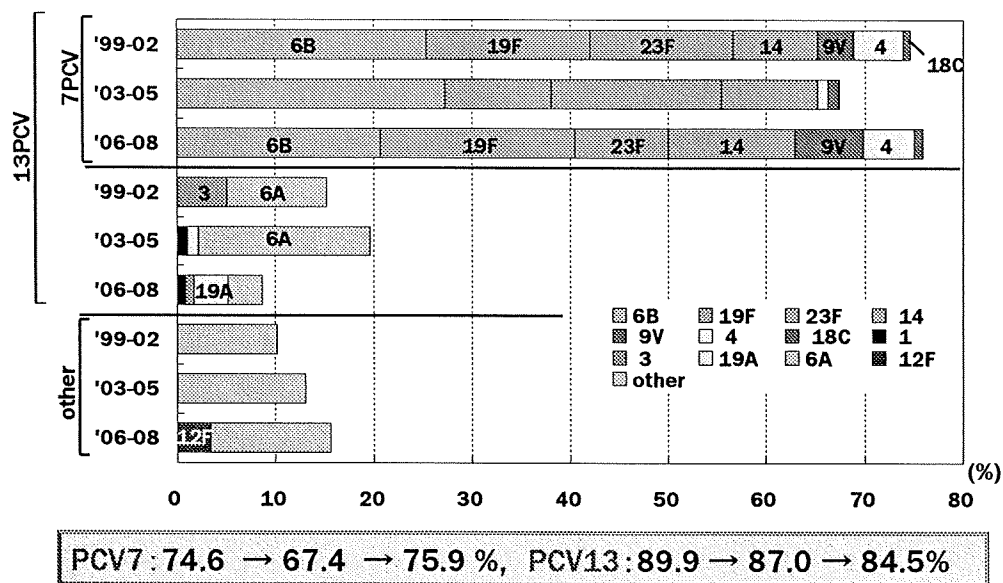
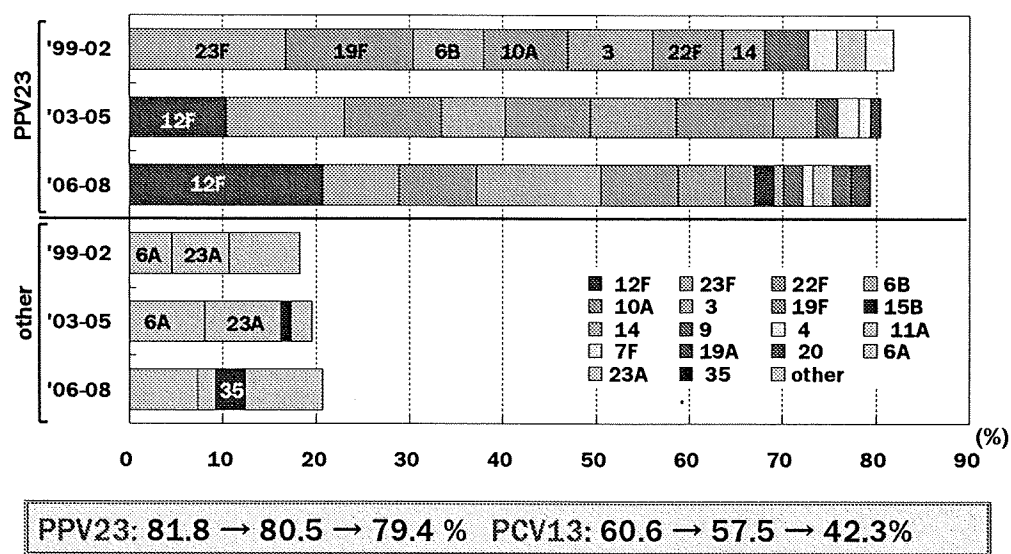


図9. 成人化膿性髄膜炎：莢膜型の年次的変化



VIII. 肺炎球菌

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

ワクチン戦略による麻疹および先天性風疹症候群の排除、
およびワクチンで予防可能疾患の疫学並びにワクチンの有用性に関する基礎的臨床的研究
分担研究報告書

肺炎球菌の新しい血清型 6C による小児感染例の解析

分担研究者 和田昭仁 国立感染症研究所細菌第一部

研究要旨 肺炎球菌の血清型 6C を膨潤法で型別するために、6C 特異的な因子血清を作製した。この血清を用い、小児侵襲性感染由来肺炎球菌、小児髄膜炎由来肺炎球菌、小児呼吸器由来肺炎球菌の型別を行ったところ、6C の分離率は、それぞれ、1.8% (4/224 症例)、4.8% (2/42 症例)、3.2% (4/124 症例)であった。6C と 7 価コンジュゲートワクチンに含まれる 6B との交叉免疫性は低いと考えられる。ワクチン導入後の replacement serotype としての監視が必要である。

A. 研究目的

肺炎球菌の血清型 6C は、2007 年、米国アラバマ大学の Dr. Nahm のグループによって作製されたモノクローナル抗体により、従来の血清型 6A の中から新たに分類された血清型である(JCM 45:1225-1233, 2007)。米国では 7 価コンジュゲートワクチン(PCV7)の導入により、PCV7 に含まれている血清型のみならず、PCV7 に含まれていない血清型である 6A の小児からの分離率の低下も見られている。一方、血清型 6C のワクチン導入前後の変化に関しては、詳しい報告が見られない。日本では、2009 年 10 月に PCV7 が承認され、2010 年 2 月より上市されている。わが国において、PCV7 導入により、小児感染症由来 6C 肺炎球菌の分離率がどのように変化するかを調べるため、2007 年から PCV 導入直前までに小児から分離された肺炎球菌の型別を行った。

B. 材料ならびに方法

2007 年 7 月から 2010 年 1 月までに 9 県より分離された小児侵襲性感染由来肺炎球菌 224 株(1 症例 1 株)、うち髄膜炎由来株 42 株、2 県より分離された小児呼吸器感染由来株 124 株(1 症例 1 株)を対象とした。因子血清を作製するため、すでに型別されている血清型 6C の菌をホルマリンで固定し、これを抗原としてウサギを免疫した。得られた血清をホルマリン固定 6A 菌体で吸収し 6C 特異的因子血清(6b)を得た。

薬剤感受性は、CLSI M100-S18 に従い、ドライプレート(栄研化学)をもちいた微量液体希釈法にて測定した。

マルチローカスシークエンスタイピング(MSLT)では、確立された手法で決定した DNA 配列に対して、インターネットサイト(<http://spneumoniae.mlst.net/>)で検索

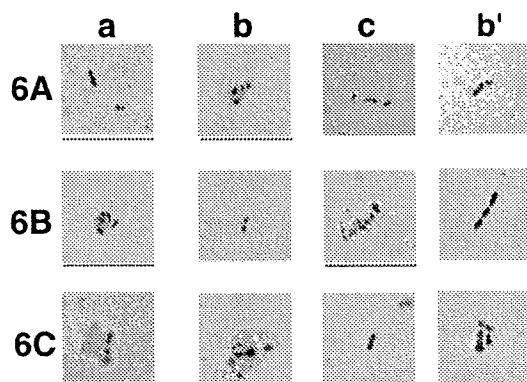
を行った。

PFGE では、肺炎球菌染色体を *Sma*I で切断後、1-15 秒間隔で電場の向きを変えて泳動した。

C. 研究結果

膨潤法による型別の例を図 1 に示す。

図 1



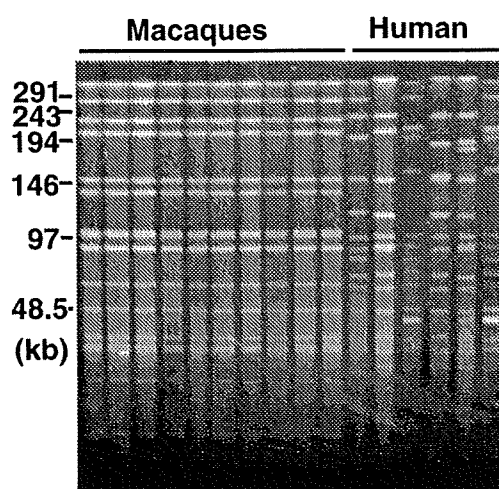
下線で示したパネルは反応陽性であることを示している。

市販因子血清 6b(図 1 中では b)は血清型 6A と 6C を区別することはできないが、自家製 6b'血清(図 1 中では b')は 6C にだけ特異的に反応している。この血清を用いて 6A と 6C を区別できる型別を行ったところ、血清型 6C の分離率は小児侵襲性感染由来肺炎球菌、小児髄膜炎由来肺炎球菌、小児呼吸器由来肺炎球菌でそれぞれ、1.8% (4/224 症例)、4.8% (2/42 症例)、3.2% (4/124 症例)であった。侵襲性感染での分離率 1.8% は PCV7 に含まれる 18C と同じ率であり、13 価コンジュゲートワクチン(PCV13)に含まれる 6A の 1/3 の率であった。髄膜炎での分離率 4.8%は PCV7 に含まれる血清型 4 と 9V と同じで、PCV13 に含まれる 19A、6A よりも高い割合であった。小児呼吸器感染での分離率 3.2%は 6A の約半分であった。血清型 6C 分離菌のペニシリン G の MIC は

0.015-0.25 μ g/mL と様々であったが、 β -ラクタム剤に対する高度耐性菌は見られなかった。

MLST 解析では、今回分離された菌のシークエンスタイプはデータベース上には登録がなかったが、*aroE*, 7; *gdh*, 9; *gki*, 8; *recP*, 6; *spi*, 1; *xpt*, 6; *ddl*, *S. pneumoniae* 以外の配列、という組み合わせが、侵襲性感染から 2 株、呼吸器感染から 1 株見られていた。PFGE の結果を図 2 に示す。

図 2



過去に見られた動物における集団発生事例由来株が同じ PFGE パターンを示しているのに対し、ヒト由来の菌は複数の異なるパターンを示した。

D. 考察

血清型 6A ポリサッカライドの構造が \rightarrow 2)-Gal-(1 \rightarrow 3)-Glu-(1 \rightarrow 3)-Rha-(1 \rightarrow 3)-Ribitol-(5 \rightarrow P \rightarrow であるのに対し、6C ポリサッカライドでは \rightarrow 2)-Glu-(1 \rightarrow 3)-Glu-(1 \rightarrow 3)-Rha-(1 \rightarrow 3)-Ribitol-(5 \rightarrow P \rightarrow と、下線で示す 6A のガラクトースが 6C で h グルコースに替わっている。

米国では、2000年にPCV7が導入されて以降、このワクチンに含まれる血清型の分離は減少しているが、逆にワクチンに含まれない血清型(19A)の増加が見られている(replacement)。PCV7には6Bが含まれているが、6Cとの交叉免疫性は低く、本邦においてPCV7導入により6Cによる感染率が減少するかどうかは予測不能である。今回の調査では、小児髄膜炎において6Cは19Aより高い分離頻度を示している。今後、血清型6Cに対してはreplacement serotype候補として、監視が必要であると考えられた。

E. 結論

PCV7導入による血清型6Cの分離率変化を監視することが必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

「慢性閉塞性肺疾患患者における 23 価肺炎球菌ワクチン接種後の
血清オプソニン活性測定の意義」

分担研究者 大石和徳 大阪大学微生物病研究所
研究協力者 松本智成 大阪府立呼吸器・アレルギーセンター

研究要旨：

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者における 23 価肺炎球菌ワクチン (PPV) 接種前後の主要血清型に対する血清特異 IgG 濃度とオプソニン活性の相関について検討し、1) PPV 接種前の特異 IgG 抗体は PPV 接種後と比較して、そのオプソニン活性が低下する傾向があること、2) PPV 接種前の血清型 19F に対する特異 IgG 抗体はそのオプソニン機能を反映せず、PPV 接種後も特異 IgG 抗体のオプソニン活性は血清型 14, 23F に比較して低下していることが明らかになった。結論として、COPD 患者においては抗肺炎球菌活性のサロゲートマーカーとして、血清中特異 IgG 抗体濃度より血清オプソニン活性を選択すべきである。

A. 研究目的

我が国には530万人の慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者が存在するとされている。COPDは成人における市中肺炎の主要なリスク因子であり、COPD患者は肺炎球菌を含む呼吸器病原性菌に対し易感染性である。しかしながら、これらの患者はその血清中に比較的高い特異IgG抗体濃度を有しており (Furumoto A, et al. Vaccine 26:4284-9, 2008)、その特異IgG抗体の機能異常が示唆される。今回、我々はCOPD患者における23価肺炎球菌ワクチン (PPV) 接種前後の特異IgG抗体濃度が血清オプソニン活性を反映する

のか否かについて明らかにする目的で、以下の臨床研究を実施した。

B. 研究方法

PPV 未接種の大阪府立呼吸器・アレルギーセンターに通院中の COPD 患者で、同意の得られた者を研究参加者とした。参加した 49 症例を PPV 群と非 PPV 群に、均等に割り付けした。PPV 群の 24 例と非 PPV 群 25 例の血清を PPV 接種前、接種 1 ヶ月後、6 ヶ月後の血清を採取した。血清中の血清型特異 IgG 濃度を第三世代 ELISA 法で、血清オプソニン活性をマルチプレックス法で測定した。

C. 研究結果

1. 参加症例の基本データ

PPV 群 24 例, 非 PPV 群 25 例を登録し、それぞれの群の平均年齢は PPV 群: 72.5 ± 8.1 歳、非 PPV 群: 71.5 ± 7.6 歳で、男性の比率は PPV 群で 95.8%、非 PPV 群で 68.0%であった。

2. 血清中特異 IgG 濃度

PPV 群のワクチン接種前の血清中特異 IgG 濃度 (Geometric mean concentration: GMC) ($\mu\text{g}/\text{ml}$) は血清型 (14, 19F, 23F) でそれぞれ (2.26, 2.79, 1.20) であった。一方、PPV 接種 1 ヶ月後の特異 IgG 抗体濃度は (12.21, 9.15, 7.21)、6 ヶ月後は (9.70, 7.03, 4.98) と接種前に比較して有意に増加した ($P < 0.05$)。一方、PPV 非接種群の血清中特異 IgG 抗体濃度は接種前後で全く変化なかった。

3. 血清特異 IgG 抗体濃度とオプソニン活性の相関

血清型 14 に対する両者の相関は、接種前 ($r=0.81$, $P < 0.001$)、接種 1 ヶ月 ($r=0.94$, $P < 0.001$)、6 ヶ月後 ($r=0.89$, $P < 0.001$) と有意な相関を示した。血清型 23F に対する両者の相関は、接種前 ($r=0.73$, $P < 0.001$)、接種 1 ヶ月 ($r=0.87$, $P < 0.001$)、6 ヶ月後 ($r=0.85$, $P < 0.001$) と同様に有意な相関を示した。しかしながら、接種前の相関は、接種後と比較してその相関係数の低下傾向が認められた。一方、血清型 19F に対する両者の相関は、接種前 ($r=0.17$, $P=0.32$)、接種 1 ヶ月

($r=0.52$, $P < 0.01$)、6 ヶ月後 ($r=0.52$, $P < 0.01$) であった。血清型 19F に対しては接種前の両者の相関の極端な低下、接種後の相関係数も他の血清型に比較して低下していた。一方、PPV 非接種群の血清中オプソニン活性は接種前後で全く変化なかった。

D. 考察

今回、COPD 患者における PPV 接種前後の主要血清型に対する血清特異 IgG 濃度とオプソニン活性の相関について検討し、1) いずれの血清型においても接種後に比較して接種前の両者の相関係数が低下し、接種後に相関係数が上昇した。2) 血清型 19F は、血清型 14, 23F に比較して、接種前後で両者の相関は低値を示し、とりわけ接種前では両者の相関に有意差が無く、相関係数は顕著に低下した。これらの結果から、1) PPV 接種前の特異 IgG 抗体は PPV 接種後と比較して、血清オプソニン活性が低下する傾向があること、2) PPV 接種後においても血清型 19F の特異 IgG 抗体の血清オプソニン活性は血清型 14, 23F に比較して低下していることが明らかになった。

E. 結論

COPD 患者においては抗肺炎球菌活性のサロゲートマーカーとして、血清中特異 IgG 抗体濃度より血清オプソニン活性を選択すべきである。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表論文発表

1. 論文発表

1. Oma K, Zhao J, Ezoe H, Akeda Y, Koyama S, Ishii KJ, Kataoka K, Oishi K. Intranasal immunization with a mixture of PspA and a Toll-Like Receptor Agonist induces specific antibodies and enhances bacterial clearance in the airways of mice. *Vaccine* 27:3181-3188, 2009
2. Akeda Y, Okayama K, Kimura T, Dryselius R, Kodama T, Oishi K, Iida T, Honda T. Identification and characterization of a type III secretion-associated chaperone in the type III secretion 1 of *Vibrio parahaemolyticus*. *FEMS Microbiol Lett* 296:18-25, 2009
3. Kerdsin A, Oishi K, Sripakdee S, Boonkerd N, Polwichai P, Nakamura S, Uchida R, Sawanpanyalert P, Dejsirilert S. Clonal Dissemination of *Streptococcus suis* serotype 14 in Thailand. *J Med Microbiol* 58:1508-1513, 2009
4. Honda S, Saito M, Dimaano EM, Morales PA, Alonzo MTG, Suarez LC, Koike N, Inoue S, Kumatori A, Matias RR, Natividad FF, Oishi K. Increased platelet phagocytosis from patients with secondary dengue virus Infection by human macrophages. *Am J Trop Med Hyg* 80:841-845, 2009
5. Inoue S, Alonzo MTG, Kurosawa Y, Mapua CA, Reyes JD, Dimaano EM, Alera MTP, Saito M, Oishi K, Hasebe F, Matias RR, Natividad FF, Mrita K. Evaluation of a dengue IgG-indirect ELISA and a Japanese encephalitis IgG-indirect ELISA for diagnosis of secondary dengue virus infection. *Vector-Borne and Zoonotic Dis* Oct 29, [Epub ahead of print], 2009
6. 大石和徳、川上和義、永井英明、砂川慶介、渡辺 彰. 肺炎球菌ワクチン再接種承認の必要性に関するアンケート調査研究. *日本呼吸器学会雑誌* 48(1): 5-19, 2010.
7. 川上健司、大石和徳. 肺炎球菌ワクチン-再接種の副反応と有用性-. *Medical Practice*. 26 (7): 1161-1164, 2009.
8. 大石和徳. 23 価肺炎球菌ワクチン. *内科*. 104(5): 872-875, 2009.

2. 学会発表

1. 大島信治、永井英明、大石和徳他. 慢性呼吸器疾患患者への23価肺炎球菌ワクチン接種前後および5年経過後の血清型特異抗体濃度の検討. 第49回日本呼吸器学会総会, 東京, 2009年6月12-14日.

2. 川上健司、大石和徳. 65歳以上の成人における肺炎球菌ワクチンとインフルエンザワクチンの併用効果に関する検討. 第49回日本呼吸器学会総会, 東京, 2009年6月12-14日.

3. 坂東園子、岩垣明隆、内田隆一、大日康史、江澤和彦、大石和徳. 高齢

者介護保険施設利用者を対象とした肺炎の前向き調査. 第 49 回日本呼吸器学会総会, 東京, 2009 年 6 月 12-14 日.

4. 江副浩和、大間敬太、明田幸宏、大石和徳. マウス肺炎モデルを場とした PspA に対する TLR ligand の粘膜ジュバント効果. 日本感染症学会, 東京, 2009 年 4 月 23-24 日.

5. 大石和徳. 40 年ぶりに発生した新型インフルエンザ: その対策の検証. 第 103 回日本呼吸器学会近畿地方会, 奈良, 2009 年 7 月 18 日.

6. 大石和徳. 高齢者における肺炎予防ワクチンの現状と課題. 第 58 回日本感染症学会、第 56 回日本化学療法学会、東京、2009 年 10 月 30- 31 日.

7. 大石和徳、永井英明、川上和義. 肺炎球菌ワクチンの再接種の実態とその承認の必要性に関するアンケート調査. 第 13 回日本ワクチン学会、札幌. 2009 年 9 月 26- 27 日.

8. 川上健司、大日康史、大石和徳. 65 歳以上のインフルエンザワクチン定期接種下の高齢者に対する肺炎球菌ワクチンの臨床・費用対効果. 第 13 回日本ワクチン学会、札幌. 2009 年 9 月 26- 27 日.

9. 朴 貞玉、江副浩和、大間敬太、明田幸宏、大石和徳. マウス致死性肺炎モデルにおける PspA と TLR ligand 併用による経鼻粘膜ワクチンの効果.

第 52 回日本感染症学会中日本地方会、第 57 回日本化学療法学会西日本支部総会、名古屋. 2009 年 11 月 26- 28 日.

10. Oishi K. Impact of severity of 2009 pandemic influenza H1N1-associated community-acquired pneumonia among adults in Phitsanulok, Thailand. US-Japan Cooperative Medical Science Program Acute Respiratory Infection Panel. January 25-26, 2010, San Francisco, USA.

11. Akeda Y, Ezoe H, Oishi K. Protection of fatal secondary pneumococcal infection following influenza virus infection by PspA immunization. US-Japan Cooperative Medical Science Program Acute Respiratory Infection Panel. January 25-26, 2010, San Francisco, USA.

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

IX. ヒトパピローマウイルス (HPV)

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業）
分担研究報告書

子宮頸癌およびHPV関連疾患予防におけるHPVワクチンの有用性に関する研究

研究分担者 今野 良 自治医科大学医学部

研究要旨

子宮頸癌およびヒトパピローマウイルス関連疾患予防を目的としたワクチンが日本において期待される有用性の評価と社会の受容性調査および普及のための戦略を研究する。研究初年度は、日本人女性におけるHPV-16/18 AS04 アジュバントワクチンを2重盲験無作為臨床試験で評価する。

A. 研究目的

日本人成人女性を対象にA型肝炎ワクチンを対照として、HPV-16/18 AS04 アジュバントワクチンの有効性を評価する。

B. 研究方法

文章の同意を得た20-25歳の健常女性を対象に第2相二重盲験無作為比較試験を行った。試験への参加はヘルシンキ宣言に基づき自由意志により文書での同意を得て行われた。

試験参加者をHPV-16/18 AS04 アジュバントワクチンと対照のA型肝炎ワクチンに1:1に無作為に割付を行った。両方のワクチンは初回および2回（1ヵ月後）、および、3回（6ヵ月後）に筋肉注射によって接種された。子宮頸部からは細胞診およびHPVDNA検査のための細胞が採取され、免疫原性検査のために血液が、0, 6, 12, 18, 24ヶ月目に採取された。また、細胞診でASC-US以上の異常が検出された場合には、一定の条件下にコルポスコピーを行い、組織生検で病理診断を施行した。プライマリーエンドポイントは6ヶ月以上の持続感染、セカンダリーエンドポイントは一過性感染、12ヶ月以上の持続感染、細胞診異常、CIN1または2以上の病変とした。同時に副反応などの安全性の評価も行った。

C. 研究結果

HPV16 および 18 型に関連する 6 ヶ月以上の持続感染は 100% 予防された (95.5% CI: 71.3-100, $p < 0.0001$)。HPV 16 および 18 型以外も含む 14 種類のハイリスク HPV と関連する CIN1 以上の病変は 64.9% 予防された (95.5% CI: 4.9-89.0, $p = 0.02$)。24 ヶ月目の HPV16 および 18 型に対する抗体価は、それぞれ 1521.5 ELISA Units/mL (EL. U/mL) および 627.4 EL. U/mL であった。HPV-16/18 AS04 アジュバントワクチンによる副反応は臨床的に許容できるものであった。

D. 考察

本ワクチンはすでに海外における先行臨床試験で臨床的有効性および安全性が評価されて、実際の接種が開始されている。日本においては本臨床試験が海外の先行試験とブリッジングによって評価され、実際の承認のための有力な根拠となった。ワクチンの効果の持続は海外の試験ではすでに 7.3 年が示されており、別に行われたモデルリングによれば 20 年以上の有効性が得られると試算されている。

E. 結論

HPV-16/18 AS04 アジュバントワクチンは 6 ヶ月以上の持続感染を 100% 予防し、免疫原性および安全性の点においても日本人女