

膿性髄膜炎の原因菌としては、インフルエンザ菌(Hib)による例が 60-65%、肺炎球菌が 30%前後を占め、最も重要である。しかも予後不良例が多く、生涯にわたって援助が必要となることは、医療経済の上でも負担となる。このため、世界のほとんどの国において Hib ワクチンが定期接種化され、Hib 感染症はほとんど過去の疾患となっている状況にある。

わが国においては、Hib ワクチンは 2007 年に承認され、そのおかげで発症例は徐々に減少傾向にあったが、H23 年度に施行された「ワクチン接種緊急促進事業」によって小児の Hib ワクチンと肺炎球菌の PCV7 の接種率が急速に高まっていると推定される。

特に結果に示したように、Hib 感染症は年齢分布の上からみても 7 ヶ月から 2 歳の発症例が激減しており、ワクチン効果がみられ始めていると結論された。

従って、次年度もサーベイランスを継続し、それを確認する必要がある。

一方、肺炎球菌による化膿性髄膜炎は最も致命率が高く、小児科領域においては PCV7 の導入が期待されていた。しかし、PCV7 は 93 種知られている莢膜型の中で優位な 7 種のみが対象となっている。このため、ワクチン効果のサーベイランスと同時に、カバーできない型の動向を継続的に調べていく必要がある。また、発症例の結果からは、ワクチンの接種時期が問題である。すなわち、6 ヶ月以下の発症例は減少していないようにみえることである。これらの市中型感染症は既に生後 2 ヶ月位から症例が散見され始めるので、接種は生後 2-3 か月後から開始し、少なくとも 3 回目接種が生後 6 ヶ月までに終了することが必須事項であろう。

一方、成人においては、肺炎球菌による化膿性髄膜炎のみならず、重要型肺炎も問題である。基礎疾患を有する例(糖尿病や肝・腎

疾患、心疾患等、あるいは腫瘍後の免疫低下者)例では PPV23 の積極的な接種を勧める啓発活動が重要である。

E. 結論

市中で発症する化膿性髄膜炎の原因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が、それらの多くはワクチン接種によって予防できることを明らかにした。しかし、肺炎球菌については、莢膜型が多いため、今後とも監視が必要であると結論された。

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Chiba N, Morozumi M, **Ubukata K**: Application of the Real-Time PCR Method for Genotypic Identification of β -Lactam Resistance in Isolates from Invasive Pneumococcal Diseases. *Microbial Drug Resist.* **2011**; DOI: 10.1089/mdr.2011.01021.
- 2) Kishii K, Morozumi M, Chiba N, Ono A, **Ubukata K**: Direct detection by real-time PCR of *ftsI* gene mutations affecting MICs of β -lactam agents for *Haemophilus influenzae* isolates from meningitis. *J Infect Chemother.* **2011**; 17:671-677.
- 3) Sakai F, Chiba N, Ono A, Murayama SY, **Ubukata K**, Sunakawa K, and Takahashi T.: Molecular epidemiologic characteristics of *Streptococcus pneumoniae* isolates from children with meningitis in Japan from 2007 through 2009. *J Infect Chemother.* **2011**; 17: 334-340.

- 4) 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**; 138:61-68.
- 5) 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**; 16: 87-93.
- 6) 千葉菜穂子, **生方 公子**: 多剤耐性肺炎球菌. *臨床検査.* **2010**; 54: 489-495.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 千葉菜穂子, **生方公子**: 耐性肺炎球菌感染症. *呼吸器内科*, 2011; 20 : 480-485.
- 10) **生方公子**: 侵襲性ならびに呼吸器系感染症の原因微生物検索—網羅的検索法へのパラダイムシフト—. *小児感染免疫*, 2011;23:257-263.
- 11) **生方公子**: ペニシリン耐性肺炎球菌(PRSP)—薬剤耐性化とワクチンに関わる莢膜型の関係—. *小児科臨床*, **2012**;64 : 2459-2466.
2. 学会発表
- 1) **生方公子**: 急速な高齢化社会の到来. 変貌する市中型呼吸器系感染症. 第 51 回日本呼吸器学会(東京), 2011.04.22 (教育セミナー)
- 2) 千葉菜穂子, 砂押克彦, 桑田祐輔, 荘司路, 高橋 孝, **生方公子**: 侵襲性感染症由来肺炎球菌の分子疫学解析. 第 85 回日本感染症学会総会(東京), **2011.04.22**
- 3) **生方公子**: 侵襲性重症肺炎球菌感染症. 分子疫学解析からみる菌の変化. 第 59 回日本化学療法学会総会(札幌), **2011.06.24** (教育セミナー1-1)
- 4) Chiba N, Morozumi M, Shoji M, and **Ubukata K.:** Change in the capsular type and genotype of β -lactam-resistant isolates from patients with invasive pneumococcal disease (IPD): Active Nationwide Surveillance. 51st ICAAC, Chicago, **2011.09.19** (C2-1270)
- 5) **生方公子**, 千葉菜穂子, 諸角美由紀: 侵襲性感染症由来肺炎球菌の莢膜型の変化. 第 15 回日本ワクチン学会(東京), **2011.12.11** (1-2-06)
- H. 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
 3. その他 なし

図-1の1. インフルエンザ菌性化膿性髄膜炎例の年齢分布と耐性菌の推移(1999年～2011年)

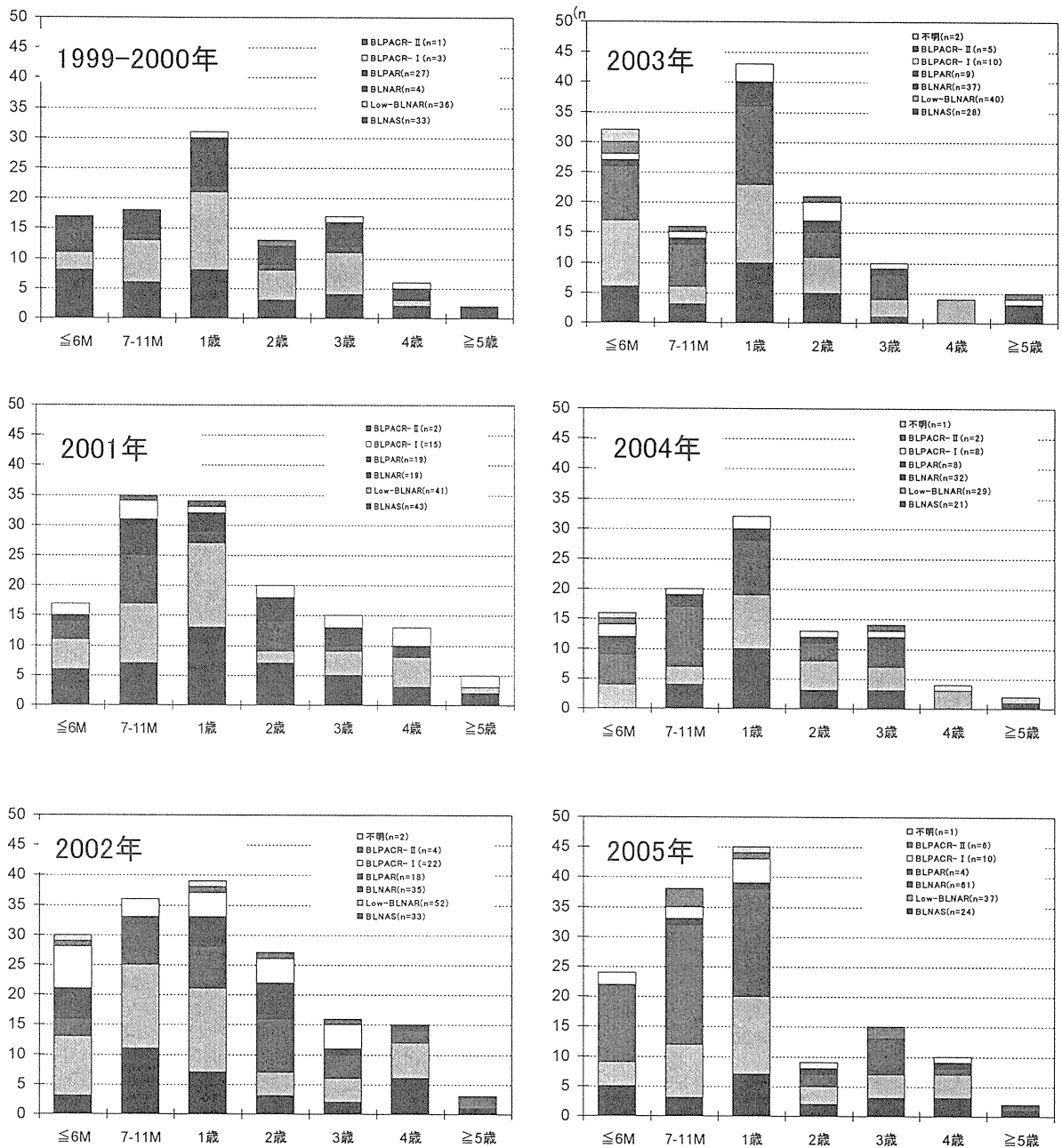


図-1の2. インフルエンザ菌性化膿性髄膜炎例の年齢分布と耐性菌の推移(1999年～2011年)

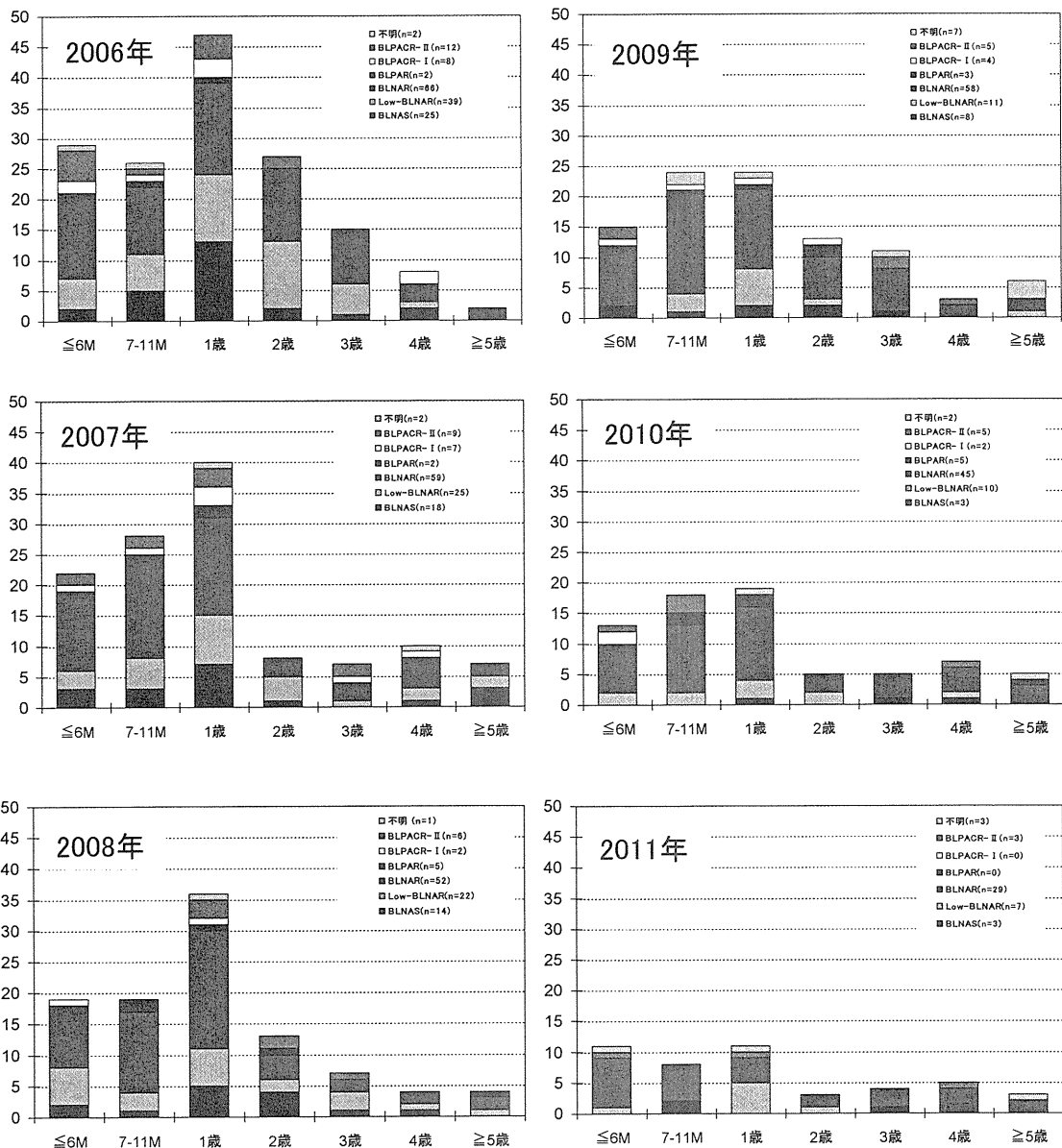


図-2. インフルエンザ菌性髄膜炎: 経年的推移(n=1,486)

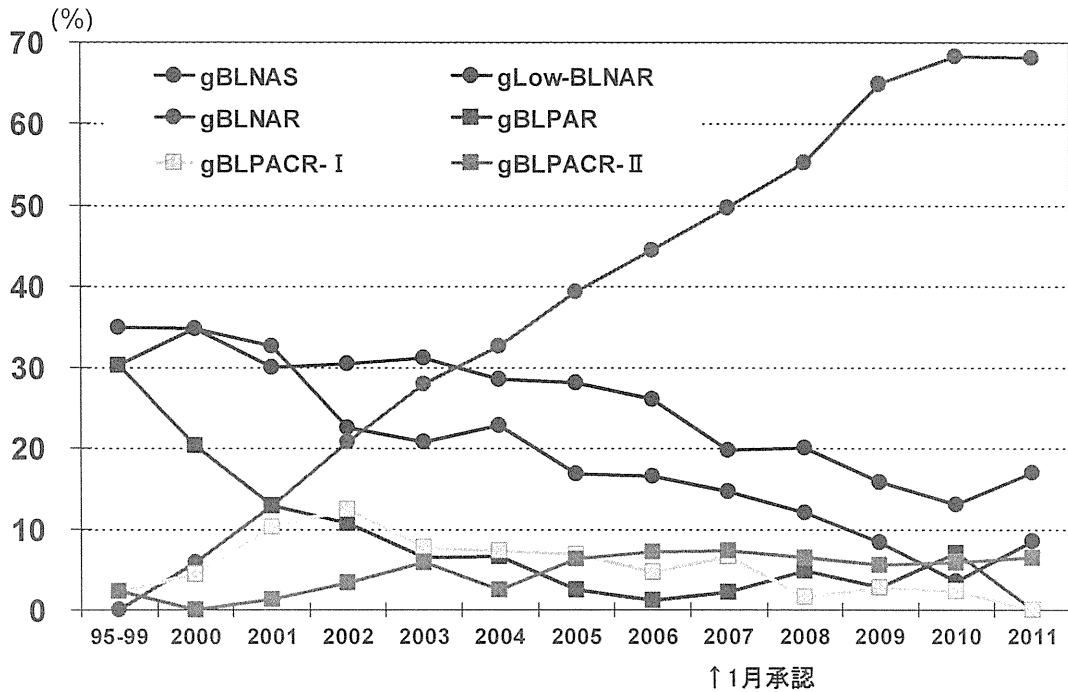


図-3. 肺炎球菌性化膿性髄膜炎(n=825)

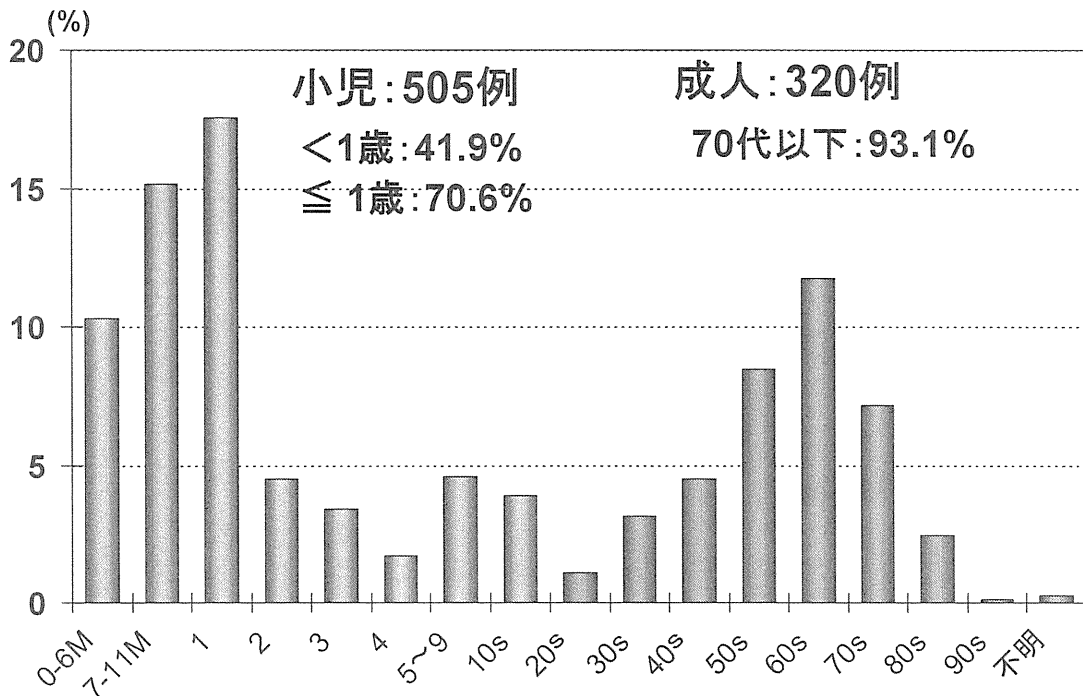
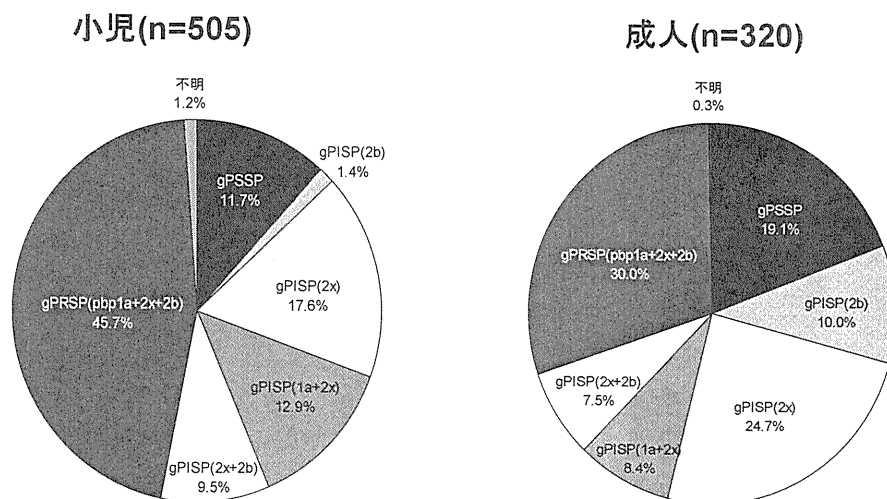
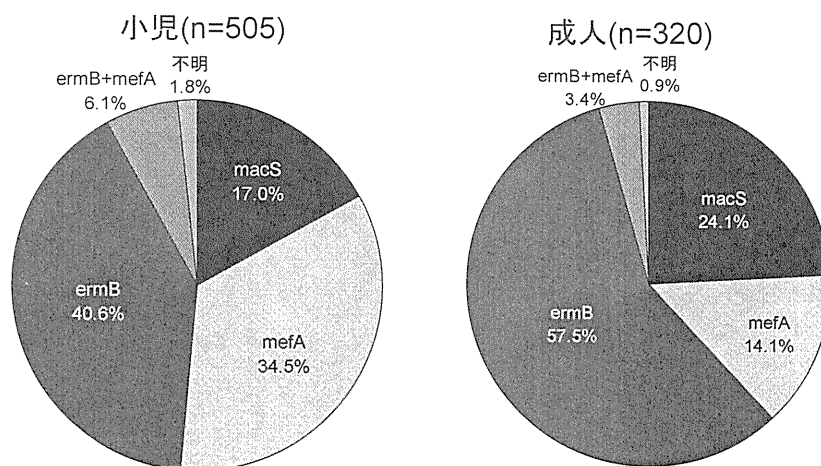


図-5. 遺伝子学的にみた耐性化状況



小児では耐性菌の割合は変化していないが, 成人では耐性率が急速に上昇している。

図-6. マクロライド系薬耐性化状況



70%以上が耐性遺伝子保持, もはやマクロライド系薬は抗菌薬とはいえない状況にある。

図-6. 予後不良例の状況

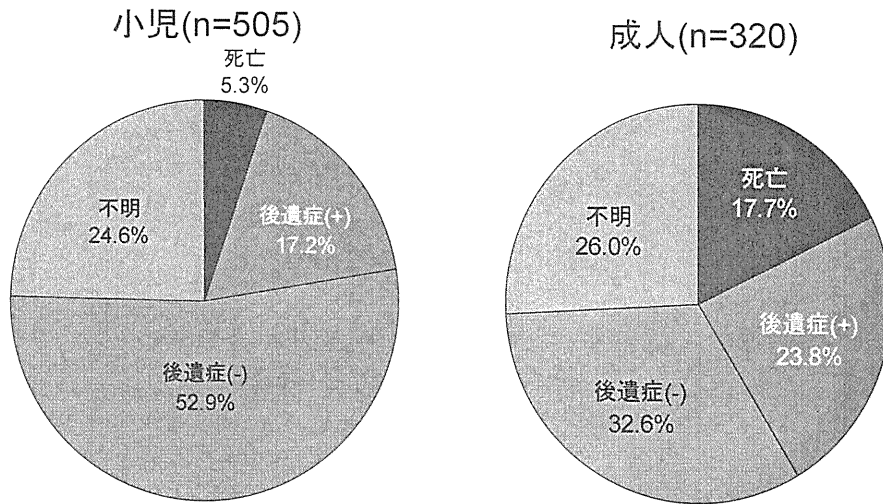


図-7. 成人例の予後と基礎疾患

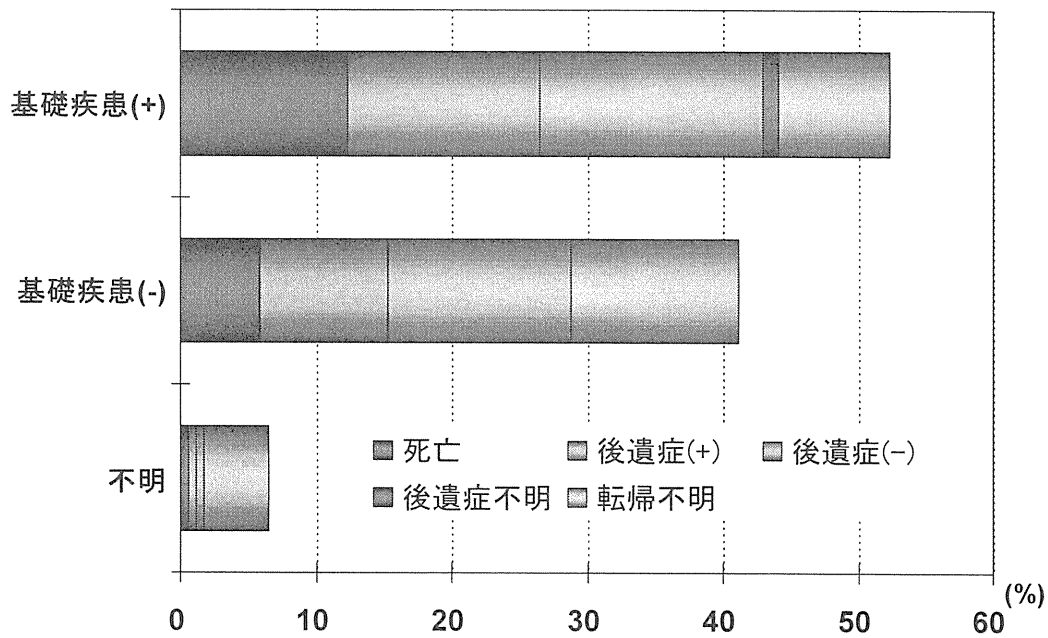


図-8. 小児由来株の莢膜型 (10年間のまとめ)

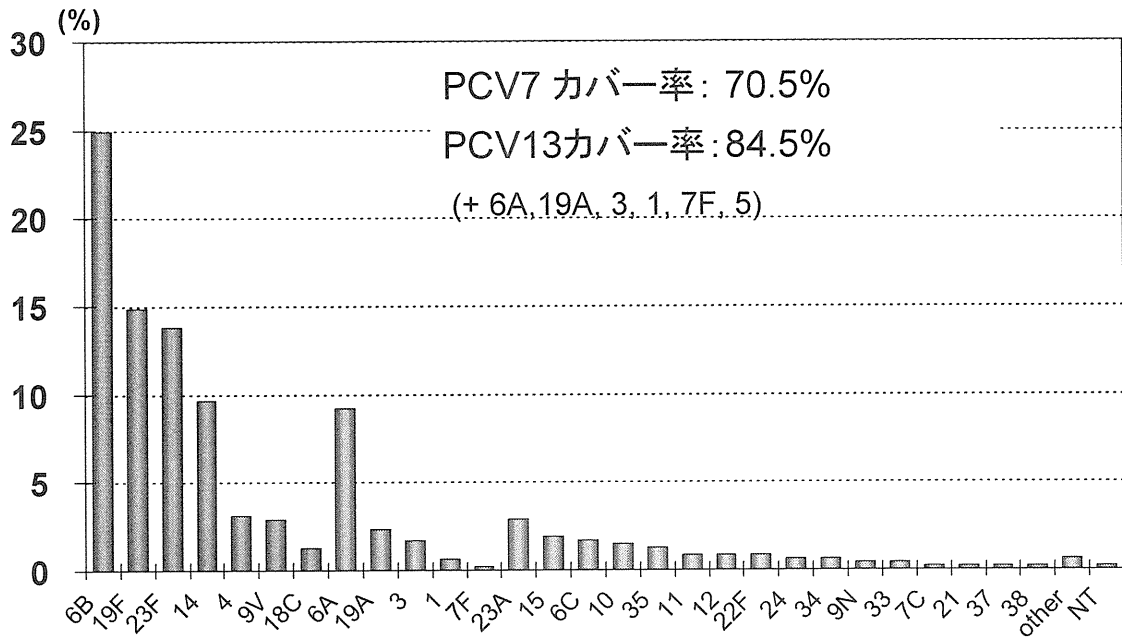
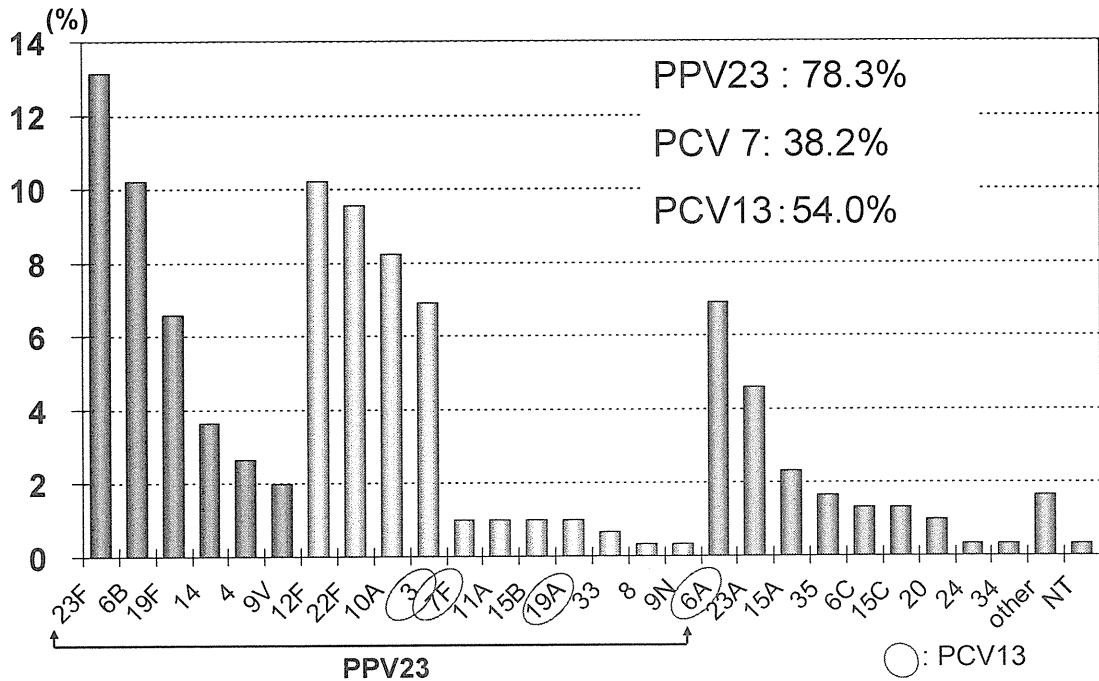


図-9. 成人由来株の莢膜型(10年間のまとめ)



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

肺炎球菌コンジュゲートワクチン導入による血清型および DNA シークエンス
タイプの変化に関する研究

研究分担者 和田昭仁 日光市民病院
研究協力者 常 彬 国立感染症研究所 細菌第一部

研究要旨

2009 年から 2011 年 12 月現在まで、日本全国の小児侵襲性感染
490 症例（うち髄膜炎 62 症例）から分離された肺炎球菌の血清
型と遺伝子解析を行った。3 年間を通じ、肺炎球菌 7 価コンジ
ュゲートワクチン（PCV7）に含まれる血清型の分離率は、6B：
26.9%（132 症例）；14：18.2%（89 症例）；23F：11.8%（58 症例）；
19F：9.2%（45 症例）；4：2.7%（13 症例）；9V：2.9%（14 症例）；
18C：0.8%（4 症例）であった。PCV7 に含まれない血清型で最も
分離率が高かったのは 19A 型の肺炎球菌で 49 症例（10.0%）か
ら分離された。2009、2010、2011 年の年間症例数はそれぞれ 122、
216、152 症例で、PCV7 のカバー率は 75.4%、78.2%、61.8% で
あった。3 年間の肺炎球菌の DNA シークエンスタイプには明ら
かな変化が見られなかった。

A. 研究目的

肺炎球菌による侵襲性感染は、既に
ワクチン接種により予防可能な疾患
となっている。本邦においても、2010
年 2 月から 7 価小児用肺炎球菌コンジ
ュゲートワクチン（PCV7）が導入され
た。また、2011 年度から PCV7 は公費
助成の対象となり、今後の接種率の増
加と肺炎球菌による感染症の発症率
の減少が期待されている。本分担研究
では、日本全国の 5 歳未満の小児侵
襲性感染症から分離された肺炎球菌
の解析を行い、PCV7 の効果を評価で

きる疫学データを得ることと今後の
ワクチンの必要性に関する議論の基
礎疫学データを提供することを目的
とした。

B. 研究対象と方法

2009 年から 2011 年 12 月現在まで、
9 県（新潟県、福島県、千葉県、三重
県、岡山県、高知県、福岡県、鹿児
島県、沖縄県）を中心とする日本全
国から送付された小児侵襲性感染症
490 症例（うち髄膜炎 62 症例）由
来の肺炎球菌を対象とした。血清型
別は、Statens Serum Institute 製血
清およ

び、自家調製血清を用い莢膜膨潤法により行った。マルチローカスシーケンスタイピング (MLST) では、分離株の7つのアリル(*aroE*, *gdh*, *gki*, *recP*, *spi*, *xpt*, *ddl*) の配列を決定し、<http://spneumoniae.mlst.net> にて検索を行い、遺伝子型を決定した。本報告書のすべての集計は症例数をもとに行った。また、本報告中の分離率とは3年間または各年度ごとの総分離株数に対する各血清型の率 (%) である。

C. 結果

2009、2010、2011年はそれぞれ122、216、152例の小児侵襲性感染症（うち髄膜炎は19、25、18症例）由来肺炎球菌の解析を行い、血清型別の結果を表1および図1に示した。全体で27種類の血清型の肺炎球菌が分離され、3年間を通じ、PCV7に含まれる血清型の分離率は、6B:26.9% (132症例); 14:18.2% (89症例); 23F:11.8% (58症例); 19F:9.2% (45症例); 9V:2.9% (14症例); 4:2.7% (13症例); 18C:0.8% (4症例)であった。PCV7のカバー率は72.4%であった。6Bと交叉反応性が見られる6Aを含めると、PCV7のカバー率は76.3%となった。

2009年から2011年までの3年間において、6B型肺炎球菌の分離率が一番高かったが、2011年の分離率は19.1%で、2009年(29.5%)と2010年(31.0%)の分離率より減少が見られた。また、2011年分離された肺炎球菌のPCV7のカバー率(61.4%)も2009年(75.4%)と2010年(78.6%)

より減少傾向であった(表1および図1)。一方、PCV7に含まれない血清型肺炎球菌の中で、19Aが最も多く分離され、3年間の分離率は10%であった。19Aに続いて、6A型と6C型肺炎球菌はそれぞれ3年間で19と14症例が分離され、分離率は3.9%と2.9%であった。

髄膜炎62症例から分離された肺炎球菌の血清型別の結果を表2に示す。2009、2010、2011年の年間髄膜炎症例数はそれぞれ19、25、18症例であった(表2)。PCV7のカバー率は63.2%、68.0%、61.1%であった。6Bと交叉反応性が見られる6Aを含めると、PCV7のカバー率は68.4%、72.0%、66.7%となった(表2)。3年間のPCV7のカバー率に明らかな変化は見られなかった。

2009年から2011年までに分離された肺炎球菌490株のDNAシーケンスタイプの解析を行った。その結果、490株は49タイプの遺伝子型に分けられた。年度間で明らかな遺伝子型出現率の違いは見られなかった。

D. 考察

本研究の疫学調査期間は、PCV7導入前後であるため、PCV7に含まれる血清型肺炎球菌の分離率の初期変化を調査することができた。PCV7が公費助成の対象となった2011年に分離された肺炎球菌のPCV7のカバー率は2009年および2010年のカバー率よりわずかな減少が見られたため、日本でのPCV7による小児侵襲性感染に対する早期の予防効果と考えられた。

PCV7が導入された後、ワクチンに

含まれる血清型による侵襲性感染が減少する一方、19A や 6C などのワクチンに含まれない血清型による侵襲性感染罹患率の増加 (Replacement) が米国を含む多くの国で見られている。我々のこの 3 年間の調査では、2009 年 (7.4%、9 例) と 2010 年 (8.8%、19 例) の分離率に比べて、2011 年の 19A 肺炎球菌の分離率 (13.8%、21 例) の増加が見られた。しかし、2010 年と 2011 年の 19A 肺炎球菌による侵襲性感染症例数には明らかな変化が見られなかった。2011 年 19A 肺炎球菌の分離率が高くなったのは PCV7 に含まれているタイプの肺炎球菌による感染症例の減少が主な原因と考えられた。

今後日本においても、19A やその他の PCV7 に含まれない血清型肺炎球菌による罹患率および DNA シークエンスタイプの変化を継続して調べる必要がある。米国で観察されたような Replacement を防止するため、日本でも早期の 19A を含む 13 価コンジュゲートワクチン (PCV13) の承認が待たれる。

E. 結論

2009 年と 2010 年に比べて、2011 年に分離された肺炎球菌の PCV7 のカバー率の低下が見られた。この低下は PCV7 ワクチンの間接効果であると考えられた。日本において PCV7 による小児侵襲性感染に対する予防効果をさらに高めるために、早期の定期接種化が強く望まれる。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表 論文発表

1. Bin Chang, Taketo Otsuka, Atsushi Iwaya, Minoru Okazaki, Satoko Matsunaga, and Akihito Wada. 2010. Isolation of *Streptococcus pneumoniae* serotypes 6C and 6D from the nasopharyngeal mucosa of healthy Japanese children. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 63: 381-383.

2. Tomohiro Oishi, Akihito Wada, Bin Chang, Shinichi Toyabe, and Makoto Uchiyama. 2011. Serotyping and multilocus sequence typing of *Streptococcus pneumoniae* isolates from the blood and posterior nares of Japanese children prior to the introduction of 7-Valent pneumococcal conjugate vaccine. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 64: 341-344.

学会発表

1. Akihito Wada, Bin Chang, and Hitoshi Kamiya. 2010. Serotype and Sequence Type Distribution of Invasive *Streptococcus pneumoniae* Isolates from children in Japan prior to 7-valent conjugate vaccine introduction. (The 13th Annual

Congress of The Korean Society of Clinical Microbiology, Seoul, Korea. Jul. 2010).

2. Taketo Otsuka, Bin Chang, Akihito Wada, Atsushi Iwaya, Minoru Okazaki, and and SADO-study Working Group. 2010. Serotypes of and antimicrobial resistance in *S. pneumoniae*/*H. influenzae* in healthy infants: The SADO Birth Cohort Study in Sado Island, Japan. (The 50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Boston, USA. Sep. 2010).

3. 大塚岳人、岡崎実、常彬、和田昭仁。2010年。インフルエンザ菌・肺炎球菌の健常児定着と侵襲性病態との関連～佐渡島出生コホート研究(SADO-study)～。(第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第57回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会。東京、2010年10月)。

4. 常彬、和田昭仁。2011年。小児における侵襲性感染症由来の血清型6C肺炎球菌の疫学的解析。(第22回日本臨床微生物学会総会。岡山、2011年1月)。

5. Bin Chang, Mitsuaki Hosoya, Shin-Ichi Toyabe, Naruhiko Ishiwada, Takashi Nakano, Megumi Oda, Akihito Maeda, Kenji Okada, Junichiro Nishi, Hideki Akeda, Hitoshi Kamiya,

Akihito Wada. 2011. Surveillance of pneumococcal invasive disease in Japanese children before and after introduction of seven-valent pneumococcal conjugate vaccine.

(The international Union of Microbiological Society 2011, Sapporo Sep. 6-10, 2011).

6. 金高太一、成相昭吉、常彬、和田昭仁。2011年。5日齢新生児および1ヵ月齢乳児における上咽頭保菌調査。(第60回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第58回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会。山形、2011年10月)。

7. Yoshiko Takahashi, Junko Oikawa, Junko Tanaka, Haruka Hishiki, Naruhiko Ishiwada, Bin Chang, and Akihito Wada. 2011. The serotypes distribution for *Streptococcus pneumoniae* isolated from pediatric respiratory specimens after introduction of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in Japan. (US-Japan Cooperative Medical Science Program Acute Respiratory Infections Panel, 14th Annual Meeting, Japan, Nov. 2011).

8. 芦苺圭一、藤本夕季、金高太一、成相昭吉、常彬、和田昭仁、諸角美由紀、千葉菜穂子、生方公子。2011年。新生児仮死にて入院となった血清型

11A/E による新生児肺炎球菌感染症の 1 例。(第 54 回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第 59 回日本化学療法学会西日本支部総会合同学会。奈良、2011 年 11 月)。

9. 藤本夕季、芦荻圭一、金高太一、成相昭吉、常彬、和田昭仁。2011 年。血清型 15A による重症肺炎球菌感染症 2 回繰り返した重症心身障害の 14 歳女児。(第 54 回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第 59 回日本化学療法学会西日本支部総会合同学会。奈良、2011 年 11 月)。

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表1. 2009-2011年小児慢性感染症由来肺炎球菌の血清型分布とワクチンのカバー率

血清型	2009年	2010年	2011年	計
	分離頻度(症例数)			
6B	29.5% (36)	31.0% (67)	19.1% (29)	26.9% (132)
14	11.1% (16)	23.1% (50)	15.1% (23)	18.2% (89)
23F	14.8% (18)	10.2% (22)	11.8% (18)	11.8% (58)
19F	14.8% (18)	8.3% (18)	5.9% (9)	9.2% (45)
4	0.8% (1)	3.7% (8)	2.6% (4)	2.7% (13)
9V	1.6% (2)	1.9% (4)	5.3% (8)	2.9% (14)
18C	0.8% (1)	0	2.0% (3)	0.8% (4)
19A	7.4% (9)	8.8% (19)	13.8% (21)	10.0% (49)
6A	6.6% (8)	1.9% (4)	4.6% (7)	3.9% (19)
1	0	0.5% (1)	0	0.2% (1)
3	0	0	0.7% (1)	0.2% (1)
7F	0	0.5% (1)	0	0.2% (1)
6C	2.5% (3)	3.2% (7)	2.6% (4)	2.9% (14)
23A	0	1.4% (3)	0.7% (1)	0.8% (4)
15A	0.8% (1)	0.5% (1)	2.0% (3)	1.0% (5)
15B	0	1.4% (3)	2.0% (3)	1.2% (6)
15C	2.5% (3)	0.9% (2)	1.3% (2)	1.4% (7)
10A	0.8% (1)	0.5% (1)	1.3% (2)	0.8% (4)
24F	0.8% (1)	0.9% (2)	2.0% (3)	1.2% (6)
24B	0	0	0.7% (1)	0.2% (1)
22F	1.6% (2)	0.5% (1)	2.6% (4)	1.4% (7)
12F	0	0	0.7% (1)	0.2% (1)
38	0.8% (1)	0	0.7% (1)	0.4% (2)
33F	0	0	1.3% (2)	0.4% (2)
35B	0.8% (1)	0	0	0.2% (1)
11E	0	0	0.7% (1)	0.2% (1)
untypable	0	0.9% (2)	0.7% (1)	0.6% (3)
合計	100% (122)	100% (216)	100% (152)	100% (490)
PCV7 カバー率	75.4%	78.6%	61.4%	72.4%
PCV7+6A	82.0%	80.5%	66.0%	76.3%

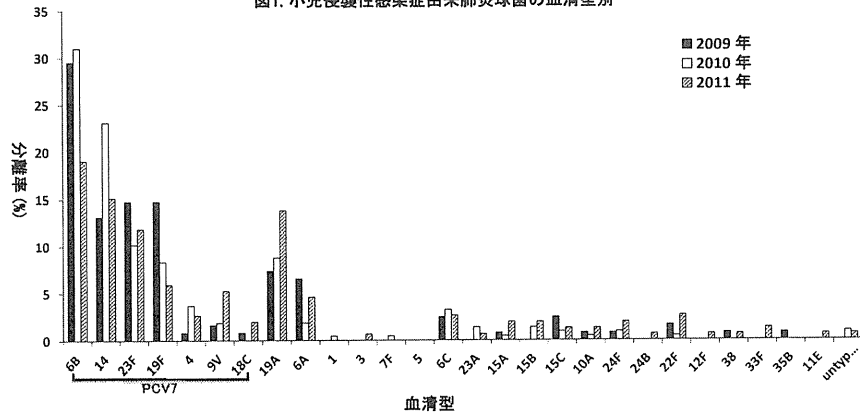
(灰色はPCV7に含まれる血清型; 集計は症例数をもとに行った)

表2. 2009-2011年髄膜炎由来肺炎球菌の血清型分布

血清型	2009年	2010年	2011年
	分離頻度(症例数)		
6B	15.8% (3)	24.0% (6)	22.2% (4)
14	5.3% (1)	16.0% (4)	0
23F	21.1% (4)	12.0% (3)	22.2% (4)
19F	15.8% (3)	16.0% (4)	5.6% (1)
4	0	0	0
9V	5.3% (1)	0	5.6% (1)
18C	0	0	5.6% (1)
19A	10.5% (2)	8.0% (2)	5.6% (1)
6A	5.3% (1)	4.0% (1)	5.6% (1)
15A	0	4.0% (1)	0
15B	0	4.0% (1)	5.6% (1)
15C	5.3% (1)	0	0
22F	5.3% (1)	0	0
35B	5.3% (1)	0	0
6C	5.3% (1)	4.0% (1)	11.1% (2)
10A	0	4.0% (1)	0
24F	0	4.0% (1)	0
3	0	0	5.6% (1)
23A	0	0	5.6% (1)
合計	100% (19)	100% (25)	100% (18)
PCV7 カバー率	63.2%	68.0%	61.1%
PCV7+6A	68.4%	72.0%	66.7%

(灰色はPCV7に含まれる血清型; 集計は症例数をもとに行った)

図1. 小児慢性感染症由来肺炎球菌の血清型別



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ならびにワクチンの有用性に関する基礎臨床研究」

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の免疫原性に関する研究」
「高齢者における 23 価肺炎球菌ワクチンの免疫原性と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
研究協力者 坂東園子 大阪医科大学第一内科、岩垣明隆 阪和住吉総合病院

研究要旨：

パート 1：23 価肺炎球菌ポリサッカライドワクチン (PPV23) 未接種の慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者 49 例を対象に、二重盲検試験として PPV23 群 (24 例) と生食群 (25 例) に割り付け、PPV23 (もしくは生食) を接種後に、主要血清型 14, 19F, 23F に対する血清中特異 IgG 抗体および血清 OPA titer を測定した。血清中特異 IgG 抗体および血清 OPA titer は接種前値に対して有意に上昇し、少なくとも 2 年間は接種前のレベル以上を維持した。一方、生食群では血清中特異 IgG および OPA titer は低値のままであり、接種 2 ヶ月後、6 ヶ月後、1 年後、2 年後のいずれの時点でも血清中特異 IgG 抗体および血清 OPA titer レベルに両群間に有意な差を認めた。COPD 患者における PPV23 接種による接種後 2 年間の特異抗体とりわけ血清オプソニン活性の増強効果は、本症における感染増悪や肺炎に対する予防効果を示唆している。

パート 2：我々は特別養護老人ホーム利用者に対し、23 価肺炎球菌ワクチン (PPV23) 接種前後の血清中特異 IgG 抗体濃度と OPK 活性の相関について検討した。平均年 85 歳の高齢者において、PPV23 接種による主要 6 血清型に対する血清中特異 IgG 濃度、オプソニン (OPA) 活性は有意に増加した。血清型 3, 6B, 12F では IgG 濃度と OPK 活性の相関は低く、特にワクチン接種前に OPA 活性を欠く血清検体が多かった。今後、高齢者の血清型特異的免疫応答は OPA 活性で評価すべきと考えられる。

A. 研究目的

パート 1：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。Alfageme らは、23 価肺炎球菌ポリサ

ッカライドワクチン (PPV23) の接種により 65 歳未満の COPD 患者および一秒率が 40% 未満の重症 COPD 患者では肺炎を予防することを報告した (Thorax 61:189-95, 2006)。この結果から、2006 年の GOLD では PPV23 が COPD 患者に対して推奨 (B ランク) されている。また、我々は COPD 患者において PPV23 の接種が

COPD患者における感染性増悪を予防することを報告した (Furumoto A, et al. Vaccine 26:4284-9, 2008)。H21年度の研究では今回、我々はPPV23未接種のCOPD患者を対象に、PPV23接種群と生食群間に無作為にランダム化し、PPV23接種前およびその2年間の血中特異抗体の推移について検討したので報告する。

パート2：日本の国民の平均余命は男性で79.6歳、女性で86.4歳とされ、まさに高齢化時代を迎えている。一方、肺炎は日本人の死亡率の第4位をしめる。75歳を超えてから肺炎による死亡率は男女ともに急激な増加が見られ、とくに、男性の死亡率では、80-84歳の第3位(919.7人/10万・年)、85-89歳の第2位(2097.7人/10万・年)、90歳以上の第1位(4037.1-9850.0人/10万・年)を占める。このうち20-40%が肺炎球菌性肺炎と考えられる。従って、80歳以上の高齢者における肺炎予防は重要である。我々はこれまでに、インフルエンザワクチン定期接種後の75歳以上の高齢者において23価肺炎球菌ワクチン(PPV23)の接種により、肺炎による入院エピソードが有意に減少し、肺炎による医療費も削減できることを報告した(Kawakami K et al. 28:7063-7069, Vaccine, 2010)。しかしながら、超高齢者におけるPPV23による免疫原性、とりわけ血清オプソニン (OPA)活性の報告は少ない。今回、我々は特別養護老人ホームを利用する高齢者においてPPV23接種前後

の血清中特異IgG抗体濃度とOPA活性の相関について検討した。

B. 研究方法

パート1：大阪府立呼吸器・アレルギーセンターに通院中の PPV23 未接種の 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 症例を二重盲検試験として PPV23 群と生食群に、均等に割り付けした。PPV23 (もしくは生食) を接種後に、主要血清型 14, 19F, 23F に対する血清中特異 IgG 抗体および血清 OPA titer を測定した。わが国で分離頻度の高い血清型 14, 19F, 23F の 3 血清型について血清中の特異 IgG 濃度を第三世代 ELISA 法で、血清オプソニン活性を Multiplex opsonophagocytic assay (MOPA) 法で測定した。測定結果はそれぞれ特異 IgG ($\mu\text{g/ml}$) と OPA titer として表示した。尚、本研究において生食群の参加者には研究終了後に同意のもとに PPV23 を接種した。本研究は大阪府立呼吸器・アレルギーセンター倫理審査委員会の承認を得た。

パート2：大阪府下の特別養護老人ホームに入所中の高齢者 100 名を PPV23 接種 (ワクチン群) と生食塩接種 (非ワクチン群) の 2 群に無作為に割り付けし、接種前と接種 1 ヶ月後の血清を凍結保存した。採取した血清を ELISA IgG, Multiplex OPK assay で血清型 3, 6B, 12F, 14, 19F, 23F について特異抗体を測定した。これらの 6 血清型はわが国の成人における侵襲性感染症の主要原因菌の血清型である。尚、本研究において生食群の参加者には研究終了後に同意のもとに

PPV23 を接種した。本研究について、NPO 臨床研究・教育支援センター 臨床試験推進部門倫理審査委員会の承認を得た。

C. 研究結果

パート1：1) 血中特異 IgG(GMC)濃度

接種前の血清中特異 IgG は PPV23 群 (血清型 14; 2.14 $\mu\text{g/ml}$, 血清型 19F; 2.70 $\mu\text{g/ml}$, 血清型 23F; 1.22 $\mu\text{g/ml}$)、生食群 (血清型 14; 2.72 $\mu\text{g/ml}$, 血清型 19F; 3.00 $\mu\text{g/ml}$, 血清型 23F; 1.38 $\mu\text{g/ml}$) であった。PPV23 群の血清中特異 IgG はワクチン接種 2 ヶ月後にいずれの血清型でも生食群に比較して有意に増加した (血清型 14; 9.43 $\mu\text{g/ml}$ vs 2.77 $\mu\text{g/ml}$) , (血清型 19F; 7.32 $\mu\text{g/ml}$ vs 3.19 $\mu\text{g/ml}$) , (血清型 23F; 5.17 $\mu\text{g/ml}$ vs 1.40 $\mu\text{g/ml}$)。血中特異 IgG 濃度は接種後 2 ヶ月をピーク (血清型 14 > 19F > 23F の順) に緩やかに減少した。接種後 2 年後の抗体濃度 (PPV23 群 vs 生食群) は (血清型 14; 8.73 $\mu\text{g/ml}$ vs 3.02 $\mu\text{g/ml}$, 血清型 19F; 4.22 $\mu\text{g/ml}$ vs 3.08 $\mu\text{g/ml}$, 血清型 23F; 3.20 $\mu\text{g/ml}$ vs 1.60 $\mu\text{g/ml}$) であり、PPV23 群では少なくとも接種前値以上を維持したのに対し、生食群では抗体濃度は低値のまま 2 年間の有意な増減は無かった。

2) 血中 OPA titer(GMC)

ワクチン接種前の血清中 OPA titer は PPV23 群 (血清型 14; 26, 血清型 19F; 148, 血清型 23F; 19)、生食群 (血清型 14; 23, 血清型 19F; 118, 血清型 23F; 23) といずれの群も低値であった。PPV23 群の血清中 OPA titer はワクチン接種 2 ヶ月後にいずれの血清型でも生食群に比較して有意に増加した ($P < 0.05$) (血清型 14; 385 vs 26 $\cdot \text{g/ml}$) , (血清型 19F; 886 $\cdot \text{g/ml}$ vs 132

$\cdot \text{g/ml}$) , (血清型 23F; 348 vs 25)。血中 OPA titer のピークはワクチン接種 2 ヶ月後で、血清型 14 > 血清型 19F = 23F であった。ワクチン接種 2 年後の OPA titer (PPV23 群 vs 生食群) は (血清型 14; 81 vs 10) , (血清型 19F; 343 vs 59) , (血清型 23F; 67 vs 11) であり、PPV23 群では接種前以上の OPA titer を維持した。

小児においては 7 価コンジュゲートワクチン接種後の侵襲性感染症の予防閾値を特異 IgG 濃度 0.35 $\cdot \text{g/ml}$ とし、さらにこの閾値は OPA titer 8 以上と一致するとした (WHO 2005 年)。しかしながら、成人における侵襲性感染症や肺炎の予防閾値については未だ明らかでない。我々は OPA titer ≥ 8 以上の頻度を、PPV23 接種群、生理食塩水接種群で比較検討した。OPA titer ≥ 8 以上の頻度は血清型 14 では接種前で 90~100%、血清型 19F では 78~84%、血清型 23F では 57~74% であった。PPV23 接種群では血清型 14 では 90~95%、19F では 95~100%、血清型 23F では 80~90% の症例が接種後 2 年間に渡って OPA titer ≥ 8 以上を維持した。これに対し、生食接種群においては OPA titer ≥ 8 以上の頻度が血清型 14 は 100%~89% を 2 年間維持したものの、血清型 19F は 2 年間で 79%~52%、血清型 23F では 2 年間で 74%~47% へと低下した。

パート2：

1. 参加症例の基本データ

ワクチン群 50 例、非ワクチン群 50 例を登録し、各群の平均年齢 (AD) はワクチン群: 84.7 (7.7) 歳、非ワクチン群: 85.9 (7.3) 歳で、女性の比率はワクチン群で 85%、非ワクチン群で 88% であった。Performance status (SD) はワクチン群 2.9 (1.0)、非ワク

チン群 2.3(1.1)、BMI(SD)はワクチン群 20.6(4.0)、非ワクチン群では 20.2(3.9)であった。

2. 血清中特異 IgG 濃度

ワクチン群のワクチン接種前の血清中特異 IgG 濃度 (Geometric mean concentration: GMC) ($\mu\text{g/ml}$) は血清型 (3, 6B, 12F, 14, 19F, 23F) でそれぞれ (1.0, 1.9, 0.3, 2.9, 2.5, 1.4) であった。一方、PPV23 接種 1 ヶ月後の特異 IgG 抗体濃度は (1.87, 2.9, 0.8, 13.0, 7.0, 5.6) であり、接種前に比較してそれぞれの血清型で有意に増加した ($P<0.05$)。一方、非ワクチン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. 血清オプソニン活性

ワクチン群のワクチン接種前の血清中 log OPK (Geometric mean concentration: GMC) (titer) は血清型 (3, 6B, 12F, 14, 19F, 23F) でそれぞれ (0.9, 1.48, 1.47, 1.85, 1.62, 1.39) であった。一方、PPV23 接種 1 ヶ月後の血清中 log OPK は (2.77, 2.25, 2.43, 2.80, 2.50, 2.22) であり、接種前に比較してそれぞれの血清型で有意に増加した ($P<0.05$)。一方、非ワクチン接種群の血清中 log OPK は接種前後で全く変化なかった。

4. ワクチン接種群における接種前後の血清特異 IgG 抗体濃度とオプソニン活性の相関

血清型3について、接種前のIgGとOPAの相関は $P=0.125$ 、接種後の相関は $P=0.973$ であった。血清型6Bについて、接種前のIgGと

OPKの相関は $P=0.257$ 、接種後の相関は $P=0.052$ であった。血清型12Fについて接種前のIgGとOPAの相関は $P=0.806$ 、接種後の相関は $P=0.974$ であり、血清型3, 6B, 12Fいずれの場合も有意な相関が認められなかった。一方、血清型14, 19F, 23Fについては、接種前のIgGとOPAの相関はいずれも $P<0.0001$ 、接種後の相関もいずれも $P<0.0001$ と有意な相関を示した。

D. 考察

パート1：本研究において、PPV23 未接種の COPD 患者において主要な3血清型の血清中特異 IgG 濃度および血中 OPA titer は PPV23 接種において、少なくともワクチン接種後の2年間は生食群に対して有意に高値を維持できることが示された。生食群では血清中特異 IgG 濃度および血中 OPA titer とともに生食接種後2年間は低値のままであった。未だ COPD 患者の肺炎を予防する血清中特異 IgG 濃度および血中 OPA titer の閾値は明らかでないものの、血清型 19F, 23F については PPV23 群の OPA titer ≥ 8 以上の頻度が生食群のそれに比較して高いことから、少なくとも 19F, 23F による侵襲性感染症の予防には PPV23 接種の優位性があることが示唆された。

パート2：超高齢者における接種前の血清中特異 IgG 濃度および OPA 活性は全般に低く、PPV23 接種後に有意に増加した。しかしながら、血清型 3, 6B, 12F ではその免疫応答は軽度であったことから、これらの血清型 CPS 抗原は弱免疫原と考えられた。また、これらの血清型の IgG レベルは OPK

活性と相関せず、ELISA で検出する結合抗体にはかなりオプソニン活性を持たない IgG を測定していると考えられた。また、血清型 19F, 23F でもワクチン接種前ではかなり多くのオプソニン活性を欠く血清検体が多かった。これらの検討から、超高齢者における血清型特異的免疫応答の評価には OPA 活性が優れていると考えられた。

E. 結論

パート 1 : COPD 患者に対する PPV23 の初回接種により、血清中の主要血清型 14, 19F, 23F に対する特異 IgG 抗体および血清 OPA titer は接種前値に対して有意に上昇し、少なくとも 2 年間は接種前のレベル以上を維持した。一方、生食群では血清中特異 IgG および OPA titer は低値のままであり、接種 2 ヶ月後、6 ヶ月後、1 年後、2 年後のいずれの時点でも両群間における血清中特異 IgG および OPA titer に有意な差を認めた。COPD 患者における PPV23 接種による接種後 2 年間の特異抗体とりわけ血清オプソニン活性の増強効果は、本症における感染増悪や肺炎に対する予防効果を示唆している。

パート 2 : 超高齢者における PPV23 接種による主要 6 血清型に対する免疫原性が明らかになった。血清型 3, 6B, 12F では IgG 濃度と OPA 活性の相関は低く、特にワクチン接種前に OPA 活性を欠く血清検体が多かった。超高齢者の血清型特異的免疫応答は OPA 活性で評価すべきと考えられる

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

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. 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
3. Kawakami K, Ohkusa Y, Kuroki R, Tanaka T, Koyama K, Harada Y, Iwanaga K, Yamaryo T, Oishi K. Effectiveness of pneumococcal polysaccharide vaccine against pneumonia and cost analysis for the elderly who receive seasonal influenza vaccine in Japan. *Vaccine*, 28:7063-7069, 2010
4. Kerdsin A, Uchida R, Verathamjamrus C, Puangpatra P, Kawakami K, Sawanpanyalert P, Dejsirilert S, Oishi K. Development of triplex SYBR green real-time PCR for detecting *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae* and *Legionella* spp., without extraction of DNA. *Jap J Infect Dis* 63: 173-180, 2010
5. Champunot R, Tanjatham S, Kerdsin A,

- Puangpatra P, Wangsai S, Treebuphachatsakul P, Tasnuphaswasdikul S, Kiatvitchukul C, Kasyanan H, Yimsabai J, Akeda Y, Kawakami K, Sawanpanyalert P, Dejsirilert S, Oishi K. Impact of severity of pandemic influenza (H1N1) virus-associated community-acquired pneumonia among adults in a tertiary hospital in Thailand. *Jap J Infect Dis*, 63:251-256, 2010
6. Ezoe H, Akeda Y, Piao Z, Aoshi T, Koyama S, Tanimoto T, Ishii KJ, Oishi K. Intranasal vaccination with pneumococcal surface protein A plus poly(I:C) protects against secondary pneumococcal pneumonia in mice. *Vaccine* 29:1754-1761, 2011.
7. Piao Z, Oma K, Ezoe H, Akeda Y, Tomono K, Oishi K. Comparative effects of toll-like receptor agonists on a low dose PspA intranasal vaccine against fatal pneumococcal pneumonia in mice. *J Vaccines Vaccin* 2:1, 2011 <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7560.1000113>
8. Kataoka K, Fujihashi K, Oma K, Fukuyama Y, Hollingshead SK, Fukui M, Sekine S, Kawabata S, Ito H, Briles DB, Oishi K. Nasal dendritic cell targeting Flt3 ligand as a safe adjuvant elicits effective protection against fatal pneumococcal pneumonia. *Infect Immun*, 79: 2819-2828, 2011
9. Kerdsin A, Dejsirilert S, Puangpatra P, Sripakdee S, Chumla K, Boonkerd N, Polwichai P, Tanimura S, Takeuchi D, Nakayama T, Nakamura S, Akeda Y, Gottschalk M, Sawanpanyalert P, Oishi K. Genotypic profile of *Streptococcus suis* serotype 2 and clinical features of infection in humans, Thailand. *Emerg Infect Dis* 17:835-842, 2011.
10. Kerdsin A, Dejsirilert S, Sawanpanyalert P, Boonnark A, Noithachang W, Sriyakun D, Simkum S, Chokngam S, Gottschalk M, Akeda Y, Oishi K. Sepsis and spontaneous bacterial peritonitis in Thailand. *Lancet* 378:960, 2011
11. Uchida Y, Matsubara K, Wada T, Oishi K, Morio T, Takada H, Iwata A, Yura K, Kamimura K, Nigami H, Fukaya T. Recurrent bacterial meningitis by three different pathogens in an isolated asplenic child. *J Infect Chemother*. DOI 10.1007/s10156-011-0341-z
12. Alonzo MTG, Lacuesta TLV, Dimaano EM, Kurosu T, Suarez LC, Mapua CA, Akeda Y, Matias RR, Kuter DJ, Nagata S, Natividad FF, Oishi K. Platelet apoptosis and apoptotic platelet clearance by macrophages in secondary dengue virus infections. *J Infect Dis* (in press)
13. Takeuchi D, Kerdsin A, Pienpringam A, Loetthong P, Samerchea S, Pakkinee