

表3 百日咳菌感染症患者～DPTワクチン接種歴

症例	年齢	DPT1回目	DPT2回目	DPT3回目	DPT4回目	最終接種後 百日咳罹患 までの期間
1	8歳	8か月	9か月	1歳0か月	2歳0か月	6年5か月
2	8歳	7か月	8か月	9か月	2歳0か月	6年6か月
3	7歳	5か月	6か月	7か月	1歳9か月	5年7か月
4	7歳	1歳1か月	1歳2か月	1歳4か月	2歳5か月	7年11か月
5	4歳	5か月	6か月	8か月	1歳10か月	2年6か月
6	3か月	3か月	—	—	—	—
	4か月	3か月	4か月	—	—	—
7	5歳	11か月	1歳1か月	1歳2か月	2歳3か月	3年7か月
8	11歳	3か月	7か月	8か月	2歳0か月	9年8か月

百日咳患者における血清診断の評価に関する研究

研究分担者：砂川 富正（国立感染症研究所感染症情報センター主任研究官）
研究協力者：安藤 由香（国立感染症研究所実地疫学専門家養成コース（FETP））
研究協力者：神谷 元（国立感染症研究所感染症情報センター研究員）
研究協力者：大平 文人（国立感染症研究所感染症情報センター協力研究員）
研究協力者：土橋 酉紀（国立感染症研究所感染症情報センター協力研究員）
研究協力者：蒲地 一成（国立感染症研究所同細菌第二部長）

研究要旨

2010年11月に探知され、翌2011年3月まで続いた、宮崎県延岡市の中学校を中心とする百日咳集団発生事例への積極的疫学調査に関連して、流行・非流行と状況の異なる2つの中学校で、菌凝集素価および抗PT抗体価の有用性を検証した。流行の認められたA中学校は、全生徒122名（男：59名、女：63名）、流行の認められなかったB中学校は、全生徒107名（男：55名、女：52名）で、この2つの中学校生徒において、菌凝集素価（40倍以上）の有意な差は認めなかったが、130EU/mLを指標とした抗PT抗体価では有意に差を認めた。抗PT抗体価（130EU/mL以上）は、A中学校で2週間以上の咳を認めた者において高値をとるものの割合が多かった。LAMP法・PCR法をgold standard 検査とし、130EU/mLを指標として抗PT抗体価を評価した場合、感度は低かったが、菌凝集素価と比べて、特異度、陽性適中率、陽性結果の尤度比ともに高かった。各検査のROC曲線から、抗PT抗体価検査法が最も有用と考えられた。最適なカットオフ値は、640EU/mLと算出された。しかし、様々な制限下での検討であり、さらなるデータの集積が必要である。

A. 研究目的

国内では、乳幼児のみならず増加している青年や成人の百日咳について、従来用いられてきた菌凝集素価（東浜株、山口株）40倍以上を陽性として診断する例が少なくなかった。一方で、ワクチン既接種者や成人には、菌凝集素価の適応は困難とする報告が相次いでいる（国立感染症研究所など. IASR. Vol.32. p236-237. 2011）。また、世界的な標準として百日咳菌毒素抗体（抗PT抗体）価の測定も行われているが、我が国からの報告において有効なカットオフ値の十分なデータは示されていない。近年、実際の百日咳集団発生事例において、上記の検証を包括的に行った事例はほとんど無いと考えられる。

2010年11月下旬、宮崎県延岡保健所管内の中学校を中心とする百日咳が集団発生し、延岡保健所が対応を開始した。同年12月上旬、流行の認められたA

中学校（海側）、流行の認められなかったB中学校（内陸側）において採血、DTP接種歴・咳症状等に関する同内容のアンケート調査（2011年1月にも再アンケート）を実施した。A中学校においては疑い例に菌分離、遺伝子検査も行われた。

本研究においては、百日咳の流行の認められた集団、および流行の認められなかった集団において、血清菌凝集素価、血清抗PT抗体価をそれぞれ測定し、遺伝子検査（LAMP法・PCR法）の結果をgold standardに、菌凝集素価の信頼度や最も適した血清診断法について評価することを目的とした。

B. 研究方法

本研究は2010年8月25日から2011年4月26日の期間を対象として、宮崎県延岡保健所および国立感染症研究所により、感染症法第15条に基づく積極的疫学

調査として行われた宮崎県延岡市北浦地区の百日咳集団発生事例調査に伴い得られた情報を用いている。

特に本研究班における研究においては、宮崎県延岡市内の2つの公立中学校を対象とした。

対象：A中学校（流行：全生徒122名、乳幼児期のDTP I 4回完了率：94.9%）

B中学校（非流行：全生徒107名、乳幼児期のDTP I 4回完了率：71.3%）

（遺伝子検査を実施した症例はA中学校の17名）

上記の2中学校生徒に対して、以下の検査および調査が行われた。

・血清学的検査（単血清）：2010/12/10採血…それぞれ下記施設で検査。

百日咳菌凝集素価（東浜株・山口株）…宮崎県衛生環境研究所。

抗PT抗体価…国立感染症研究所細菌第二部。

なお、抗PT抗体価の測定には体外診断薬として申請中の百日せき抗体EIA「生研」を使用した。未販売の試薬を用いた検査のため、保護者への説明については書面で行い、保護者の同意を以て検査実施とした。

・鼻腔咽頭ぬぐい液を用いたLAMP法・PCR法検査…宮崎県衛生環境研究所。

・自記式質問紙票調査（全生徒保護者に記入を依頼）
症状、出現日、投薬、ワクチン接種歴、有症者との接触歴、その他

積極的疫学調査、および本研究においては、症例定義を以下のように定めた。

<疫学調査上の症例定義>

2010年8月25日以降に発症し、延岡市内の医療機関（病院16、診療所86）を受診した者あるいは延岡市内に居住している者で、以下の定義を満たす者（咳を認めた日を発症日とする）

・疑い例（suspected case）

臨床診断基準*は満たさないが、その2項目中1つでも合致する者

・可能性例（probable case）

臨床診断基準*は満たすが、細菌検査（培養、LAMP法、PCR法）陰性か市販の抗PT抗体検査100EU/mL未満、あるいは検査未実施の者

・確定例（confirmed case）

咳があり（期間は不問）、かつ以下の3項目中、い

ずれかを満たす者（ただし他の病原体が検出された者は除く）

・培養検査が陽性

・LAMP法（PCR法）が陽性

・市販の抗PT抗体検査が高値（100EU/mL以上）

*臨床診断基準

以下の1かつ、2を満たす者

1. 14日以上続く咳

2. 突然、連続しておこる咳（スタッカート）、あるいは咳き込み後の吸気時喘鳴（ウーブ）をとまなう咳

分析の方法としては、上記2校における患者発生状況と各検査値の比較について、2×2表から χ^2 検定を行い（期待度数5未満のセルが1つ以上存在するときはFisherの正確確率検定を行った。）、有意水準は両側5%未満とした。LAMP法・PCR法をgold standard検査として、一般的に用いられているカットオフ値を利用し各検査の頻度に関する2×2表から感度・特異度・陽性適中率・陽性尤度比の推定を行った。さらに、ROC曲線から、有用な検査法を推定し、最適なカットオフ値を求めた（使用統計ソフト：PASW Statistics 18）。

（倫理面への配慮）

本研究は、感染症法に基づく積極的疫学調査より得られた情報をベースとしているため、調査を実施する上で倫理委員会の承諾を必要としない性質のものである。ただし、得られた情報については、全ての個人情報（氏名、学級など）は延岡保健所が管理し、当研究グループはそれら以外の疫学情報および検査結果を共有した。

C. 研究結果

患者発生状況による比較：

調査期間中のA中学校（全校生徒数122人）における症例数は計27人（確定例10人、可能性例6人、疑い例11人）であった。この確定例（n=10）については、男子生徒が8人と多く認められた。確定診断の根拠としてはLAMPのみ陽性、あるいはLAMP/PCR共に陽性が8人と最多で、うち菌分離が4人において陽性となっていた。LAMP法以外の診断となった2人は抗PT抗体が100 EU/mLより高値となつての診断確定であった。また、B中学校（全校生徒数107人）における症例数は5人（可能性例2人、疑い例3人）であり、確定例は無かった。A中学校での真の患者発生の状況に対して、B中学校ではベースラインの情報を捨てていたと考

えられた(通常時の情報については未把握)。2中学校での疫学調査上の症例分布について、図1に示すように、患者発生A中学校において症例が有意に多かった(X^2 検定： $p<0.01$)。

百日咳菌凝集素価分布についての比較：

両中学校における百日咳菌凝集素価分布について、東浜株・山口株いずれかの菌凝集素価40倍以上で比較してみると(図2)、統計学的上有意差は認められなかった(X^2 検定 $p=0.365$)。非発症例においても、菌凝集素価が高い生徒も散見された。

抗PT抗体価分布についての比較：

両中学校における抗PT抗体価分布については、両中学校において、カットオフ値100 IU/mLをEUに変換し、抗PT抗体価130 EU/mLを指標とした場合、生徒の分布に違いが有るかどうかを検討した(図3)。その結果、抗PT抗体価130 EU/mL以上を示す者の割合において有意な差を認めた(X^2 検定 $p=0.025$)。

A中学校における症状および抗PT抗体価のレベルについて分析：

流行が認められたA中学校において、症状および抗PT抗体価のレベルについて分析を行った(図4)。また、流行の認められたA中学校において、14日以上咳を有していたものは、有意に抗PT抗体価130EU/mL以上を示すものが多かった(Fisherの直接法* $p<0.01$)。(*Fisherの直接法を行った理由： X^2 検定を行うときに、期待度数5未満のセルが全セルに対して20%以上存在していたため。)

抗PT抗体価検査の評価：

LAMP陽性者(130EU/mL指標)のうち、感染が成立してもから抗体価上昇までに達していないと考えられる、発症から2週間未満での採血者を除外して、抗PT抗体価検査の評価を試みた(図5)。これまで最も感度・特異度が良いとされているIS481-PCRを指標にした場合(参考：Kosters K, Riffelmann M, Wirsing von Konig CH. Evaluation of a real-time PCR assay for detection of *Bordetella pertussis* and *B. parapertussis* in clinical samples. *J Med Microbiol* 2001; 50:436-40.)、LAMP法の感度は83%、特異度は95%であった。そこで、LAMP法・PCR法をgold standardとして、検査法の評価を行った。抗PT抗体価130EU/mLを指標とし

て算出した場合、感度、特異度、陽性的中率、陽性結果の尤度比は、それぞれ66.7%、66.7%、57.1%、2.0であった。同様に菌凝集素価について40倍以上を指標として算出すると(菌凝集素価非上昇の影響を避けるために発症から4週間未満での採血者を除外)、感度、特異度、陽性的中率、陽性結果の尤度比は、それぞれ100.0%、44.4%、16.7%、1.8となった。ただし、感度の100%は、gold standard検査陽性および菌凝集素価検査40倍以上が同一の1人のみであった結果を受けている。特異度、陽性適中度、陽性結果の尤度比共に抗PT抗体価より低値であった。

ROC(受信者動作特性：receiver operating characteristic)曲線および抗PT抗体価最適カットオフ値の推定(図6)：

このような結果を踏まえ、LAMP法陽性(発症から2週間以内採血者を除く)をgold standardとして、それ以外での各検査のROC(受信者動作特性：receiver operating characteristic)曲線から、有効な検査法を推定した。得られた各検査の曲線下の面積(AUC)から、抗PT抗体価が最も有用な検査法と算出された。また、抗PT抗体価検査において、他のカットオフ値を調査した。抗PT抗体価の最適なカットオフ値は、640EU/mLで、その際の感度66.7%、特異度=88.9%、陽性適中率80.0%、陽性結果の尤度比(LR)は6.1、となった。

D. 考察

菌分離やLAMP法陽性例を含む真の百日咳流行が発生した集団およびそうでない集団より得られた疫学情報および検査診断の情報を用いて、従来用いられることの多い菌凝集素価、および抗PT抗体価について、それぞれの有用性を検証した。菌凝集素価は、流行・非流行集団の間で、統計学的上有意な差を認めず、非発症例においても、菌凝集素価が高い生徒も散見された。すなわち、菌凝集素価(40倍以上)では流行を推し量る結果は得られず、検査として有用とは考えにくかった。この結果は、国立感染症研究所などが指摘している結果と同様であり、菌凝集素価が日常診療において有用ではないことを示唆するものである。また、抗PT抗体価(130EU/mL)については、有意に流行状況を反映しており、また、2週間以上の咳を認めた者において高値をとる者の割合も多く、一般的な臨床症状からみても有用な検査法と考えられた。LAMP法・PCR法をgold standard検査と

し、130EU/mLを指標として抗PT抗体価を評価した場合、感度は66.7%と低かったが、菌凝集素価と比べて、特異度、陽性適中率、陽性結果の尤度比ともに高かった。特に青年・成人期の百日咳の血清診断において、この130EU/mL以上という指標が適正であるかどうかは、今後のデータ集積が必要である。ROC曲線などを用いて、抗PT抗体価のカットオフ値を算出しようとしたが、その最適な値は、640EU/mlと高値となった。しかし、厳密にはサンプル数の少なさが影響を与えているものと考えられるほか、本研究のみの結果の解釈においても、実際の検査の目的(乳児への感染を防ぐため広く発見すること)や疾患の性質(有効な薬があることなど)から、false positiveが多くなってもtrue positiveを高くすることが重要と考えるため、最適なグラフ上のカットオフ値は、もう少し右上方向へ持って行くべき、つまりカットオフ値は下げるべきと考察された。

現段階では、百日咳を疑った場合は、LAMP法・PCR法などの遺伝子検査を選択することが望ましいが、次の選択肢としては、抗PT抗体価が最も有用であり、実地臨床家にとって汎用性が高い、と考える。発症から採血までの日数が統一されておらず、また、検査実施例が少なかった影響などから厳密な評価が困難であり、今後さらなるデータの集積が必要と考えられる。

本研究における制限は以下の通りである。

- ・遺伝子検査(LAMP法・PCR法)を実施した人数が少ない。
- ・Cross sectional studyのため、発症から採血日までの日数が統一されておらず、厳密な評価が困難であった。来年度は高知県で、百日咳サーベイランスを実施し、遺伝子検査に基づいた診断症例をサーベイランスで集めていく予定であるが、その中で、検査陽性例と抗体価の関係をさらに検討できると考えている。

E. 結論

百日咳の流行・非流行の集団を対象に血清診断系の精度を検証した。現在も臨床現場で汎用されている菌凝集素価は有用ではなかった。LAMP法・PCR法をgold standard検査とし、130EU/mLを指標として抗PT抗体価を評価した場合、感度は低かったが、菌凝集素価と比べて、特異度、陽性適中率、陽性尤度比ともに高く、また各検査のROC曲線から、抗PT抗

体価検査法は有用な血清診断法であると考えられた。今後、さらなるデータの集積が必要である。

謝辞

本調査に多大なご協力を頂きました、宮崎県福祉保健部健康増進課、宮崎県衛生環境研究所、延岡保健所、延岡市、延岡市医師会、県立N病院、T医院、A診療所、その他関係医療機関、NK高校、A中学校、A小学校、A幼稚園、B中学校、その他の関係各位、また、データ分析等でご協力いただいた国立感染症研究所情報センター鳥田智恵先生に深く感謝申し上げます。

F. 健康危険情報

なし

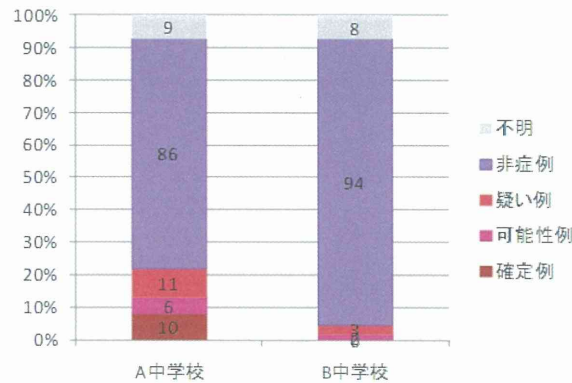
G. 研究発表

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)

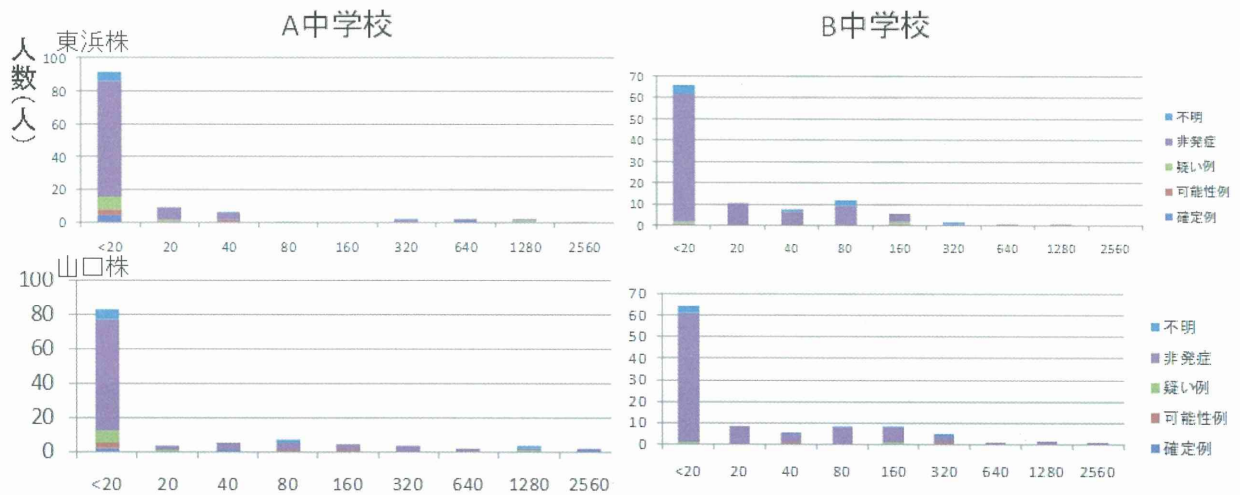
1. 特許取得
該当せず
2. 実用新案登録
該当せず
3. その他
特になし

	症例(人)	非症例(人)	計(人)
A中学校 (流行あり)	27 (確定例10、可能性例6、 疑い例11)	86	113
B中学校 (流行なし)	5 (可能性例2、疑い例3)	94	99
計	32	180	212



χ^2 検定 $p < 0.01$

図 1. 2つの中学校での疫学調査上の症例分布

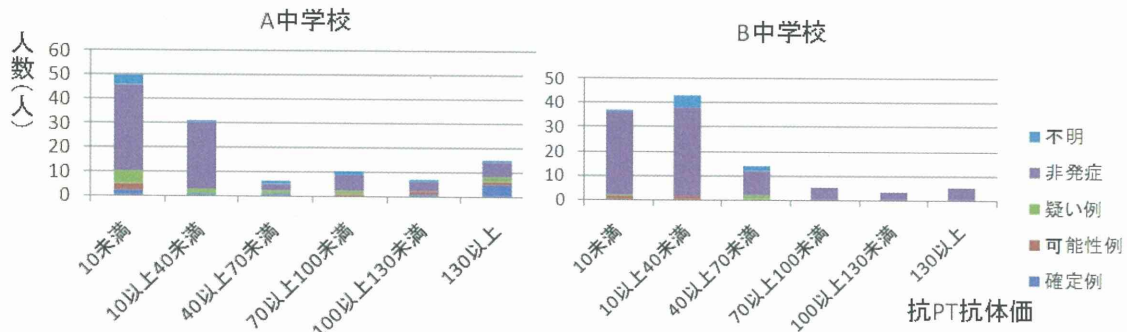


	*40倍以上(人)	*40倍未満(人)	計
A中学校 (流行あり)	38	82	120
B中学校 (流行なし)	40	67	107
計	78	149	227

* 東浜株・山口株いずれか40倍を指標とした

χ^2 検定 $P = 0.365$

図 2. 2つの中学校における菌凝集素価分布

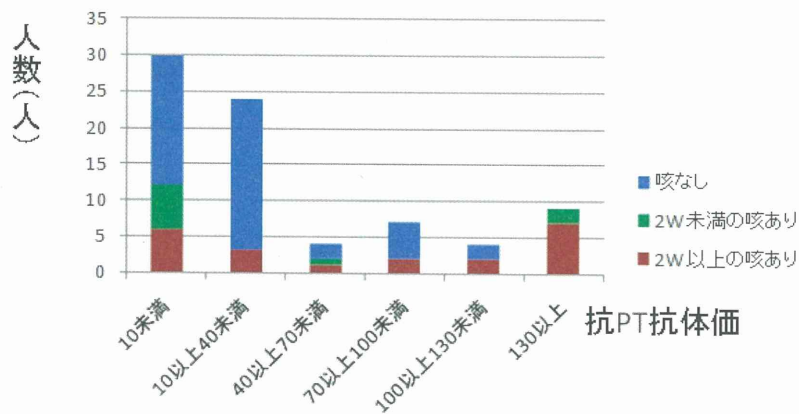


	130 EU/mL*以上 (人)	130 EU/mL*未満 (人)	計
A中学校 (流行あり)	16	104	120
B中学校 (流行なし)	5	102	107
計	21	206	227

*欧米での感染カットオフ値100IU/mLをEUに変換 (f=1.30)

X²検定 p<0.05

図 3. 2つの中学校における抗 PT 抗体価分布



	抗PT抗体価 130EU/mL以上	抗PT抗体価 130EU/mL未満	計
14日以上の 咳あり(人)	7	14	21
咳なし(人)	0	48	48
計	7	62	69

Fisher の直接法 p<0.01

図 4. 流行のあった A 中学校における抗 PT 抗体価別有症者分布

LAMP法 (PCR法; 1名のみLAMP法陽性・PCR法陰性)

抗PT抗体価	LAMP法 (PCR法; 1名のみLAMP法陽性・PCR法陰性)		
	+	-	計
130EU/mL以上	4	3	7
130EU/mL未満	2	6	8
計	6	9	15

感度 66.7% (*100.0%)
 特異度 66.7% (*44.4%)
 陽性適中率 57.1% (*16.7%)
 陽性結果の尤度比 2.0 (*1.8)

(*括弧内は、発症から4週未満での採血者を除く凝集素価40倍指標の場合)

図 5. 抗 PT 抗体価検査の評価 (130EU/mL 指標) :

(LAMP 陽性者のうち、発症から 2 週間未満での採血者を除外)

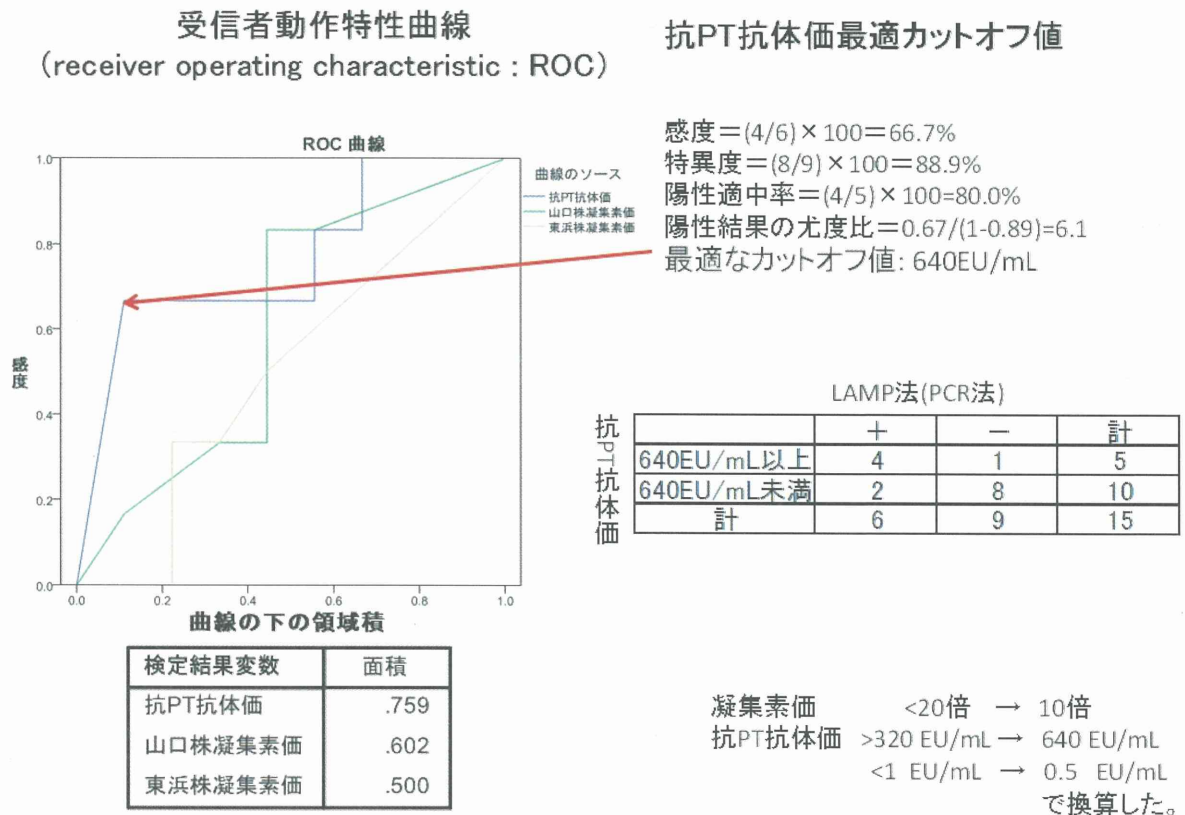


図 6. ROC (受信者動作特性) 曲線および抗 PT 抗体価最適カットオフ値の推定

佐賀大学における百日咳集団発生における血清学的検討

研究分担者：原 めぐみ（佐賀大学医学部社会医学講座予防医学分野）
研究分担者：岡田 賢司（国立病院機構福岡病院小児科）
研究分担者：中野 貴司（川崎医科大学小児科）
研究分担者：大藤 さとこ（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学）
研究分担者：砂川 富正（国立感染症研究所感染症情報センター）
研究協力者：蒲地 一成（国立感染症研究所）
研究協力者：島田 智恵（国立感染症研究所感染症情報センター）
研究代表者：廣田 良夫（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学）

研究要旨

本邦における思春期以降の百日咳患者増加には、接種後抗体価の低下が関与している可能性も指摘されており現行のワクチンプログラムの効果を評価する必要がある。2010年の佐賀大学医学部における百日咳の集団流行直後に後ろ向きコホート研究を実施した。1～4年生の636人（在籍者671人中95%）から発症状況の調査票を実施し、うち516人が血清を提供した。入学時に、抗PT抗体、抗FHA抗体が10(EU/ml)未満の抗体陰性者の割合はそれぞれ45%、17%であり、半数近くが有効な抗体を保持していなかった。また抗PT抗体、抗FHA抗体が100(EU/ml)以上のものもそれぞれ4%、11%あり、入学前の感染の可能性が示唆された。WHOの臨床診断基準である、①14日以上続く咳があり、かつ、②吐きそうになる咳、③突然連続して起こる咳、④‘whoop’を伴う咳を満たす「可能性例」が82人であったが、そのうち流行後に抗PT抗体が100(EU/ml)以上となったのは1例のみであった。一方、流行終了後の抗PT抗体価が入学時より2倍以上上昇が8人、流行後のPT抗体が100(EU/ml)以上が15人と血清学的に百日咳の感染が疑われるものが23人いたが、その中で「可能性例」は1人のみであった。また、Lamp法により百日咳が検出された者が3人いたが、いずれも流行後のPT抗体は100未満であった。以上より不顕性感染の疑いや、思い出しバイアス、誤分類、感染の既往の混在、検体採取時期などの影響が考えられた。抗PT抗体、抗FHA抗体のIgG、IgM、IgA抗体を測定したところ、各抗体の陽性(11.5(IU/ml)以上)割合は、入学時20%、8%、0%、流行終了後18%、10%、0%、IgGとIgM両方が陽性の割合は入学時1.9%、流行後2.3%であった。WHOの臨床診断を基準として抗PT抗体100(EU/ml)以上と、IgGとIgM両方が陽性をカットオフとした場合の感度、特異度は、前者が1.3%と96.8%、後者が6.7%、98.4%でありクラス別抗体を測定することで診断の精度が高まる可能性が示唆された。母子手帳でワクチン接種歴を確認できている284人について乳幼児期のDTPワクチンを推奨通り接種した(初期3回+追加1回、計4回)場合のワクチンの有効性に関して検討した。ワクチン接種回数による入学時の抗体保有割合に差はみられなかった。WHOの臨床診断基準に基づく可能性例をアウトカムとすると、4回接種者は4回未満に比べてオッズ比0.37(95%CI:0.14-0.96)となり、有効率は63%(95%CI:4-86)と推計された。同様に医療機関診断例をアウトカムとするとオッズ比0.86(95%CI:0.19-3.97)、PT抗体100(EU/ml)以上をアウトカムとするとオッズ比0.48(95%CI:0.10-2.37)、IgGとIgM両方が陽性をアウトカムとするとオッズ比0.24(0.04-1.31)と統計学的に有意な有効性を検出できず、誤分類やバイアスの影響が考えられた。

A. 研究目的

近年、百日咳ワクチンの接種率は依然高いにもかかわらず、百日咳の報告患者数が徐々に増加している。本邦における思春期以降の百日咳患者増加には、接種後抗体価の低下が関与している可能性も指摘されている。青年・成人層の患者については、非典型的のことが多く、診断が困難なため、青年・成人保菌者が気付かないうちに乳幼児の感染源となることが問題である。乳児期早期の重症化や死亡を防ぐには、まずは全体の患者数を減少させる対策が必要であり、そのためには現行のワクチンプログラムの効果を評価し、思春期に追加接種を行う必要があるかなども検討する必要がある。

平成22年5月、佐賀大学医学部の学生において百日咳の集団感染が確認された。そこで、本研究では、医学部1～4年生全員を対象に、流行終了直後に後ろ向きコホート研究を実施した。なお、本集団のうち2～4年生は入学時の血清が保存され、1,2年生はワクチン接種歴について母子手帳の情報が存在した。

B. 研究方法

1. 対象

流行終息後の7月初めに、佐賀大学医学部医学科1年生から4年生(在籍数411人)、看護科1年から4年生(在籍数260人)について、説明文書を用いて研究目的、協力の諸条件を説明して、調査票による発症状況、感染経路、生活習慣、既往歴の調査、母子手帳のワクチン接種歴のページのコピーの提出、採血からなる研究参加への同意を得た。636人が調査票に回答した。

今回、WHOの臨床診断基準である、①14日以上続く咳があり、かつ、②吐きそうになる咳、③突然連続して起こる咳、④‘whoop’を伴う咳を満たすものを「可能性例」、4項目のうち1つでも満たすものを「疑い例」として発症状況を検討した。

採取した血清を用いて、抗PT抗体、抗FHA抗体、抗PT抗体と抗FHA抗体の抗体をクラス別にIgG、IgA、IgM(ノバグノスト百日咳 体外診断薬の治験として実施)について測定し、入学時の抗体保有状況、入学時と流行終了後の抗体価の推移、血清学的診断について検討した。母子手帳でワクチン接種歴を確認できている284人について乳幼児期のDTPワクチンを推奨通り接種した(初期3回+追加1回、計4回)場合のワクチンの有効性に関して検討した。

(倫理的配慮)

本研究では、説明文書を用いて十分説明したうえで本人より同意を得ている。また、研究に参加しない場合でも不利益になるようなことがないように配慮した。研究計画については、佐賀大学医学部の倫理審査委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1～4年生の636人(在籍者671人中95%)から発症状況について調査票による調査を実施し、うち516人が血清を提供した。また、2～4年生のうち379人の入学時血清が保存されており、350人は入学時と流行終了時の血清がペアでそろった。1,2年生、248人は入学時に母子手帳のコピーを提出していた。

1. 調査票による発症状況

636人(在籍者671人中95%)中、可能性例84人、疑い例161人と、245人が百日咳様症状を呈していた。学年別の発症状況は1年生でもっと多く、学年が上がるほど数ない傾向が見られた(図1)。

2. 血清学的検討

(1) 入学時と流行終了後の抗体保有状況

大学入学時の抗体保有状況は、抗PT抗体、抗FHA抗体が10未満のものがそれぞれ45%、17%と半数近くは抗体陰性と考えられた。一方で、両抗体価が100以上を示し、入学前の感染の既往が疑われるものがそれぞれ4%、11%あった(図2)。入学時と流行後の抗体保有状況の分布に差はなく、流行によるブースター効果はみられなかった(図3)。

(2) 血清学的診断の検討

流行終了後のPT抗体が入学時より2倍以上上昇した者が8人(うち3人は4倍以上上昇)、流行終了後の抗PT抗体が100(EU/ml)以上の者が15人と、血清学的に百日咳が疑われる者が23人いたが、その中でWHOの臨床診断基準をすべて満たす可能性例は1人、いずれかを満たす可能性例が9人であった。一方、臨床診断で可能性例84人のうち75人は血清学的診断が可能であったが流行後抗PT抗体が100(EU/ml)以上の者は1人、医療機関で百日咳の診断を受けた58人のうち53人は血清学的診断が可能であったが流行後抗PT抗体が4倍以上上昇の者が1人であった。百日咳の診断を受けたもののうち21人は大学病院内の感染制御部を受診しており、その中からLamp法により百日咳菌の

DNAが検出できたのは、3人(WHOの診断基準で疑い1人、可能性2人)は、抗PT抗体は100(EU/ml)未満であった。流行曲上に血清学的診断例、Lamp法による診断例の咳の出現時期について記した(図4)。

(3) 抗PT抗体、抗FHA抗体の抗体クラス別測定結果
IgG抗体、IgA抗体、IgM抗体の抗体価11.6(IU/ml)以上を陽性とする、入学時の血清ではIgG抗体、IgA抗体、IgM抗体の陽性割合はそれぞれ、19.5%、0%、7.9%でIgG抗体、IgM抗体両方陽性の割合は1.9%であった。同様に流行終了後の血清ではIgG抗体、IgA抗体、IgM抗体の陽性割合はそれぞれ、18.0%、0%、9.7%でIgG抗体、IgM抗体両方陽性の割合は2.3%であった(図5)。

従来の抗PT抗体と、クラス別抗体測定の実験診断の有効性について、臨床診断をゴールドスタンダードとして評価した(表1)。抗PT抗体の抗体価の閾値を高くするほど特異度は高く、抗PT抗体100以上を血清学的診断基準とすると特異度は96.8%であった。クラス別抗体の検討では、IgG抗体、IgM抗体両方陽性例で特異度が98.4%と、従来の方法より高かった。

より特異度の高い血清学的診断基準であるIgG抗体、IgM抗体両方陽性をスクリーニングするのに有効な臨床所見について検討した(表2)。Whoopを伴う咳が特異度が最も高かった。

3. 乳幼児期の三種混合ワクチンの接種歴との関連

(1) ワクチン接種回数と入学時の血清抗体価

ワクチン接種歴と入学時の血清がそろっている108人について、接種回数別に抗体価の分布を検討した(図6)。乳幼児期のDTPワクチンを推奨通り接種した(初期3回+追加1回、計4回)85人と、接種していない23人の、入学時の抗PT抗体10未満の抗体陰性者の割合に統計学的有意差はみられなかったが、それぞれ49%(42人)、30%(7人)であった。

(2) ワクチンの有効性

ワクチン接種歴と流行後血清のそろった1,2年生248人分のデータを用いて、乳幼児期のワクチン接種歴の有効性について、WHOの臨床診断、医療機関での診断、流行後の抗PT抗体100(EU/ml)以上、クラス別抗体測定でIgGとIgMの両方が陽性の4つの指標に対するオッズ比で評価した(表3)。

乳幼児期のDTPワクチンを推奨通り接種できていない場合に比べ、接種できた場合の各指標のオッズ

比は、WHOの臨床診断基準に対しては0.37(95%CI:0.14-0.96)、有効率は63%(95%CI:4-86)と推計され、統計学的に有意な有効性が検出された。性、学年、既往歴、医療機関への受診を調整しても結果は変わらなかった。一方、医療機関診断例ではオッズ比0.86(95%CI:0.19-3.97)、有効率14%(95%CI:-297-81)、流行後の抗PT抗体100(EU/ml)以上ではオッズ比0.48(95%CI:0.10-2.37)、有効率52%(95%CI:-137-90)、IgGとIgMの両方が陽性ではオッズ比0.24(95%CI:0.04-1.31)、有効率76%(95%CI:-31-96)と統計学的に有意な有効性は検出できなかった。

D. 考察

佐賀大学医学部の学生における百日咳の集団感染において、調査票による発症状況調査、保存血清および流行終了後の血清を用いた血清学的検討、母子手帳で確認した乳幼児期の三種混合ワクチンの接種歴を用いたワクチンの有効性についての検討を行った。

入学時の血清抗体価の分布をみると約半数は抗体陰性だった。抗PT抗体は感染後1年以内には50%~80%低下し、5年で10未満になると言われているが、入学時に抗PT抗体が100以上の者が4%いた。これらは、入学前1年以内に百日咳に感染していた可能性が考えられた。

血清学的に百日咳の感染が疑われたもののうちWHOの臨床診断基準を満たす者は少なかった。これは、不顕性感染の可能性、思い出しバイアスの他、臨床診断の限界や、血清診断では感染の既往の紛れ込みなどが影響した可能性が考えられた。反対にWHOの臨床診断基準を満たす者のうち血清学的に百日咳が疑われる者も少なく、医療機関で診断を受けた者のうち血清学的に百日咳が疑われる者も少なかった。これらは、思い出しバイアスや臨床診断基準の限界の他、採血時期の遅れのためにすでに抗体価が減少しはじめた者がいた可能性や、医療機関への受診干渉の時期、受診行動の影響や医療機関での診断方法の問題などが考えられた。また、Lamp法で百日咳菌のDNAが検出された者は検体採取21人中3人と少なく、陽性者でさえ血清学的診断がつかなかった。これは検体収集時期がすでに流行のピークを終えていたことや、手技の問題、採血時期の遅れなどが考えられた。

抗体クラス別測定法を用いてIgG抗体、IgM抗体陽性を血清学的診断基準とした場合の方が、従来の抗PT抗体100(EU/ml)以上を基準とした場合よりも、臨

床診断の特異度が高かった。このことは、抗PT抗体のみで判断すると感染の既往者が含まれてしまうことを回避できる可能性が示唆される。今回、菌分離やDNA検出をゴールドスタンダードとして検討できていないので、今後さらなる確認が必要である。また、特異度の高いIgG抗体、IgM抗体の両方陽性を検出する臨床症状としてはwhoopを伴う咳が最も特異度が高いことが明らかになった。

ワクチンの接種歴と抗体保有状況の検討では、接種回数による陰性割合に有意差はみられなかった。しかし、接種回数の少なかった群で抗体陰性割合が少ない傾向があり、入学前に感染した者がいた可能性も考えられた。ワクチンの有効性の検討では推奨通り接種した場合に比べ、接種していない場合の臨床診断基準に対するオッズ比が2.70(1.04-7.14)と有意な上昇を示した。性、学年、基礎疾患を調整しても同様の結果が得られた。一方、医療機関診断、抗PT抗体100(EU/ml)以上、IgG抗体、IgM抗体陽性を結果指標とした場合、いずれも統計学的有意差は検出できなかった。また、臨床診断に比べ、医療機関診断や抗PT抗体を結果指標にした場合のオッズ比は小さく保健医療行動の影響や既往感染の影響などが考えられた。一方、IgG抗体、IgM抗体陽性を結果指標とした場合、臨床診断を結果指標にした場合よりもオッズ比が高く特異度が高かったためと考えられた。感染者数が少なかったため統計学的有効性を検出するには至らなかったと思われる。

E. 結論

2010年の佐賀大学医学部における百日咳の集団流行直後に後ろ向きコホート研究を実施し、以下の結果を得た。

- 1) 入学時に、抗PT抗体、抗FHA抗体が10(EU/ml)未満の抗体陰性者の割合はそれぞれ45%、17%であり、半数近くが有効な抗体を保持していなかった。
- 2) 流行期間中にWHOの臨床診断基準を満たす「可能性例」が82人いたが流行後に抗PT抗体が100(EU/ml)以上となったのは1例のみであった。一方、血清学的に百日咳の感染が疑われるもの23人の中で「可能性例」は1人のみであった。また、Lamp法により百日咳が検出された者が3人はいずれも流行後のPT抗体は100未満であった。以上より不顕性感染の疑いや、思い出しバイアス、誤分類、感染の既往の混在、検体採取時期などの影響が考えられた。

3) WHOの臨床診断を基準として、抗PT抗体100(EU/ml)以上と、IgGとIgM両方が陽性をカットオフとした場合の感度、特異度は、前者が1.3%と96.8%、後者が6.7%、98.4%でありクラス別抗体を測定することで診断の精度が高まる可能性が示唆された。

4) 母子手帳で確認したワクチン接種回数による入学時の抗体保有割合に差はみられなかった。WHOの臨床診断基準に基づく可能性例をアウトカムとすると、4回接種者は4回未満に比べてオッズ比0.37(95%CI:0.14-0.96)となり、有効率は63%(95%CI:4-86)と推計された。

参考文献

- 1) WHO. The immunological basis for immunization series. Module 4: pertussis. Update 2009.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
1) 尾崎岩太、原めぐみ、他. 2010年佐賀大学医学部キャンパスにおける百日咳流行について. 第49回全国大学保健管理研究集会. 2011,11,9-10.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

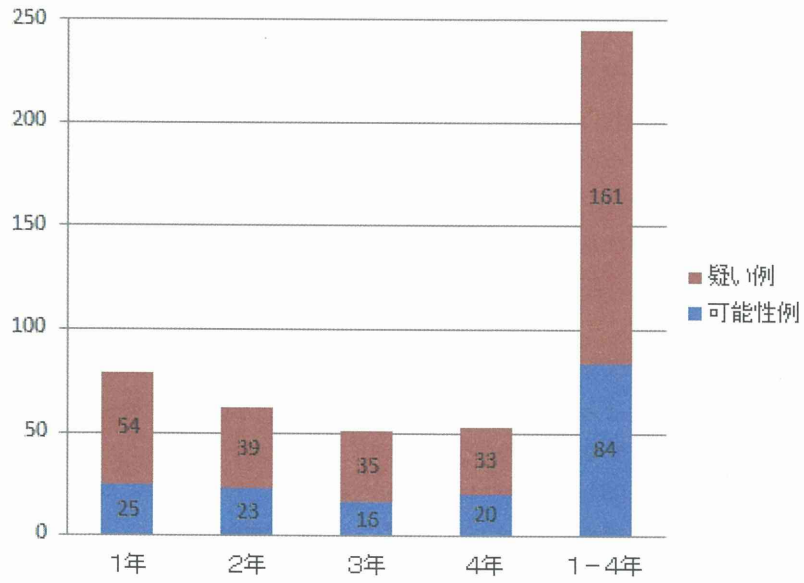


図1. 学年別発症状況

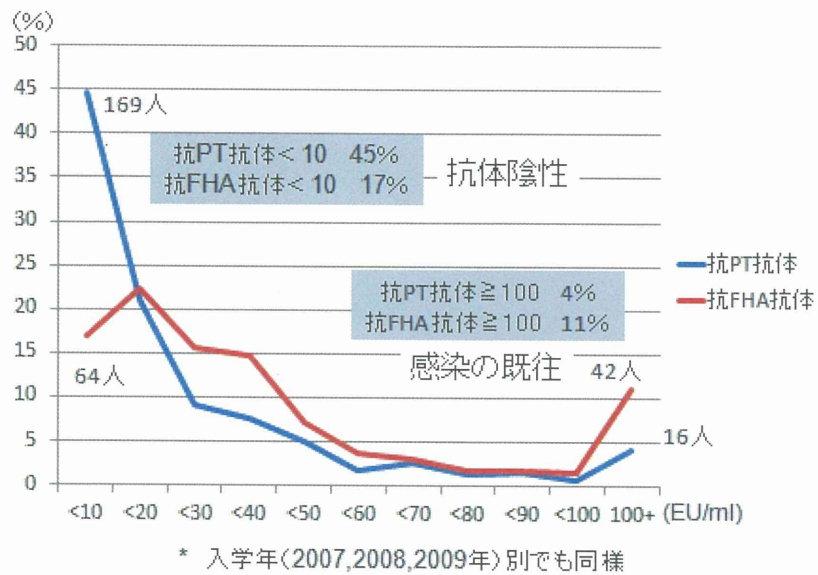


図2. 大学入学時の抗体保有状況 (n=379)

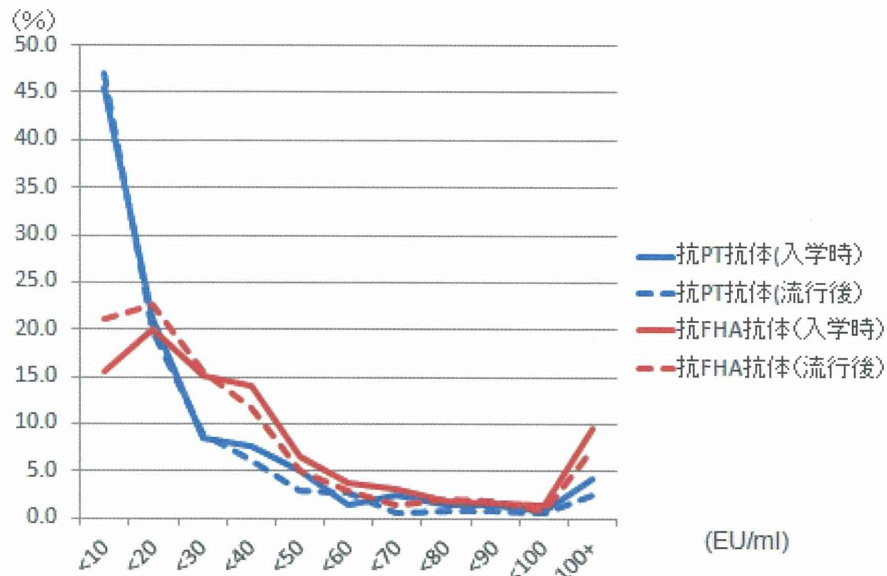


図3. 入学時と流行終了後の抗体保有状況 (n=350)

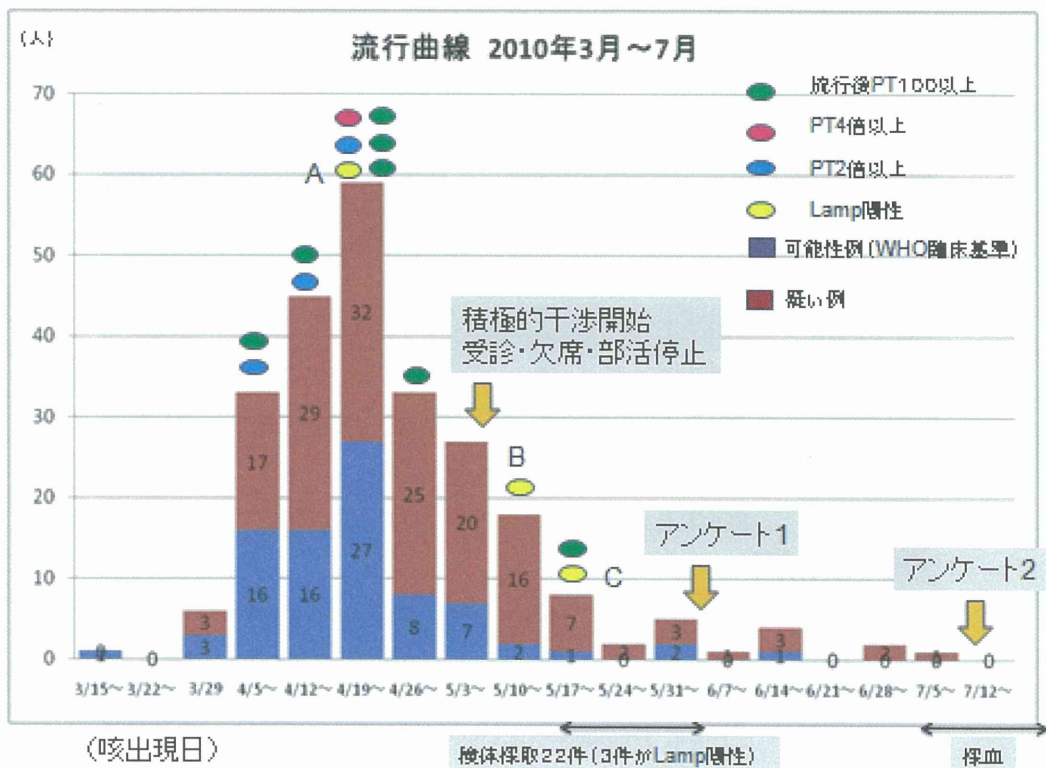
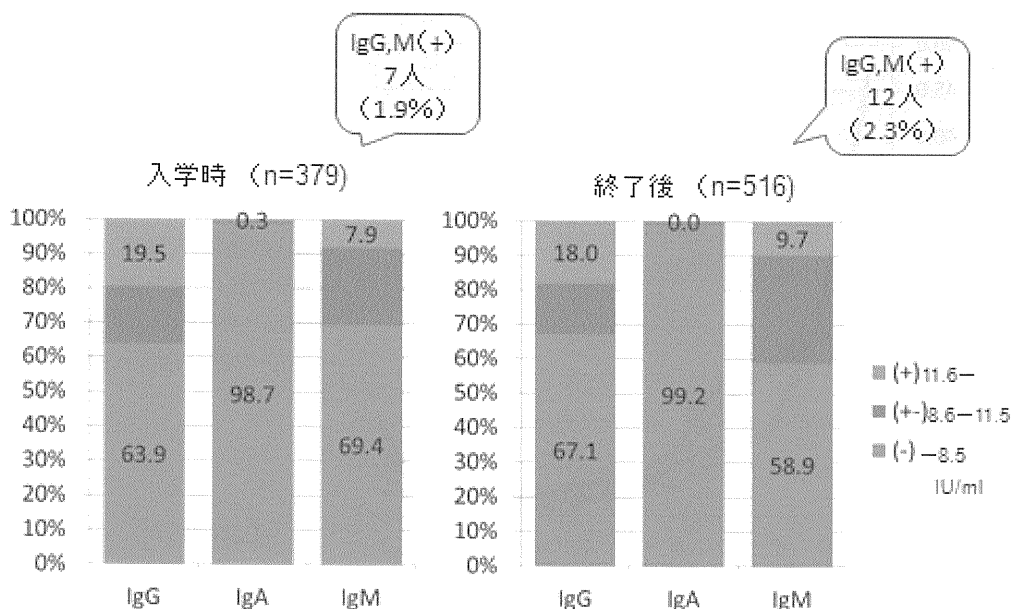


図4. 臨床診断、血清診断、Lamp法による診断と咳の出現時期



*流行の中心の1年生の入学時血清がない

図5. 抗 PT 抗体、抗 FHA 抗体の抗体クラス別測定結果

表1. 血清診断の有効性評価 (臨床診断を基準とした感度・特異度分析)

		臨床診断		感度	特異度
		あり (n=75)	なし (n=441)		
PT抗体 (EU/ml)	100以上	1	14	1.3	96.8
	90以上	2	15	2.7	96.6
	80以上	4	16	5.3	96.4
	70以上	4	16	5.3	96.4
	60以上	5	16	6.7	96.4
	50以上	5	21	6.7	95.2
クラス別抗体					
IgG (+)	IgM (-)(+)	19	74	25.3	83.2
IgG (-)(+)	IgM (+)	11	39	14.7	91.2
IgG (+)	IgM (+)	5	7	6.7	98.4

表 2. 臨床所見の評価 (IgG 抗体、IgM 抗体両方陽性を基準とした感度・特異度分析)

	IgG (+) IgM(+)		感度	特異度	Youden Index (%)
	あり (n=12)	なし (n=504)			
連続する咳	7	223	58.3	55.8	14.1
14日以上続く咳	5	74	41.7	85.3	27
突然連続する咳	7	196	58.3	61.1	19.4
咳き込み後の嘔吐	2	57	16.7	88.7	5.4
Whoopを伴う咳	1	19	8.3	96.2	4.5
WHOの臨床診断基準	5	70	41.7	86.1	27.8
医療機関での診断	2	51	16.7	89.9	6.6

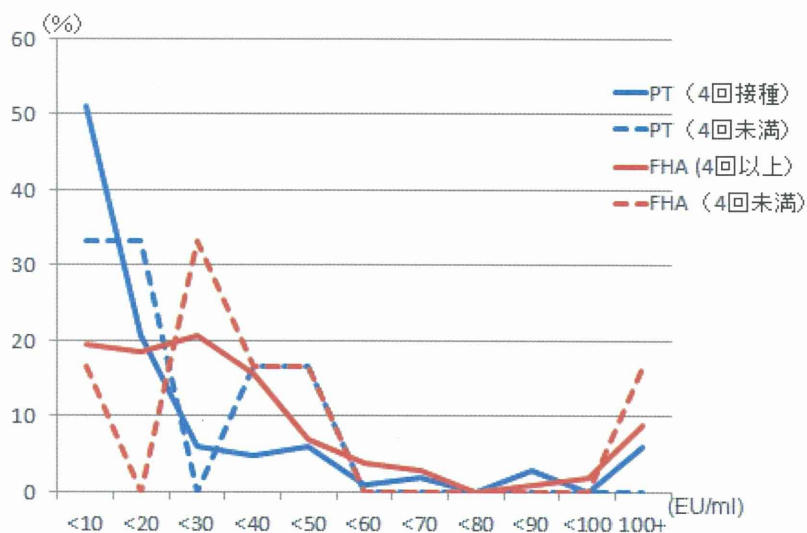


図 6. ワクチン接種回数別 大学入学時の抗体保有状況 (n=108)

表 3. ワクチンの有効性評価：3 回接種以下接種に比べ、4 回接種の各結果に対するオッズ比

	4回接種 (n=225)	3回以下 (n=23)	OR	95%CI
臨床診断 (n=39)	31	8	0.37	0.14-0.96
医療機関診断 (n=19)	17	2	0.86	0.19-3.97
PT \geq 100 (n=11)	9	2	0.48	0.10-1.31
IgG(+) \wedge IgM(+) (n=7)	5	2	0.24	0.04-1.31

表 4. ワクチンの有効性評価：4 回接種に比べ、3 回以下接種の各結果に対するオッズ比
(表 3 と基準を逆にした場合)

	4回接種 (n=225)	3回以下 (n=23)	OR	95%CI
臨床診断 (n=39)	31	8	2.70	1.04-7.14
医療機関診断 (n=19)	17	2	1.16	0.25-5.26
PT \geq 100 (n=11)	9	2	2.05	0.42-10.0
IgG(+) \wedge IgM(+) (n=7)	5	2	4.17	0.76-25.0

3) 高齢者肺炎分科会

高齢者肺炎に対するインフルエンザワクチンと肺炎球菌ワクチンの 肺炎予防効果に関する症例対照研究

高齢者肺炎研究グループ

- 研究分担者：鈴木 幹三（名古屋市緑保健所）
研究協力者：鷺尾 昌一（聖マリア学院大学看護学部）
研究分担者：小島原典子（東京女子医科大学衛生学公衆衛生学講座）
研究協力者：福島 若葉（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学）
研究分担者：大藤 さとこ（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学）
研究協力者：前田 章子（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学）
研究協力者：近藤 亨子（大阪市立大学大学院医学研究科・医学部）
研究協力者：池田 郁雄（いけだ内科小児科クリニック）
研究協力者：杉山 茂樹（杉山医院）
研究協力者：菅 榮（かいせい病院呼吸器科）
研究協力者：山本 俊信（かいせい病院呼吸器科）
研究協力者：太田 千晴（旭労災病院呼吸器科）
研究協力者：山本 和英（かずクリニック）
研究協力者：利根川 賢（名古屋市厚生院附属病院）
研究協力者：林 嘉光（名古屋市厚生院附属病院）
研究協力者：岩島 康仁（東濃厚生病院内科）
研究協力者：中村 敦（名古屋市立大学共同研究教育センター）
研究協力者：足立 暁（笠寺病院呼吸器内科）
共同研究者：加藤 幸正（笠寺病院消化器内科）
研究協力者：今井誠一郎（京都大学医学部附属病院呼吸器内科）
共同研究者：大賀 興一（おかもと総合クリニック一般内科）
共同研究者：田辺 正喜（おかもと総合クリニック循環器内科）
研究協力者：中西 洋一（九州大学大学院医学研究院）
研究協力者：池松 秀之（九州大学先端医療イノベーションセンター）
共同研究者：藤澤 伸光（聖マリア病院呼吸器科）
共同研究者：中垣 憲明（聖マリア病院）
共同研究者：田代 英樹（聖マリア病院循環器内科）
共同研究者：清水 義久（聖マリア病院呼吸器科）
共同研究者：藤本 典子（聖マリア病院呼吸器科）
共同研究者：米嶋 康臣（聖マリア病院呼吸器科）
共同研究者：福田 賢治（聖マリア病院脳血管内科）
共同研究者：工藤 国弘（聖マリア病院）
共同研究者：倉田 毅（聖マリア病院）
共同研究者：河口 知允（聖マリア病院）
共同研究者：武富 正彦（道海クリニック）
共同研究者：岩永 知秋（国立病院機構福岡病院）
共同研究者：野上 裕子（国立病院機構福岡病院呼吸器科）
共同研究者：古森 雅志（国立病院機構福岡病院）
共同研究者：平山 健司（国立病院機構福岡病院）
共同研究者：内田 奈菜（国立病院機構福岡病院）
共同研究者：木本 泰孝（国立病院機構福岡病院）
共同研究者：横田 欽児（国立病院機構福岡病院）
共同研究者：木村 妙（国立病院機構福岡病院）
共同研究者：高野 浩一（西福岡病院呼吸器科）
研究代表者：廣田 良夫（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学）

研究要旨

世界有数の超高齢社会となったわが国にとって、肺炎を予防することは重要な課題となっている。米国疾病管理センター(CDC)は、高齢者に対してワクチン接種の肺炎予防効果を認めるという研究結果に基づき、インフルエンザワクチンと肺炎球菌ワクチンの接種を奨励している。そこで、高齢者肺炎に対するインフルエンザワクチンと肺炎球菌ワクチンの肺炎予防効果を検証することを目的に、多施設共同・症例対照研究を開始した。2012年2月10日時点における登録数は、238例(症例85例、対照153例)であった。肺炎に対する調整オッズ比(OR)は、インフルエンザワクチン接種0.36(95%信頼区間(CI)=0.19-0.71)、肺炎球菌ワクチン接種1.05(95%CI=0.53-2.11)となった。また、症例を肺炎球菌性肺炎に限った場合、肺炎球菌性肺炎に対する肺炎球菌ワクチン接種の調整ORは1より小さい値となった(OR=0.73, 95%CI=0.11-4.98)。まとめると、インフルエンザワクチンの高齢者肺炎予防効果は認められたが、肺炎球菌ワクチン接種の予防効果は検出するには至らなかった。両ワクチンの有効性を検証するためには今後の対象者数蓄積が必要である。

A. 研究目的

近年、肺炎は本邦における死因の第4位を占めている。肺炎の年齢階級別死亡率は、高齢者が高く、とくに80歳以上では高率を示す。わが国は、世界でも類を見ないスピードで超高齢社会を迎えているため、肺炎の予防は重要な課題となっている。

米国予防接種諮問委員会(ACIP)の勧告では、インフルエンザワクチンは、肺炎やインフルエンザによる入院を地域在住高齢者で30~70%、施設入所高齢者で50~60%予防すると報告している。また、欧米の多くの国は、高齢者に対してインフルエンザワクチンと肺炎球菌ワクチンの両方の接種を奨励している。

しかし、本邦では、高齢者を対象にインフルエンザワクチンと肺炎球菌ワクチンの肺炎予防効果を同時に検討した研究はほとんどない。そこで本研究は、高齢者に対するインフルエンザワクチンと肺炎球菌ワクチンの肺炎予防効果を明らかにすることを目的に、多施設共同・症例対照研究を行った。

B. 研究方法

1. 研究デザイン

多施設共同・症例対照研究。

2. 対象

1) 症例：協力医療機関において、医師により新たに肺炎と診断された65歳以上の患者。

除外基準：誤嚥性肺炎、悪性腫瘍を有する者、経口ステロイドあるいは免疫抑制剤で治療中の者、摘脾の既往を有する者。

2) 対照：症例確認後に、症例と同一機関を受診した

患者。1症例に対し、2対照(呼吸器科1例、呼吸器以外の診療科1例)を選定。Matching conditionは、性、年齢(5歳階級)、外来受診日(症例確認後で直近)とする。

除外基準：悪性腫瘍を有する者、経口ステロイドあるいは免疫抑制剤で治療中の者、摘脾の既往を有する者。

3. 調査実施期間

2009年8月より開始、現在継続中。

4. 情報収集

所定の調査票により収集する。

1) 患者情報：医師が記入する。

①患者背景(症例と対照)

- ・生年月、年齢、性別、医療機関名、診療科、紹介の有無。
- ・呼吸器疾患の保有状況(肺気腫症、慢性気管支炎、その他の慢性閉塞性肺疾患(COPD)、肺線維症、気管支喘息、結核後遺症など)
- ・血液検査(総タンパク、血清アルブミン、ヘモグロビン)

②肺炎に関する疾患情報(症例のみ)

- ・確定診断日、肺炎の診断に関連する項目(発熱、咳嗽、喀痰、胸部X線所見、白血球数、CRP値)。
- ・病原診断に関する検査結果(インフルエンザ迅速診断、肺炎球菌の尿中抗原検査、喀痰グラム染色、喀痰・血液培養での肺炎球菌の検出)。

2) 自記式質問票：対象者が記入する。

- ・記入日、年齢。