

NVTが起炎菌であった。

D. 考察

生後3ヶ月以降の乳幼児における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）が60-65%、肺炎球菌が30%前後を占め、最も重要であった。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、医療経済の上でも問題であった。

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ているが、わが国においては2007年によりやく承認され、2008年から発売された。そのおかげで発症例は徐々に減少傾向にあったが、H22年末に施行された「ワクチン接種緊急促進補助金事業」によって、小児のHibとPCV7接種への公的助成が始まり、その接種率が急速に高まった。

結果に示したように、Hib感染症は年齢分布の上からも7ヶ月から2歳の発症例が激減、明らかなワクチン効果が得られていると結論された。今後ともサーベイランスを継続し、その動向を把握する必要がある。

一方、肺炎球菌による化膿性髄膜炎を含むIPD感染症対策として、PCV7の導入が期待されていた。しかし、PCV7は93種が知られる莢膜型の中で優位な7種のみが対象となっているため、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った。2011年には発症数が半減したものの、2012年はPCV7でカバーできないNVTに急速に変化し、PCV7のカバー率は15%台となっている。

このように、標的としての莢膜型が93種も存在する肺炎球菌に対するPCV7の効果は限定的であろうということが専門家の間では予測されていたことである。しかし、これほど急速に変化することは予測されていなかったことであり、今後、ワクチン接種してもIPDを発症する可能性のあることを広く認識させる必要があると考える。

E. 結論

市中で発症する化膿性髄膜炎を含む侵襲性感染症の原因菌として、最も重要なインフルエンザ菌（Hib）と肺炎球菌にお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ものの、肺炎球菌用PCV7では限界のあることを明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ubukata K, Chiba N, Morozumi M, Iwata S, Sunakawa K, The Working Group of Nationwide Surveillance for Bacterial Meningitis: Longitudinal surveillance of *Haemophilus influenzae* isolates from pediatric patients with meningitis throughout Japan, 2000-2011. *J Infect Chemother.* 2012; DOI 10.1007/s10156-012-0448-x.
- 2) Chiba N, Morozumi M, Shouji M, Wajima T, Iwata S, Sunakawa K, Ubukata K, and the Invasive Pneumococcal Diseases Surveillance Study Group. Rapid Decrease of 7-Valent Conjugate Vaccine Coverage for Invasive Pneumococcal Diseases in Pediatric Patients in Japan. *Microb Drug Resist.* 2013 Jan 25. [in press]
- 3) Morozumi M, Chiba N, Okada T, Sakata H, Matsubara K, Iwata S, Ubukata K: Antibiotic susceptibility in relation to genotype of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Mycoplasma pneumoniae* responsible for community-acquired pneumonia in children. *J Infect Chemother.* DOI 10.1007/s10156-012-0500-x.
- 4) Okada T, Morozumi M, Sakata H, Takayanagi R, Ishiwada N, Sato Y, Oishi T, Tajima T, Haruta T, Kawamura N, Ouchi K, Matsubara K, Chiba N, Takahashi T, Iwata S, Ubukata K: A practical approach estimating etiologic agents using real-time PCR in pediatric inpatients with community-acquired pneumonia. *J Infect Chemother.* 2012; 18: 832-840.
- 5) 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. 2012 ; 18 : 149-156.

2. 学会発表

- 1) Ubukata K, Chiba N, Morozumi M, Sakata H, Iwata S : Rapid Decreasing of 7-valent Conjugate Vaccine Coverage for Invasive Pneumococcal Diseases (IPD) in pediatric patients in Japan. 52回ICAAC (米国 サンフランシスコ、9月)
- 2) Chiba N, Shouji M, Morozumi M, Ubukata

K : Relationship between Genetic beta-lactam Resistance and Capsular Type or Clonal Complex of Isolates from Invasive Pneumococcal Disease in Japan. 52回ICAAC (米国 サンフランシスコ、9月)

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
3. その他 : なし

小児呼吸器感染症罹患児より分離された肺炎球菌の細菌学的解析

研究分担者：常 彬（国立感染症研究所細菌第一部主任研究官）

研究協力者：大石 智洋（新潟大学医歯学総合病院小児科助教）

研究要旨 肺炎球菌7価コンジュゲートワクチン（PCV7）の導入によりその後の肺炎球菌における動向を把握するため、新潟県のある地域の小児呼吸器感染症由来肺炎球菌をPCV7導入の前（2008年）と後（2011年）に分け、その性状の比較解析を行った。その結果、PCV7が導入される前の2008年の肺炎球菌に比べ、PCV7カバー率は53.6%から39.1%に減少し、間接的効果が見られた。また、ペニシリンGに感受性を示した肺炎球菌の割合は40.3%から導入後は49.3%に増加したことも明らかになった。今後、引き続き同じ地域の小児呼吸器感染症由来肺炎球菌の細菌学解析を行い、肺炎球菌の血清型別と薬剤感受性を調査し続け、PCV7の肺炎球菌による小児呼吸器感染症に対する効果を評価できると考えられる

A. 研究目的

7価肺炎球菌コンジュゲートワクチン（PCV7）は、日本において2010年2月に導入され、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小児侵襲性感染症の発症率の減少が期待されている。その一方、侵襲性感染よりはるかに罹患率の高い小児呼吸器感染症に対するPCV7の予防効果は不明で、調査する必要がある。本分担研究は、PCV7導入前後のある地域の小児呼吸器感染症由来肺炎球菌の解析を行うことにより、ワクチンの効果を明らかにする調査である。我々は2008年に新潟県のある地域の小児呼吸器感染症由来肺炎球菌の細菌学的解析を行い、その結果をすでに報告した（JJID 64：341-344, 2011）。本報告書では、PCV7導入後の2011年に分離された小児呼吸器感染症由来肺炎球菌の血清型別と薬剤感受性試験の結果を示し、PCV7が導入される前の2008年のデータと比較し、ワクチンの効果を評価する。

B. 研究方法

2011年新潟県のある地域の小児呼吸器感染症由来肺炎球菌298株の血清型別、微量液体希釈法による薬剤感受性試験、マルチローカスシーケン

スタイピング（MLST）の解析を行った。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。薬剤感受性試験の結果は2007年までのCLSIの基準によって、ペニシリンGのMICが $\leq 0.06 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.12-1 \mu\text{g/mL}$ 、 $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ をそれぞれ、ペニシリン感受性（PSSP）、ペニシリン低感受性（PISP）、ペニシリン耐性肺炎球菌（PRSP）と判別した。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つのアレル（*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。

C. 研究結果

1：小児呼吸器感染症由来肺炎球菌の血清型分布および薬剤感受性

小児呼吸器感染症由来肺炎球菌298株の血清型分布を図1に示す。PCV7カバー率は39.1%であった。PCV7に含まれている血清型の中で、6B、23F、19F、14、9V型肺炎球菌の分離率はそれぞれ13.4%（40株）、10.7%（32株）、9.7%（29株）、2.0%（6株）、1.3%（4株）であった。血清

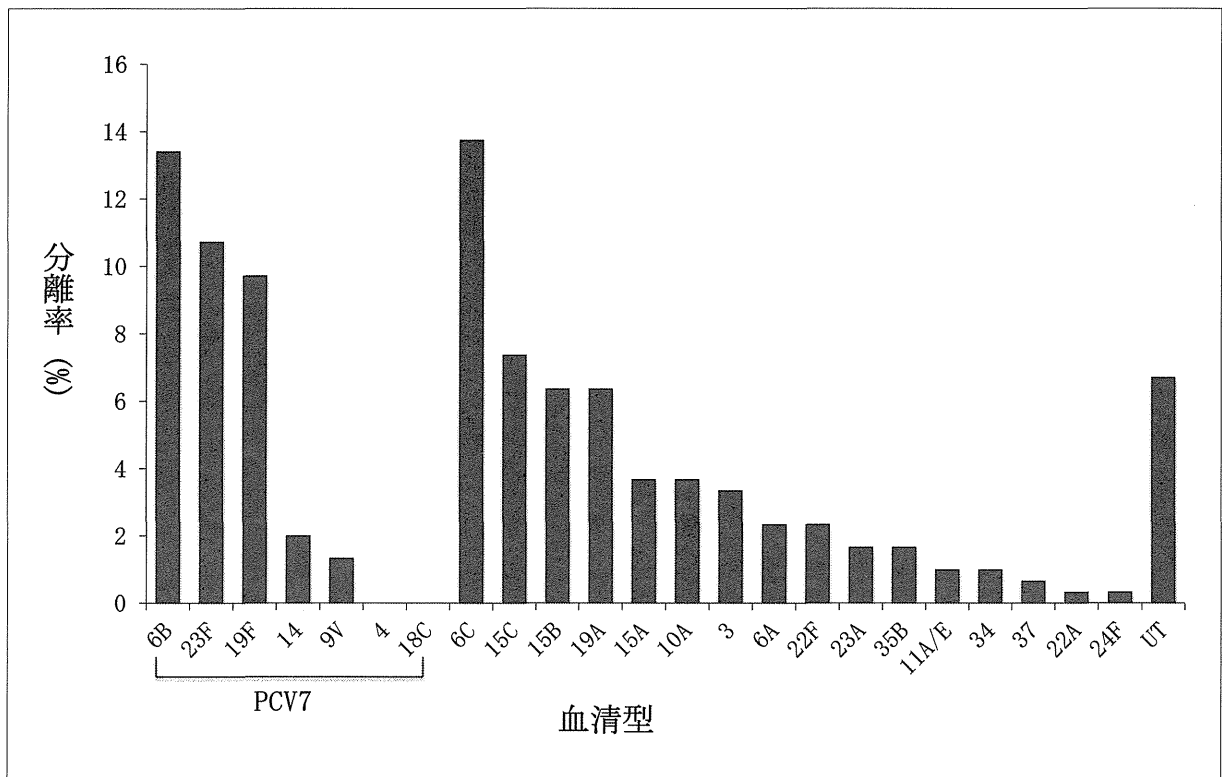


図1 2011年小児呼吸器感染症由来肺炎球菌の血清型分布

表1 小児呼吸器感染症由来6C型肺炎球菌に見られる遺伝子型

ST 型	<i>aroE</i>	<i>gdh</i>	<i>gki</i>	<i>recP</i>	<i>spi</i>	<i>xpt</i>	<i>ddl</i>	株数
2923	2	13	2	5	6	121	29	4
8469	2	373	2	5	6	121	29	1
5241	7	9	8	6	1	6	384	16
7384	7	9	34	16	1	6	384	8
7781	7	60	8	5	6	14	14	1
7876	7	60	8	215	6	14	14	4
2924	1	5	2	6	6	1	14	7

型4および18C型肺炎球菌の分離は見られなかった。また、米国を含む多くの国で見られているReplacement血清型である19A、6C、22F (CID 47:1388-1395, 2008) の分離率はそれぞれ6.4% (19株)、13.8% (41株)、2.3% (7株) であった。

薬剤感受性試験の結果では、298株のうち、PSSP、PISP、PRSPはそれぞれ49.3%、41.6%、9.1%であった。27株のPRSP肺炎球菌のうち、15A型は8株、19F型は7株、6B型は5株、23Fは5株、14型は1株、Untypeable (すべての抗血清との反応が見られなかった) は1株であった。

2: 血清型6C肺炎球菌のMLST解析

2011年に分離された小児呼吸器感染症由来肺炎球菌298株のうち、6C型肺炎球菌の分離率が最も高く、13.8%であった。これら41株の6C型肺炎球菌のペニシリンGに対するMICは0.03-0.25 μg/mLであった。MLST解析により7つのsequence type (ST) 型に分けられた(表1)。ST2923とST8469、ST5241とST7384、ST7781とST7876のそれぞれはMLST解析用の7つのアレルのうち5つ以上は同じであるため、同じCC (clonal complex) に属する。ST5241 (16株) とST7384 (8株) の6C型肺炎球菌のペニシリンG

に対するMICは0.12-0.25 μ g/mLを示し、PISPであり、6C型肺炎球菌の58.5%を占めた。その一方、他の5つのST型を示す6C型肺炎球菌のペニシリンGに対するMICは0.03-0.06 μ g/mLを示し、PSSPであった。

D. 考察

2011年に小児呼吸器感染症由来肺炎球菌の血清型別の結果、PCV7が導入される前の2008年の分離菌に比べ(JJID 64:341-344, 2011)、PCV7カバー率は53.6%から39.1%に減少し、間接的効果が見られた。また、PCV7および13価肺炎球菌コンジュゲートワクチン(PCV13)に含まれていない6C型肺炎球菌の分離率が高くなった。血清型6Cは古くから6Aと分類されていた肺炎球菌であったが、2007年米国の研究グループが作製されたモノクローナル抗体により区別可能になった(JCM 45:1225-1233, 2007)。血清型6Cポリサッカライドは血清型6Aポリサッカライドの構造 \rightarrow 2-Gal-(1 \rightarrow 3)-Glu-(1 \rightarrow 3)-Rha-(1 \rightarrow 3)-Ribitol-(5 \rightarrow P \rightarrow ;のうち、下線で示すガラクトースがグルコースに置換されている。さらに、PCV7を接種後、血清中に6Bと交叉反応性が見られる6Aに対するオプソニン活性が見られたが、6Cに対するオプソニン活性が見られないことが報告された。その一方、6Aを含むPCV13を接種後、血清中の6Aに対するオプソニン活性と6Cに対するオプソニン活性はよく相関すると報告された(Vaccine 29:7207-7211, 2011)。日本にも導入される予定のあるPCV13の接種による6Cを含む非PCV7または非PCV13タイプ血清型肺炎球菌による小児呼吸器感染症への影響に注目すべきである。

E. 結論

日本では、PCV7は小児侵襲性肺炎球菌感染症の予防ワクチンとして承認されていたが、小児呼吸器感染症に対する予防効果も期待されている。PCV7の予防効果の有無を明らかにするため、今後も同じ地域の小児呼吸器感染症由来肺炎球菌の細菌学解析を行い、肺炎球菌の血清型および薬剤感受性の動向に注目した継続的な疫学研究が重要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tomohiro Oishi, Naruhiko Ishiwata, Kousaku Matsubara, Junichiro Nishi, Bin Chang, Kazuyo Tamura, Yukihiro Akeda, Toshiaki Ihara, Moon H. Nahm, Kazunori Oishi, and the Japanese IPD Study Group. 2013. Low opsonic activity to the infecting serotype in pediatric patients with invasive pneumococcal disease. Vaccine, 31:845-849.
- 2) Junko Tanaka, Naruhiko Ishiwata, Akihito Wada, Bin Chang, Haruka Hishiki, Tomomichi Kurosaki, and Yoichi Khono. 2012. Incidence of childhood pneumonia and serotype and sequence-type distribution in Streptococcus pneumoniae isolates in Japan. Epidemiology and Infection, 140:1111-1121.

2. 学会発表

- 1) 久保徳彦、岡崎友里、澤部俊之、中本貴人、村武明子、常彬、和田昭仁. 2012年。脾摘の既往のない健康成人に発症した劇症型肺炎球菌敗血症の1症例。(第86回日本感染症学会総会・学術講演会。長崎、2012年4月)。
- 2) 常彬. 2012年。日本国内における小児侵襲性感染症由来肺炎球菌の疫学的解析。(第16回日本ワクチン学会学術集会。横浜、2012年11月)。
- 3) 成相昭吉、常彬. 2012年。7価肺炎球菌結合型ワクチン接種普及による乳幼児下気道感染症例の上咽頭から検出された肺炎球菌株における血清型および遺伝子型の変化。(第16回日本ワクチン学会学術集会。横浜、2012年11月)。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

免疫グロブリン製剤および健康日本人における 肺炎球菌血清型特異抗体価に関する研究

研究分担者：石和田 稔彦（千葉大学医学部附属病院感染症管理治療部）

研究協力者：高橋 喜子（千葉大学医学部小児病態学）

研究要旨 健康日本人血清と日本人献血由来免疫グロブリン製剤中の13価肺炎球菌結合型ワクチン（PCV13）に含まれる肺炎球菌血清型別IgG抗体価及びオプソニン活性を測定した。肺炎球菌結合型ワクチン未接種の日本人では特に2歳未満で特異抗体価は低く、年齢と共に上昇していた。日本人献血由来免疫グロブリン製剤では、血清型4、7F、9Vに対する抗体価は、比較的 low 値であった。免疫グロブリン製剤中の血清型6B、19Aに対するオプソニン活性は高値であったが、製剤間で特異抗体価とオプソニン活性に相違がみられた。また、両者に相関は認められなかった。免疫グロブリン製剤の400mg/kg単回投与により、ほぼ全ての血清型に対する特異抗体価を0.35 μ g/ml以上に上昇させ得ると予想された。

A. 研究目的

日本人の自然歴での肺炎球菌血清型別抗体価を知る目的で、肺炎球菌結合型ワクチン未接種者の年齢毎の13価肺炎球菌結合型ワクチン（PCV13）に含まれる肺炎球菌血清型別IgG抗体価を測定した。また、重症肺炎球菌感染症に対する治療の有効性を検討する目的で、日本人献血由来免疫グロブリン製剤中の、PCV13に含まれる肺炎球菌血清型別IgG抗体価ならびにオプソニン活性を測定した。

B. 研究方法

測定はTraining manual for Enzyme linked immunosorbent assay for the quantitation of *Streptococcus pneumoniae* serotype specific IgGにしたがい、ELISA法にて行った。肺炎球菌血清型別IgG抗体価がそれぞれ0.35 μ g/mlを超えてある場合、PCV7でカバーされる感染症に対して防御能があるとされていることから、0.35 μ g/mlを抗体陽性の基準とした。オプソニン活性はAlabama大学のプロトコルを用いて測定した。（倫理面への配慮）

研究は千葉大学倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

肺炎球菌結合型ワクチン未接種者の日本人では、特に2歳未満で特異抗体価は低く、年齢と共に上昇していた。免疫グロブリン製剤中の血清型4、7F、9Vに対する特異抗体価は他の血清型に比し、低値であった。免疫グロブリンを400mg/kg単回投与では、ほぼ全ての血清型に対する抗体価を0.35 μ g/mlまで上昇させ得ると予想された。免疫グロブリン製剤中の血清型6B、19Aに対するオプソニン活性は高値であった。製剤間で比較したところ、特異抗体価とオプソニン活性に相関は認められなかった。

D. 考察

年齢別の特異抗体価の値は5歳未満、特に2歳未満で低値であり、肺炎球菌侵襲性感染症のリスクが高いと考えられた。免疫グロブリン製剤中には、肺炎球菌血清型別特異抗体は十分に含まれており、また、オプソニン活性も高値であったことより免疫グロブリン製剤投与により、重症肺炎球菌感染症に対する治療効果が期待できると考えられた。

E. 結論

2歳未満では侵襲性肺炎球菌感染症に罹患するリスクが高く13価肺炎球菌結合型ワクチン(PCV13)の早期導入と積極的な接種が必要である。侵襲性肺炎球菌感染症では、免疫グロブリン製剤が補助治療の1つとなりうると思われたが、投与の際には400mg/kg/日の投与量が望ましい。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hoshino T, Ishiwada N, Kohno Y. Restriction fragment length polymorphism analysis of Haemophilus influenzae type b strains isolated simultaneously from cerebrospinal fluid, blood, and nasopharynx of Japanese children with bacterial meningitis Chiba Medical Journal 88 : 35-39, 2012
- 2) Oishi T, Ishiwada N, Matsubara K, Nishi J, Chang B, Tamura K, Akeda Y, Ihara T, Nahm MH, Oishi K ; the Japanese IPD Study Group. Low opsonic activity to the infecting serotype in pediatric patients with invasive pneumococcal disease. Vaccine. 2012 Nov 12. [Epub ahead of print]
- 3) 福岡 将治, 星野 直, 深沢 千絵, 蓮見 純平, 永井 文栄, 阿部 克昭, 本田 喜子, 田中 純子, 菱木 はるか, 石和田 稔彦, 河野 陽一 同一血清型の肺炎球菌性髄膜炎を反復した1例 小児感染免疫 23 : 389-393, 2012
- 4) 原田真菜, 中村明日香, 李翼, 新妻隆広, 木下恵司, 大日方薫, 大石和徳, 和田昭仁, 石

和田稔彦, 清水俊明 7価肺炎球菌結合型ワクチン1回接種後に24F血清型肺炎球菌髄膜炎を発症した1例 小児感染免疫 24 : 253-257, 2012

2. 学会発表

- 1) 及川純子, 石和田稔彦, 菱木はるか, 高橋喜子, 長澤耕男, 河野陽一 保育園児における肺炎球菌とインフルエンザ菌の保菌に対する小児用肺炎球菌ワクチンとヒブワクチンの公費助成導入効果の検討試験 第44回日本小児感染症学会 福岡 2012年11月
- 2) 井上紳江, 高橋喜子, 和田昭仁, 石和田稔彦 7価肺炎球菌結合型ワクチン導入後の気道感染症から分離される肺炎球菌の検討 第44回日本小児感染症学会 福岡 2012年11月
- 3) 菱木はるか, 高橋喜子, 及川純子, 河野陽一, 石和田稔彦 肺炎球菌結合型ワクチン未接種の児における、血清型6Bによる致死性肺炎球菌性敗血症の1例 第44回日本小児感染症学会 福岡 2012年11月
- 4) 吉田美織, 太田節雄, 朽名悟, 深沢千絵, 星野直, 高橋喜子, 菱木はるか, 河野陽一, 石和田稔彦 インフルエンザ菌b型は、莢膜を変化させて侵襲性感染症をひき起こすことがあるのか? 第44回日本小児感染症学会 福岡 2012年11月

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

トシリズマブ治療中の関節リウマチ患者における 23価肺炎球菌ワクチンの免疫原性に関する研究

研究協力者：森 俊輔（熊本再春荘病院部長）

研究代表者：大石 和徳（国立感染症研究所感染症情報センター長）

研究要旨 関節リウマチに対する生物学的製剤治療においてワクチン接種は感染症発症リスクを低減する。抗体産生に必須と考えられているinterleukin-6作用を阻害するトシリズマブ治療はワクチン接種効果の減弱が予測されるが、23価肺炎球菌ワクチンに対する接種効果を妨げない。

A. 研究目的

生物学的製剤治療に伴い感染症のリスクが増大するため、生物学的製剤治療を行う患者は積極的なワクチン接種が推奨されている。生物学的製剤治療はワクチン接種効果に影響を与えるという研究報告がいくつかあるが、トシリズマブ（TCZ）治療中のリウマチ（RA）患者におけるワクチン接種効果の有無は明らかにされていない。今回、TCZ治療が23価肺炎球菌ワクチン（PPV23）の接種効果に与える影響を調べた。

B. 研究方法

194人のRA患者〔内訳TCZ群50人、TCZ+メソトレキサート（MTX）群54人、MTX群62人、RAコントロール群24人〕にPPV23（ニューモバックスNP[®]）を接種し4-6週後に肺炎球菌血清型6Bと23Fに対するELISA IgG濃度とオプソニン活性を測定した。接種前のIgG濃度の増加あるいはオプソニン活性の10倍以上の増加を抗体応答ありとした。

（倫理面への配慮）

当院倫理委員会の承認を得て、研究参加にあたり文書による同意を得ている。

C. 研究結果

各群において、6B、23Fに対するIgG濃度は有意に増加した。血清型6Bに対しては、TCZ群のIgG濃度は、TCZ+MTX群に比較して優位に増

加した。また、IgG濃度の増加比でもTCZ群はMCZ+MTX群のそれより有意に高かった。血清型23FではTCZ群の接種後のIgG濃度はMTX群のそれより有意に高かった。

各群において、6B、23Fに対するオプソニン活性はPPV23接種後に有意に増加した。TCZ群のPPV23接種後の血清型6Bに対するオプソニン活性はMTX群のそれより有意に増加した。TCZ群ではPPV23接種後の血清型23Fに対するオプソニン活性はMTX群あるいはTCZ+MTX群に比較して有意に増加した。しかし、各群における血清型6B、23Fのオプソニン活性の増加比には有為差がなかった。

D. 考察

PPV23の接種により血清型6B、23Fに対するIgG濃度およびオプソニン活性は有意に増加し、TCZ群の抗体応答率はRAコントロール群と同等であった。TCZは抗体産生に必須の分子と認識されているためIL-6シグナル伝達阻害によりT細胞を介した液性免疫反応が著しく抑制されることが予測されたがTCZ治療はインフルエンザワクチンだけでなくPPV23接種効果を阻害されることが判明し、今後、TCZ治療患者では積極的なワクチン接種が推奨される。

E. 結論

TCZ治療はインフルエンザワクチン接種効果に影響を及ぼさない。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Mori S, Ueki Y, Hirakata N, Oribe M, Oishi K. Impact of tocilizumab therapy on antibody response to influenza vaccine in patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2012 ;

71 : 2006-10.

2. Mori S, Ueki Y, Hirakata N, Oribe M, Shiohira Y, Hidaka T, Oishi K. Pneumococcal polysaccharide vaccination in rheumatoid arthritis patients receiving tocilizumab therapy. Ann Rheum Dis 2013 Jan 23. [Epub ahead of print]

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

北海道の小児期細菌性髄膜炎の発症動向

研究分担者：富樫 武弘（札幌市立大学特任教授）

研究協力者：堤 裕幸（札幌医科大学小児科教授）

坂田 宏（旭川厚生病院小児科）

生方 公子（北里大学生命科学研究所教授）

石黒 信久（北海道大学病院感染制御部教授）

高橋 俊司（市立札幌病院検査部）

研究要旨 2007年（平成19年）～2011年（平成23年）に引き続き2012年（平成24年）も北海道の小児期細菌性髄膜炎の発症動向を調査した。わが国では平成20年12月からHibワクチン、平成22年2月から7価肺炎球菌結合型ワクチンが市販されたが、任意接種ワクチンであったため接種率が低かった。しかし平成23年度から「子宮頸がん等ワクチン接種緊急促進」事業によるHibワクチン、小児用肺炎球菌ワクチンに対する公費助成によって接種率が急速に上昇して、平成23年12月には90%を超えた（1歳未満児）。このため北海道では平成24年1～12月までの1年間インフルエンザ菌による髄膜炎の発症は0、肺炎球菌による髄膜炎は1例（ワクチン未接種の9ヵ月女児、血清型6B）と減少した。

A. 研究目的

Hibワクチン、小児用肺炎球菌ワクチンの接種率が向上することにより、両ワクチンの対象疾患である小児期細菌性髄膜炎の発症が減少するか否かを知ることを目的とする。

両ワクチンの登場以前は、わが国で小児期に発症する細菌性髄膜炎の起因为常は第1位Hibで第2位が肺炎球菌である。この研究は医療圏が独立している北海道を調査対象として、ワクチン登場前後の小児期細菌性髄膜炎の発症状況を比較することによってワクチンの予防効果を検証することを目的とした。

B. 研究方法

平成19年から毎年北海道内で小児科医が常駐しかつ入院施設を擁する病院（59病院）の小児科医長に目的を説明して協力をお願いした。内容は平成24年1月1日から12月31日までに発症した細菌性髄膜炎患者の背景調査と起因为菌調査である。脳脊髄液から細菌が分離された場合、細菌検査室を

持つ施設では細菌を増菌し、外注する施設には外注業者によって増菌して、あらかじめ送付してあった返送用容器と症例表の返送を依頼した。細菌学検査はすべて北里大学で行った。インフルエンザ菌のb型の判別はHib遺伝子の解析と抗血清を用いた凝集試験によった。使用したキットはPASTEREXTMMeningitis（BIO-RAD、France）である。肺炎球菌の血清型はPneumococcus antisera（Statens Serum Institute、Denmark）、B群溶連菌の血清型はGBS型用免疫血清（デンカ生研）を用いて行った。

（倫理面への配慮）

患者検体提供に関して病院内倫理委員会の審査を要するとの返答のあった施設には研究の趣旨を説明し、症例を記号化するなどの旨を説明して委員会の承認を得た。

C. 研究結果

平成24年1月1日から12月31日に北海道内2病院から報告された細菌性髄膜炎は2例であった。

起因菌は肺炎球菌が1例（9ヵ月女児、死亡、プレベナー®未接種、血清型6B）、B群溶連菌1例（1ヶ月男児、軽快）であった。平成19年から24年までの北海道内で発症した細菌性髄膜炎を起因菌、予後、発症年齢を示す（表1、図1）。北海道の5歳未満児10万人あたりの細菌性髄膜炎の発症数はインフルエンザ菌で5.7/年（平成19-23年）が24年は0/年、肺炎球菌で1.7/年（平成19-23年）

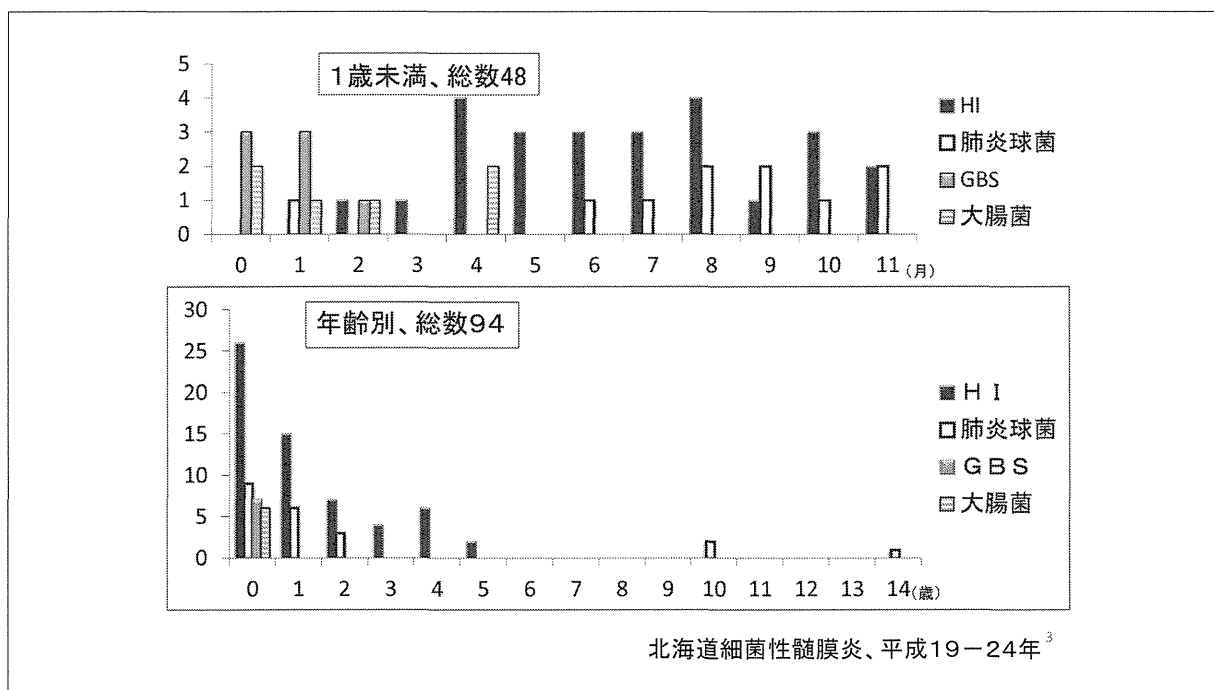
が24年は0.5/年であった。

平成23年12月の5歳未満児のHibワクチンと7価肺炎球菌ワクチンの接種率はそれぞれ44.8%、54.2%であり7ヵ月未満児の接種率はそれぞれ94.5%、92.1%（札幌市調べ）であり、24年の1歳未満児の両ワクチンの接種率はいずれも95%を超えていた。

表1 細菌性髄膜炎：予後、起因菌

	症例数	インフルエンザ菌	肺炎球菌	GBS	大腸菌	その他
2007年 平成19年	21	11	6 水頭症 1 高度難聴 1	2	1	1 水頭症 1
2008年 平成20年	18	13 高度難聴 1	1 神経後遺症 1	2 神経後遺症 (尿崩症) 1	1	1
2009年 平成21年	19	12 高度難聴 2	4	1 神経後遺症 1	2	
2010年 平成22年	18	13 死亡 1 神経後遺症 1	4	0	1	
2011年 平成23年	18	11	5 難聴 1	1	1	
2012年 平成24年	2	0	1 死亡	1	0	0
	95	60	21	6	6	2

北海道細菌性髄膜炎、平成19-24年²



北海道細菌性髄膜炎、平成19-24年³

図1 細菌性髄膜炎：原因菌別年齢分布

D. 考察

筆者らはHibワクチン（アクトヒブ®）と7価肺炎球菌結合型ワクチン（プレベナー®）の予防効果を知るために、両ワクチンの発売前後のHibと肺炎球菌を起因菌とする細菌性髄膜炎の発症頻度調査を計画した。北海道は医療圏が独立していることから人口あたりの発症頻度を計算ことが可能である。この計画は平成18年秋に北海道内の小児科医師が常駐しており、入院病室を持つ64施設（平成20年には59施設）に協力を求め了解を得た。これらの施設にあらかじめ細菌を送る容器と症例用紙を送付しておき、平成19年1月1日以後に発症した細菌性髄膜炎の起因菌と症例表を収集した。各施設から症例報告があった場合には容器と症例表を追加送付した。細菌学検査は一括北里大学で行った。

この結果平成19-23年の5年間に発症したインフルエンザ菌による髄膜炎は60例（年平均12例）で、肺炎球菌による髄膜炎は20例（年平均4例）であったが、平成24年にはそれぞれ0、1例となった。Hibは肺炎球菌とともに乳幼児の咽頭に常在菌として存在し、一部の乳幼児が菌血症を経て髄膜炎を発症する。環境からHibや肺炎球菌を無くするにはワクチンの接種率を高めて集団免疫効果を得る必要がある。平成23年、24年度は「子宮頸がん等ワクチン接種緊急促進事業」によってHib、肺

炎球菌ワクチン接種を公費負担する地方自治体が増加したこと、同時接種を含めて乳児期早期からの両ワクチン接種を勧奨した全国の小児科医の努力により1歳未満児の接種率が上昇した。この結果北海道においても平成24年のインフルエンザ菌、肺炎球菌による髄膜炎がそれぞれ0、1例へと減少したものと考えられる。

またこの6年間に北海道で脳脊髄液から分離された肺炎球菌18株の血清型をみると、12/18（66.7%）が現行の7価肺炎球菌ワクチン（PCV7）に含まれる血清型であった。さらに6A1株、19A2株を加えた15/18（83.3%）が今後導入予定の13価肺炎球菌ワクチン（PCV13）に含まれる血清型であった（図2、表2）。平成22年に血清型19Aが2株分離され、この19A株がPCV7の普及した欧米で分離頻度が増大している。このことから本年秋以降に予定されているPCV13への移行が必須である。

E. 結論

平成24年に北海道で発症した小児細菌性髄膜炎を報告した。発症数は2例でワクチン未接種の9ヵ月女児1例（肺炎球菌血清型6B、死亡）とGBSによる9ヵ月男児（軽快）であった。平成23年まで常に起因菌の第1位を占めていたインフルエンザ菌によるものは0であった。Hib、7価肺

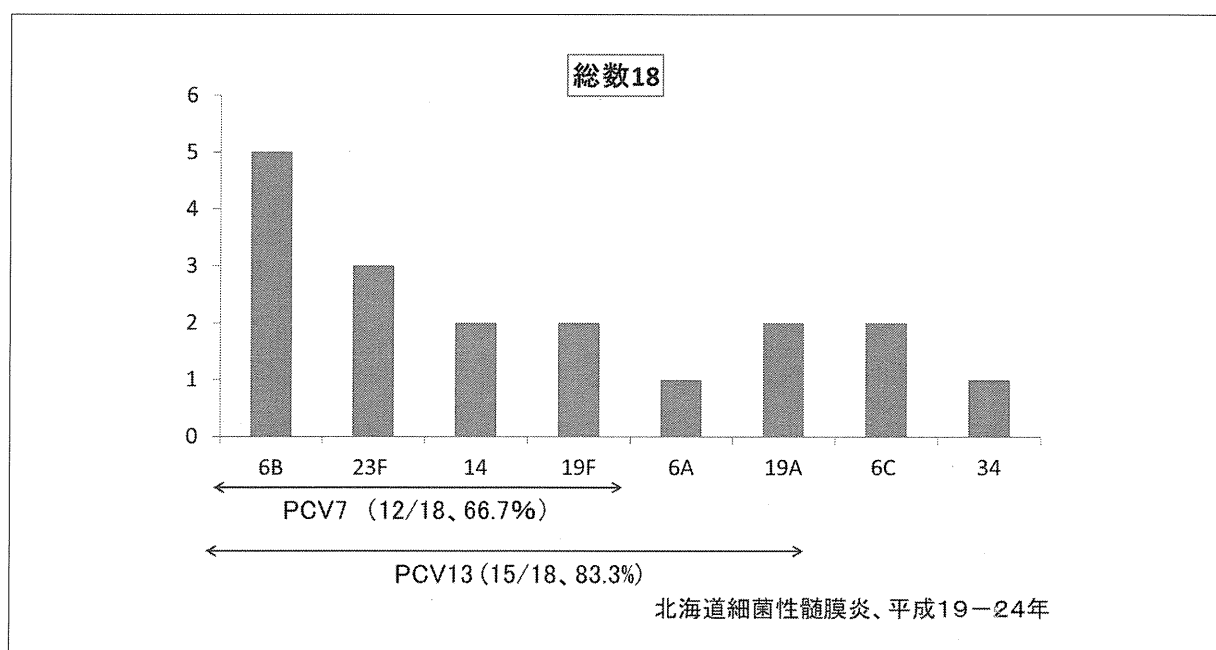


図2 細菌性髄膜炎：肺炎球菌血清型別頻度

表2 細菌性髄膜炎：肺炎球菌血清型年別発症数

	6B	23F	14	19F	6A	19A	6C	34
平成19年	4	1		1	1			1
平成20年	1	1						
平成21年	3	2		1				
平成22年	4		2			2		
平成23年	5	1	2				2	
平成24年	1	1						
	18	5	3	2	1	2	2	1

※平成23年肺炎球菌ワクチン2回接種後細菌性髄膜炎発症 血清型:6C
最終接種日23年1月27日、平成23年5月12日発症

北海道細菌性髄膜炎、平成19-24年

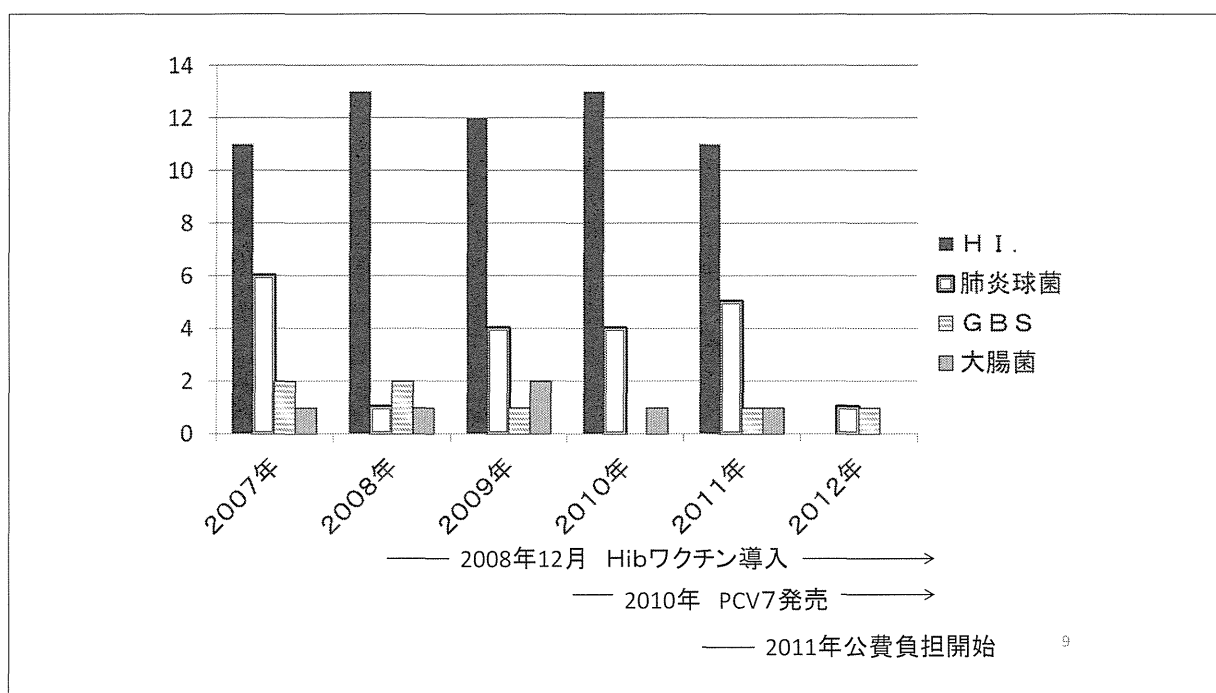


図3 細菌性髄膜炎：起因菌別分布

肺炎球菌ワクチンの接種率向上（特に乳児期早期からの）の成果と考えられる（図3）。13価肺炎球菌ワクチン承認の暁には早期の移行が必須である。

児科医会報no44：13-17、2012

2) 富樫武弘。Hibワクチン。医学のあゆみ244 (1)：119-122, 2013/02/08

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 富樫武弘。臨床疫学手法の重要性—北海道発インフルエンザ脳症と細菌性髄膜炎。日本小

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

7. 百日咳

2008～2010年に発生した百日咳流行の細菌学的解析に関する研究

研究分担者：蒲地 一成（国立感染症研究所細菌第二部室長）

研究協力者：宮地 悠輔（国立感染症研究所細菌第二部）

大塚 菜緒（同上）

鯉坂 裕美（同上）

研究要旨 ワクチン接種率の高い先進国では青年・成人層での百日咳罹患者が増加し、わが国では2008～10年に成人患者を中心とした大規模な百日咳流行が発生した。本研究では流行の発生原因を考察することを目的に、2002～12年に国内で臨床分離された百日咳菌134株について細菌学的解析（遺伝子アレル、病原因子、遺伝子型）を実施した。その結果、流行時に繊毛*fim3B*アレルの一時的な増加が認められ、流行との関連が指摘された。一方、その他のアレル（*ptxP*、*ptxA*、*prn*）には経年的な変化を認めたものの、流行との関連を認めなかった。同様に病原因子PrnとFim2/3の発現にも関連を認めなかった。これまでに*fim3B*株は高い自己凝集能を持つことが判明しており、流行と自己凝集能の関係について継続的な研究が必要である。

A. 研究目的

百日咳は主に百日咳菌*Bordetella pertussis*により引き起こされる急性呼吸器感染症である。特にワクチン接種前の乳幼児では百日咳症状が重篤化しやすい。WHOによると、世界では年間約20万人が百日咳感染により死亡し、その多くが1歳未満の乳児である。百日咳はワクチン予防が可能な疾患（VPD）であり、わが国では1950年代に全菌体百日せきワクチン（wP）、1981年に無細胞百日せきワクチン（aP）が導入され、ワクチンの普及とともに患者数は激減した。しかし、近年わが国を含む先進国では青年・成人層での百日咳罹患者が増加し、これら保菌者が乳児への感染源となることが問題となっている。

青年・成人患者の増加原因として、現行aPワクチンの免疫持続期間が4～12年と短いことが指摘されている。また、百日咳流行株には抗原変異が進行しており、これが流行の一因である可能性も示唆されている。百日咳菌における抗原変異は百日咳毒素（*ptxA*）、パータクチン（*prn*）、繊毛3（*fim3*）などに認められ、その他百日咳毒素のプロモーター（*ptxP*）にもアレル変異が生じて

いる。高いワクチン接種率を維持する先進国では流行株に抗原変異が認められることから、これらのアレル変異は現行ワクチンからの免疫回避である可能性が論議されている。

2008～10年、わが国では大規模な百日咳流行が発生し、その報告患者の約半数を成人患者が占めた。本研究では、百日咳流行と抗原変異の関係を考察するため、2002～12年に臨床分離された百日咳菌134株について遺伝子アレル、病原因子、遺伝子型解析を実施した。

B. 研究方法

菌株：2002～12年にわが国で臨床分離された百日咳菌134株を解析に供試した。菌株は分離年によって2002～04年（23株）、2005～07年（39株）、2008～10年（33株）、2011～12年（39株）の4期間に分けて解析した（図1）。

MLVA：百日咳菌ゲノム上に存在する6ヶ所のVNTRについてリピート数を解析し、遺伝子型（MT）を決定した。VNTRを蛍光プライマーを用いてPCR増幅し、増幅産物を3130xlまたは3730 Genetic Analyzer（Applied Biosystems）により

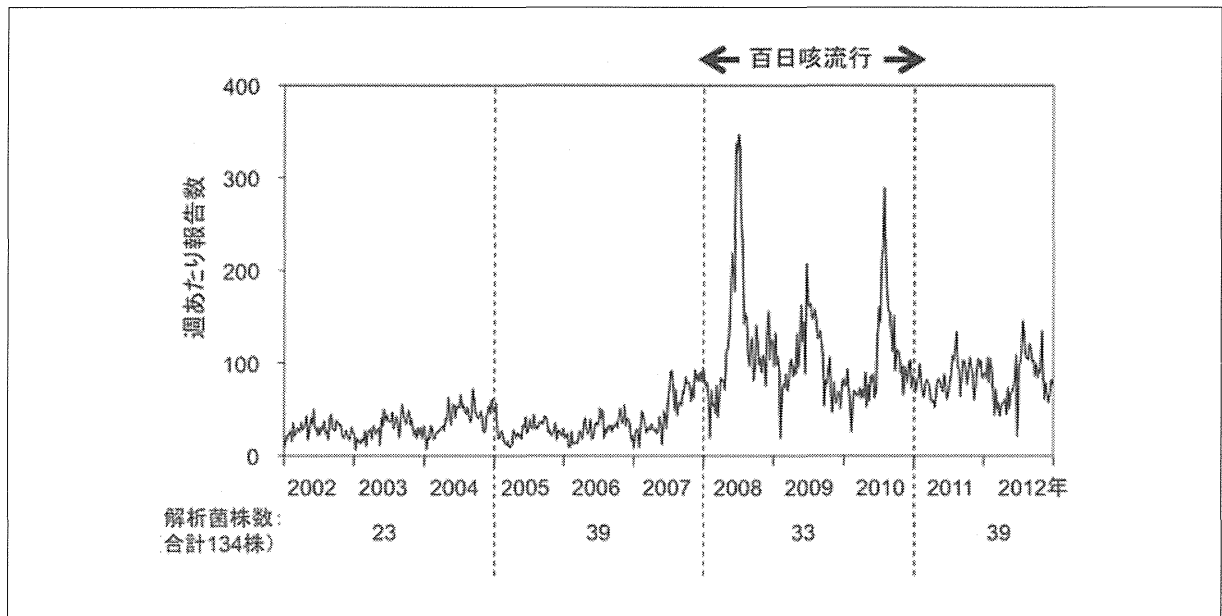


図1 百日咳患者報告数の経年推移と解析菌株数

2008-10年に患者報告数の増加が認められ、流行前（2002～04年、2005～07年）、流行期（2008～10年）、流行後（2011～12年）に臨床分離株を区分して解析した。

フラグメント解析した。また、各菌株の近縁関係をFPQuest software (Bio-Rad) により計算し、Minimum Spanning Tree (MST) で描画した。

DNA sequence解析：常法に従い $ptxP$ 、 $ptxA$ 、 prn 、 $fim3$ 遺伝子をPCR増幅し、その塩基配列を3130xlまたは3730 Genetic Analyzer により決定した。得られた塩基配列はSEQUENCHER DNA sequencing software (Gene Codes Co.) を用いてアセンブリーを行い、アレルタイプを決定した。

Prn発現解析：菌体をSDS-lysis buffer に懸濁し、超音波処理により破菌させ全タンパク質を抽出した。タンパク質濃度はTCA-Lowry 法により測定した。全タンパク質1 μg を10% SDS-PAGE で分離した後、1次抗体マウス抗Prn1 (500倍希釈) および2次抗体ヤギ抗マウスIgG-HRP (3,000倍希釈) を用いたイムノプロットを行った。化学発光はECL detection (GE healthcare) を用いて行い、ルミノ・イメージアナライザーLAS-3000 (FUJIFILM) にて検出した。

Serotyping：Fim2, Fim3タンパク質の発現解析、すなわちSerotypingはELISA法により行った。BG寒天培地で生育させた菌株をPBSに懸濁し、OD₆₂₀=0.01に調製した。56°Cで1時間加温した菌液を100 μl /wellずつ96穴平底プレート (NUNC MaxiSorp) に添加し、37°Cで一晩静置した。プレー

トを洗浄した後、10% FBS-PBSを150 μl /well添加し、37°Cで1時間静置した。その後、1次抗体マウス抗Fim2モノクローナル抗体 (NIBSC：04/154, 1,000倍希釈) またはマウス抗Fim3モノクローナル抗体 (NIBSC：04/156) を添加し、37°Cで2時間静置した。次に2次抗体抗マウスIgG-AP抗体 (Southern Biotechnology Associates, Inc., 4,000倍希釈) を添加し、37°Cで2時間静置した。発色は1 mg/ml p-ニトロフェニルリン酸を100 μl /well添加し、37°Cで30分間反応させた。405nmの吸光度を測定しFim発現を解析した。Fim2 (+) /Fim3 (+) の発現コントロール株として百日咳菌18-323株を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は臨床分離菌株についての解析であり、ヒト臨床材料および患者の診療情報を使用しない。よって、倫理上特段の問題は発生しない。

C. 研究結果

百日咳臨床分離株の遺伝子アレルを解析した結果、経年的に $ptxP3$ 、 $ptxA1$ 、 $prn2$ アレルの割合が増加していた (図2)。これらのアレルは一定の増加速度を示し、2008～10年の流行期に特段の変化を認めなかった (重相関係数 $R^2 > 0.9$)。一方、 $fim3$ は流行期に一時的な $fim3B$ アレルの増加を認

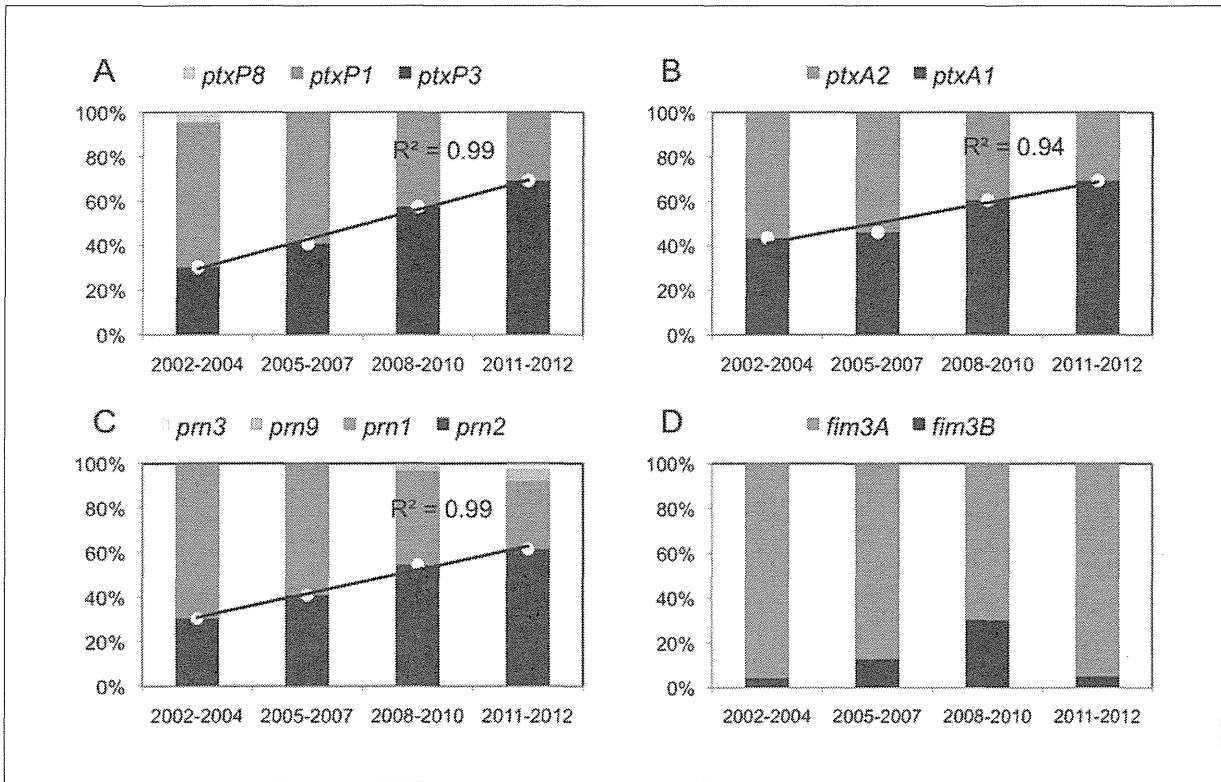


図2 流行期と流行前後における遺伝子アレルの変化
 A. *ptxP*アレル、B. *ptxA*アレル、C. *prn*アレル、D. *fim3*アレル

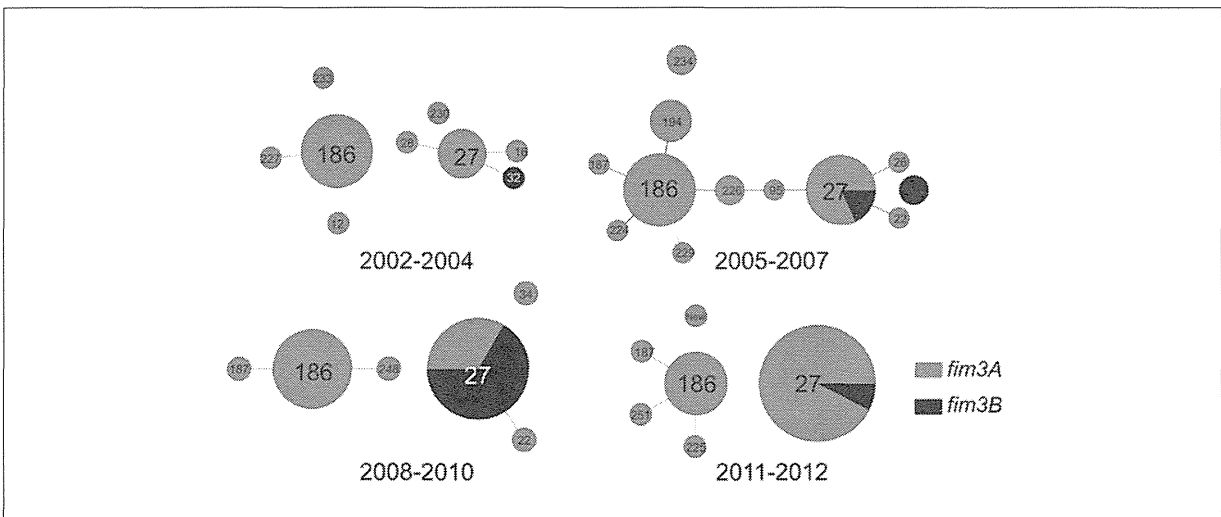


図3 遺伝子型 (MT) と *fim3* アレルの関係

めた。*fim3B*アレルと遺伝子型の関係を解析したところ、流行期に分離された*fim3B*株はすべてMT27に分類された(図3)。

2002~04年の遺伝子型はMT186が優位であったが、その後減少傾向を示した。相対的にMT27の割合が増加し、2011-12年には69%を占めた(図4)。流行前、流行期、流行後を通して主要な遺伝子型はMT186またはMT27であったが、流行期

以降、遺伝子型の多様度 (Diversity index : DI) の減少が認められた。

PrnおよびFim2/Fim3の発現を解析したところ、流行前に約4割を占めたPrn (-) 株が流行期以降に減少した(図5)。一方、Fim2とFim3の発現は、流行の前後で変化は認められず、全期間を通してFim2 (-) /Fim3 (+) 株が優位であった。

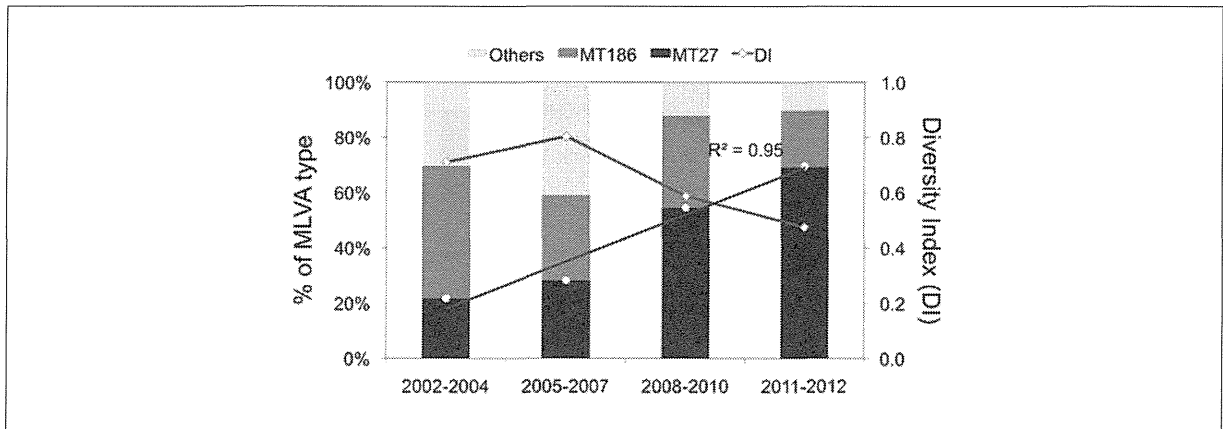


図4 遺伝子型 (MT) と多様度指数 (DI) の変化

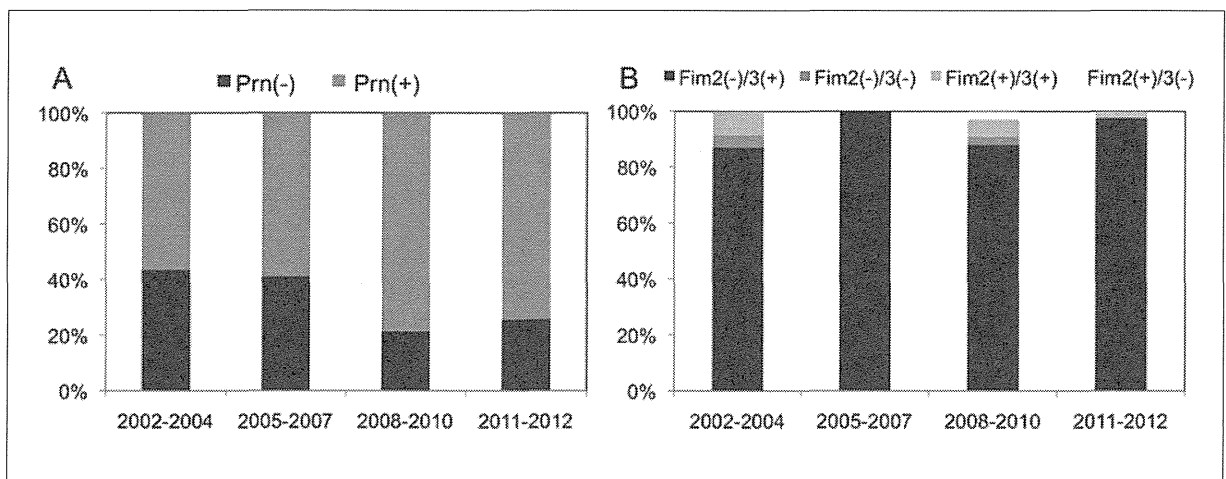


図5 遺流行期と流行前後における病原因子PrnとFim2/3の発現変化

A. Prn、B. Fim2とFim3の発現様式

D. 考察

本研究では2008～10年の百日咳流行の原因を考察するため、流行期と流行前後の臨床分離株について細菌学的解析を実施した。その結果、流行時に*fim3B*株が一時的に増加し、流行との関連が指摘された。一方、*ptxP*、*ptxA*、*prn*の遺伝子変化は一定速度で進行しており、流行との相関を認めなかった。病原因子PrnおよびFim2/3の発現についても流行との直接的な関連は認められなかった。

百日咳菌におけるアレル変化は世界的に報告されており、これまでに*ptxP*は19種類、*ptxA*は5種類、*prn*は13種類の塩基配列がGenBankに登録されている。特に百日咳毒素のプロモーターである*ptxP3*は毒素産生量が他のアレルに比較して1.3倍高いとされ、百日咳再興との関連が指摘されている。欧米先進国の百日咳流行株は主要なアレル(*ptxP3-ptxA1-prn2*)に集約されており、遺伝子

型ではMT27が主流である。わが国でもMT27の増加が認められるとともに、遺伝子型の多様度が減少傾向を示したことから、今後MT27の推移については継続的な監視が必要である。

本研究により、2008～10年の百日咳流行に*fim3B*アレルの関与が指摘された。カナダでは1998～2006年の流行株のうち83.5%が*fim3B*アレルを保有し、特定の遺伝子型(*ptxP3-ptxA1-prn2-fim3B*)を持つ流行株の蔓延が報告されている。わが国では*fim3B*株は流行期に30.3%を占めたにすぎないが、青年・成人患者からの菌分離率が低いことから実際にはより高い割合で*fim3B*株が流行していた可能性が指摘される。本分担研究者らは*fim3*株の表現型として高い自己凝集能を持つことを確認しており、今後は自己凝集能と流行の関係について更なる研究が必要である。

E. 結論

2008～10年の百日咳流行では*fim3B*アレルと流行との関連が示唆された。今後、*fim3B*と自己凝集能および病原性についての検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Suzuki T, Kataoka H, Ida T, Kamachi K, Mikuniya T. Bactericidal activity of topical antiseptics and their gargles against *Bordetella pertussis*. J Infect Chemother, 2012 ; 18 : 272-5.

2. 学会発表

- 1) 渡邊峰雄, 山口哲也, 大塚菜緒, 蒲地一成. 国内で分離された*Bordetella holmesii*に対す

るDPTワクチンの効果. 第16回日本ワクチン学会学術集会, 平成24年11月, 横浜

- 2) 砂川富正, 神谷元, 八幡裕一郎, 松本道明, 羽賀将衛, 蒲地一成. 強化サーベイランスにより得られるわが国の百日咳の姿. 第16回日本ワクチン学会学術集会, 平成24年11月, 横浜
- 3) 蒲地一成, 池田徹也, 伊瀬郁, 松本昌門, 石畝史, 烏谷竜哉, 江藤良樹, 山下和予, 柴山恵吾, 多屋馨子, 岡部信彦. 百日咳菌凝集素価法の診断精度について. 第86回日本感染症学会総会, 平成24年4月, 長崎

H. 知的所有権の出願・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

百日咳の血清診断法の確立

研究分担者：中山 哲夫（北里生命科学研究所）

研究協力者：渡邊 峰雄（北里生命科学研究所）

小口 薫（さいわいこどもクリニック）

宮田 章子（さいわいこどもクリニック）

吉田 菜穂子（国家公務員共済組合連合会立川病院小児科）

藤野 元子（東京都済生会中央病院小児科）

和山 行正（北里大塚バイオメディカルアッセイ研究所）

研究要旨 百日咳はwhoopingを伴う咳込み等の典型的な症状から診断されるが、成人百日咳は典型的な症状を認めないため2週間以上持続する咳、夜間の発作性の咳、咳込み嘔吐などの症状から診断されている。成人百日咳は受診まで日数を要し抗菌剤の服用、残存するワクチン免疫により菌分離、遺伝子検出が困難で血清反応に依存する事になる。2007年から東京都西部の立川市でも百日咳の流行を認め外来で百日咳と診断されLAMP陽性例が増加し小児科医院のスタッフの中でも咳嗽を認めるようになった。百日咳抗体の推移を観察するために小児科医院のスタッフを対象に2009年4月、10月、2010年5月、2011年5月、11月、2012年5月と経時的に百日咳PT、FHA、Fim2、Fim3、catACT、cFHA抗体を測定した。Fim3、catACT、cFHAはワクチンに含まれていない抗原でPT、FHA、Fim2がワクチン抗原である。2011年夏から再度流行が認められ2011年3月と11月の間にPT、Fim2、Fim3の抗体にブースター効果が認められた。特に、Fim2、Fim3の抗体に対する反応が顕著であった。PT抗体の測定系よりは感度が高くFim2、Fim3の組み合わせは診断的価値が高いと思われる。

A. 研究目的

百日咳は乳幼児においては無呼吸発作や脳症を合併する重篤な感染症である。1968年からDPTワクチンとして定期接種のワクチンとなった。当時は全菌体百日せきワクチンで副反応として発熱率は高いものの有効性は明白で1974年には百日咳で亡くなる報告例は認めなくなった。しかし、1974/75年の副反応例から一時中止になり再開はされたものの接種率は低迷し1981年には百日咳菌の感染防御に関連する百日咳毒素（pertussis toxin：PT）、繊維状赤血球凝集素（filamentous hemagglutinin；FHA）等を精製した無細胞型百日せきワクチンとジフテリア・破傷風トキソイドとを混合した沈降精製三種混合ワクチン（acellular pertussis combined with DT：DTaP）

が開発された。DTaP接種後では発熱等の副反応の出現率は極めて低く、DTaP接種率も90%近くになり百日咳患者報告数は減少してきた。

近年、大学キャンパスでの百日咳の流行が報告され、成人百日咳は典型的な症状を認めることは少なく、多くは慢性、遷延性の咳として百日咳の疑いすら抱かれず、また確実な診断法はなく遺伝子診断法も開発されているが一般には普及してないための確な診断がなされていない。そのため成人百日咳の実態が明らかとなっていないのが現状である。成人の百日咳は家族内感染を起こしワクチン接種前の乳幼児への感染源となり成人百日咳の制御は大きな課題となる。

百日咳の原因は*B. pertussis*であるが*Bordetella*属には*B. pertussis*以外にも*B. parapertussis*、