

子 (Dunne EM, et al. J Clin Microbiol 50: 1034-1038, 2012) ならびに *S. pneumoniae*, *lytA* 遺伝子 (Dunne EM, et al. J Clin Microbiol 50: 1034-1038, 2012 ならびに Sasaki, Y. 未発表)、*N. meningitidis*, *ctrA* 遺伝子 (Abdel-daim GMK, et. al. BMC Microbiology, 10: 310, 2010)、*S. agalactiae*, *sip* 遺伝子 (Bergseng H, et. al J Med Microbiol 56: 223-228, 2007)、*Mycoplasma pneumoniae*, MPN372 遺伝子 (Sasaki, Y. 未発表)、*Mycoplasma hominis* 16SrRNA 遺伝子 (Pascual A, et al. Int J Microbiology, 2010, doi:10.1155/2010/317512) に対するプライマーならびにプローブを用いた。

(倫理面への配慮) 菌株ならびに髄液の解析については、「国立感染症研究所 ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会」の承認を得た。本研究のために新たに検体採取することはなく、臨床診断目的で採取された検体の一部をインフォームドコンセントを得て解析に用いた。診療情報は匿名化され、対照表は協力医療機関側において厳重に管理された。

C. 研究結果

髄膜炎等の侵襲性細菌感染症症例由来の *Haemophilus influenzae* 臨床分離株の解析:

本研究班の対象 9 県における 2007 年から 2013 年 2 月までの侵襲性感染症患者由来の *H. influenzae* 菌株数の推移を症例

の入院時期により経時的に示した (図 1)。同時期の当該 9 県における Hib ワクチン出荷本数を 5 歳未満人口 (2010 年 10 月 1 日時点、本研究班、平成 23 年度 総括・分担研究報告書、p.9-16 より引用) で割った値の累積割合 (%) を菌株数の図に重ねて示した (図 1)。その結果、初期の研究体制の構築時に菌株数が少ないことを除けば、症例の入院時期に季節的な差はあるものの、2010 年 12 月までは、*H. influenzae* 侵襲性感染症からの分離菌株数に大きな変化は認められなかった。変化が見られたのは、2011 年 1 月以降で、総分離数が減少し、NTHi 菌株が散見された。この時期は、期間 3、すなわち Hib ワクチン任意接種開始後で、かつ、子宮頸癌ワクチン等緊急接種事業による Hib ワクチン接種への全国公的補助金支給開始後にあたる。期間 3 内では、Hib ワクチン出荷本数を 5 歳未満人口で割った値の累積割合が当該事業開始時 (2011 (平成 23) 年 1 月) の 50% 程度から 200% (2013 (平成 25) 年 1 月) に変化した。Hib ワクチンは、通常の初期接種で 3 回接種される。期間 2 ないし 3 における 3 回接種者の割合は不明なものの、期間 3 での接種率の増加が推測される。一方、定期接種開始後の期間 4 (2013 年 4 月から 2014 年 2 月まで) では、本研究班における Hib ワクチン接種歴を有する症例由来の菌株は無く、Hib ワクチン未接種 1 症例から Hib が 1 株分離されたのみであった。(図中には示さず)。

Hib ワクチン接種開始前の 2007 年から、定期接種開始後の 2014 年 2 月までの期間に侵襲性感染症患者より分離された *H. influenzae* 菌株の莢膜型別結果を表 1 に示す。Hib 分離株数の減少により、NTHi 分離率が相対的に高くなっている。本研究班においては、現時点までに、b 型以外の莢膜型の *H. influenzae* は、分離されていない（参考情報を参照）。

同 4 期間における薬剤感受性試験結果を表 2 に示す。アンピシリンならびにアンピシリン・スルバクタムに対する感受性株は、期間 1 では 56.9%であったが、期間 2 以降は約 50%になっていた。Hib ワクチンの接種率と明らかな相関はないと考えられる。ピペラシリン、メロペネム、セフォタキシム、セフトリアクソンに対する感受性株の割合は供試菌において大きく変化していないものと推察される。

今年度は、入院日が 2013 年 4 月から 2014 年 2 月までの 3 症例由来の 4 菌株について解析を行った。症例の内訳は、Hib 髄膜炎 1 例（福岡県）、NTHi 髄膜炎 1 例（福岡県）、NTHi 非髄膜炎 1 例（福岡県）である。このうち、Hib ワクチン未接種の Hib 髄膜炎 1 例（生後 2 ヶ月齢）においては、血液からの分離株と髄液からの分離株（各 1 株ずつ）が異なる表現形を示した。すなわち、b 型の莢膜関連遺伝子がいずれの 2 株からも検出されたものの、抗血清による莢膜型別解析においては、血液由来株 (Iha399) が Hib となり、髄液由来株 (Iha398) が a-f 型のいずれの抗血清存在

下においても凝集を示さなかった。このことから、髄液由来株においては、b 型の莢膜多糖関連遺伝子を有するが、莢膜多糖の発現不全が起きていたことが示唆された（当該症例は、Hib による侵襲性感染症と考えられる）。アンピシリンとアンピシリン/スルバクタムの両剤に対する薬剤感受性試験において、髄液由来株 (Iha399) が 4 μ g/ml と耐性を示し、血液由来株 (Iha398) が 1 μ g/ml と感受性を示した。ピペラシリン、メロペネム、セフォタキシム、セフトリアクソンに対しては、いずれの 2 株とも感受性を示した。一方、本症例の発症 3 日後に同胞（兄と姉、いずれも複数回の Hib ワクチン接種歴あり）の鼻腔から分離された *H. influenzae* 各 1 株は、莢膜関連遺伝子解析結果においても、抗血清による莢膜型別結果においても a-f 型のいずれの莢膜型にも該当しない NTHi であったことから、兄弟あるいは姉弟間での Hib 感染経路は、証明されなかった。

参考情報：本研究班の対象地域以外における b 型以外の莢膜型の *H. influenzae* による侵襲性感染症症例について。莢膜 f 型株 (Hif) が神奈川県 1 件（2012 年、髄膜炎）、愛知県 1 件（2013 年、髄膜炎）、ならびに香川県 1 件（2013 年、菌血症）で分離された。

細菌性髄膜炎疑い症例由来培養陰性髄液の微生物遺伝子解析：

今年度は、1 検体の髄液について、これまでに解析したうち 34 検体中、7 検体で何

らかの細菌遺伝子が検出された（表3）。推定された菌種は、*S. pneumoniae* 4症例、*H. influenzae* 3症例、*N. meningitidis* 2症例、*S. agalactiae* 2症例で、うち2症例においては、複数菌種の遺伝子が検出された。今年度は、1検体の髄液について、Realtime-PCRにより解析を実施した。以下の菌種についての解析結果は陰性であった。*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus agalactiae*, *Neisseria meningitidis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*。

D. 考 察

Hib ワクチンの定期接種開始以降 2014 年 2 月現在まで、当該対象地域における Hib を含む *H. influenzae* による小児の侵襲性感染症の症例数ならびに分離菌株数は少ない状態が継続されている。今年度における 1 例の Hib 髄膜炎症例は、Hib ワクチン未接種の生後 2 ヶ月齢の症例であった。Hib ワクチンの接種開始年齢が生後 2 ヶ月であることから、早期の Hib ワクチン接種が好ましいことが示唆される。Hib ワクチン接種歴（1 回接種を含む）を有する症例とその分離菌株は無かった。一方、全国においては、Hib ワクチンによる予防効果が見込めない f 型の莢膜を有する *H. influenzae* (Hif) が少なくとも 3 株、髄膜炎 2 症例を含む侵襲性感染症症例から分離されている。Hif については、小児科、耳鼻科および内科領域疾患症例

において鼻腔あるいは喀痰からの分離が国内で報告されている (IASR 34: 192-193, 2013)。さらに、国内の上記診療領域で Hif 以上の分離菌数が報告される莢膜 e 型の Hie (IASR 34: 192-193, 2013) についても侵襲性感染症の起因菌として分離されるか否かについて監視していく必要がある。我が国より早期に Hib ワクチンが導入された他国の状況においても非 b 型の莢膜株の出現が報告されている。Hif, Hie による侵襲性感染症は、欧米で増加してきており、イングランドとウエールズにおいては、2004-2010 年の年間上昇率が 11% で増加し、2009-2010 年の 10 万人当たりの罹患率は、1 歳未満小児において Hif が 0.09、Hie が 0.03 となっている (Emerging Infect Dis 18: 725-732, 2012)。また、莢膜 a 型の Hia による侵襲性感染症が北米ならびに南米での増加が懸念されている (Lancet Infect Dis 14: 70-82, 2014)。これら Hie, Hif, Hia による侵襲性感染症の報告は、Hib ワクチン定期接種開始後、数年かかって増加してきており、本研究班における継続性のある小児の侵襲性感染症の全数把握により、新たな莢膜型を有する *H. influenzae* の早期解析が期待できる。加えて、我が国における侵襲性インフルエンザ菌感染症の発生動向調査に伴う病原微生物検出に際し、*H. influenzae* 分離菌株の莢膜型別解析の実施体制の充実が急務である。

細菌性髄膜炎疑い症例由来培養陰性髄液の微生物遺伝子解析については、本研

究班でこれまでに解析した 34 検体中、7 検体で何らかの細菌遺伝子を検出し起病因菌が推定された。これまでは、*M. meningitidis* (髄膜炎菌)、*S. pneumoniae* (肺炎球菌)、*H. influenzae* といった細菌性髄膜炎の主要な起病因菌にターゲットをおいた解析を実施してきた。髄膜炎菌性髄膜炎に加え、今年度からは、侵襲性肺炎球菌感染症ならびに侵襲性インフルエンザ菌感染症が別枠に変更され、上記 3 種以外の起病因菌による症例が細菌性髄膜炎として届け出られる。しかしながら、細菌培養陰性や起病因菌不明での届出についての精度の向上が求められる。我々は、これまでにマイコプラズマ 2 種 (*M. pneumoniae*, *M. hominis*) を含めた細菌遺伝子解析 Real-time PCR の系を立ち上げている。さらに、細菌性髄膜炎の起病因菌を明らかにする観点からも幅広い菌種の検出が可能な系への改良が必要だと考えられた。

E. 結 論

平成 25 年度 (2013 年 4 月) の Hib ワクチンの定期接種開始、ならびに侵襲性インフルエンザ菌感染症症例の届出開始以降の対象 9 県における小児の侵襲性インフルエンザ菌感染症由来 *H. influenzae* 菌株について解析した。3 症例からの 4 株を解析し、うち 1 株のみが Hib、残りの 3 株は NTHi であった。Hib が分離された

症例は、Hib ワクチン未接種の生後 2 ヶ月齢の髄膜炎であり、早期接種が本疾患の予防に重要であることが示唆された。対象地域に該当しない他県において、Hib ワクチンによる予防が見込めない莢膜 f 型の *H. influenzae* (Hif) による小児の侵襲性感染症 (髄膜炎 2 例、菌血症 1 例) が 2012-2013 年に少なくとも 3 例報告されており、b 型以外の莢膜を有する Hia, Hie, Hif による侵襲性感染症に対する監視を継続する必要性が示唆された。

F. 健康危機情報

とくになし

G. 研究発表

佐々木 裕子、他、*Haemophilus influenzae* b 型菌 (Hib) ワクチン導入前後の侵襲性感染症由来 *H. influenzae* 分離株の解析: 9 県における検討、Infectious Agents Surveillance Report (IASR) 34: 195-197, 2013

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

表 1、侵襲性感染症症例由来の *Haemophilus influenzae* 臨床分離株における荚膜型 b 型 (Hib) 別の割合の推移

	接種開始前	接種開始前	任意接種開始後	任意接種開始後	任意接種開始後 (ワクチン緊急接種事業開始後)	任意接種開始後 (ワクチン緊急接種事業開始後)	任意接種開始後 (ワクチン緊急接種事業開始後)、定期接種開始後	定期接種開始後
年 (入院時)	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014(1-2月)
b型	100% (27/27)	96.7% (58/60)	100% (60/60)	96.7% (87/90)	94.9% (37/39)	52.6% (10/19)	50% (1/2)	0% (0/1)
非b型 (Non-typable <i>H. influenzae</i>)	0% (0/27)	3.3% (2/60)	0% (0/60)	3.3% (3/90)	5.1% (2/39)	47.4% (9/19)	50% (1/2)	100% (1/1)

症例数による集計結果を示す

表 2、侵襲性感染症症例由来の *Haemophilus influenzae* 臨床分離株における供試薬剤に対する感受性株*の割合と株数

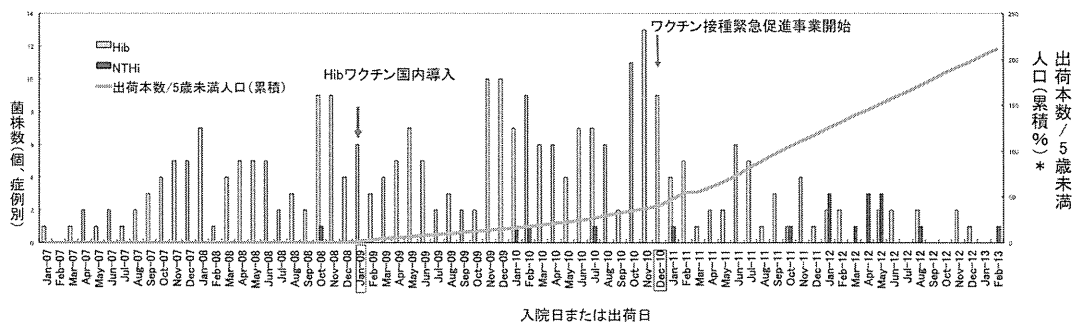
期間	接種開始前	任意接種開始後	任意接種開始後(ワクチン緊急接種事業開始後)	定期接種開始後
薬剤	2007.6~ 2008.11	2008.12~ 2010.12	2011.1~ 2013.3	2013.4~ 2014.2
Ampicillin	56.9% (41/72)	50.0% (79/158)	49.5% (52/105)	50.0% (2/4)
Ampicillin/ Sulbactam	56.9% (41/72)	48.0% (76/158)	48.6% (51/105)	50.0% (2/4)
Piperacillin	CLSI基準値情報なし			
Meropenem	100% (72/72)	94.3% (149/158)	95.2% (100/105)	100% (4/4)
Cefotaxim	100% (72/72)	99.3% (157/158)	99.0% (104/105)	100% (4/4)
Ceftriaxone	100% (72/72)	100% (158/158)	100% (105/105)	100% (4/4)

注) * 微量液体希釈法による値を参考値とした場合
検体受理日で集計した。

表 3、細菌性髄膜炎疑い症例由来髄液等から検出された遺伝子情報をもとに推定された菌種

検体番号	検体採取日	検体	地域	年齢	診断名	検出された遺伝子情報をもとに推定された菌種
Zuk-001	2007/7/26	髄液	鹿児島県	5か月	髄膜炎	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Zuk-009	2008/10/7	髄液	岡山県		髄膜炎	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>
Zuk-011	2008/10/31	髄液	三重県	3歳	化膿性髄膜炎	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i>
Zuk-012	2008/1/14	髄液	鹿児島県	5歳4か月	髄膜炎	<i>Neisseria meningitidis</i>
Zuk-016	2009/9/1	ドレナージ液	高知県	1歳2か月	硬膜下膿瘍	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Zuk-027	2010/12/22	髄液	鹿児島県	4歳	髄膜炎	<i>Haemophilus influenzae</i>
Zuk-030	2011/4/1	髄液	新潟県	2か月	髄膜炎	<i>Streptococcus agalactiae</i>

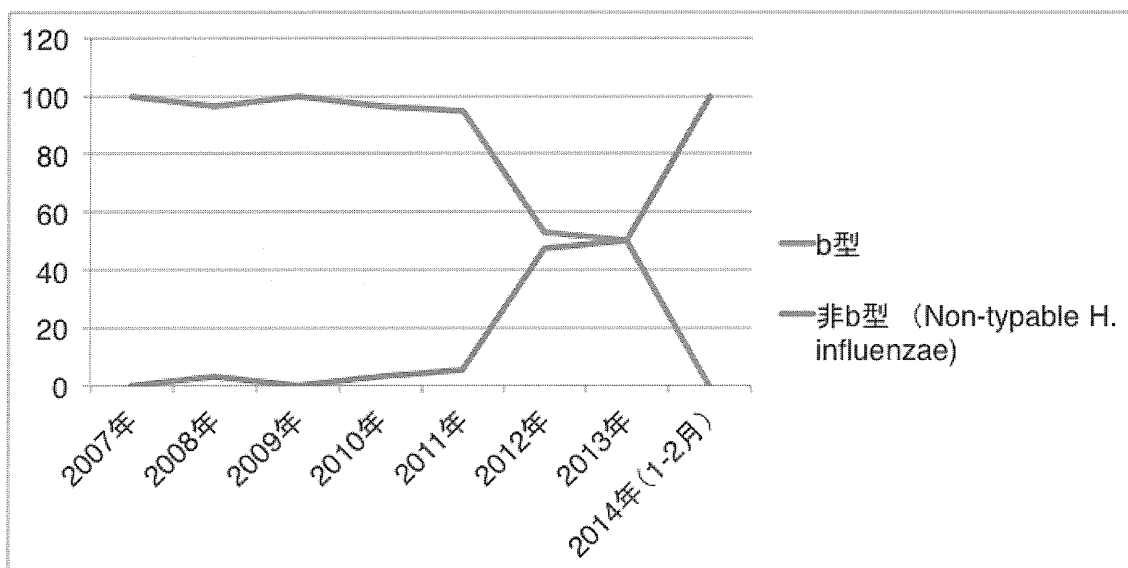
図 1、対象 9 県における侵襲性感染症症例由来の *Haemophilus influenzae* 臨床分離株数（症例数別）と Hib ワクチン出荷本数の経時的変化



* Hib ワクチン集荷本数を各県の 5 歳未満人口（2010 年 10 月 1 日）で割った値の累積% を緑色の線で示す。

出典:佐々木裕子、他、*Haemophilus influenzae* b 型菌(Hib)ワクチン導入前後の侵襲性感染症由来 *H. influenzae* 分離株の解析：9 県における検討、Infectious Agents Surveillance Report (IASR) 34: 195-197, 2013、一部改変

図2、侵襲性感染症症例由来の *Haemophilus influenzae* 臨床分離株における荚膜 b 型菌 (Hib) の検出割合の推移



分担研究報告書

小児における侵襲性肺炎球菌感染症患者の
肺炎球菌コンジュゲートワクチン接種前後の血清免疫学的研究

分担研究者 大石和徳 国立感染症研究所
研究協力者 明田幸宏、田村和世 大阪大学微生物病研究所

研究要旨： 2009年10月から2013年4月の期間に小児の侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) 56例のデータを収集し、このうちIPD回復後に7価肺炎球菌コンジュゲートワクチン (PCV7) を接種した17例について接種前後の血清解析により免疫応答を評価した。17例全体としては、血清型特異的オプソニン活性 (Opsonization index;OI) は、PCV7に含まれるすべての血清型についてワクチン接種後有意に上昇した。一方、このうち6例においては感染の原因となった血清型についてOIの上昇がみられず、感染血清型特異的なPCV7に対する低応答が生じる可能性が示唆された。

A. 研究目的

2009年10月に小児における侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) の予防ワクチンとして7価コンジュゲートワクチン (PVC7; プレベナー®) が薬事承認され、その後2010年10月に小児に対する公費助成が開始された。そして2013年4月からは定期接種化された。

PCV7接種は一般小児集団において良好な免疫応答が得られワクチン含有血清型によるIPD予防に有効であることが明らかであるが、IPD罹患後の小児については、回復後にPCV7を接種しても感染血清型に対するIgGの低応答が生じるとの既報がある。しかし近年、感染防御免疫の評価にはIgG濃度よりも血清オプソニン活性の測定がより有用と期待されている。我々は本研究において小児IPD症例におけるPCV7接種に対する応答性をより正確に評価することを目的とし、原因菌の血清型決定と血清中血清型特異的IgG, オプソニン活性の検討を行った。

(倫理面への配慮)

対象症例が乳幼児であるため、インフォームド・コンセントは患児の両親あるいは後見人が代諾者として対応するものとした。本臨床研究に関して大阪大学微生物病研究所の倫理委員会の承認を取得した。

B. 研究方法

1. IPD症例と血清サンプルの収集

本班会議の分担研究者および全国の医療機関の医師が、9歳以下のIPD症例の親権者からインフォームドコンセントのもとに血清検体を採取し、その症例記録表とともに大阪大学微生物病研究所に冷凍輸送し、 -80°C で保存した。2009年～2013年までに受領したIPD症例の血清検体につき、抗体測定、オプソニン活性測定とデータ解析を行なった。すべての症例において、血液もしくは髄液から分離された肺炎球菌の血清型の決定は国立感染症研究所細菌第一部において行った。

2. 特異 IgG 抗体濃度測定
乳幼児において PCV7 接種による集団レベルでの侵襲性感染症の予防閾値は、第 2 世代 ELISA で血清中特異 IgG 抗体 0.35 µg/ml とされ、これは血清中オプソニン活性 (OPA titer) 8 と相関するとされている (WHO 2005)。そして 22F CPS 阻害による ELISA (第 3 世代 ELISA) では血清中特異 IgG の 0.20 µg/ml を感染予防閾値として提案している (Henckaerts I, et al. *Clin Vacc Immunol* 13:356-60, 2006)。本研究では血清中の 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F の PCV7 含有血清型に対する莢膜ポリサッカライド (CPS) 特異的 IgG 抗体濃度を 22F CPS 阻害による ELISA (第 3 世代) で測定した。

3. Multiple opsonophagocytic assay (MOPA)

血清中の 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F の PCV7 含有血清型と 19A, 6A, 6C の血清型に対するオプソニン活性を opsonophagocytic assay (OPA) titer として既報に準じて測定した (Burton RL, et al. *Clin Vaccine Immunol* 13:1004-9, 2006)。

C. 研究結果

1. 小児 IPD56 症例の臨床的特徴

血清検体を受領した症例のうち、IPD 原因血清型が判明し、23 価肺炎球菌莢膜多糖体ワクチンの接種歴のない症例 56 例につき解析した。

症例の IPD 発症時月例は中央値 17 ヶ月 (3~67 ヶ月) で男児 34, 女児 22 例であった。臨床診断は菌血症のみ 26 例、髄膜炎 23 例、菌血症を伴う中耳炎 3 例、菌血症を伴う肺

炎 2 例、化膿性股関節炎 2 例、菌血症をともなう眼窩蜂窩織炎 1 例であった (髄膜炎の 1 例に中耳炎合併あり)。何等かの基礎疾患を有する症例は 15 例 (27%) であった。原因菌の血清型の分布は 6B (n=15), 19A (n=10), 6C (n=6), 23F (n=4), 19F (n=4), 14 (n=4), 15A (n=2), 15B (n=2), 15C (n=2), 24F (n=2), 9V (n=1), 6A (n=1), 22F (n=1), 33 (n=1) と 6B が最も多く、PCV7 含有血清型が 28 例 (50%) であった。

56 例のうち IPD 発症時に PCV7 未接種が 25 例、既接種が 31 例であった。PCV7 既接種群の初回 PCV7 接種月齢は 7 ヶ月 (2-39 ヶ月) で、生後 6 か月以内で初回 PCV7 を接種する標準スケジュールで開始した症例は 15 例にとどまった。IPD の原因血清型が PCV7 含有血清型であったのは、PCV7 未接種群では 20 例 (80%)、PCV7 既接種群では 8 例 (26%) であり、既接種群ではワクチン型の IPD は有意に少ない結果であった。既接種群で PCV7 含有血清型 IPD を発症した 8 例のうち 7 例は、7 カ月齢以降で PCV7 接種を開始したキャッチアップ症例であった。Vaccine failure は 3 例 (いずれもキャッチアップ症例、原因血清型は 6B)、Breakthrough infection は 5 例 (キャッチアップ症例 4 例、標準スケジュール 1 例、原因血清型は 6B が 3 例、23F が 2 例) であった。

2. 血清中特異 IgG 濃度と OPA titer

56 症例中 21 例が IPD 回復後に PCV7 接種を受けた。このうち低 γ グロブリン血症の 2 例と血清回収ができなかった 2 例は解析より除外した。結果 17 例で、IPD 発症急性期の血清

と PCV7 接種後の血清について、PCV7 に含まれる血清型について IgG 濃度とオプソニン活性を解析した。IPD 急性期血清の採取時期は IPD 診断からの日数中央値 0 (0-11)、PCV7 接種後血清の採取時期は最終 PCV7 接種からの日数中央値 32 (0-120) であった。

17 例全体の解析では、血清型特異的 IgG 濃度の幾何平均値は PCV7 接種後に増加した。ただし統計学的解析では血清型 6B に対する IgG 濃度のみ有意な上昇ではなかった。血清型特異的 OI の幾何平均値は 7 血清型すべてについて PCV7 接種後に統計学的に有意に上昇した。しかし、個々の症例に注目すると血清型 6B と 23F の OI が接種後も上昇が乏しい症例がそれぞれ 5 例、1 例認められた。これらの症例はその血清型による IPD に罹患した症例であった。

そこで、PCV7 含有血清型による IPD 症例 14 例について、感染血清型に対する PCV7 の応答性を比較した。IPD 急性期の感染血清型特異的 OI は、14 例全例において集団レベルでの IPD 予防閾値とされる 8 を下回った。一方 PCV7 接種後、8 例では感染血清型特異的 OI > 8 に上昇したが、6 例では OI < 8 のままであり、後者を低応答症例と判断した。この 6 例は感染血清型以外については PCV7 接種後に良好な OI の上昇があり、低応答は感染血清型に限定的と考えられた。

低応答群と応答群で性別 ($p=0.64$)、初回 PCV7 接種月齢 ($p=0.15$)、IPD 発症月齢 ($p=0.70$)、IPD 後 PCV7 接種までの期間 ($P=0.25$)、IPD の病態 (髄膜炎か否か) ($p=0.35$)、基礎疾患の有無 ($p=0.37$) を比較したが有意差はなかった。IPD を発症しやすい、あるいは PCV7 不応性となりやすい

素因については今回の臨床的調査では不明であった。

D. 考察

2009 年から 2013 年までに登録された 56 症例の小児 IPD についての解析を行った。PCV7 を 1 回以上接種した児においては、ほとんどが非ワクチン型の IPD でありワクチン型の IPD は有意に減少していた。PCV7 を 1 回以上接種した上で PCV7 含有血清型による IPD を発症した Breakthrough 症例は 8 例存在し、これらのうち 88% (7/8) が 7 カ月齢以降で PCV7 接種を開始したいわゆるキャッチアップ症例であった。これは接種開始が遅くなると、接種前に肺炎球菌の鼻咽頭定着等による曝露を受けることで定着菌に対する PCV7 の低応答が起こる可能性も考えられる。PCV による IPD の予防効果を高めるには標準スケジュール (とくに生後 2 か月からの接種が推奨されている) で開始することが重要である。

IPD 発症時の血清学的免疫能の測定結果からは、原因血清型に対する IgG 濃度はほとんどの症例で $0.2 \mu\text{g/ml}$ を上回ったにもかかわらず、OPA titer は全例 < 8 と低値であった。血清型特異的 IgG には、非機能性の抗体が含まれていることを示し、感染防御能をより反映するのは OPA titer であると言える。

また、今回の研究では、PCV7 接種後に同ワクチン含有血清型による IPD を発症した 6 症例では、その後に PCV7 追加接種をおこなっても原因血清型に対する OPA titer の上昇が認められなかった。この特定の血清型に対する免疫不応答の生じたメカニズムについては、現時点では解明されていないが、いくつかの可能性が推測される。これらの症例に特定の

血清型に対する不応性の体質がある可能性、6例中5例が6Bに対する免疫不応答であったことから、莢膜ポリサッカライドの性質の違いによる可能性もある。また、鼻咽頭定着やIPD罹患後のPCV7不応答について報告があり、いくつかの基礎研究では多量のポリサッカライドにさらされるとB細胞の不応答やアポトーシスが起る可能性が示唆されている。つまり初回PCV7接種をする前の幼い時期に何等かの肺炎球菌暴露を受け、特定の血清型ポリサッカライドが血中に入ると、その血清型特異的なB細胞プールが枯渇あるいは不応答となり、その後にPCV7接種を行っても不応答となる可能性があるのかもしれない。今回のPCV7不応答の5症例について、初回接種時の鼻咽頭の肺炎球菌定着の状況は調べられていない。また、こうした不応答がどの程度の時間持続するのかについても今後の研究継続が必要である。

E. 結論

PCV7含有血清型によるIPDは、PCV7の標準スケジュールでの接種の普及によりさらに減少させることが期待できる。

血清型6B, 23Fに対するPCV7の免疫不応答症例が5例確認された。これらの原因解明のためのPCV7接種前の鼻咽頭定着の調査等や、将来的な免疫応答の回復の可能性についての血清免疫学的検査の継続が必要である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tamura K, Matsubara K, Ishiwada N, Nishi J, Ohnishi H, Suga S, Ihara T, Bin Chang B, Akeda Y, Oishi K, the Japanese IPD Study Group. Hyporesponsiveness to the infecting serotype after vaccination of children with seven-valent pneumococcal conjugate vaccine following invasive pneumococcal disease. *Vaccine* 32:1444-1450, 2014
2. Mori S, Ueki Y, Akeda Y, Hirakata N, Oribe M, Shiohira Y, Hidaka T, Oishi K. Pneumococcal polysaccharide vaccination in rheumatoid arthritis patients receiving tocilizumab therapy. *Ann Rheum Dis* 72 (8): 1362-1366, 2013
3. Tanaka-Taya K, Satoh H, Arai S, Yamagishi T, Yahata Y, Kamiya H, Nakashima K, Matsui T, Saito T, Kanou K, Shimada T, Kinoshita H, Yamashita K, Yasui Y, Tada Y, Mori Y, Takeda M, Sunagawa T, Oishi K. Nationwide rubella epidemic in Japan, 2013, *MMWR*, 62(23);457-62, 2013.
4. Miyasaka T, Akahori Y, Toyama M, Miyamura N, Ishii K, Saijo S, Iwakura Y, Kinjo Y, Miyazaki Y, Oishi K, Kawakami K. Dectin-2-dependent NKT cell activation and serotype-specific antibody production in mice immunized with pneumococcal polysaccharide vaccine. *PLoS One*. 2013 Oct 25;8(10):e78611. doi: 10.1371/journal.pone.0078611.
5. Ohshima N, Nagai H, Matsui H, Akashi S, Makino T, Akeda Y, Oishi K.

- Sustained functional serotype-specific antibody after primary and secondary vaccinations with a pneumococcal polysaccharide vaccine in elderly patients with chronic lung disease. *Vaccine*. 32:1181-1186, 2014
6. 大石和徳、八幡裕一郎、明田幸宏. 腸管出血性大腸菌感染症. *日本内科学会雑誌*. 102 : 2854--2859, 2013
 7. 大石和徳. 国内外における2013年の感染症流行. *Medical Technology*. 41 : 1254-1258, 2013
 8. 大石和徳、田淵文子. MERSコロナウイルス感染症. *感染症*. 43 : 23-28, 2013
 9. 高山直秀、崎山弘、大石和徳、岡部信彦、梅本 哲. MRワクチン1期および2期の全国累積接種率調査：2012年の調査結果. *日本医事新報*. No. 4656 : 34-38, 2013
 10. 高山直秀、崎山弘、大石和徳、岡部信彦、梅本 哲. 日本脳炎ワクチン第1期1, 2回目および追加接種の全国累積接種率調査：2012年の調査結果. *日本医師会雑誌*. 142 : 592-596, 2013
 11. 高山直秀、崎山弘、大石和徳、岡部信彦、梅本 哲. BCG, DPTワクチンの全国累積接種率調査：2012年の調査結果. *日本医事新報*. No. 4655 : 35-39, 2013
 12. 竹内壇、大石和徳. 豚レンサ球菌 (*Streptococcus suis*) による人獣共通感染症. *感染症*. 43(1) : 24-28, 2013
 2. 学会発表
 1. 大石和徳. シンポジウム 5. 忘れてはいけない輸入感染症国際感染症. デング熱・デング出血熱. 第 87 回日本感染症学会. 横浜 2013 年 6 月
 2. 大石和徳. 教育講演：呼吸器感染症ワクチンの展望. 第 24 回日本生体防御学会学術総会. 熊本. 2013 年 7 月.
 3. 大石和徳. 教育講演：これからの呼吸器感染症のワクチン戦略. 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会 東京 2013 3 月
 4. 大石和徳. ICD 講習会. 新型特措法下のインフルエンザ診療. 国家の感染症危機管理対策としての特措法. 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会 東京 2013 3 月
 5. 大石和徳. シンポジウム 3. 細菌ワクチンの効果と問題点. 成人の肺炎球菌感染症とワクチン予防. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会 三重 2013 年 12 月
 6. 田村和世、石和田稔彦、常彬、明田幸宏、庵原俊昭、大石和徳. 侵襲性肺炎球菌感染症罹患小児における7価肺炎球菌コンジュゲートワクチンに対する免疫応答. 第 17 回ワクチン学会学術集会 三重 11 月 30 日、2013 年
 7. 南宮湖、大石和徳、岩田敏、長谷川直樹「80 歳以上の高齢者における肺炎球菌多糖体ワクチン (PPV23) と肺炎球菌結合型ワクチン (PCV7) の安全性・免疫原性の比較検討 (多施設共同ランダム化オープンラベル試験)」第 17 回日本ワクチン学会学術集会 三重 2013 年 12 月
 8. 朴 貞玉、明田幸宏、大石和徳. PB2欠

損半生インフルエンザウイルスをベースとするインフルエンザウイルス及び肺炎球菌に対する新規二価ワクチンの開発. 第17回日本ワクチン学会学術集会 三重 2013年12月

9. 牧野友彦、常 彬、大石和徳、庵原俊昭.
小児の侵襲性肺炎球菌感染症に対するワクチン効果：発生動向と血清型分析. 第17回日本ワクチン学会学術集会 三重 2013年12月

10. 牧野友彦、青柳哲史、國島広之、賀来満夫、大石和徳. 大規模災害への肺炎球菌ワクチン提供の効果：官民共同事業の評価. 第17回日本ワクチン学会学術集会 三重 2013年12月

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

H25 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）
「Hib、肺炎球菌、HPV 及びロタウイルスワクチンの各ワクチンの有効性、安全性並びにその投与方法に
関する基礎的・臨床的研究」 分担研究報告書

ワクチンの意義に関する研究
～ロタウイルスワクチン導入前後の入院および外来患者の疫学調査

主任研究者：庵原俊昭、神谷 齊（国立病院機構三重病院）

分担研究者：中野貴司（川崎医科大学小児科教授）

谷口孝喜（藤田保健衛生大学ウイルス・寄生虫学講座）

研究協力者：浅田和豊、長尾みづほ、菅秀、藤澤隆夫（国立病院機構三重病院）、田中滋己、井戸正流（国立病院機構三重中央医療センター）、田中孝明（川崎医科大学小児科）梅本正和（うめもとこどもクリニック）、黒木春郎（外房こどもクリニック）、Francis Dennis（東京医科歯科大学）、伊東宏明、神谷元（国立感染症研究所感染症情報センター）

研究要旨

ロタウイルス感染症は全世界において乳幼児の重症急性胃腸炎の主要原因となっている。アメリカの5歳未満の子どもでのロタウイルス感染症の現状は年間死亡例 20～60、入院例 55,000～70,000、外来受診例 600,000 と推定されている。

本研究班ではこれまで三重県の5病院にてロタウイルスによる乳幼児胃腸炎の後ろ向き（2003-2007）、および前向き（2008-2009）のサーベイランスを実施し、5歳未満の小児1,000人当たり年間に4～5人のロタウイルス胃腸炎による入院患者がいることを報告した。この結果をもとに我が国のロタウイルス胃腸炎による入院患者は年間おおよそ3万例、医療費は66億円（1例22万円との中込らの報告を採用）と試算した。また外来患者に関しては、三重県津市における5歳未満のロタウイルス胃腸炎患者の受診率を調査し、1,000人年あたり306.3人と推計した。

本邦では、2011年11月に1価のロタウイルスワクチンが、2012年7月に5価のワクチンが導入された。本研究はワクチン導入後も調査を継続しており、ロタウイルス胃腸炎患者の入院率や株型、臨床症状を調べている。ワクチンが導入されて間もないため評価は難しいが、本研究を継続することで、ワクチンが果たす重要な役割を示すことができると考えられる。

A. 研究目的

本研究の目的は日本におけるロタウイルスによる乳幼児胃腸炎の罹患率を推定することであり、その目的達成のために

laboratory confirmed population-based サーベイランスを実施した。これまでに入院率、外来受診率の報告を行ってきた。2011年11月に1価のロタウイルスワクチンが、

2012年7月に5価のワクチンが導入されて、徐々に普及率は上がってきている。それに伴い、入院率や外来受診率、分離されるウイルスの遺伝子型がどのように推移しているのか、評価していくことが重要である。

目的

ワクチン導入前後において、三重県津市における5歳未満の急性胃腸炎による入院率と原因となったロタウイルスの遺伝子型の推移を調べる。また、外来の感染性胃腸炎の患者数の推移を調べる。

B. 研究方法

(1) 本サーベイランスは、三重県津市における5歳未満小児の急性胃腸炎の疫学調査であり、観察期間は6シーズン(2007/08～2012/13、1シーズンは11月から翌年の10月までとする)。

(2) 入院症例の調査：前向き観察研究。参加施設は、津市の小児二次救急医療をカバーする2つの国立病院機構病院(三重病院、三重中央医療センター)とした。なお、津市周辺の入院施設(三重県鈴鹿市、亀山市)にも参加していただき、津市在住の患者が受診した場合報告してもらう。

(3) 入院症例において、急性胃腸炎と診断された患者に関して、後に示すサーベイランス参加条件を満たす患者のみを登録する。

(4) 入院症例は、入院時に施設共通の調査票(添付資料)を担当医に記入してもらう。質問事項は、住所(市のみ)、年齢、性別、入院時の臨床所見、迅速検査施行の有無と結果、ロタウイルスワクチン接種歴などである。

(5) 入院症例の診断は迅速キットを用いて行い、陽性と診断されたサンプルは藤田保健衛生大学ウイルス寄生虫学教室に送られ、PCR法によりロタウイルスの感染を確

認し、陽性サンプルに関してはウイルスの遺伝子型を判定した。具体的な方法は、便サンプルをPBSで10%便懸濁液を調製し、上澄み液をフェノール・クロロホルム処理しRNAを抽出する。抽出したRNAにすべてのG、あるいはP血清型に共通のプライマーを使用して逆転写反応を用いた1st PCRを行い、続いて各血清型に特異的なプライマーを用いた2nd PCRを行い、生成物をアガロースゲル電気泳動にて泳動し、増幅長を確認することで株型を確定した。

(6) 外来症例の調査：後向き観察研究。参加施設は、2定点医療機関(津市：うめもとこどもクリニック、亀山市：落合小児科医院)とした。

(7) 外来の感染性胃腸炎患者：2007年6月～2013年2月の間に、定点医療機関を受診し、臨床的に感染性胃腸炎と診断した患者のみを集計する。

(登録対象患者：入院症例)

a.参加条件

以下の全ての条件を満たすものがこの研究の参加対象者となる

- ・三重県津市に在住している
- ・生後14日以上5歳未満
- ・2007年11月1日～2013年10月31日までに参加施設を受診した者
- ・以下の症状を認めて急性胃腸炎と診断されたもの

-下痢(24時間以内に下痢便を3回以上排出)または

-24時間以内に1回以上の嘔吐

- ・病気の症状が発症から10日以内のもの

b.除外条件

以下の条件を1つでも満たせばこの研究の対象とはならない。

- ・参加施設の所在地外に住んでいる
- ・生後14日未満、または5歳以上
- ・入院前10日以内に急性胃腸炎の症状が

認められた場合

- ・急性胃腸炎以外の疾患により嘔吐や下痢を呈していると考えられる場合
- ・基礎疾患として明らかな免疫不全症を合併している場合
- ・両親、または家族がいない場合

参考：他の臨床研究に参加していても構わない

(倫理面について)

本研究は、患者が病院受診時、あるいは入院中に自然排せつした便をサンプルとして用いており、侵襲的な処置はしていない。また、住所、年齢などの個人情報個人が特定できないよう特別な ID で管理した。また本研究は国立病院機構三重病院の倫理委員会により承認されている。

評価及び本サーベイランスの意義

上記の方法により、調査対象となる地域の人口をもとにしたロタウイルス胃腸炎の入院率とウイルス遺伝子型を、ワクチン導入前後でどのように推移したのか評価することができる。また入院時の臨床所見も合わせて調査し、ロタウイルス胃腸炎の重症度を評価することができる。

外来患者に関しては、感染性胃腸炎の患者数をもとに、ワクチン導入前後で比較検討する。しかし導入後のデータは、導入直後のため評価は難しいと思われる。

C. 研究結果

1) ワクチン導入前後の入院率

ワクチン導入前後の入院率を図 1 に示す。ワクチン導入前 (2007/08~2011/12) の入院率は 1,000 人・年あたり 4.2 であった。ワクチン導入後の入院率は、2011/12 が 3.0、2012/13 が 3.5 であった。年齢別の入院割合をみると、図 2 に示すように、ワクチン導入後では 1 歳未満の入院割合が明らかに減少していた (統計学的には有意差な

し)。

2) 入院症例におけるワクチン導入前後のウイルス遺伝子型

ワクチン導入前の株型は、対象者 205 例のうち、131 例 (64%) で検討できた。図 3 に示すように、各シーズンにおいて、ウイルス遺伝子型は G3P[8] が 62~75%、G1P[8] が 11~28% で、その他は少数であった。ワクチン導入後 (2011/12) のウイルス遺伝子型は、G1P[8] が 75%、G3P[8] が 13%、と例年と異なる割合であった。

3) 入院症例におけるロタウイルス胃腸炎の臨床的重症度

重症度は 200/08~2010/11 において、検討した。重症度は、入院時の調査票を用いて評価した。年齢別に、臨床的重症度と入院期間を比較したが、有意差を認めなかった (図 4)。しかし、年齢を 0 歳と 1 歳以上に分けて入院期間を比較すると、0 歳では入院期間が少し長くなり、 $P=0.04$ で有意差を認めた。またウイルス遺伝子型別に、臨床的重症度と入院期間を比較したが、遺伝子型の違いによる有意差は認めなかった。

4) ワクチン導入前後の外来における感染性胃腸炎の患者数

2 定点医療機関を受診した感染性胃腸炎の症例数を調査した。ロタウイルス胃腸炎の流行がピークとなる 3~5 月と、それ以外の 6 月~翌年 2 月で、調査期間を区切った。ここでは 2 歳未満の症例数についてのみ記載する。表に示すように、ワクチン導入前後において、3 月~5 月の患者数は減少しているのに対し、6 月~2 月の患者数は減少していなかった。

D. 考察

本年度は、ワクチン導入前後の入院率やウイルス遺伝子型、外来における感染性胃腸炎の患者数を中心に調査した。

ロタウイルス胃腸炎は、流行の規模がシ

ーゼンによって異なるため、ワクチン導入後に入院率が低下したとは、現時点ではいえない。しかし、年齢別の入院割合をみると、1歳未満の割合が明らかに減少していた。外来では、2定点からの感染性胃腸炎の報告数をみると、ワクチン導入後の2歳未満における3月～5月の患者数は減少しているのに対し、6月～2月の患者数は減少していなかった。しかし外来症例の検討期間は、ワクチン導入直後のデータであるため、まだ明らかな事はいえない。

ワクチンが広く普及しつつあり、今後は乳幼児においてロタウイルス胃腸炎の入院および外来患者が減少してゆくことが予想される。

E. 今後の計画

本研究で継続点していくことは、①入院および外来患者数の把握（疾病負荷）、②ワクチン導入前後のウイルス遺伝子型の変化、などである。課題としては、①ワクチン接種率を調査すること、②ワクチン未接種者への間接効果の評価、③費用対効果の調査（退院時アンケート）をまとめること、である。また、重症症例があれば、その情報（ウイルス血症、頻度、など）を収集する。

F. 研究発表

1) 学会発表

1) 浅田和豊、神谷元、長尾みづほ、一見良司、菅秀、藤澤隆夫、田中孝明、伊東宏明、田中 滋己、井戸正流、神谷敏也、伊藤美津江、東川正宗、井上正和、梅本正和、谷口孝喜、中野貴司、庵原俊昭：ロタウイルス感染症アクティブサーベイランスの成果。第160回三重県小児科医会。2014年1月。津市。

2) 神谷元、梅本正和、谷口孝喜、庵原俊昭、

中野貴司：三重県津市におけるロタウイルス感染性胃腸炎外来症例の検討。第17回日本ワクチン学会。2013年11月。津市。

2) 論文発表

1) 浅田和豊、神谷 元、菅 秀、長尾みづほ、一見良司、藤澤隆夫、大矢和伸、谷田寿志、田中孝明、伊東宏明、田中滋己、井戸正流、庵原俊昭、中野貴司：ワクチン導入前のロタウイルス胃腸炎入院症例の疫学調査。日本小児科学会雑誌 117 (12) : 1851-1856, 2013.

2) 中野貴司：ワクチンを接種しましたが罹患してしまいました。なぜですか？⑤ロタウイルスワクチン。総編集 田原卓浩、専門編集 黒崎知道、総合小児医療「プライマリ・ケアの感染症；身近な疑問に答えるQ&A」。P184-185。2013年12月5日初版発行。中山書店、東京。

G. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

H. 謝辞

本研究の計画立案と実施に際して、常に指導と助言をいただいている Drs. Umesh D. Parashar, Cathherine Yen (Division of Viral Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Center for Disease Control and Prevention, USA)、感染性胃腸炎患者の受診者数の報告を行ってくださった三重県亀山市の落合小児科医院の落合仁先生、サーベイランス、便検体収集にあたり多大なご協力をいただいている各施設の協力者の皆様方に深謝申し上げます。

津市の入院症例数・率（ワクチン導入前後）

	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13
入院症例数	68	53	38	46	35	41
入院率 (1,000人・年)	5.5	4.3	3.1	3.9	3.0	3.5

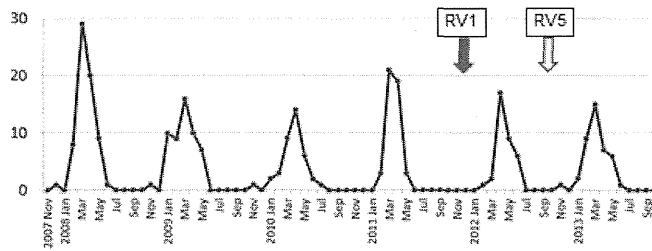


図 2

年齢別の入院割合（ワクチン導入前後）

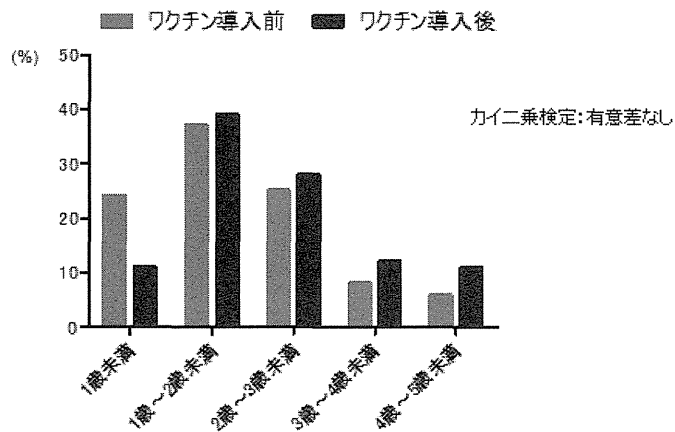


図 3

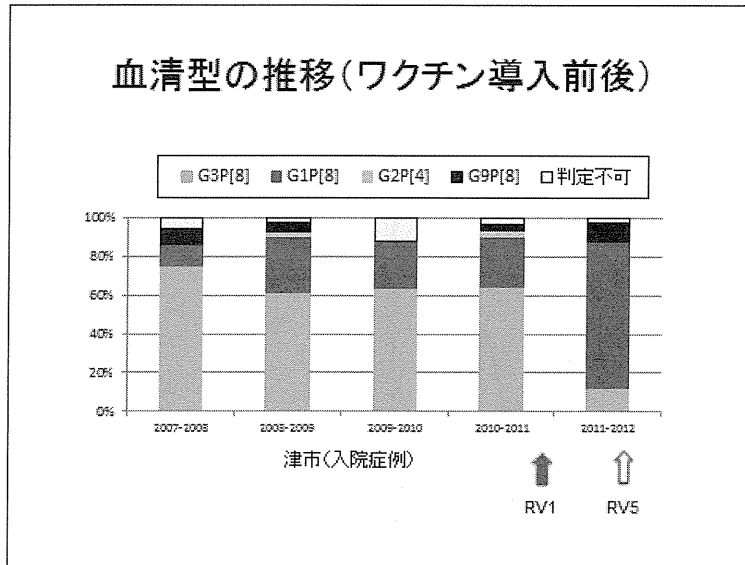
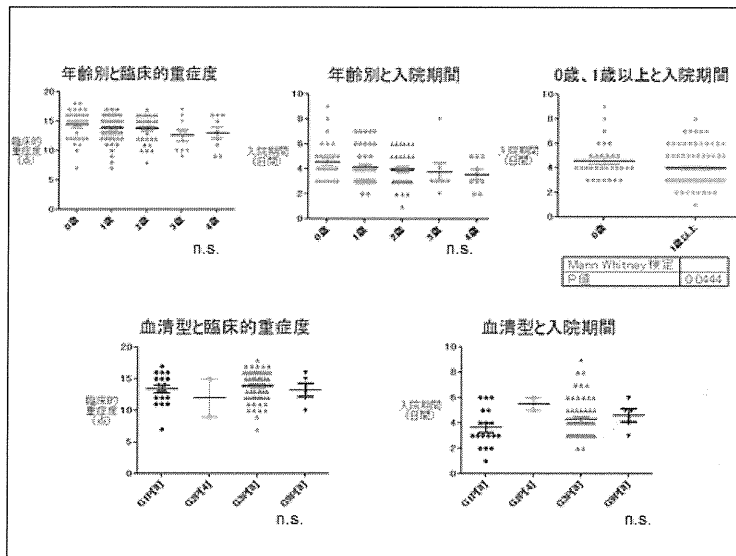


図 4



表

外来症例

■ ワクチン導入前後の感染性胃腸炎症例 (2歳未満)

	平均報告数	報告数	減少数	減少率
	2007年6月～ 2012年2月	2012年3月～ 2013年2月		
落合小児科医院 (亀山市)				
3月～5月	95名	60名	35名	36.8%
6月～2月	202名	239名	△37名	△18.3%
うめもとこどもクリニック (津市)				
3月～5月	233名	211名	22名	9.4%
6月～2月	419名	551名	△132名	△31.5%

2011年1月～

ロタウイルス感染症 症例調査票（入院例）

施設内患者番号 _____ 施設名 _____

受診日 ____/____/____ 受診時診断名 _____

【患者情報】

患者イニシャル _____

住所 (_____) 県 (_____) 市 《市までの記載で可》

受診時年齢 ____ 歳 ____ ヶ月

性別 男性 女性

既往歴 なし あり (病名: _____)

【受診時の臨床所見】

発症してから受診するまでの最高体温 _____ ℃

嘔吐 なし あり ありの場合 24 時間以内に _____ 回
嘔吐の症状 _____ 日目 (発症日を 1)

下痢 なし あり ありの場合 24 時間以内に _____ 回
下痢の症状 _____ 日目 (発症日を 1)

脱水による 5%以上の体重減少 なし あり

血清ナトリウム値 (検査してあれば) _____ mEq/L

血糖値 (検査してあれば) _____ mg/dl

【転帰】

軽快 後遺症 死亡 不明 (外来受診のみの例を含む)

入院例の場合、入院した期間 _____ 日間

【便検体の情報】

検体採取日時 ____/____/____

ロタウイルス迅速診断キット結果 陽性 陰性
 実施せず (実施せずの場合以下に回答)
 便が採取できなかった
 前医で行われていた
 陽性 陰性

【ロタウイルスワクチン接種歴】

なし あり 1 回目: 接種日 H ____ 年 ____ 月 ____ 日 (Rotarix・Rotateq)
2 回目: 接種日 H ____ 年 ____ 月 ____ 日 (Rotarix・Rotateq)
3 回目: 接種日 H ____ 年 ____ 月 ____ 日 (____・Rotateq)

記入者名 _____

記入日 ____/____/____