

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 01 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 01 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 01 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 01 > 8 に上昇したが、6 例では 01 < 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 01 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