

H26 年度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
(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)

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

研究分担者 大石和徳 国立感染症研究所 感染症疫学センター
研究協力者 明田幸宏 大阪大学微生物病研究所
常 彬 国立感染症研究所 細菌第一部

研究要旨：PCV13 導入に伴い、PCV13 の血清型に対する ELISA IgG, OPA の測定の体制を構築し、2014 年に依頼のあった小児の侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) 6 例と菌血症を伴わない反復肺炎患者の血清中血清型特異的 IgG 濃度及びオプソニン活性を解析した。PCV7 の 4 回接種後に発症した 19F による vaccine failure 例を経験した。発症 2 ヶ月後の血清中 OPA は 19F のみならず他の 4, 18C などの血清型でも opsonophagocytic assay (OPA) titer は低値であったことから、宿主要因の関与が示唆される。また、本症例では菌血症発症後に PCV13 接種が試みられたが、原因血清型である 19F に対する OPA の増加は認められなかった。また、今回 PCV13 接種後の breakthrough 感染例についても評価した。PCV13 接種後の 19A による IPD 症例では発症 40 日後の 19A に対する OPA は比較的高かった。また、6A による菌血症を伴わない肺炎例でも、発症時の 6A に対する OPA は感度以下であった。今後も小児 IPD 患者における血清免疫学的検査の継続が必要である。

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 (PCV7; 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、2013 年 11 月からは PCV7 が 13 価コンジュゲートワクチン (PCV13) に置きかわった。我々は、これまでに小児 IPD の発症時の感染血清型に対する血清中特異 IgG 濃度とオプソニン活性を測定することで、血清オプ

ソニン活性はすべて低値 (< 4) であることを報告した (Oishi T, et al. Vaccine 31:845-9, 2013)。さらに我々は、ワクチン血清型による小児 IPD 14 例のうち 6 例に感染血清型に特異的な低応答が起こることを報告した (Tamura K, et al. Vaccine 32:1444-50, 2014)。

今回は、小児における PCV13 の接種に伴い、PCV13 血清型による小児 IPD における breakthrough infection、ワクチン不応例に対応する目的で、肺炎球菌に対する血清中特異 IgG 濃度及びオプソニン活性の測定

法をこれまでの PCV7 含有血清型から PCV13 含有血清型をカバーできるように、血清型 1,3,5,6A, 7F, 19A の血清型を拡充した。本法を用いて、2009～2013 年に引き続き小児の侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) 患者の血清中血清型特異的 IgG 濃度及びオプソニン活性を測定した。

(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、IPD をはじめとする小児患者の親権者からインフォームドコンセント取得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 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とされ、これは血清中 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 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 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 1,3,4, 5,6A,6B,7F, 9V, 14,18C,19A 19F, 23F の PCV13 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 PCV13 含有血清型と 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. 2014 年に依頼のあった 6 症例の臨床的特徴

血清検体を受領した症例のうち、原因血清型が判明した 6 例につき解析した。男児 2 名、女児 5 名であった。臨床診断は菌血症のみ 3 例、髄膜炎 1 例、菌血症を伴う肺炎 1 例、菌血症を伴わない肺炎 1 例であった。IPD の原因菌の血清型は 19A (n=2), 19F (n=1), 23F (n=1), 19F (n=1) であった。菌血症を伴わない肺炎の原因菌 (吸引痰由来) は 6A (n=1) であった。

2. 特徴的症例の血清中特異 IgG 濃度と OPA titer

1) PCV7 の 4 回接種後の 19F による IPD 例 (vaccine failure) (23 ヶ月、基礎疾患な

し)

PCV7 の 4 回接種後に菌血症を発症(2013 年 12 月)、発症 2 ヶ月後の血清で 19F に対する OPA は 27 と低値であった。その後 2014 年 6 月に PCV13 を追加接種したが接種後の 19F の OPA は<4 であり、感染血清型に対する低応答が確認された。

2) PCV7 の 1 回, PCV13 の 2 回接種後の 19A による IPD 例(breakthrough infection)(生後 9 ヶ月、基礎疾患なし)

PCV7 の 1 回, PCV13 の 2 回接種後に菌血症を発症した。発症 40 日後の血清中の 19A に対する OPA は 4197 と高値を示した。

3) PCV7 の 2 回, PPSV23 の 1 回接種後の 6A による菌血症を伴う肺炎例(6 歳 8 ヶ月、基礎疾患：脳性マヒ)

PCV7 の 2 回, PPSV23 の 1 回接種後の肺炎を発症し、吸引痰から 6A の肺炎球菌が分離された。この時、喀痰中にグラム陽性球菌を確認した。この時の血清中の 6A に対する OPA は<4 であったため、PCV13 を接種した。その後の 6A に対する血清中 OPA は 17496 と高値を示した。

D. 考察および結論

PCV7 の 4 回接種後に発症した 19F による菌血症例を経験した。本症例の発症原因は不明であるが、発症 2 ヶ月後の血清中 OPA は 19F のみならず他の 4, 18C などの血清型でも OPA は低値を示した。本症例の宿主要因の関与が示唆される。また、本症例では菌血症発症後に PCV13 接種が試みられたが、原因血清型である 19F に対する OPA の増加は認められなかった。この所見は、これま

での知見 (Tamura K, et al. Vaccine 2014) に矛盾しない。

また、今回 PCV13 接種後のブレイクスルー感染例の評価も可能であった。PCV13 接種後の 19A による IPD 症例では発症 40 日後の 19A に対する OPA は比較的高かった。これまでの成績では発症 1 ヶ月以内の感染血清型に対する血清オプソニン活性はすべて低値 (< 4) である所見 (Oishi T, et al. Vaccine, 2013) とは矛盾するが、本症例では 19A による菌血症の発症から 40 日経過したことで宿主応答としてオプソニン活性の高値が観察された可能性もある。また、6A による菌血症を伴わない肺炎例でも、発症時の 6A に対する OPA は感度以下であった。

E. 健康危険情報
なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Takahashi Y, Ishiwada N, Hishiki H, Tanaka J, Akeda Y, Shimojo N, Oishi K, Kohno Y. IgG levels against 13-valent pneumococcal conjugate vaccine serotypes in non pneumococcal conjugate vaccine immunized healthy Japanese and intravenous immunoglobulin preparations. J Infect Chemother 20(12):794-8, 2014
2. Oishi K, Tamura K, Akeda Y. Global control of pneumococcal infections by pneumococcal vaccines. Trop Med Health. 42 (2) Suppl 83-86, 2014
3. Namkoong H, Funatsu Y, Oishi K, Akeda Y, Hiraoka R, Takeshita K, Asami T,

- Yagi K, Kimizuka Y, Ishii M, Tasaka S, Suzuki Y, Iwata S, Betsuyaku T, Hasegawa N. Comparison of the immunogenicity and safety of polysaccharide and protein-conjugated pneumococcal vaccines among the elderly aged 80 years or older in Japan: An open-labeled randomized study. *Vaccine* 33(2):327-32,2015.
4. Piao Z, Akeda Y, Takeuchi D, ^a Ken J, Ishii KJ, Ubukata K, Briles DE, Tomono K, Oishi K. Protective properties of a fusion pneumococcal surface protein A (PspA) vaccine against pneumococcal challenge by five different PspA clades in mice. *Vaccine* 32:5607-5613,2014
 5. Katsura H, Piao Z, Iwatsuki-Horimoto K, Akeda Y, Watanabe S, Horimoto D, Oishi K, Kawaoka Y. A bivalent vaccine based on a replication-incompetent influenza virus protects against *Streptococcus pneumoniae* and influenza virus infection. *J Virol* 88:13410-7, 2014
 6. Kuroki T, Ishida M, Suzuki M, Furukawa I, Ohya H, Watanabe Y, Konnai M, Aihara Y, Chang B, Ariyoshi K, Oishi K, Ohnishi M, Morimoto K. Outbreak of *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 pneumonia among extremely elderly people in a nursing home unit in Kanagawa, Japan, 2013. *J Am Geriatr Soc* 62:1197-8,2014
 7. 高山直秀、崎山弘、大石和徳、岡部信彦、城 青衣、梅本 哲 . 麻疹・風疹混合(MR)ワクチン1期および2期接種の全国累積接種率調査 . 小児科臨床 68(3) 391-395,2015
 8. 高山直秀、崎山弘、大石和徳、岡部信彦、城 青衣、梅本 哲 . 全国 BCG, DPT3 種混合ワクチン累積接種率 . 小児科臨床 68(3) 397-401,2015
 9. 高山直秀、崎山弘、大石和徳、岡部信彦、城 青衣、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 : 2013年の調査結果 . 日本医師会雑誌 . 142 : 2689-2694,2014
 10. 大石和徳 . 高齢者医療と予防ワクチン : 成人の肺炎球菌ワクチンとその現状 . 日本内科学会雑誌103(9) 2247-2251, 2014
 11. 大石和徳 . 最近の新興感染症の動向～ MERS, 鳥インフルエンザA (H7N9) . 日本内科学会雑誌104(1) 114-119, 2015
 12. 大石和徳 . 日本のワクチン政策決定プロセス . 最新医学 69(4) 780-785,2014
 13. 田村和世、大石和徳 . 肺炎球菌ワクチン . 感染症道場 . 3(2) 4-9,2014
- 2 . 学会発表
1. Oishi K. Protective properties of the fusion PspA protein vaccine against pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae* with five different clades in mice. A Joint Meeting of IDSA, SHEA, HIVMA, and PIDS. Philadelphia, USA, November 2014.
 2. 福住宗久、大石和徳 . シンポジウム10 . ワクチン導入による微生物への影響 : サーベイランスの意義 . 小児結合型肺炎球菌ワクチン導入に伴う小児及び成

人における血清型置換 .第 63 回日本感染症学会総会学術集会 2014 年 10 月 31 日、東京

3. 福住宗久、常彬、牧野友彦、西順一郎、丸山貴也、渡邊浩、金城雄樹、砂川富正、大西真、大石和徳 .成人侵襲性肺炎球菌感染症の臨床像と原因血清型分布に関する記述疫学 (2013 年)日本ワクチン学会学術集会 .2014 年 12 月 7 日、福岡
4. 濱口重人、明田幸宏、朝野和典、大石和徳 .「肺炎球菌に対する乳幼児期の血清疫学調査」第88回日本感染症学会学術講演会第62回日本化学療法学会総会合同学会 福岡 2014年6月
5. 田村和世、松原康策、石和田稔彦、西順一郎、常彬、明田幸宏、庵原俊昭、大石和徳 .「日本におけるIPD罹患小児の7価肺炎球菌コンジュゲートワクチンへの免疫応答」第88回日本感染症学会学術講演会第62回日本化学療法学会総会合同学会 福岡 2014年6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