

厚生労働科学研究委託費
(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)
委託業務成果報告書

日本国内小児侵襲性肺炎球菌感染症由来血清型 19A 型の遺伝子型別に関する研究

担当責任者 常 彬 国立感染症研究所 細菌第一部 主任研究官
前川純子 国立感染症研究所 細菌第一部 主任研究官

研究要旨

2007年から2013年10月まで、日本国内の15歳未満小児で発症した180例の侵襲性肺炎球菌感染症例 (invasive pneumococcal disease; IPD) から分離された血清型 19A 型肺炎球菌の遺伝子型別 (マルチローカスシーケンスタイピング; MLST) 解析および薬剤感受性試験を行った。180株の中、177株 (98.3%) は3つのグループに分けることができた。そのうち、133株 (73.9%) は clonal complex (CC) 3111 に属し、もっとも多かった。2番目に多く分離されたのは ST320 型で、分離率は 15.0% (27 株) であった。17株 (9.4%) は CC2331 型を示した。残った3株はそれぞれ ST63、ST667、ST5242 であった。ST320 型肺炎球菌のペニシリン G (PCG)、セフトキシム (CTX) およびメロペネム (MEPM) に対する MIC₉₀ および幾何平均 MIC は他の ST タイプより有意に高かった。7 価肺炎球菌コンジュゲートワクチン (PCV7) 導入後、米国においては、PCV7 に含まれない ST320 19A 型肺炎球菌による IPD の罹患率の上昇が見られていた。わが国においても、PCV7 接種率の上昇に伴い、同様な現象が起こることが明らかになった。

A. 研究目的

日本では、侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) は 2013 年 4 月 1 日から 5 類感染症に追加され、全数把握疾患に指定された。また、同時期から PCV7 は定期接種の対象となり、11 月 1 日からは 13 価肺炎球菌コンジュゲートワクチン (PCV13) に変更された。

米国において 2000 年から PCV7 が導

入された以後、ワクチンに含まれる血清型による侵襲性感染が減少する一方、ワクチンに含まれない血清型、特に 19A 型肺炎球菌による IPD の罹患率の増加が見られた。その中でも、抗菌薬に耐性を示す ST320 19A 肺炎球菌による IPD 症例の増加が問題になっていた。日本においても、2010 年 2 月に PCV7 が導入された後の 19A 型に

よる IPD の増加がみられた (IASR 35: 234-236, 2014)。本担当研究は日本国内の 15 歳未満小児 IPD 由来 19A 型肺炎球菌の遺伝子型別と薬剤感受性試験を行い、その特徴などの疫学データの提供を目的とした。

B. 研究方法

1: 小児 IPD 症例由来肺炎球菌

2007 年から 2013 年 10 月まで、日本国内 15 歳未満小児 IPD 症例 180 例由来 19A 肺炎球菌を対象とした。血液寒天培地にて 37°C、5% CO₂ の条件下で一晩培養した肺炎球菌を用いて解析を行った。

2: 血清型別

肺炎球菌の血清型は Statens Serum Institut 製血清を用いて、莢膜膨潤法により確認した。

3: 遺伝子型別 (MLST)

MLST では、分離株のゲノム DNA を精製し、肺炎球菌のゲノム上にある 7 つのハウスキーピング遺伝子 (*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、ST 型を決定した。7 つの遺伝子のうち、5 つ以上は同じ塩基配列を有する ST 型は同一 clonal complex (CC) にまとめている。得られた ST 型のクラスター解析は BioNumerics を用いて行った。

4: 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は PCG、CTX および MEMM を用いて、微量液体希釈法によって行った。

(倫理面への配慮)

該当しない。

C. 研究結果

すべての集計は症例数をもとに行っている。

1: 小児 IPD 由来 19A 型肺炎球菌の遺伝子型

2007 年から 2013 年 10 月まで、日本国内 15 歳未満小児における IPD 症例由来肺炎球菌の収集を行った。そのうち、血清型 19A 型肺炎球菌は 34 県の 180 症例 (そのうち髄膜炎症例は 15 例) から分離された。これらの 19A 型肺炎球菌の遺伝子型別およびクラスター解析を行った

本研究で収集した 19A 型肺炎球菌は全部で 14 の ST 型がみられた (表 1)。ST7790、ST8736、ST9016、ST9045 および ST9334 は ST3111 の近縁 ST 型で、ST5842、ST7495 および ST7500 は ST2331 の近縁 ST 型であり、それぞれは CC3111 および CC2331 に属する。クラスター解析では (図 1)、これらの 180 株は大きく 4 つのグループ (CC3111、ST320、CC2331、その他) に分けられる。133 株 (73.9%)、27 株 (15.0%) と 17 株 (9.4%) はそれぞれ CC3111、ST320 および CC2331 に属する。全株の 98.3% がこの 3 つのクラスターを形成した。残った 3 株 (1.7%) は

CC3111、ST320、CC2331 と異なる ST63、ST667 と ST5242 を示した(図 1)。

CC3111 および CC2331 19A 型肺炎球菌は日本国内各地域から分離されたタイプであった。2015 年 2 月現在、肺炎球菌の MLST 登録サイトには日本以外の分離株は CC3111 は 1 株のみの登録であった。CC2331 19A 型株はすべて日本国内の分離株の登録であった。その一方、ST320 は日本では特定の地域からしか分離されなかったタイプで、アメリカはじめ、アジアやヨーロッパの各国から分離されたことが報告されていた。以上のことから、CC3111 および CC2331 19A 型肺炎球菌は日本に固有のクローンである可能性が考えられた。

2: 19A 型肺炎球菌の ST 型と薬剤感受性の相関性

180 株血清型 19A 型肺炎球菌のうち、179 症例由来株の薬剤感受性試験を行い、PCG、CTX および MEPM に対する MIC を決定した(表 2)。菌血症患者から分離された ST2331 の 1 株は MIC 測定用液体培地に増殖できず、MIC を決めることができなかった。10 株以上に分離された CC3111、S320 および CC2331 の MIC 分布、MIC₉₀ および幾何平均 MIC を表 2 にまとめている。括弧の中の数字は髄膜炎症例数を示している。

CC3111 肺炎球菌の PCG、CTX および MEPM に対する MIC は ST320 および CC2331 に比べて幅が広く、バラツキが多

かった。一方、ST320 肺炎球菌の PCG、CTX および MEPM に対する MIC₉₀ および幾何平均 MIC は CC3111 および CC2331 より有意に高かった。

D. 考察

米国では、PCV7 導入後で血清型 19A による小児 IPD の罹患率の上昇およびペニシリンに対する耐性率の上昇がみられた(J. Infect. Dis. 1988-1995, 2005)。特に、19F ST320 の莢膜型変換により現れた 19A ST320 型肺炎球菌の広がりが問題視されていた。日本国内でも、PCV7 導入による 19A 型肺炎球菌による IPD の罹患率の増加がみられたとともに、抗菌薬に対する感受性の悪い ST320 型が小児 IPD 由来 19A 型肺炎球菌の 15.0% を占めたことが本研究で明らかになった。2013 年 11 月より、日本国内の小児用肺炎球菌コンジュゲートワクチンは PCV7 から PCV13 に切り替えられ、19A 型肺炎球菌による罹患率の低下が期待されている。さらに、PCV13 の接種率の増加によって、ST320 19A 型肺炎球菌による IPD は特定な地域での発症が減少し、他の地域への伝播防止効果もみられると思われる。一方、PCV13 に含まれない血清型肺炎球菌による IPD の増加の有無を継続して観測することも非須である。

E. 結論

日本国内の 15 歳未満小児 IPD より分離された 19A 型肺炎球菌は主に 3 つのク

ラスターに分けられた。日本固有の ST 型 (ST3111 と ST2331) およびの莢膜型変換により出現した新たな ST 型 (ST320) がみられた。PCV13 の導入効果が期待されるとともに、PCV13 の接種を受けていない年長幼児の 19A 型肺炎球菌による IPD の観測が必要である。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし。

2. 学会発表

小児用肺炎球菌結合型ワクチン PCV7 導入が小児侵襲性肺炎球菌感染症へ及ぼす影響の細菌学的解析。常彬。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、2014 年 6 月。国内。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

表 1. 小児慢性肺炎球菌感染症由来 19A 型の遺伝子型

ST	<i>aroE</i>	<i>gdh</i>	<i>gki</i>	<i>recP</i>	<i>spi</i>	<i>xpt</i>	<i>ddl</i>
63	2	5	36	12	17	21	14
320	4	16	19	15	6	20	1
667	8	13	14	4	14	4	14
2331	10	16	150	1	17	1	29
5842	10	16	150	1	13	1	29
7495	10	16	150	1	321	1	270
7500	10	16	150	201	17	1	29
3111	61	60	67	16	10	104	14
7790	61	60	67	16	10	466	14
8736	61	5	67	16	10	104	14
9016	61	60	67	16	10	104	26
9045	7	60	67	16	10	104	14
9334	61	60	67	16	10	104	591
5242	7	13	8	6	1	337	8

表 2. 19A 型肺炎球菌の PCG, CTX, MEPM に対する MIC (n=176)

ST または CC	抗菌薬	≤0.06 μg/mL	0.12 μg/mL	0.25 μg/mL	0.5 μg/mL	1 μg/mL	2 μg/mL	4 μg/mL	≥8 μg/mL	MIC ₉₀ (μg/mL)	幾何平均 MIC
CC3111 (11)	PCG	68 (4)	12	6 (1)	22 (4)	23 (2)	2	0	0	1	0.16
	CTX	1	3	38 (4)	64 (7)	27	0	0	0	1	0.43
	MEPM	83 (4)	21 (3)	24 (3)	5 (1)	0	0	0	0	0.25	0.05
ST320 (1)	PCG	0	0	0	0	0	15 (1)	12	0	4	2.72
	CTX	0	0	0	1	22 (1)	3	0	1	2	1.14
	MEPM	0	0	1	22 (1)	4	0	0	0	1	0.54
CC2331 (3)	PCG	16 (3)	0	0	0	0	0	0	0	≤0.06	0.14
	CTX	2	2	5 (2)	7 (1)	0	0	0	0	0.5	0.42
	MEPM	16 (3)	0	0	0	0	0	0	0	≤0.06	0.04

括弧の中の数字は髄膜炎症例数を示している。

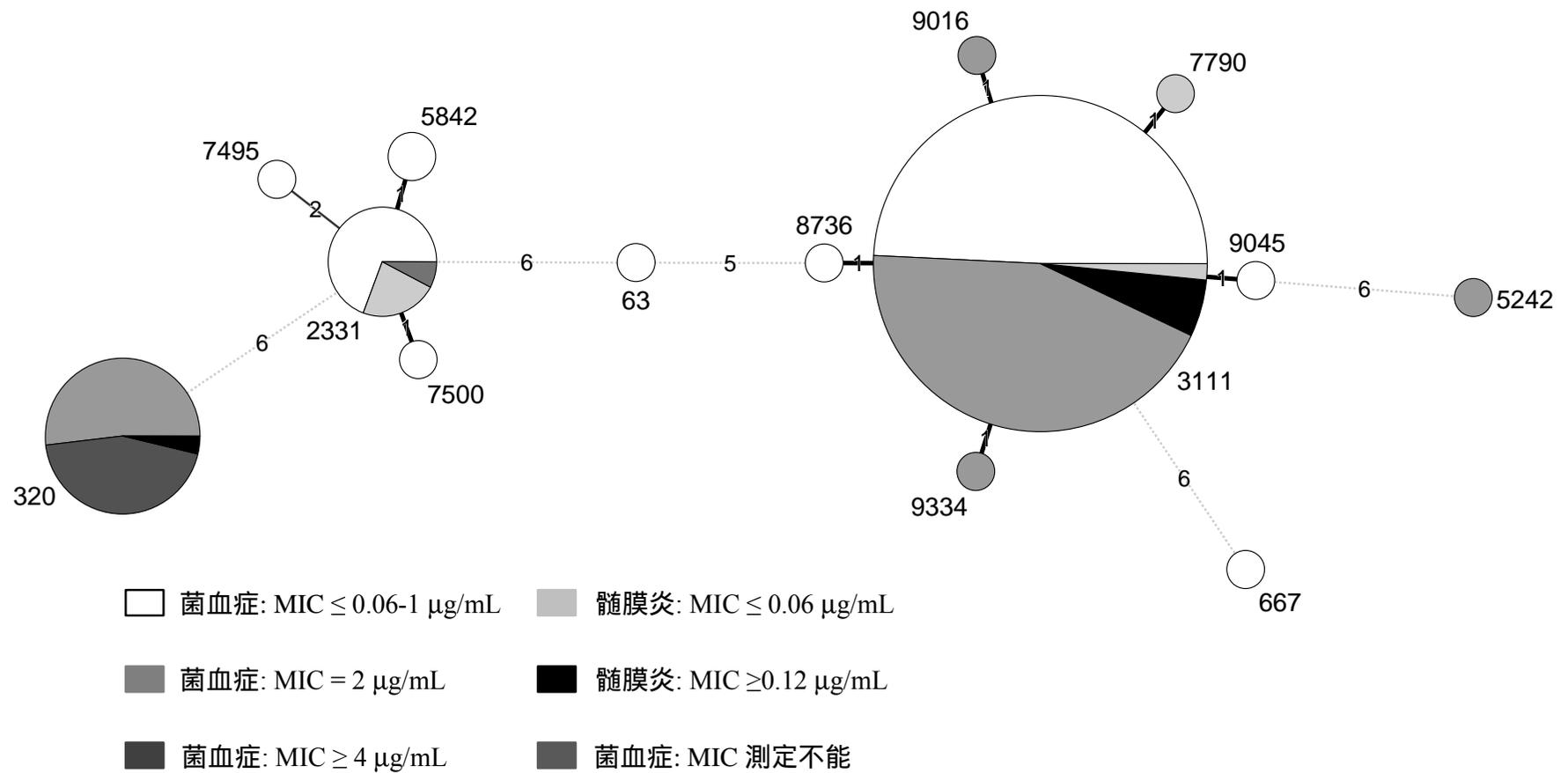


図1:小児 IPD 由来 19A 型肺炎球菌の ST 型分布