2. 百日咳の検査診断に関する研究

厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
「百日咳とインフルエンザの患者情報及び検査診断の連携強化による感染症対策の推進に資する疫学手法の確立のための研究」班
分担研究報告書

健常人における抗百日咳菌IgA抗体と抗IgM抗体の保有調査

研究分担者　大塚菜緒　　国立感染症研究所　細菌第二部

研究協力者　文元　礼　　国立感染症研究所　細菌第二部
　　蒲地一成　　国立感染症研究所　細菌第二部

研究要旨　健常人における抗百日咳菌IgA抗体と抗IgM抗体の保有調査を実施した。抗百日咳菌IgA抗体と抗IgM抗体の測定は百日咳抗体測定キット(ノバグノスト百日咳/IgA, ノバグノスト百日咳/IgM)を用いて行い，抗体価の保有状況を年齢群別に解析した。その結果，抗IgAは加齢とともに抗体価が上昇し，抗IgMは減少する傾向が認められた。年齢群別解析では，抗IgAは46-50歳群，抗IgMは11-15歳群で平均抗体価が最も高く，現行の診断基準値を用いるとそれぞれ17.6%及び39.5%が百日咳陽性もしくは判定保留となることが判明した。健常人における百日咳の不顕性感染の可能性が指摘されるとともに，当該キットを用いた百日咳診断には注意を要すると判断された。

A. 研究目的

2016年に百日咳の新規血清診断法として，IgAとIgM抗体を指標とする百日咳抗体測定キット(ノバグノスト百日咳/IgA, ノバグノスト百日咳/IgM)が健康保険適用となった。本法は従来の抗百日咳毒素(PT) IgG測定法と比較して感染早期の適用が可能であり，またワクチン接種の影響を受けない血清診断法とされる。2018年の百日咳国内サーベイランスでは，11,946件の患者報告のうち11.2%(1,335件)が抗百日咳菌IgAもしくはIgM抗体価に基づく診断により届出されていた。ところが，平成29年度の本研究班で，ノバグノスト百日咳/IgAおよびIgMキットの性能評価を実施したところ，両キットともに高い特異度を示した一方で検出感度が10%前後と低いことが判明した。

このような研究背景のもと，ノバグノスト百日咳/IgA, IgM キットの有用性についてはさらなる検討が必要であると判断された。本研究では，当該キットの基礎的評価を目的に，小児から成人までの健常人を対象として抗百日咳菌 IgA, IgM 抗体の保有状況を調査した。

B. 研究方法

1. 血清検体

国立感染症研究所・血清銀行に保存されている国内健常人血清 460 検体(2015-2016 年採血，1～60 歳)を供試した。抗体価の年齢群別解析では 1~60 歳を 5 歳ごとに区切り，12 年齢群に分けて解析を行った。

2. 抗体価測定

抗百日咳菌 IgA, IgM 抗体はキット添付文書に従って測定し，各抗体価はノバグノスト単位(NTU)として算出した。判定は<8.5 NTU を陰性，8.5~11.5 NTU を判定保留，>11.5 NTU を陽性とした。抗 PT，繊維状赤血球凝集素(FHA) IgG 抗体価は in-house ELISA 法にて測定し，国内

百日咳標準血清(JNIH-10)を用いてEU/mlとして算出したのち，換算式により国際単位(IU/ml)に変換した。

(倫理面への配慮)

国内血清銀行では血清検体の研究利用について，試料提供者に対し口頭および文書により説明し同意を得ている。本研究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において承認を受けた(承認番号 886)。

C. 研究結果

1. 抗百日咳菌 IgA, IgM 抗体価の年齢分布

図 1 に抗百日咳菌 IgA および IgM 抗体価の年齢分布を示した。抗 IgA は年齢とともに抗体価が上昇し(r= 0.27, P<0.001)，抗 IgM は年齢とともに抗体価が低下する傾向が認められた(r= -0.37, P<0.001)。次に，1-5 歳群を基準にして抗体価を年齢群別に比較解析したところ，抗 IgA はその他全ての年齢群で抗体価が有意に高く，特に 46-50 歳群で最も高い平均抗体価を示した(表 1)。一方，抗 IgM は学童期で高い抗体価が検出され，11-15 歳群で最も高い平均抗体価が認められた。なお，抗 IgA と IgM の抗体価間に有意な相関は認められなかった。

2. 現行の診断基準値を用いた判定

健常人の抗 IgA および IgM 抗体価を，現行の診断基準値により判定した(表 2)。抗 IgA は抗体価の高い中高年層で陽性率が高く，46-50 歳群では 17.7%が百日咳陽性または判定保留と判定された。抗 IgM は学童期を含む 6-30 歳での陽性率が高く，11-15 歳群では 39.5%が百日咳陽性または判定保留と判定された。

3. 抗百日咳菌 IgA, IgM と抗 PT, FHA IgG 抗体価の相関解析

従来から百日咳感染の指標として用いられている抗 PT, FHA IgG と比較するために，抗 IgA および IgM 抗体価と両抗体価間の相関解析を実施した(表 3)。抗 IgA, IgM はともに全年齢を対象とすると，抗 PT または FHA IgG に対して強い相関を示さなかった(r=0.05~0.41)。年齢群別解析では，抗 IgA は抗 PT および FHA IgG に対して 16-20 歳群および 41-45, 46-50 歳群でやや強い相関を示した(r=0.61~0.70)。一方，抗 IgM はいずれの年齢群においても抗 PT および FHA IgG との間に強い相関を示さなかった。

D. 考察

本研究では，健常人における抗百日咳菌 IgA および IgM の抗体保有状況を調査した。抗 IgA は中高年層，抗 IgM は学童期の年齢層で保有率が高くなる傾向を示した。さらに，健常人であるにも関わらず，現行の診断基準値を適用した場合，これらの年齢層では高い割合で百日咳陽性または判定保留と診断され得ることが判明した。

抗 IgA は中高年層で抗体価が高く，かつ抗 PT, FHA IgG とやや強い相関を示したことから，この年齢層における百日咳菌の不顕性感染が指摘された。一方，抗 IgM は抗 PT, FHA IgG との相関が認められず，学童期における抗 IgM 高値の原因は不明である。ただし，百日咳の血清診断では診断抗原の種類・純度が検査精度に大きく影響することが報告されており，不活化百日咳菌溶解物を診断抗原としているノバグノスト百日咳/IgM キットでは非特異反応に起因する偽陽性が懸念された。

今回の調査により，抗百日咳菌 IgA, IgM は健常人においても特定の年齢層で抗体保有率が高いことが判明し，当該キットを用いた百日咳診断には注意を要すると判断された。また，診断基準値の見直し等により精度向上を検討する必要があると考察された。

E. 結論

健常人における抗百日咳菌IgA抗体と抗IgM

抗体の保有調査により，中高年層における百日咳菌不顕性感染の可能性が指摘された。また，抗百日咳菌IgA及びIgMを指標とした診断ではそれぞれ診断精度が低くなる年齢層があることが判明し，当該キットを用いた百日咳診断には注意を要すると判断された。

なし

F. 研究発表

論文発表

1. Fumimoto R, Otsuka N, Sunagawa T, Tanaka-Taya K, Kamiya H, Kamachi K. 2019. Age-related differences in antibody avidities to pertussis toxin and filamentous hemagglutinin in a healthy Japanese population. Vaccine 37:2463-2469.

学会発表

7. 文元礼，大塚菜緒，神谷元，蒲地一成．健常人における抗百日咳菌 IgA 抗体と抗 IgM 抗体の保有調査．第 50 回日本小児感染症学会総会．2018 年 11 月，福岡．
8. 砂川富正，神谷元，高橋琢理，有馬雄三，上月愛留，松井珠乃，蒲地一成，大塚菜緒，文元礼，大石和徳．百日咳新時代~新しいサーベイランスの導入と疫学の現状~．第 50 回日本小児感染症学会総会．2018 年 11 月，福岡．
9. 上月愛留，神谷元，高橋琢理，有馬雄三，松井珠乃，蒲地一成，大塚菜緒，文元礼，大石和徳，砂川富正．全数把握疾患への変更により明らかになった日本の乳児百日咳の疫学．第 50 回日本小児感染症学会総会．2018 年 11 月，福岡．

G. 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

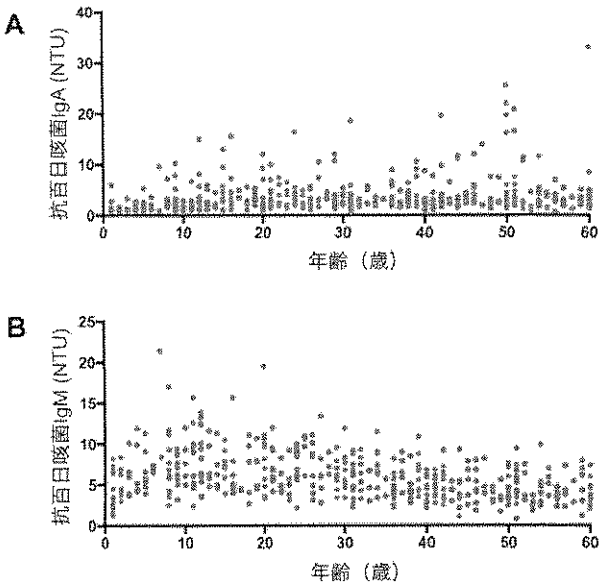

図1. 国内健常人における抗百日咳菌IgAおよびIgM抗体価の年齢分布
健常人血清460検体をノバグノスト/百日咳IgA, IgM測定キットに供試し，百日咳菌IgAとIgMのノバグノスト単位（NTU）をプロットした

表1. 国内健常人における年齢群別抗百日咳菌IgA, IgM抗体価

年齢群 (歳)	n	抗百日咳菌IgA (NTU)		抗百日咳菌IgM (NTU)	
		Mean ± SD	P value[a]	Mean ± SD	P value[a]
1–5	37	1.6 ± 1.1	-	5.5 ± 2.6	-
6–10	39	2.9 ± 2.2	0.007	7.7 ± 3.5	0.019
11–15	43	3.6 ± 3.0	<0.001	7.9 ± 3.2	0.006
16–20	34	4.1 ± 3.2	<0.001	7.3 ± 3.6	ns
21–25	39	4.0 ± 2.8	<0.001	7.2 ± 2.4	0.042
26–30	38	4.0 ±2.5	<0.001	6.7 ± 2.5	ns
31–35	35	3.4 ± 2.9	<0.001	5.9 ± 2.3	ns
36–40	42	3.8 ± 2.4	<0.001	5.2 ± 2.0	ns
41–45	43	4.0 ± 3.5	<0.001	4.8 ± 1.9	ns
46–50	34	6.0 ± 6.3	<0.001	4.5 ± 1.8	ns
51–55	39	4.7 ± 4.2	<0.001	4.7 ± 2.0	ns
56–60	37	4.1 ± 5.1	<0.001	4.1 ± 1.6	ns

[a]1-5歳群を基準とし, Dunn's multiple comparison testにより統計解析を実施した。
P<0.05の場合, 有意差ありと判断した

表2. 抗百日咳菌IgA, IgM抗体価を指標とした年齢群別の百日咳判定結果

年齢群 (歳)	n	抗百日咳菌IgA				抗百日咳菌IgM			
		陰性	判定保留	陽性	陽性+判定保留(%)	陰性	判定保留	陽性	陽性+判定保留(%)
1–5	37	37	0	0	0 (0.0)	32	4	1	5 (13.5)
6–10	39	37	2	0	2 (5.1)	27	8	4	12 (30.8)
11–15	43	40	1	2	3 (7.0)	26	10	7	17 (39.5)
16–20	34	31	1	2	3 (8.8)	25	7	2	9 (26.5)
21–25	39	37	1	1	2 (5.1)	24	14	1	15 (38.5)
26–30	38	35	2	1	3 (7.9)	30	6	2	8 (21.1)
31–35	35	34	0	1	1 (2.9)	29	6	0	6 (17.1)
36–40	42	38	4	0	4 (9.5)	39	3	0	3 (7.1)
41–45	43	39	2	2	4 (9.3)	41	2	0	2 (4.7)
46–50	34	28	0	6	6 (17.7)	34	0	0	0 (0.0)
51–55	39	34	2	3	5 (12.8)	37	2	0	2 (5.1)
56–60	37	35	1	1	2 (5.4)	37	0	0	0 (0.0)
Total	460	425	16	19	35 (7.6)	381	62	17	79 (17.2)

抗体価はノバグノスト/百日咳IgA, IgMキットの添付文書に記載された診断基準値に従って判定した

表3. 抗百日咳菌IgA, IgMと抗PT, FHA IgG抗体価における年齢群別相関

年齢群 (歳)	n	抗百日咳菌IgA				抗百日咳菌IgM			
		vs Anti-PT IgG		vs Anti-FHA IgG		vs Anti-PT IgG		vs Anti-FHA IgG	
		r	P value[a]	r	P value[a]	r	P value[a]	r	P value[a]
1–5	37	0.04	ns	0.35	0.033	-0.17	ns	0.08	ns
6–10	39	0.19	ns	0.56	<0.001	0.35	0.028	0.20	ns
11–15	43	0.48	0.001	0.50	<0.001	0.38	0.011	0.30	0.049
16–20	34	0.61	<0.001	0.66	<0.001	0.25	ns	0.52	0.002
21–25	39	0.34	0.034	0.29	ns	-0.08	ns	-0.07	ns
26–30	38	0.41	0.010	0.59	<0.001	-0.09	ns	0.09	ns
31–35	35	0.18	ns	0.30	ns	0.20	ns	0.35	0.037
36–40	42	0.09	ns	0.42	<0.001	-0.36	0.019	-0.07	ns
41–45	43	0.61	<0.001	0.70	<0.001	0.15	ns	0.18	ns
46–50	34	0.47	0.005	0.68	<0.001	-0.003	ns	0.07	ns
51–55	39	0.30	ns	0.49	0.002	0.20	ns	0.14	ns
56–60	37	0.17	ns	0.34	0.038	0.03	ns	0.31	ns
Total	460	0.26	<0.001	0.41	<0.001	0.05	ns	0.23	<0.001

[a]P<0.05の場合, 有意差ありと判断した。相関係数は次のように解釈した: $|r| < 0.1$, 無視できる; $0.1 < |r| < 0.39$, 弱い; $0.4 < |r| < 0.69$, やや強い; $0.7 < |r| < 0.89$, 強い; $0.9 < |r| < 1.0$, 非常に強い