

成人侵襲性肺炎球菌感染症由来株の細菌学的解析に関する研究

研究分担者：常 彬（国立感染症研究所細菌第一部 主任研究官）

研究要旨 2019年1月から12月現在まで、10道県の成人侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）症例379例より分離された肺炎球菌の細菌学的解析を実施し、肺炎球菌ワクチンの予防効果を評価できるデータ収集を行った。379検体のうち、血清型3型の分離率がもっとも高く、9.0%であった。現在日本国内で使用されている沈降13価肺炎球菌結合型ワクチン（PCV13）および23価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン（PPSV23）に含まれない23A、15A、35B血清型の分離率も高く、それぞれ8.7%、6.6%と6.6%であった。2019年の肺炎球菌のPCV13およびPPSV23含有血清型の分離率は27.4%と56.2%であった。2013-2018年に分離された肺炎球菌に比べて、2019年の分離菌のPPSV23含有血清型に低下がみられた。

A. 研究目的

侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）は、ワクチン接種により予防可能な疾患である。日本国内においては、成人を対象とする肺炎球菌ワクチンとしては、23価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン（PPSV23）および沈降13価肺炎球菌結合型ワクチン（PCV13）が承認されている。2014年10月、PPSV23が65歳以上の成人を対象に定期接種（B類疾病）が始まった。免疫不全のない成人において、PPSV23やPCV13の接種率の増加によって、今後のIPDの罹患率の減少が予想される。本分担研究は、2019年に10道県（北海道、山形県、宮城県、新潟県、三重県、奈良県、高知県、福岡県、鹿児島県、沖縄県）で報告された成人IPDより分離された肺炎球菌の細菌学的解析を行い、肺炎球菌ワクチンの予防効果を評価できる基礎疫学データを提供することを目的とした。

B. 研究方法

1. 成人IPD症例由来肺炎球菌

2019年1月から12月現在まで、10道県で発症した成人IPD由来の379株肺炎球菌を対象とした。

分離された肺炎球菌は5% ヒツジ血液寒天培地にて37°C、5% CO₂ の条件下で一晩培養したものを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 製抗血清を用いて、莢膜膨潤法により決定した。11E型肺炎球菌は新しく11A型から分けられた血清型で、現在販売されている抗血清およびPCR serotyping法では11Aと11Eを区別できないため、11A/Eと記入した。また、*lytA* 遺伝子解析では肺炎球菌と特定されたが、すべての抗血清と反応せず、墨汁染色では莢膜が見られない菌株は non-typeable (NT) と判定した。NT株の *cps* 遺伝子の保有に関しては、PCR法で確認を行った。

3. マルチローカスシーケンスタイピング (MLST) 解析

MLST解析では、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、<https://pubmlst.org/spneumoniae/>にて検索を行い、sequence type (ST) を決定した。

(倫理面への配慮)

該当無し。

C. 研究結果

1. 成人IPD症例の背景

2019年1月から12月現在まで、10道県で成人IPD症例379例が報告された。これらのIPD患者

年齢は16-98歳、平均は72.0歳で、男女それぞれ242名と137名で、男女比は1.8：1であった。65歳以上の患者は280名で、全体の73.9%を占めた。PPSV23を接種されていたのは59名（15.6%）で、PCV13を接種されていたのは1名（0.3%）であった。379例IPDのうち、髄膜炎症例は48症例（12.7%）、菌血症を伴う肺炎症例は230例（60.7%）、菌血症のみの症例は70例（18.5%）であった。27症例（7.1%）は菌血症に髄膜炎、肺炎以外の巣感染がみられた。血液と髄液以外の本来無菌部位より肺炎球菌が分離された症例は4例（1.1%）であった。

2. 成人IPD由来肺炎球菌の血清型分布

2019年に成人IPD症例379例から分離された肺炎球菌の血清型別を行い、各血清型肺炎球菌の分離率の結果を図1に示す。血清型3型肺炎球菌によるIPDは34例（分離率は9.0%）で、もっとも多かった。また、PPSV23含有血清型のうち、血清型10Aおよび12Fの分離率はともに8.2%と高かった。PPSV23非含有血清型では、23A、15A、35B血清型の分離率が高く、それぞれ8.7%、6.6%と6.6%であった。

これらの肺炎球菌のPCV13およびPPSV23に含まれる血清型の分離率はそれぞれ27.4%と56.2%であった（図1）。PCV13とPPSV23のいずれにも含まれない非ワクチン型の分離率は43.1%であった。2010年2月に日本に導入された小児用沈降7価肺炎球菌結合型ワクチン（PCV7）に含まれる血清型（4、6B、9V、14、18C、19F、23F）

による症例は40例で、10.6%を占めた。

3. ワクチン接種歴あるIPD症例由来肺炎球菌の血清型分布

379例のうち、PPSV23の接種歴のある症例は59例であった。そのうち、27例（45.8%）はPPSV23含有型肺炎球菌による症例であった。1症例はPCV13が1回接種され、その起炎菌の血清型は22F型で、非PCV13タイプであった。

4. 成人IPD由来肺炎球菌の血清型分布の年別の比較

2013年4月に開始された本研究班は、2013年、2014年、2015年、2016年、2017年、2018年および2019年に、10道県から報告された成人IPD症例数はそれぞれ53、209、230、294、419、393、379症例であった。そのうち、菌株または臨床検体が収集できたのは53、204、222、292、416、391、379例であった。2013年4月から研究班が始まり、報告システムの設立に時間がかかったため、症例報告及び菌株の収集が少なかったと考えられた。2014年以後にIPD症例は一年を通して報告されたため、2014年から2019年までの年別の成人IPDを引き起した肺炎球菌の血清型分布および各肺炎球菌ワクチンのカバー率の比較を行い、その結果を図2に示す。

2014年と2015年において、各血清型肺炎球菌の分離率は多少違いがあったが、全体的な分布傾向には大きな変化がみられなかった。しかし、2014年および2015年の分離株に比べ、2016年以後の分離

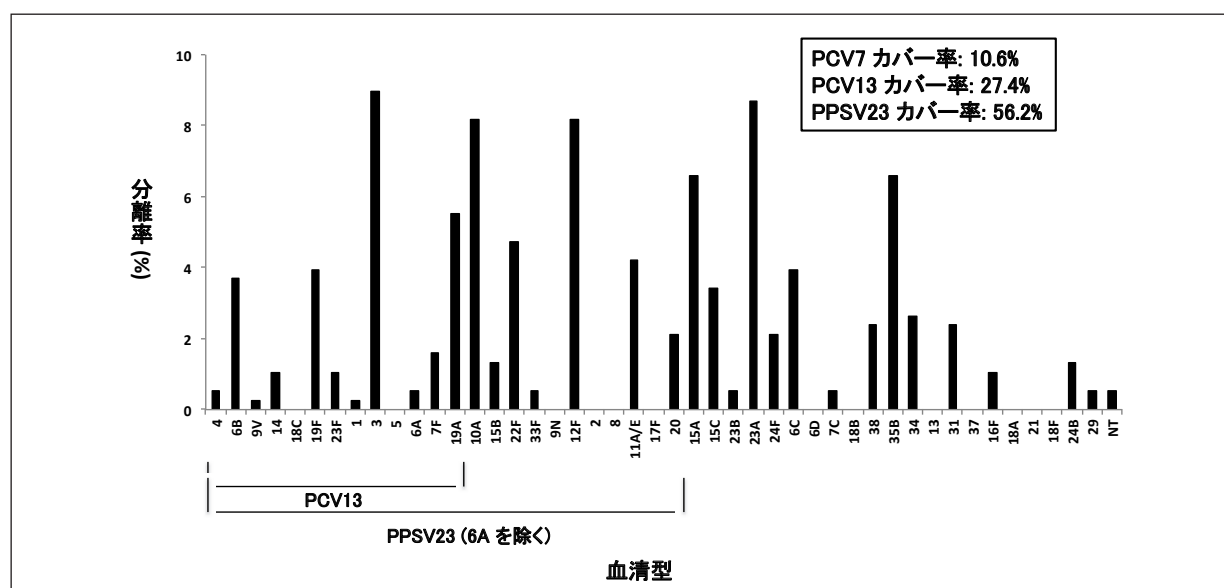


図1. 2019/1月-12月に発症された成人IPD由来肺炎球菌の血清型別の分離頻度 (n=379)

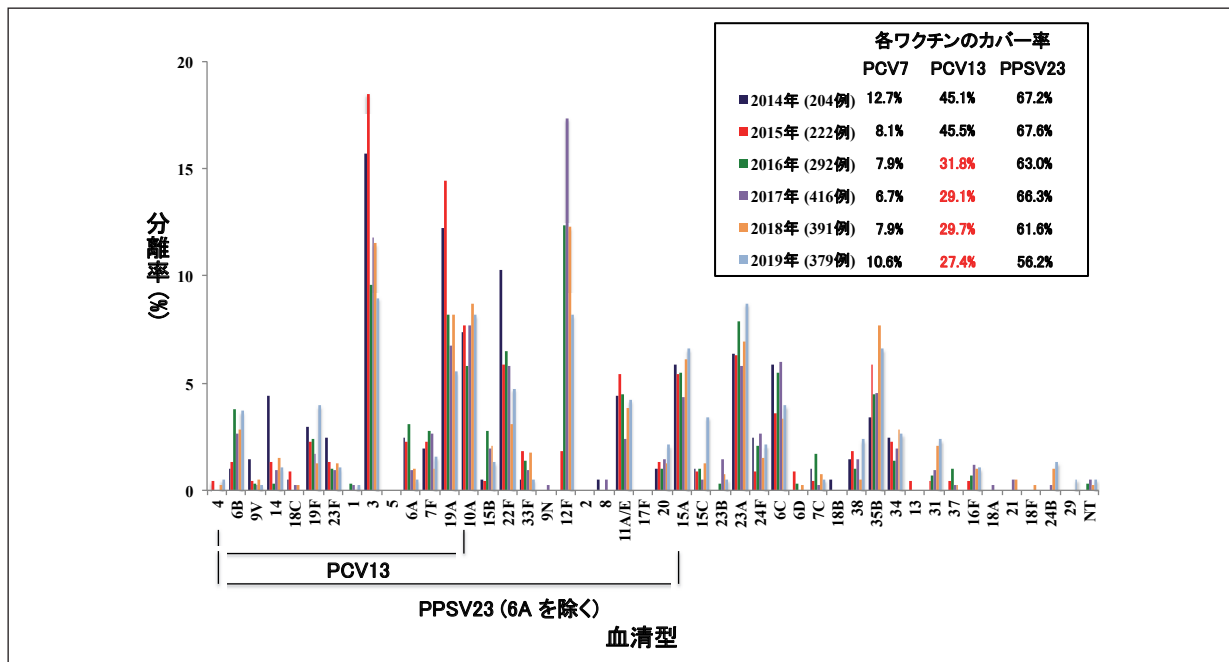


図 2. 2014～19年に報告された各年の成人IPD症例由来原因菌の血清型の割合 (%) (n=1,904)

表 1. NT肺炎球菌のST型およびcps遺伝子の保有状況

菌株番号	分離年	血清型	ST	<i>aroE</i>	<i>gdh</i>	<i>gki</i>	<i>recP</i>	<i>spi</i>	<i>xpt</i>	<i>ddl</i>	<i>cps</i> PCR	PCR serotyping
ASP789	2016	NT	2331	10	16	150	1	17	1	29	+	19A
ASP991	2017	NT	5242	7	13	8	6	1	337	8	+	23A
ASP1181	2017	NT	3116	10	8	6	1	9	1	279	+	34
ASP1456	2018	NT	2572	7	75	9	6	25	6	14	+	24F
ASP1924	2019	NT	4845	12	19	2	17	6	22	26	-	検査せず
ASP2029	2019	NT	new	12	29	382	15	2	22	26	-	検査せず

株のPCV13カバー率の低下がみられた。特に、血清型3型と19A型によるIPD症例の減少がみられた。2016年以後に12F型によるIPD症例数の増加がみられたが、2019年に減少傾向にあった(図2)。また、2018年と2019年の分離菌のPPSV23のカバー率に減少傾向がみられ、ワクチン定期接種化の予防効果である可能性が示唆された。

5. NT型肺炎球菌の解析

本研究班研究では、NT型肺炎球菌は6症例IPDから分離された(表1)。

2016年から2018年までに分離された4株のNT型肺炎球菌のすべてはcps遺伝子を有し、PCR serotyping法では、それぞれ19A、23A、34、24F血清型の特異的な遺伝子が検出された。MLST解析の結果では、4株はそれぞれ日本でよく分離される該当血清型のST型と一致した。これらのNT型肺炎球菌は、変異が起きた時期(宿主体内または分離された後)は不明だが、突然変

異によって莢膜が作れなくなる可能性が高いと考えられた。

2019年に分離された、2症例由来肺炎球菌(ASP1924とASP2029)はNT型であった。MLST解析の結果では、ASP1924はST4845で、ASP2029はMLSTのデータベースに登録されていない新しいST型であった。PCR検査では、この2株はcps遺伝子を保有していないことが明らかになった(表1)。これらの結果は、肺炎球菌ASP1924とASP2029株はもともと無莢膜型である可能性が高いと考えられた。

D. 考察

日本ではPPSV23が1988年に薬事承認され、2014年10月からB類疾病として65歳以上の成人対象に定期接種が始まった。また、PCV13の65歳以上の成人への適応も2014年6月に追加承認された。本研究の複数地域における成人IPDの疫学

調査は、PPSV23が定期接種の対象になる前後の期間を含む形で2013年に始まったため、PPSV23の直接効果および小児用結合型肺炎球菌ワクチンによる間接効果をリアルタイム、かつ正確に反映することが期待されている。

本分担研究の調査では、2013年4月から2019年まで、成人IPD由来肺炎球菌の35.3%はPCV13とPPSV23のいずれにも含まれていない血清型であった。成人IPDより多く分離される血清型3型および19A型はPCV13にも含まれるタイプであり、2016年以後に3型および19A型による成人IPDの割合に減少傾向がみられ、PCV13含有タイプが占めている割合も徐々に減少した。小児PCV13の定期接種導入による成人への間接効果について観測し続ける必要がある。

E. 結論

2013年4月から2019年12月現在までに成人IPDから分離された肺炎球菌は、2016年以後の起因菌のPCV7およびPCV13の、2018年以後のPPSV23のカバー率の低下がみられた。小児用結合型肺炎球菌ワクチンによる成人IPDへの間接予防効果が示唆された。今後も成人IPD症例の原因菌の収集と血清型を含む細菌学的解析を継続する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shimbashi R, Chang B, Tanabe Y, Takeda H, Watanabe H, Kubota T, Kasahara K, Oshima K, Nishi J, Maruyama T, Kuronuma K, Fujita J, Ikuse T, Kinjo Y, Suzuki M, Kerdsin A, Shimada T, Fukusumi M, Tanaka-Taya K, Matsui T, Sunagawa T, Ohnishi M, Oishi K, and the Adult IPD Study Group. Epidemiological and clinical features of invasive pneumococcal disease caused by serotype 12F in adults, Japan. PLOS One, 14: e0212418, 2019.
- 2) Takeda H, Sato C, Chang B, Tsuchida F, Watanabe M, Yamamoto Y, Morita M, Oishi K, Suzuki H. Ten-year transition of pneumococcal vaccine coverage rates and

bacterial serotype distribution in adult cases of non-invasive pneumococcal pneumonia. J Global Infect Dis. 11: 30-35, 2019.

2. 学会発表

- 1) 藤倉裕之, 常 彬, 松井珠乃, 砂川富正, 黒沼幸治, 大島謙吾, 武田博明, 田邊嘉也, 丸山貴也, 笠原 敬, 窪田哲也, 渡邊 浩, 西順一郎, 藤田次郎, 大石和徳. Asplenia/hypospleniaに伴う侵襲性肺炎球菌感染症の臨床的特徴 第93回日本感染症学会総会・学術講演会, 2019年.
- 2) 金城雄樹, 常 彬, 大西 真, 大石和徳. 成人侵襲性肺炎球菌症例由来菌株のPspA clade分布解析. 第68回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第66回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会, 2019年.
- 3) 金城雄樹, 常 彬, 丸山貴也, 藤倉裕之, 砂川富正, 西 順一郎, 渡邊 浩, 鈴木 基, 大石和徳. 成人侵襲性肺炎球菌症例から分離した菌株の血清型及びPneumococcal surface protein A (PspA) 型分布解析. 第24回日本ワクチン学会学術集会, 2019年.
- 4) 藤倉裕之, 常 彬, 砂川富正, 西 順一郎, 渡邊 浩, 丸山貴也, 金城雄樹, 大石和徳, 鈴木 基. 成人肺炎球菌性髄膜炎の疫学的・細菌学的特徴. 第24回日本ワクチン学会学術集会, 2019年.
- 5) 大石和徳, 新橋玲子, 藤倉裕之, 福住宗久, 砂川富正, 多屋馨子, 鈴木 基, 常 彬, 渡邊 浩, 西 順一郎, 丸山貴也, 金城雄樹. 高侵襲性12F 血清型による成人侵襲性肺炎球菌感染症の臨床的特徴. 第24回日本ワクチン学会学術集会, 2019年.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし