

厚生労働行政推進調査事業費補助金(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エビデ
ンス構築のための研究」

分担研究報告書

百日せきワクチン接種が抗百日咳菌 IgA, IgM 抗体価に与える影響の評価

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 小出健太郎 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】

2016年に百日咳の新規血清診断法として「ノバグノスト百日咳/IgA、IgMキット」が健康保険適用され、現在臨床で広く使用されている。本キットは、抗百日咳菌IgA、IgM抗体価を測定するものだが、「測定抗体価が百日せきワクチン接種の影響を受けない」ことを一つの利点としている。本研究では5~6歳の健常小児にDPTワクチンを接種し、その前後での抗体価の変動を調査した。その結果、抗IgA、IgMともにワクチン接種の影響を受けにくいことが確認された。ただし、抗IgMを指標とした場合は、DPT接種前でも18.6%の被験者が百日咳陽性値を示したことから、小児百日咳診断への本測定法の適用は見直しが必要であると指摘された。

A. 研究目的

百日咳の血清診断では、抗百日咳毒素(PT) IgGを指標とする測定法が従来から用いられてきた。ところが本法は①IgGを標的とするため感染早期の診断に用いることができない、②百日せきワクチン接種の影響を受ける、といった制限があった。そこで、これら問題点を克服する新規血清診断法として、抗百日咳菌 IgA および 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)が発売され、2016年に健康保険適用となった。百日咳の国内サーベイランスは、2018年1月から検査診断に基づく全数報告システムを取り入れたが、2019年の患者報告数(n=16,785)における抗百日咳菌 IgA または IgM を診断根拠とした報告数は 13% (n=2,206)を占めていた。

本研究班ではこれまで、百日咳患者血清および国内健常人血清を用いて、本診断キットの性能評価を行ってきた。その結果、①特異度は高いが感

度が低い、②被験者の年齢が抗体価に影響する、という知見が得られている。今年度はさらに、百日せきワクチン接種が、本診断キットで測定される抗体価に与える影響を評価することを目的に、沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン(DPT)を接種した健常児の抗百日咳菌 IgA、IgM 抗体価を経時的に解析した。

B. 研究方法

1. 血清検体

本研究班で別に実施した DPT 追加接種臨床試験(DPT-5-BST)に参加した就学前児童(5~6歳、113名)の血清を用いて抗体価の変動を調査した。DPT接種歴が4回あり基礎疾患などのない就学前児童をリクルートし、保護者の同意を得たうえで、児童に対してDPTの追加接種を行い接種前、接種1か月後、接種1年後の血清を採取した。

2. 抗百日咳菌 IgA, IgM 抗体価測定

ノバグノスト百日咳/IgA とノバグノスト百日咳/IgM

キット(シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス社)の添付文書に従って、百日咳菌に対するIgAとIgM抗体価を測定した。IgAとIgM抗体価はノバグノスト単位(NTU)として算出し、添付文書に従って陰性を<8.5 NTU、判定保留を8.5~11.5 NTU、陽性を>11.5 NTUとした。

3. 抗PT IgG, 抗FHA IgG抗体価測定

血清中の抗PT IgG, 繊維状赤血球凝集素(FHA) IgG抗体価はin-house enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs)法で測定した。96穴プレートにPTまたはFHA抗原をコートし、スキムミルク液でブロッキングしたのち、1:200希釈した非加熱血清検体を添加して36°Cで2時間インキュベートした。抗原に結合したIgG抗体はアルカリホスファターゼラベルした2次抗体と結合し、最終的にはp-ニトロフェニルホスフェイトの添加により用量依存的に発色する。測定には波長405 nm, 参照波長650 nmを用いた。

(倫理面への配慮)

試料提供者の個人情報情報は削除され、個人が特定できないよう配慮した。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. DPT接種に伴う抗百日咳菌IgA, IgM抗体価の変動

図1に抗百日咳菌IgAおよびIgM抗体価の変動を示した。抗百日咳菌IgAの幾何平均値はDPT接種前2.9 NTU、接種1ヶ月後3.7 NTU、接種1年後2.2 NTUであり、DPT接種により若干の抗体価上昇が認められた。DPT接種前と比べて、DPT接種1ヶ月後には抗体価が1.3倍上昇していたが、接種1年後には0.8倍となっており、ほぼ接種前のレベルに戻っていた。

一方、抗百日咳菌IgM抗体価はDPT接種の影響が認められなかった。抗百日咳菌IgMの幾何平均値はDPT接種前8.2 NTU、接種1ヶ月後8.1 NTU、接種1年後8.5 NTUであった。DPT接種前

と比較すると、接種1ヶ月後および1年後の抗体価上昇倍率はともに、1.0倍であった。

2. DPT接種に伴う抗百日咳菌IgA, IgM判定値の変動

DPT接種に伴う抗百日咳菌IgA, IgM判定値の変動を表1に示した。抗百日咳菌IgAを指標にした場合、百日咳陽性値を示す人の割合が、DPT接種前は3.5%であったのに対し、接種1ヶ月後には8.8%(2.5倍)に上昇することが明らかとなった。また、接種1ヶ月後に陽性または判定保留域の抗体価を示す割合は11.5%であった。

抗百日咳菌IgMを指標とした場合は、抗体価の変動と同じく、判定値においてもDPT接種の影響は認められなかった。本研究班では以前、抗百日咳菌IgMを指標にした場合は健常人であっても若年層で抗体価が高くなる傾向があることを見出していたが、(平成30年度神谷班)、本研究でも同様の傾向が認められた。被験者である5~6歳児ではDPT接種前でも18.6%が百日咳陽性と判定される抗体価を示した。また、陽性または判定保留域の抗体価を示す割合が被験者の約50%に達していた。

3. 各種抗体価間の相関関係

抗百日咳菌IgAとIgMの相関解析では、DPT接種前、接種1ヶ月後、接種1年後いずれの時期においても有意な相関関係は認められなかった(Spearman $r=0.15\sim0.23$, $P=0.013\sim0.11$)。

次に、抗百日咳菌IgAと抗PT IgGまたは抗FHA IgGの相関解析を行った(図2)。抗IgAと抗PT IgGは接種1ヶ月後($r=0.34$, $P=0.0002$)、抗IgAと抗FHA IgGは接種1ヶ月後($r=0.35$, $P<0.0001$)および1年後($r=0.32$, $P=0.0005$)に、それぞれ非常に弱い有意な相関を認めた。

抗百日咳菌IgMと抗PT IgGまたは抗FHA IgGの相関解析では、いずれの組み合わせ、時期においても有意な相関を認めなかった($r=-0.01\sim0.15$, $P=0.11\sim0.88$)。

D. 考察

抗百日咳菌 IgA, IgM 抗体価への DPT 接種の影響および抗 PT IgG または抗 FHA IgG との相関には、測定抗原が大きく影響していると考えられた。ノバグノスト百日咳/IgA キットには、測定抗原として PT および FHA の混合物、ノバグノスト百日咳/IgM キットには不活化百日咳菌全菌体を用いられている。

抗百日咳菌 IgA は DPT 接種により若干の抗体価上昇が認められたが、抗 PT IgG の上昇率(8.1 倍)と比較するとワクチン接種の影響は非常に小さいものであった。被験者全体としては接種 1 ヶ月後に 1.3 倍の抗体価上昇を認めたが、上昇率には個人差が観察された(0.4~19.2 倍)。今回の治験に使用された DPT ワクチン(阪大微生物病研究会, トリビック)には百日せきワクチン抗原として精製 PT および FHA が含有されている。従って、本 DPT ワクチンの接種で抗 PT IgA および抗 FHA IgA の上昇が生じるため、ノバグノスト百日咳/IgA キットでもこれらが総合的に検出され抗百日咳菌 IgA の上昇に反映されていると考えられた。また、このため抗百日咳菌 IgA と抗 PT IgG、抗 FHA IgG で非常に弱い有意な相関関係が検出されたと考察された。ただし、DPT 接種の影響で抗 PT IgG および抗 FHA IgG 抗体価が接種 1 年後でも 2.6~3.0 倍の抗体価を維持していたのに対し、抗百日咳菌 IgA は接種前のレベルまで戻っていることから、IgG に比べて IgA はワクチン接種後の持続期間が短いことが指摘された。

抗百日咳菌 IgM は DPT 接種の影響が認められず、抗 PT IgG または抗 FHA IgG との有意な相関も示されなかった。以前に、市販百日咳 ELISA 測定キットの比較性能評価を実施した研究では、百日咳血清診断には精製測定抗原を用いるべきであり、抗 PT IgG 測定法が最も精度の高い診断方法であると報告されている (Pawloski LC, J Pediatric Infect Dis Soc, 2017)。従って、測定抗原として百日咳菌全菌体を用い、これに対する IgM 抗体を検出するノバグノスト百日咳/IgM キットを用いた本研究では、DPT 接種後に抗百日咳菌 IgM が

上昇しなかった理由が、①非特異抗原の存在による抗 PT IgM、抗 FHA IgM の上昇阻害の為なのか、②真に DPT 接種では IgM 抗体価が上昇しない為なのか、判別することができなかった。

現在、百日咳の感染症法に基づく医師届出ガイドライン(初版)では、抗 PT IgG を指標にした単血清での診断基準カットオフ値が ≥ 100 EU/ml とされている。DPT 接種前の被験者血清で、この基準に合致するものは 1 検体のみ(0.88%)であった。これに対し、抗百日咳菌 IgA を指標とした場合は 3.5%、抗百日咳菌 IgM を指標とした場合は 18.6% が百日咳陽性値を示したことから、小児に対する診断精度の低さが懸念された。特に抗百日咳菌 IgM に与える被験者の年齢要素は影響が大きく、本抗体価を指標とした小児の百日咳診断は困難であると考察された。

E. 結論

ノバグノスト百日咳/IgA, IgM キット測定値は、DPT ワクチン接種の影響を受けにくい。ただし、抗体価が被験者の年齢に影響を受ける可能性が高く、特にノバグノスト百日咳/IgM キットの小児百日咳診断への適用は見直しが必要であると指摘された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録情報(予定を含む)

1. 特許取得

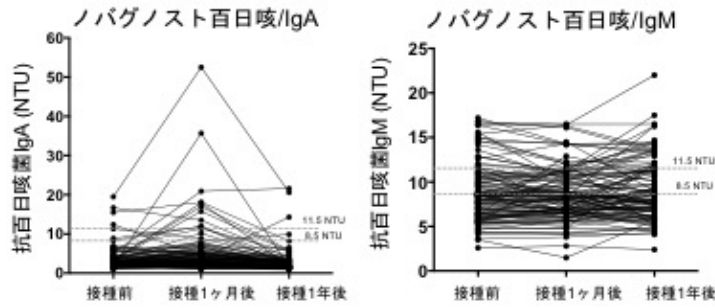
なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



	抗百日咳菌IgA			抗百日咳菌IgM		
	接種前	接種1ヶ月後	接種1年後	接種前	接種1ヶ月後	接種1年後
GMT (NTU)	2.9	3.7	2.2	8.2	8.1	8.5
GMT fold-increase	-	1.3	0.8	-	1.0	1.0

図 1. DPT 接種と抗百日咳菌 IgA, IgM 抗体価の変動

表 1. DPT 接種と抗百日咳菌 IgA, IgM を指標とした判定値の変動

	抗百日咳菌IgA			抗百日咳菌IgM		
	接種前	接種1ヶ月後	接種1年後	接種前	接種1ヶ月後	接種1年後
GMT (NTU)	2.9	3.7	2.2	8.2	8.1	8.5
GMT fold-increase	-	1.3	0.8	-	1.0	1.0
陽性 (%)	3.5	8.8	2.7	18.6	15.9	24.8
判定保留 (%)	1.8	2.7	0.9	29.2	27.4	23.9
陰性 (%)	94.7	88.5	96.5	52.2	56.6	51.3
陽性+判定保留 (%)	5.3	11.5	3.5	47.8	43.4	48.7

* DPT接種前にPT-IgG ≥ 100 EU/mlであったのは1検体のみ(0.88%)

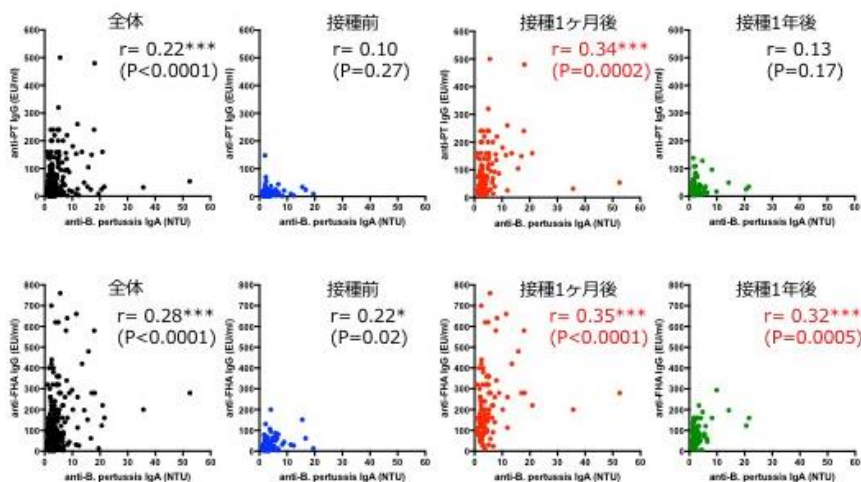


図 2. DPT 接種前後における抗百日咳菌 IgA と抗 PT IgG または抗 FHA IgG の相関関係