

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に関するサーベイランス手法及びワクチン効果の評価に資する研究」

総括分担研究報告書

質の高い百日咳サーベイランスの維持ならびにDPT追加接種に関する検討

研究分担者	神谷 元	国立感染症研究所	感染症疫学センター
研究協力者	塚田敬子	国立感染症研究所	実地疫学研究センター
	大塚菜緒	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
	小出健太郎	国立感染症研究所	細菌第二部
	後藤雅貴	国立感染症研究所	細菌第二部
	砂川富正	国立感染症研究所	実地疫学研究センター
	折目郁乃	国立感染症研究所	実地疫学研究センター
		実地疫学専門家養成コース(FETP)	
	皐月由香	国立感染症研究所	実地疫学研究センター
		実地疫学専門家養成コース(FETP)	
	三山豪士	大阪健康安全基盤研究所	公衆衛生部

【研究要旨】2021年11月頃より、発生動向調査に報告された百日咳のうち、ある自治体の特定の医療機関から百日咳患者の報告の集積が散見された。患者の周囲や地域の発生状況を確認、さらに先行研究を実施したところイムノクロマト法による偽陽性を呈する可能性があり、イムノクロマト法百日咳菌抗原キット「リボテスト百日咳」の精度評価を実施している。百日咳疑いの患者170名から得られた検体に対し、イムノクロマト法及び比較のため百日咳菌特異的遺伝子検査LAMP法を実施し、その結果、170検体中68検体がイムノクロマト法陽性、うちLAMP法陽性は1検体のみとなり、高頻度での偽陽性が確認された(偽陽性率:40%)。サーベイランスにおいては、イムノクロマト法の使用により百日咳ではない症例が届出される可能性が示唆された。

これまでの本研究班の研究結果より、乳幼児の百日咳予防には、DPTの追加接種を実施し、学童における患者のコントロールが必要であることを示してきたが、接種時期の検討を流行予測事業の結果を用いたモデリングにより検討し、小学校入学前の追加接種が最適であることを示した。

A. 研究目的

百日咳は、主として百日咳菌(*Bordetella pertussis*)が引き起こす急性呼吸器感染症である。1歳以下の乳児では肺炎や脳炎など重症化しやすく、特に生後6カ月以下では死に至る危険性も高い。また、感染力が強く、小中学校での集団発生を発端とした地域での患者数増加、都市部での集団発

生も報告されている。免疫効果が減衰した学童や成人が、重症化が懸念されるワクチン未接種の乳児の感染源となっていることから、早期の流行探知や対応が公衆衛生上重要である。

2018年1月1日から成人を含む検査診断例の全数把握疾患として百日咳のサーベイランスが開始されたことにより、小児科定点把握疾患サーベイ

ランスでは情報が不十分であった成人を含めた疫学や患者の特徴等が明らかになってきた。

届出のための検査診断としては、従来 LAMP 法などの遺伝子検査や抗体検査が用いられてきたが、2021 年 5 月 1 日に健康保険適用、6 月 3 日に発生動向調査の届出基準に追加されたイムノクロマト法による診断例が増加している。イムノクロマト法は、迅速かつ簡便な方法であるが、百日咳菌以外の *Bordetella* 属細菌に交差反応を示すため、*Bordetella Pertussis* による百日咳のみ届出を求めている発生動向調査において、正確な検査診断例の届け出は課題である。より正確な質の高いサーベイランスを実現するため、イムノクロマト法百日咳菌抗原キット「リボテスト百日咳」の検査精度を明らかにし、イムノクロマト法をより有効に活用するための使用方法について検討することを本研究の目的としている。

また、2018 年以降行われてきた検査診断に基づく発生動向調査の解析の結果、DPT4 回接種者が学童期に多数百日咳に感染していることが明らかとなり、DPT の追加接種の必要性について提言してきた。しかし、追加接種の最適な時期についての検討は行われていなかったため、最も効果的な DPT 接種時期についても検討することとした。

B. 研究方法

1. リボテストの精度評価

倫理審査承認後の 2022 年 10 月以降に、咳嗽や百日咳に特徴的な症状(吸気性笛声、連続性の咳嗽、咳嗽後の嘔吐、無呼吸発作)を主訴に全国の協力医療機関を受診し、臨床的・疫学的に百日咳が疑われた小児(0 歳～15 歳)を対象とした。

10 協力医療機関において、百日咳疑い患者を対象に、滅菌綿棒を用いて患者の鼻咽頭拭い液(2 検体)を採取し、1 検体は通常診療の一環として、民間検査会社に百日咳菌 LAMP 検査を依頼し、残り 1 検体は協力医療機関で添付文書に従ってリボテスト百日咳(研究班より配布)のイムノクロマト法

による抗原検査を実施し、比較研究を行った。

イムノクロマト法を実施した残検体を用いて、国立感染症研究所細菌第二部において、DNA を抽出し、各種遺伝子検査(マルチプレックスリアルタイム PCR 測定、16S rRNA メタゲノム解析)により、百日咳類縁菌の菌種同定や網羅的な病原体検索を行った。

なお、LAMP 法は、百日咳菌への特異性が高い、リアルタイム PCR 法と同等の検出感度をもつ利点を有すること、一方で、リアルタイム PCR 法は他の *Bordetella* 属菌も検出することがあるため、今回比較研究における基準検査として LAMP 法を対照とした。また、被験者の性別、年齢、初診年月日、検査にかかる情報(検査日、検査結果)、抗菌薬投与の有無、ワクチン接種歴の有無(接種日、製造会社)、受診時の症状(各発症日)、基礎疾患の有無、推定感染原因や感染源の情報を収集した。

以上より、百日咳菌 LAMP 法に対するイムノクロマト法の感度、特異度の検証、イムノクロマト法陽性例と陰性例の疫学情報を解析した。

なお、調査協力医並びに医療機関は以下のとおりである。

森 秀樹(森小児科医院)、西藤 成雄(西藤小児科こどもの呼吸器・アレルギークリニック)、中村 豊(ゆたかこどもクリニック)、飯泉 哲哉(いいずみファミリークリニック)、久保田 恵巳(くぼたこどもクリニック)、梅本 正和(うめもとこどもクリニック)、菅谷 明則(すがやこどもクリニック)、大久保 俊樹(大久保クリニック)、中山 栄一(レープ子どもクリニック)、黒木 春郎(外房こどもクリニック)

2. 最適な DPT 追加接種の時期の検討

血清疫学データを用いて実効再生産数を算出することにより、どの年齢群への追加接種が実効再生産数を効果的に低下させるか検討する方法を用いた。

1) 抗体保有率の算出

集団の免疫保有割合として、流行予測調査報告

書のデータを用いた血清学的データから抗体保有率を算出した。年齢群別の血清学的データ
 流行予測調査報告書のデータのうち、流行があった2013, 2018年のデータを用い、年齢群を
 0~4歳、5~9歳、10~14歳、15~19歳、20~24歳、25~29歳、30~34歳、35~39歳、
 40~44歳、45~49歳、50~54歳、55~59歳、60~64歳、65~69歳、70歳以上に分類した。
 また、抗PT抗体価10EU/mL以上を免疫があるものとし、免疫がある個体の割合(有病率)を算
 出することにより、免疫を持たない個体の割合を算出した。
 なお、流行予測調査事業において百日咳の抗体検査が実施されるのは5年おきのため、今回
 は2013年、2018年に実施された調査の結果を用いた

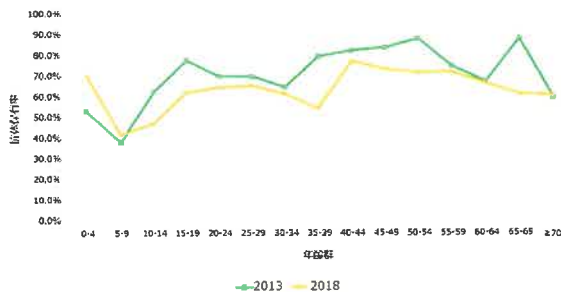


図1. 2013, 18年の年齢群別百日咳抗体価
 (流行予測調査事業より引用)

- 2) 社会的接触データから年齢の異質性を考慮した実効再生産数を算出する。
 年齢群別の社会的接触データは先行研究のデータ(Lankeshwara Munasinghe, Yusuke Asai and Hiroshi Nishiura. Quantifying heterogeneous contact patterns in Japan: a social contact survey Munasinghe et al. Theoretical Biology and Medical Modelling.2019)を用いて、1)の結果を考慮しながら接触による2次感染の平均値を実行再生産数で表す。
- 3) 次世代行列を用いた計算
 集団の年齢の異質性を考慮したい場合、年齢群

別に再生産数を考える必要があるため、各年齢群の再生産数を行列で表した次世代行列を用いて計算する。

感染が起こっている状態での次世代行列 K_e は、各再生産数に免疫を持たない個体の割合をかけることにより示せる。

$$K_e = \begin{pmatrix} (1-p_c)R_{cc} & (1-p_c)R_{ca} \\ (1-p_a)R_{ac} & (1-p_a)R_{aa} \end{pmatrix}$$

p_c は子どもの抗体保有率 p_a は大人の抗体保有率

次世代行列 K の最大固有値が基本再生産数として示される $R_0 = \rho(K)$ ため、感染が起こっている状態における、次世代行列 K_e の最大固有値が実効再生産数として示される

$$R_e = \rho(K_e)$$

ρ :最大固有値を求める関数

これらに加え、ワクチンの追加接種を想定し、抗体保有率を変化させ、その時の実効再生産数の変化をシミュレーションする。実効再生産数が最も小さくなる場合が最適な追加接種の時期となる。

C. 研究結果

1. リボテスト百日咳の精度評価

2022年10月~2024年2月に百日咳疑いと診断され、本研究に同意された170名を被験者とした。本研究には国内10医療機関に研究協力を依頼し、令和5年度の研究期間内に上記百日咳疑い患者を診察したのは9医療機関であった。

170検体のうち、イムノクロマト法では68検体が陽性、102検体が陰性と判定された。一方、百日咳菌LAMP法では1例陽性となり、百日咳菌DNAが検出された。

		LAMP法		合計
		陽 性	陰 性	
リボテスト	陽 性	1	67*	68
	陰 性	0	102	102
合計		1	169	170

表 1 イムノクロマト法と百日咳菌 LAMP 法の相関

百日咳菌 LAMP 法の結果を基準とした場合、イムノクロマト法の偽陽性率は 40%(67/169)と算出された。百日咳菌 LAMP 法陽性と判定された者を感染者、陰性と判定された者を非感染者とした場合、有病率は 0.6%(1/170)となった。感度は 1/1、特異度は 60%(102/169)、陽性的中率は 1.5%(1/68)であり、イムノクロマト法と LAMP 法の相関は非常に低い結果となった。

		リボテスト陽性 n=68		リボテスト陰性 n=102	
		n	割合	n	割合
性別	男性	37	54%	55	54%
年齢, 歳	中央値[四分位範囲] (最小値-最大値)	4	[2-6] (0-20)	5	[3-8] (0-13)
年齢群	0歳	4	6%	9	9%
	1-5歳	42	62%	48	47%
	6-12歳	19	28%	44	43%
	13-20歳	3	4%	1	1%
ワクチン接種歴	4回接種	58	85%	88	86%
	3回接種	5	7%	7	7%
	2回接種	0	0%	0	0%
	1回接種	2	3%	2	2%
	未接種	0	0%	3	3%
	不明	3	5%	2	2%

表 2-1 本研究におけるイムノクロマト法陽性例と陰性例の基本属性

		リボテスト陽性 n=68		リボテスト陰性 n=102	
		n	割合	n	割合
発症日-検査日	中央値[四分位範囲] (最小値-最大値)	6	[3-9] (0-37)	6	[3-17] (1-72)
症状(重複あり)	持続する咳	67	99%	98	96%
	夜間の咳き込み	60	88%	77	75%
	連続性の咳嗽	30	44%	20	20%
	嘔吐	20	35%	23	23%
	吸気性笛声	4	29%	4	4%
	無呼吸発作	0	0%	1	1%
基礎疾患	あり	39	57%	37	36%
	あり(喘息)	36	53%	34	33%

表 2-2 本研究におけるイムノクロマト法陽性例と陰性例の臨床所見

陽性例は、男性 37 例(54%)、年齢中央値 4 歳(四分位範囲 2-6 歳、範囲 0-20 歳)、ワクチン接種歴は、4 回以上接種済が 85%を占めていた。発症から検査までの日数は、中央 6 日(四分位範囲 3-9

日、範囲 0-37 日)であった。症状(重複あり)は、持続する咳 99%、夜間の咳き込み 88%、連続性の咳嗽 44%、嘔吐 35%、吸気性笛声 29%であった。無呼吸発作はみられなかった。基礎疾患を有する患者は 57%(39/68)、さらに基礎疾患(喘息)を有する患者は 53%(36/68)であった。

陰性例は、男 55 例(54%)、年齢中央値 5 歳(四分位範囲 3-8 歳、範囲 0-13 歳)、ワクチン接種歴は、4 回接種済が 86%を占めていた。発症から検査までの日数は、中央値 6 日(四分位範囲 3-17 日、範囲 1-72 日)であった。症状(重複あり)は、持続する咳 96%、夜間の咳き込み 75%、連続性の咳嗽 20%、嘔吐 23%、吸気性笛声 4%であった。無呼吸発作が 1 例に認められた。基礎疾患を有する患者は 36%(37/102)、さらに基礎疾患(喘息)を有する患者は 33%(34/102)であった。

陽性例と陰性例を比較して、性別や年齢に大きな違いは認められず、4 回のワクチン接種歴がある患者が同程度認められており、百日咳様の臨床症状を呈していた。基礎疾患は、陽性例の方においてやや高い割合で確認された。

2. 最適な DPT 追加接種の時期の検討

図 2-1(上),2-2(下)に 2013 年、2018 年の抗体保有率による実効再生産数の年齢群別変化を示す。

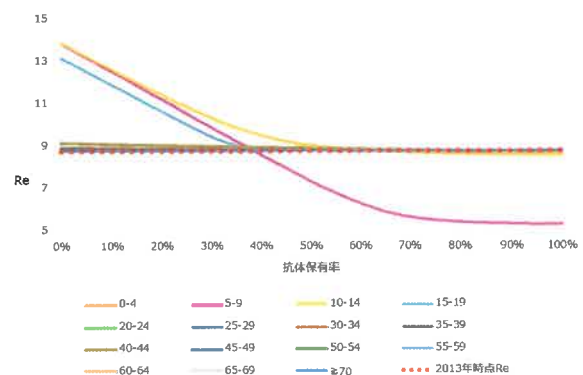


図 2-1 2013 年の抗体保有率による実効再生産数の年齢群別変化

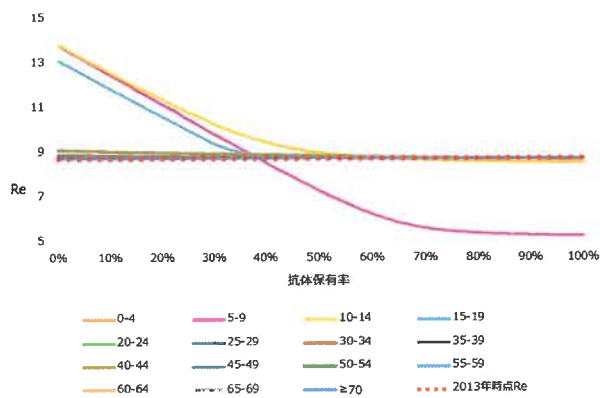


図 2-2 2018 年の抗体保有率による実効再生産数の年齢群別変化

実線は、各年齢群にワクチン接種などの対策をとった場合の抗体保有率に対する実効再生産数の変化を示し、点線はその年の実効再生産数(2013 年 8.75、8.93)を示す。両年ともに、5-9 歳群の抗体価を上昇させることで実行再生産数が最も低下している。

D. 考察

本研究により、百日咳菌抗原キット「百日咳リポテスト」の高い偽陽性率を示され、当該キットを用いた検査診断には注意を要することが明らかになった。また、5-9 歳群の抗体価を上昇させることで実効再生産数を低下させることができることが示唆された。

発生動向調査において *Bordetella Pertussis* 感染による百日咳のみ届出となっており、本菌に対するワクチンの効果を正確に評価するためには、このサーベイランスの正確性の担保は、百日咳の正確な疫学の把握だけでなく、予防接種政策の評価においても重要である。

昨年度同様、免疫クロマト法による偽陽性が高い結果となった。この理由については、陰性検体からの病原体検索など現在原因を検討中であるが、昨年度、今年度ともに百日咳の流行が認められておらず、有病率(検査前確率)が低いことが影響している可能性がある。百日咳が流行した状態で同様の調査を実施する必要性がある。

2018 年に百日咳が全数サーベイランスとなり、国

内の百日咳の疫学がわかってきた。その中で 4 回の DPT ワクチン接種を完了しているにもかかわらず罹患している学童児の患者が多数いることが明らかになった。諸外国が DPT5 回接種をする中で、国内では 4 回接種の政策が実施されており、DPT の追加接種の必要性が明らかになったが、追加接種の時期に関する検討はなされていなかった。今回の結果を踏まえると、患者が増える学童期の前に追加接種して集団としての抗体価保有率を上げておくことが有効であることが明らかになった。2018、2019 年の百日咳サーベイランスの結果と合わせて考えると、患者数が増加する前での DPT 追加接種が必要であり、今回の研究では 5-9 歳群での接種が有効という結果になっているが、できるだけ早い時期での接種が効果的と考えられる。4-6 歳において MR ワクチン接種を実施している国内の予防接種スケジュールをを加味すると、MR と同時に DPT の接種を行うことが高い接種率実現に向けて最も効果的であると考えられる。

本研究班の前身の研究班において、すでに就学時前の児童への DPT ワクチン接種による効果(抗体価の上昇)と安全性について検討され、抗体価の十分かつ高率での上昇と、これまでに DPT ワクチン接種で知られているのと同程度の副反応が認められることを報告しており、今回の結果と合わせ、国内における就学時前児童への DPT ワクチンの接種を推奨するエビエンスとなることを期待する。

今後は、就学時前の児童への DPT ワクチン接種による疫学への影響(乳幼児の感染源となっている学童児への介入がどの程度社会全体として効果があるか)や海外で行われている妊婦への DPT ワクチン接種による影響について検討することが必要である。これらの検討は百日咳が全数サーベイランスとなり、正確な疫学情報が得られる状況下において、モデリングの手法を用いることで初めて可能となる。引き続き、質の高いサーベイランスの実施と維持、それに基づいた介入策の検討と評価が重要である。

E. 結論

百日咳菌抗原キット「リボテスト百日咳」の高い偽陽性率が明らかとなり、当該キットによる検査結果の解釈には注意が必要であることが指摘された。今後さらに解析検体数を増やし、検査精度の評価および偽陽性原因の探索を継続する必要がある。質の高いサーベイランスによって得られたデータとモデリングの手法を組み合わせることで、最適なDPTワクチンの追加接種の時期が就学時前の5歳から小学校低学年となる9歳までであることが示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

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