

## 兵庫県における侵襲性肺炎球菌感染症の発生動向と血清型分布(2013~2018年)

坂野 桂\* 齋藤 悦子 荻田 堅一 松尾 美也子 秋山 由美

### Characteristics of Invasive Pneumococcal Disease Patients and Serotype Distribution in Hyogo Prefecture during 2013-2018

Katsura SAKANO\*, Etsuko SAITO, Kenichi OGITA, Miyako MATSUO and Yumi AKIYAMA

*Infectious Disease Research Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health Science, 1819-14, Kanno, Kanno-cho, Kakogawa-city 675-0003, Japan*

All the cases of invasive pneumococcal disease (IPD) have been reported on the National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases since April 1, 2013. The reported number of cases increased annually. In Hyogo prefecture, 230 cases were reported in 2018, and the number of cases per 100,000 population was 4.19, which was the third place among prefectures in Japan. Children  $\leq 4$  years of age or elderly persons aged  $\geq 65$  years occupied 70% or more of patients in every year, and the ratio of elderly persons has been increasing year by year.

Serotypes of causative pneumococcal isolates from 28 patients were investigated, and serotype 12F/(12A/44/46) was most frequently detected from 9 cases. The serotypes contained in PPSV23 including 12F/(12A/44/46) occupied half of the detected serotypes, which suggested the effectiveness of PPSV23 for the prevention of IPD. Increasing the vaccination coverage and continuous monitoring of serotype distribution were considered to be necessary.

#### I はじめに

肺炎球菌は肺炎、中耳炎、副鼻腔炎などの非侵襲性の感染症を引き起こすグラム陽性菌で、ときに髄膜炎や菌血症を伴う肺炎などの侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) を引き起こす。IPD は血液や髄液などの通常無菌的であるべき検体から肺炎球菌が分離された疾患をさし、2013年4月1日より全数把握対象疾患の五類感染症に追加されている。肺炎球菌の菌表面の莢膜ポリサッカライド (capsular polysaccharide; CPS) は最も重要な病原性因子であり、肺炎球菌の血清型を決定する抗原でもあ

る。現在までに95種以上の血清型が報告されており、その一部の血清型の肺炎球菌による感染症は、ワクチン接種により予防可能である<sup>1)</sup>。

日本で承認されている肺炎球菌感染症に対するワクチンは、7価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV7)、10価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV10)、13価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV13)、及び23価ポリサッカライドワクチン (PPSV23) である。各ワクチンの血清型含有状況を Table 1 に示した。

小児に対しては、PCV7 が2010年2月に日本国内で発売が開始され、2010年11月に5歳未満の小児に対する接種費用の公費助成が始まった。2013年4月にはPCV7 が定期接種に導入され、同年11月にPCV13に切り替わった。成人に対しては、PPSV23 が1988年3月に承認され、2014年10月から高齢者を対象とした定期接種となった。また、PCV13 の65歳以上への適用も

---

感染症部

\*別刷請求先:

〒675-0003 加古川市神野町神野 1819-14

兵庫県立健康科学研究所 感染症部 坂野 桂

Table 1 Serotypes contained in various types of vaccines

Vaccine	Serotype
7-valent pneumococcal conjugate vaccine : PCV7	4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F
10-valent pneumococcal conjugate vaccine : PCV10*	4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 1, 5, 7F
13-valent pneumococcal conjugate vaccine : PCV13	4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 1, 5, 7F 3, 19A, 6A
23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine : PPSV23	4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 1, 5, 7F 3, 19A, 2, 8, 9N, 10A, 11A, 12F, 15B, 17F, 19A, 20, 22F, 33F

\* not added to the routine immunization program in Japan

2014年6月に承認されている。

国内のIPDの年間患者数は、2014年の1,841人から年々増加して2018年には3,328人となり、兵庫県においても同様の増加傾向が見られる。

そこで今回2013～2018年に兵庫県内で発生届が提出されたIPD患者について、性・年齢階級別患者分布及びワクチン接種歴等について解析するとともに、患者から分離された菌株の一部を入手し、肺炎球菌血清型別検査を実施したので報告する。

## II 材料と方法

### 1. IPD患者情報の解析

感染症サーベイランスシステム(NESID)に登録された2013年4月～2018年12月の兵庫県内の症例データを抽出し解析を行った。

### 2. 肺炎球菌の血清型別

#### 2.1 検体

肺炎球菌の血清型別検査のために、2014年8月～2018年12月に兵庫県内の医療機関から、あるいは健康福祉事務所を通して当研究所に搬入された28症例のIPD患者由来の分離菌株27株、髄液1検体及び血液培養液1検体を検査対象とした。

#### 2.2 肺炎球菌の遺伝子抽出方法

国立感染症研究所(感染研)細菌第一部作成のマニュアルに従い、10 mM Tris buffer (pH8.0) 80 µLと10%デオキシコール酸ナトリウム溶液 20 µLの混液中に培養した肺炎球菌菌株を懸濁し、室温で10-30分インキュベートして溶菌した後、QIAGEN® QIAquick® PCR Purification Kit (cat #28106)を用いてDNAを抽出精製した。

髄液からは、検体200 µLに10 mM Tris buffer (pH8.0) 30 µLと10%デオキシコール酸ナトリウム溶液 20 µLを加えて室温で10-30分インキュベートした後、米国CDCのプロトコールに従い<sup>2)</sup>、QIAGEN® QIAamp® DNA

Mini Kit (cat #51306)を用いてDNAを抽出した。

また、血液培養液からは、遠心分離した沈査に10 mM Tris buffer (pH8.0) 30µLと10%デオキシコール酸ナトリウム溶液 20µLを加えて、髄液と同様に溶菌した後、核酸抽出キットEXTRAGENII(東ソー株式会社)を用いて、Cycleave™ PCR呼吸器系感染症起因菌検出キットVer.2(タカラバイオ株式会社)のマニュアルに示された方法でDNAを抽出した。

### 2.3 PCR法による血清型の決定

肺炎球菌の型別は、前出の感染研細菌第一部作成のマニュアル及び米国CDCのプロトコールを参照し、8つのmultiplex PCR反応により40種類の血清型を同定できるConventional PCR法で実施した。なお、陽性コントロールとして、感染研細菌第一部より分与された主要な血清型26種のDNAを用いた。

## III 結果

### 1. 年間患者数の推移

兵庫県におけるIPDの報告数は、2014年に98人であったが、年々増加し、2017年には2倍近くの188人に達し、2018年は230人となった。男女比は約3:2で、男性が多い(Fig.1)。2018年の人口10万人対報告数は、全国で2.63、兵庫県は4.19で、沖縄県、島根県に次いで、全国第3位であった。

週別報告数の推移をFig.2に示した。IPDの患者数は冬から初夏にかけて増加し、気温の高い夏には減少する傾向があった。

### 2. 年齢階級別患者分布

年齢階級別患者割合の経年変化をFig.3に示した。各年とも、患者の70%以上を4歳以下の小児と65歳以上の高齢者が占めており、その中でも、年々高齢者の割合が増加している。

2018年に届出のあった患者230人の年齢階級別割合

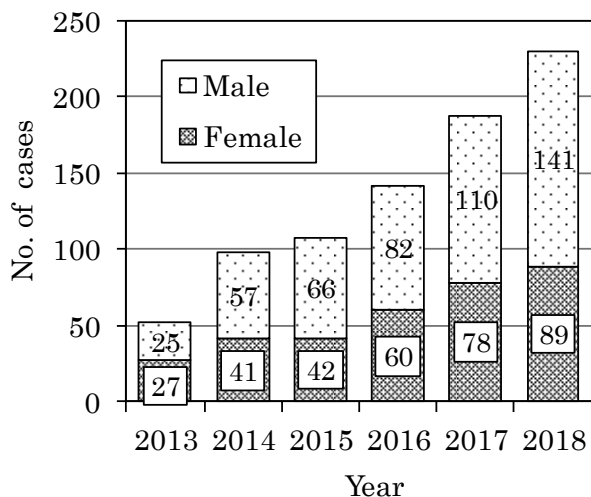


Fig.1 Number of reported invasive pneumococcal disease cases in Hyogo prefecture, 2013-2018

は、9歳以下が17% (38人)、65~74歳が28% (64人)、75歳以上が31% (72人)で、中間の10~64歳は24% (56人)であった。

### 3. 年齢群別ワクチン接種履歴

高齢者を対象としたPPSV23が2014年10月から定期接種となったことから、2015~2018年に報告された患者668人を対象として、年齢群別ワクチン接種履歴の分布をFig.4に示した。65歳以上で接種ありの割合は18%で、不明が38%、接種なしが44%を占めた。

一方、小児では、0歳児の76%、1~4歳児の94%が、PCV7又はPCV13を3回以上接種していた。

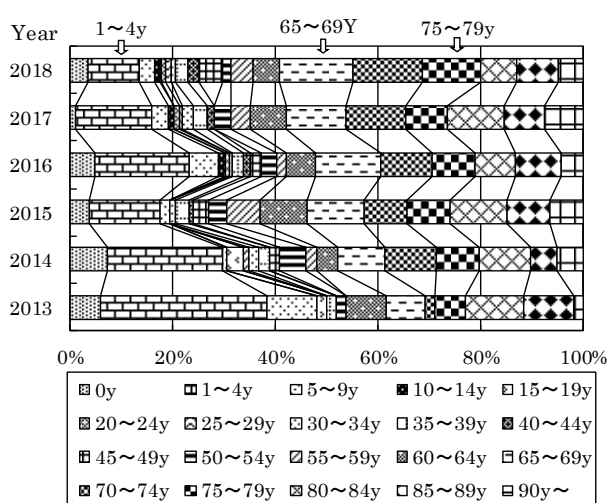


Fig.3 Proportion of reported invasive pneumococcal disease cases by age group in Hyogo prefecture, 2013-2018

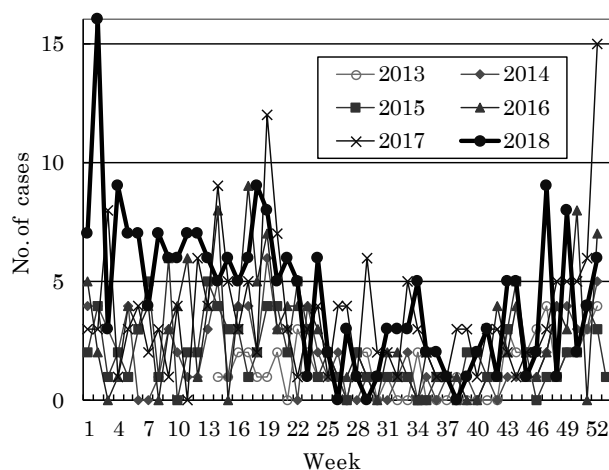


Fig.2 Weekly number of reported invasive pneumococcal disease cases in Hyogo prefecture, 2013-2018

### 4. 肺炎球菌の遺伝子抽出

血液培養液から肺炎球菌が分離培養できなかった1症例に関して、血液培養液検体を遠心分離した沈渣からDNAを抽出する方法を検討した。まず、菌株からのDNA抽出法と髄液からのDNA抽出法を試したが、抽出液に肺炎球菌の*lytA*遺伝子を確認することができなかった。そこで、EXTRAGEN IIを用いた抽出法を試した結果、*lytA*遺伝子の確認及びmultiplex PCRによる血清型別が可能であり、その血清型は11A/11D/11Eであった。

また、分離菌株とともに髄液が搬入された1症例では、両検体から血清型34の遺伝子が検出できた。

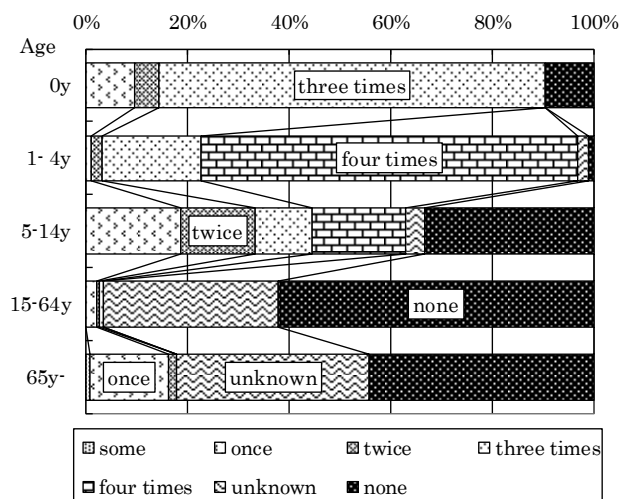


Fig.4 Vaccination career in each age group of invasive pneumococcal disease cases in Hyogo prefecture, 2015-2018

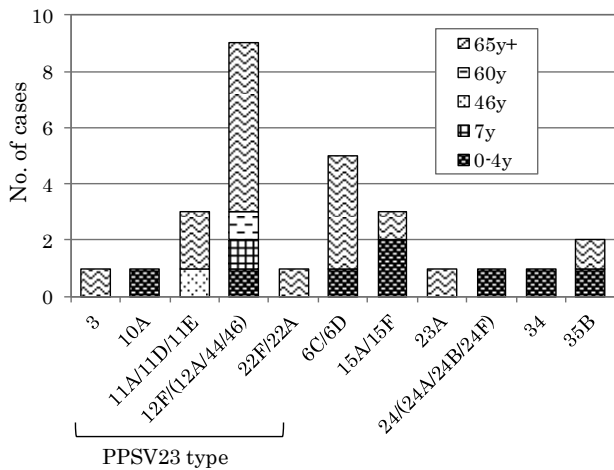


Fig.5 Distribution of the serotypes of causative pneumococcal isolates from 28 invasive pneumococcal disease cases in Hyogo prefecture, 2014-2018

#### 5. 肺炎球菌の血清型分布

2014年8月～2018年12月にIPD患者から採取した肺炎球菌の血清型分布をFig.5に示した。

PCV13及びPPSV23に含まれる血清型3が、ワクチン接種歴のない1症例から検出された。その他PPSV23に含まれる血清型は、12F/(12A/44/46)が9症例から、11A/11D/11Eが3症例から、10Aと22F/22Aが各1症例から検出された。これらの症例のうち、小児3症例はいずれもPCV7又はPCV13の接種歴があった。一方、成人は5症例が接種歴なし、6症例が接種歴又はワクチンの種類が不明であった。

ワクチンに含まれない血清型では、6C/6Dが5症例から、15A/15Fが3症例から、35Bが2症例から、23A, 24/(24A/24B/24F), 34が各1症例から検出された。

#### IV 考察

IPDは65歳以上の高齢者の患者が増加しているが、検出された血清型の半数はPPSV23に含まれており、ワクチン接種により防御が可能である。小児のワクチン接種率は高いが、PCV13に含まれない血清型によるIPDが起きている。

肺炎球菌は自己融解酵素を有する死滅しやすい細菌であるにもかかわらず、ときにIPDという重篤な疾患を引き起こす。先行してPCV13を導入した諸外国では、ワクチンに含まれない血清型の増加が報告されており血清型置換 (serotype replacement) と呼ばれる<sup>3)</sup>。19Aの流行が懸念された国内においても、小児用定期接種がPCV7からPCV13に切り替わり、血清型19Aによる

IPDは、減少すると予想されてきた<sup>4,5)</sup>。また、今回、最も多く検出された血清型12F/(12A/44/46)に含まれる12F型によるIPDは、大阪府や神戸市をはじめ全国で症例の増加が報告されている<sup>6,7,8,9)</sup>。

これらのことから、IPDの重要な病原性因子であり、血清型を決定する抗原でもある肺炎球菌莢膜血清型の全国的なモニタリングを継続的に行うことが、ワクチンの効果を予想する上で必要と考える。血清型分布を監視し、ワクチン開発に役立てるために、より積極的に菌株の提供を働きかけるとともに、抗菌薬の投与などによりIPDの起炎菌株の分離が困難な場合には、臨床検体からの遺伝子抽出による血清型別検査にも対応していきたいと考える。

#### V 結論

IPDが全数把握対象疾患となった2013年4月1日以来、国内の年間患者数は年々増加している。兵庫県における2018年の年間患者数は230人、人口10万人対報告数は4.19で全国第3位であった。患者の70%以上を4歳以下の小児と65歳以上の高齢者が占めており、その中でも、高齢者の割合が年々増加している。

28症例について肺炎球菌の血清型を調べた結果、血清型12F/(12A/44/46)が最も多く9株検出されたのをはじめ、PPSV23に含まれる血清型が半数を占めた。ワクチン接種率向上による防御とともに、IPD原因菌の血清型分布を継続的に監視することが必要である。

#### 謝辞

貴重な菌株の収集にご協力いただいた県疾病対策課、県内の健康福祉事務所及び医療機関の皆様方に深謝いたします。

#### 文献

- 1) 国立感染症研究所細菌第一部第三室、感染症疫学センター第三室：肺炎球菌感染症、感染症流行予測調査報告書、p.275-282、厚生労働省健康局結核感染症課、国立感染症研究所感染症疫学センター
- 2) Centers for Disease Control and Prevention : Conventional PCR Deduction of 40 Pneumococcal Serotypes or Serogroups, Conventional PCR Serotype Deduction Protocols, Multiplex Conventional PCR Schemes for Pneumococcal Serotype Deduction.

<https://www.cdc.gov/streplab/pneumococcus/resources.html> (accessed 2020-1-24)

- 3) 菅秀, 富樫武弘, 細矢光亮, 石和田稔彦, 齋藤昭彦, 小田慈, 藤枝幹也, 岡田賢司, 西順一郎, 安慶田英樹, 常彬: 13 価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV13) 導入後の小児侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) の現状. 病原微生物検出情報 (IASR), **39**, 112-114 (2018)
- 4) 河原隆二, 青柳哲史, 高橋弘毅, 武田博明, 田邊嘉也, 笠原敬, 西順一郎, 藤田次郎, 丸山貴也, 山崎一美, 横山彰仁, 渡邊浩, 牧野友彦, 高橋琢理, 大日康史, 松井珠乃, 砂川富正, 石岡大成, 奥野英雄, 佐藤弘, 新井智, 木村博一, 多屋馨子, 大石和徳, 常彬, 大西真, 金城雄樹: 2013 年度の侵襲性肺炎球菌感染症の患者発生動向と成人患者由来の原因菌の血清型分布—成人における血清型置換 (serotype replacement) について—. 病原微生物検出情報 (IASR), **35**, 179-181 (2014)
- 5) 常彬, 大西真, 庵原俊昭: 小児侵襲性肺炎球菌感染症由来菌株の細菌学的解析結果. 病原微生物検出情報 (IASR), **35**, 234-236 (2014)
- 6) 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**(2), e0212418 (2019)
- 7) 河原隆二, 山口貴弘, 勝川千尋, 川津健太郎, 本村和嗣, 西村公志, 瀧井雄基, 折井郁, 河原寿賀子, 木下優, 田邊雅章: 大阪府における侵襲性肺炎球菌感染症由来菌株の血清型分布 2014~2017 年. 病原微生物検出情報 (IASR), **39**, 110-111 (2018)
- 8) 木村有紀, 猪又明日香, 青木順子, 昆美也子, 紫竹美和子, 常彬: Multiplex PCR 法による肺炎球菌血清型別の有用性. 病原微生物検出情報 (IASR), **39**, 111-112 (2018)
- 9) 中西典子, 野本竜平, 米澤武志, 田中忍, 濱夏樹, 岩本朋忠: 神戸市における侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) の血清型サーベイランスから見えた流行型の分子疫学. 第 45 回地方衛生研究所全国協議会近畿支部細菌部会研究会講演要旨集 (2018), 和歌山  
(令和 2 年 2 月 28 日受理)