

原著

7価肺炎球菌結合型ワクチン接種後に血清型6Bと血清型6Aによる肺炎球菌性肺炎を繰り返し発症した重症心身障害児における血清型特異免疫の検討

成相 昭吉¹⁾ 矢内 貴憲¹⁾ 藤原 祐¹⁾ 鈴木 紗弓¹⁾

要旨 4歳7か月と4歳9か月に7価肺炎球菌結合型ワクチン(PCV7)を、5歳1か月に23価肺炎球菌莢膜多糖体ワクチンを1回接種したにもかかわらず、5歳3~6か月までに血清型6Bによる肺炎球菌性肺炎を5回、5歳11か月と6歳9か月に血清型6Aによる肺炎球菌性肺炎を2回発症し、入院を要した重症心身障害児を経験した。

6歳9か月の入院時の血清を用いて血清型特異免疫を調べたところ、血清型6Bを含むPCV7血清型および血清型6Aの血清型特異IgG濃度は感染防御閾値以上に上昇していたが、血清型6Bと血清型6Aの血清オプソニン活性(OPA)は感染防御閾値未満であった。侵襲性肺炎球菌感染症と同様に肺炎球菌による局所感染症においても、その発症を抑止するためにはOPAの獲得が必要であることが示唆された。

後日7歳時に13価肺炎球菌結合型ワクチンを1回接種した。4週間後、血清型6Bと血清型6AのOPAが感染防御閾値以上に上昇したことを確認した。

はじめに

日本における7価肺炎球菌結合型ワクチン(PCV7)の効能・効果は、「ワクチンに含まれる血清型の肺炎球菌による侵襲性感染症(IPD)の予防」である。しかし、米国ではPCV7が導入された2000年以降、肺炎球菌による急性中耳炎症例が減少し¹⁾、2歳未満の市中肺炎入院例も減少した²⁾ことが報告され、PCV7が乳幼児期の肺炎球菌による局所感染症に対しても発症予防効果があることが示唆されていた。

われわれはPCV7が導入された2010年に、3か月の間に血清型15Aの肺炎球菌による菌血症と肺炎を発症した14歳の重症心身障害児例を経験

した³⁾。この経験から当科では、2~5歳までの重症心身障害児の肺炎球菌性感染症の発症を抑止することを目的に、アメリカ小児科学会が示した基礎疾患を有する小児への肺炎球菌ワクチン接種指針⁴⁾を参考に、PCV7を2回と23価肺炎球菌莢膜多糖体ワクチン(PPSV23)1回の接種を行うことにした。しかし、接種後に血清型6Bによる肺炎球菌性肺炎を5回、血清型6Aによる肺炎球菌性肺炎を2回発症し、入院を要した重症心身障害児を経験した。

今回、この症例の血清型6Bおよび血清型6Aに対する特異免疫について検討する機会を得た。本症例が繰り返し血清型6Bおよび血清型6Aによる肺炎球菌性肺炎を発症した背景について考察した

Key words : 肺炎球菌, 血清型, 肺炎球菌結合型ワクチン, オプソニン活性, capsule switching

1) 横浜南共済病院小児科

[〒236-0037 横浜市金沢区六浦東1-21-1]

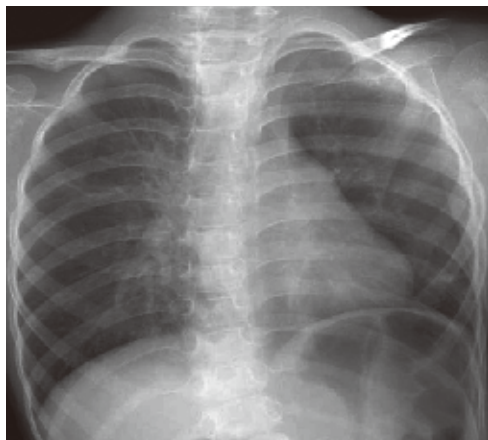


図 初回血清型 6B による肺炎球菌性肺炎
入院時の胸部 X 線写真
胸部 X 線写真では、右肺門部に浸潤像を認めた。

ので報告する。

I. 症 例

7歳の女兒。周生期歴に異常なく、満期正常分娩で出生した。しかし、生後5か月頃より発達遅滞、筋緊張亢進を認め脳性麻痺と診断された。

意思の疎通はなく寝たぎりの状態で、けいれんを生じるため抗けいれん薬が継続投与されていた。また経管栄養を必要とし、4歳6か月までに嚥下性肺炎のため10回の当科入院歴があった。3歳10か月から幼稚園に通園。4歳8か月に胃瘻を造設した後も、5歳2か月までの間に嚥下性肺炎を5回発症した。いずれの場合も、発熱・咳嗽・注入困難の症状に加え、胸部 X 線写真の浸潤像と、吸引痰グラム染色でグラム陽性球菌とグラム陰性桿菌が混在し好中球に貪食されている像を確認し嚥下性肺炎と診断した。

その間、家族の同意を得て、4歳7か月と4歳9か月にPCV7を計2回、5歳1か月にPPSV23を1回接種した。

2012年8月31日(5歳3か月)、午後から発熱、咳嗽を認め、経管栄養も注入が困難になったため、夜間救急外来を受診し入院となった。胸部 X 線写真で右肺門部に浸潤像を認めたため肺炎と診断した(図)。吸引で Miller & Jones 分類 P3 痰を採取しグラム染色を行うとともに、洗浄培養に供

した。鏡検では単一のグラム陽性双球菌を好中球による貪食像も含め認めたため、肺炎球菌性肺炎と想定した。血液検査では白血球数 $4,000/\mu\text{l}$ 、好中球 63%、CRP 15.9 mg/dl であった。

硫酸セフピロム (CPR) を 100 mg/kg/日 、分3で投与開始したところ、翌日には解熱した。3日後の9月3日にはCRP 2.3 mg/dl に改善した。同日、入院時の吸引痰から肺炎球菌が検出されたことが判明した。しかし、入院時に経鼻腔的に上咽頭拭い液を採取し施行した上咽頭培養から同菌は検出されず、また血液培養も陰性であった。

CPRを3日間投与した後に採取した吸引痰のグラム染色ではグラム陽性双球菌は確認されず、培養でも肺炎球菌は検出されなかった。CPRは全5日間投与を終了し、経口抗菌薬への切り替えはせず退院とした。

しかし、その5日後に再度肺炎球菌性肺炎を発症し入院した。さらにその後、11月18日、同月28日、12月12日にも肺炎球菌性肺炎を発症し入院となった(表1)。いずれの入院の際も、吸引痰のグラム染色でグラム陽性双球菌を貪食像とともに認め、肺炎球菌性肺炎と想定した。抗菌薬はスルバクタム・アンピシリン (SBT/ABPC) を選択し、 100 mg/kg/日 、分3で投与した。翌日には解熱し臨床効果が著効であることと、SBT/ABPCを3日間投与した後に再度施行した吸引痰培養で肺炎球菌が検出されなかったことを確認し、SBT/ABPCは全5日間を終了、経口抗菌薬は追加せず退院とした。

入院時に施行した経鼻腔上咽頭培養で肺炎球菌が検出されたのは3回目だけであった(表1)。またいずれの入院の際にも血液培養から肺炎球菌は検出されなかった。

II. 血清型・遺伝子型などの検討

2012年8月から同年12月までの5回の入院の際に吸引痰から検出された肺炎球菌株の血清型を、院内でスライド凝集法(肺炎球菌莢膜血清型別用免疫血清「生研」, デンカ生研)を用いて調べたところ、すべて6であった。後日、国立感染症研究所細菌第一部に保存菌株を送付し、莢膜膨化法(Pneumococcal antisera, Statense Serum

表 1 各入院時において吸引痰から検出された肺炎球菌の血清型と遺伝子型

| 入院時年齢 | 入院年月日 | 吸引痰検出肺炎球菌の血清型と遺伝子型 (ST) | | | 上咽頭からの肺炎球菌検出 |
|--------|------------|-------------------------|-------|------|--------------|
| | | スライド凝集法 | 莢膜膨化法 | ST | |
| 5歳3か月 | 2012/9/1 | 6 | 6B | 4250 | — |
| 5歳3か月 | 2012/9/11 | 6 | 6B | 4250 | — |
| 5歳5か月 | 2012/11/18 | 6 | 6B | 4250 | 血清型 10A |
| 5歳6か月 | 2012/11/28 | 6 | 6B | 4250 | — |
| 5歳6か月 | 2012/12/12 | 6 | 6B | 4250 | — |
| 5歳11か月 | 2013/4/25 | 6 | 6A | 4250 | — |
| 6歳9か月 | 2014/2/29 | 6 | 6A | 4250 | — |

表 2 7回目の肺炎入院時血清を用いて行ったPCV7血清型特異免疫に関する検討

| 血清型 | 4 | 6B | 9V | 14 | 18C | 19F | 23F | 6A |
|----------------|-------|------|--------|--------|-------|--------|--------|------|
| IgG 濃度 (μg/ml) | 1.29 | 2.13 | 2.84 | 2.76 | 2.04 | 7.13 | 1.36 | 2.21 |
| OPA (titer) | 3,093 | 7 | 17,496 | 17,496 | 2,589 | 17,496 | 17,496 | 2 |

血清型 6B を含む PCV7 血清型および血清型 6A の血清型特異 IgG 濃度と血清オプソニン活性 (OPA) を検討した。血清型 6B および 6A の特異 IgG 濃度は感染防御閾値以上 ($\geq 0.2 \mu\text{g/ml}$) であったが、血清型 6B および 6A に対する OPA は感染防御閾値未満 ($\leq \text{titer } 8$) であった。

Institute, Copenhagen, Denmark) を用いて血清型を特定した結果、吸引痰から検出された 5 株はいずれも血清型 6B であった。なお、上咽頭から検出された 1 株の血清型は 10A であった (表 1)。

その後、2013 年 4 月、5 歳 11 か月にも肺炎球菌性肺炎を発症した。この際も上咽頭および血液から肺炎球菌は検出されなかったが、吸引痰のグラム染色ではグラム陽性双球菌を認め、培養検査で肺炎球菌が検出された。血清型は院内で行ったスライド凝集法ではまた 6 であった。しかし、後日、莢膜膨化法で確定された血清型は 6A であった。

本症例の吸引痰から検出された血清型 6B の 5 株および血清型 6A の 1 株について、multilocus sequence typing (MLST) 法⁵⁾により遺伝子型 (ST) の解析を行った。いずれも ST は 4250 で同一であった (表 1)。

この血清型 6A 株について、莢膜血清型 Cps (polysaccharide capsule) を決定する cps 遺伝子群における変異の有無を、血清型 6B 株を対照として検討した⁶⁾。その結果、cps 遺伝子群を構成する wciP 遺伝子の一塩基に点変異 (point muta-

tion) が生じ、莢膜血清型 Cps の一部分である wciP の 195 番目のアミノ酸が asparagine から serine となり、血清型が 6B から 6A に capsule switching (serotype switching)⁷⁾していたことが判明した。

その後、2014 年 2 月の 6 歳 9 か月時にも肺炎球菌性肺炎を発症した。この際も、上咽頭および血液から肺炎球菌は検出されなかったが、吸引痰のグラム染色ではグラム陽性双球菌を認め、培養検査では肺炎球菌が検出された。血清型は 6A、ST は 4250 であった (表 1)。

III. 血清型特異免疫に関する検討

家族の同意を得たうえで、2回目の血清型 6A による肺炎球菌性肺炎入院時の血清を用いて、PCV7 血清型および血清型 6A の血清型特異 IgG 濃度 (ELISA 法) および血清オプソニン活性 (OPA) (MOPA 法)⁸⁾を大阪大学微生物病研究所感染症国際研究センターで調べた。

表 2 に示すように、いずれの血清型の特異 IgG 濃度もすべて感染防御閾値とされる $0.2 \mu\text{g/ml}$ 以

表 3 PCV13 接種後の血清型 6B および 6A の血清型特異免疫の変化

| 血清採取日 | 血清型 6B | | 血清型 6A | |
|----------------------------|--------------------------------|----------------|--------------------------------|----------------|
| | IgG 濃度 ($\mu\text{g/ml}$) | OPA (titer) | IgG 濃度 ($\mu\text{g/ml}$) | OPA (titer) |
| 2014 年 2 月 9 日 | 2.13 | 7 | 2.21 | 2 |
| 2014 年 5 月 1 日 PCV13 接種 | 1.78 | 12 | 1.40 | 2 |
| 2014 年 5 月 29 日 | 4.27 | 3,136 | 5.78 | 2,957 |

PCV13 を 1 回接種後、血清型特異 IgG 濃度はさらに上昇し、感染防御閾値未満の低値であった OPA も、titer 8 をはるかに超えて上昇した。

上⁹⁾であった。PCV7、PPSV23 いずれにも含まれない血清型 6A の特異 IgG 濃度も 2.21 $\mu\text{g/ml}$ と感染防御閾値を超えていた。しかし、各血清型に対する OPA は PCV7 血清型のうち、血清型 6B 以外は感染防御閾値の titer 8⁹⁾を超えていたが、血清型 6B に対しては titer 7 と感染防御閾値未満であったことが判明した。血清型 6A に対しては titer 2 であった。

2013 年 11 月より、PCV7 が血清型 6A も含む 13 価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV13) に移行された。家族の同意を得て、さらなる肺炎球菌性肺炎の発症を予防することを期待して、2014 年 5 月、7 歳時に PCV13 を 1 回接種した。また、接種直前と 4 週間後の血清型 6B および血清型 6A の血清型特異 IgG 濃度および OPA を再検討した。その結果、PCV13 接種 4 週間後には血清型 6B および血清型 6A に対する OPA は感染防御閾値をはるかに超えて獲得されたことが判明した (表 3)。

IV. 考 察

PCV7 を 2 回と PPSV23 を 1 回接種していたにもかかわらず、本症例が血清型 6B による肺炎球菌性肺炎を繰り返し発症した背景に、血清型 6B に対する OPA が感染防御閾値未満であったことが判明した。他の 6 つの血清型に対する OPA はいずれも感染防御閾値を超えており、血清型 6B に限定的であった。

OPA は IgG の機能、すなわち IgG の結合親和性 (avidity または functional affinity) を反映する^{9,10)}。PCV7 接種後にも含有血清型である血清型 23F に対する特異 OPA の上昇が認められず、23F

による IPD を発症した症例が報告されており¹¹⁾、IPD の発症を防ぐためには血清型特異 OPA の獲得が重要と考えられている。しかし、今回の検討により、ワクチン含有血清型の肺炎球菌による局所感染症の発症を防ぐためにも、血清型特異 OPA が感染防御閾値以上に上昇していることが必要であることが示唆された。

幸い本症例では、PCV13 接種後に血清型 6B に対する OPA は著しく上昇した。PCV13 の追加接種は、含有血清型に対する OPA の確実な獲得に、有用な手段になり得ると考えられた。

ところで、すべての肺炎球菌感染症は、肺炎球菌の上咽頭への無症候性定着が契機となる¹²⁾。しかし、本症例ではいずれの入院時にも、上咽頭からは吸引痰から検出された肺炎球菌と同一血清型の肺炎球菌は検出されなかった。

2 回の PCV7 接種は血中血清型特異 IgG 濃度を上昇させ、それが唾液中に分泌されることにより、上咽頭への PCV7 血清型の肺炎球菌の定着が抑止されることが報告されている¹³⁾。また、血清型 6B に対する特異 IgG 濃度とともに、血清型 6B との交差反応により血清型 6A に対する特異 IgG 濃度も感染防御閾値以上に上昇することが報告されている¹⁰⁾。

本症例においても、血清型 6B の特異 IgG 濃度とともに、血清型 6A の特異 IgG 濃度は感染防御閾値以上であった。PCV7 を 2 回接種した直後に PCV7 血清型に対する特異免疫は調べていないが、いずれの入院の際にも上咽頭から血清型 6B または血清型 6A が検出されなかったのは、PCV7 を 2 回接種したあとに血清型 6B と血清型 6A に対

する特異 IgG 濃度が感染防御閾値以上に上昇し維持されていたため、上咽頭には定着しなかったと考えられた。

しかし、重度心身障害児では、嚥下・口腔内機能障害による誤嚥、胸郭コンプライアンス低下、喀痰排泄不良などを背景に、嚥下性肺炎をはじめとする肺炎を発症しやすい³⁾。本症例もこれらの特性に該当した。

以上から、本症例が短期間に血清型 6B による肺炎球菌性肺炎を発症した背景を推察した。まず、飛沫伝播した血清型 6B は特異 IgG 濃度が感染防御閾値以上であったため上咽頭には定着しなかったが、下気道に落下した血清型 6B は特異 OPA が感染防御閾値未満であったため貪食排除されず肺炎を惹起したと考えられた。そして、抗菌薬投与後にグラム染色や培養検査では肺炎球菌を確認し得なかったが、やはり特異 OPA が感染防御閾値未満であったため完全には貪食排除されずに下気道に付着し残存していたため繰り返し肺炎を発症したと考えられた。

ところで、5 歳 11 か月に吸引痰から検出された血清型 6A 株は、それまでに検出されていた血清型 6B 株と遺伝子型が同一であった。2000 年に PCV7 が導入された米国では、乳幼児の上咽頭から検出された肺炎球菌株において PCV7 血清型株が capsule switching によって血清型を非 PCV7 血清型に変えて再興していたことが確認されてきた¹⁴⁾。本症例でも検索したところ、capsule switching により血清型が 6B から 6A に変化していたことが判明した。肺炎球菌結合型ワクチンの接種が普及しても、肺炎球菌の一部はこの capsule switching によって血清型を変えワクチン圧から逃れ、乳幼児の上咽頭に定着し続ける可能性がある。

少し時間を置いて発症した血清型 6A による 2 回の肺炎の発症背景を考察した。一つは、残存した血清型 6B が capsule switching によって血清型 6A に変わり、血清型 6A は PCV7 にも PPSV23 にも含まれておらず特異 OPA は感染防御閾値未満であったため、貪食排除されず発症した可能性が考えられた。もう一つは、あらたに飛沫伝播した血清型 6A が、特異 IgG 濃度は感染防御閾値以上

で上咽頭には定着しなかったものの下気道に落下し、特異 OPA が感染防御閾値未満であったため、貪食排除されず肺炎を発症した可能性が考えられた。

日本小児感染症学会の定める利益相反に関する開示事項はありません。

謝辞：莢膜膨化法により肺炎球菌血清型を特定していただいた国立感染症研究所細菌第一部の常杉先生、血清型特異免疫を調べていただいた大阪大学微生物病研究所感染症国際研究センターの田村和世先生および明田幸宏先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Casey JR, et al : Changes infrequency and pathogens causing acute otitis media in 1995-2003. *Pediatr Infect Dis J* 23 : 824-828, 2004
- 2) Grijalva CG, et al : Decline in pneumonia admissions after routine childhood immunization with pneumococcal conjugate vaccine in the USA : a time-series analysis. *Lancet* 369 : 1179-1186, 2007
- 3) 成相昭吉, 他 : 肺炎球菌血清型 15A による重症感染症を 2 回発症した 14 歳重症心身障害女児. *小児感染免疫* 24 : 143-148, 2012
- 4) Red Book : 2006 Report of the Committee on Infectious Diseases, 27th ed. *Pneumococcal Infections*. American Academy of Pediatrics, 2006, 532-537
- 5) Multi locus sequence typing ; spneumoniae. mlst.net (<http://spneumoniae.mlst.net/>)
- 6) Mavroidi A, et al : Evolutionary genetics of the capsular locus of serogroup 6 pneumococci. *J Bacteriol* 186 : 8181-8192, 2004
- 7) Jefferies JMC, et al : Genetic analysis of diverse disease-causing pneumococcal indicates high levels of diversity within serotypes and capsule switching. *J Clin Microbiol* 42 : 5681-5688, 2004
- 8) Burton RL, et al : Development and validation of a fourfold multiplexed opsonization assay (MOPA4) for pneumococcal antibodies. *Clin Vaccine Immunol* 13 : 1004-1009, 2006
- 9) Tamura K, et al : Hyporesponsiveness to the

- infecting serotype after vaccination of children with seven-valent pneumococcal conjugate vaccine following invasive pneumococcal disease. *Vaccine* 32 : 1444-1450, 2014
- 10) Yeh SH, et al : Immunogenicity and safety of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in infants and toddlers. *Pediatrics* 126 : e493-e505, 2010
- 11) 工藤恵理子, 他 : 肺炎球菌 7 価結合型ワクチン 3 回接種後に血清型 23F 肺炎球菌による化膿性関節炎に罹患した 1 例. *日小児会誌* 117 : 778-782, 2013
- 12) Bogaert D : *Streptococcus pneumoniae* colonisation : the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis* 4 : 144-154, 2004
- 13) Bogaert D, et al : Pneumococcal conjugate vaccination dose not induce a persisting mucosal IgA response in children with recurrent acute otitis media. *Vaccine* 23 : 2607-2613, 2005
- 14) Hanage WR, et al : Carried pneumococci in Massachusetts children. The contribution of clonal expansion and serotype switching. *Pediatr Infect Dis J* 30 : 302-308, 2011

Determination of serotype-specific immunity in a child with severe motor and intellectual disability with repeated pneumococcal pneumonia caused by serotypes 6B and 6A after 7-valent pneumococcal conjugate vaccine inoculation

Akiyoshi NARIAI, Takanori YANAI, Yu FUJIWARA, Sayumi SUZUKI

Department of Pediatrics, Yokohama Minami Kyouzai Hospital

A child with severe motor and intellectual disability was admitted with pneumococcal pneumonia caused by serotypes 6B and 6A, five times and two times, respectively, from the age of 5 years and 3 months to the age of 6 years and 9 months, although she had received the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) twice at the age of 4 years and 7 months and 4 years and 9 months and the 23-valent pneumococcal capsular polysaccharide vaccine once at the age of 5 years and 1 month.

The PCV7 and 6A serotype-specific immunity were investigated using serum at the hospitalization for the seventh time. The PCV7 included 6B serotype-specific immunoglobulin (IgG) antibody levels and the 6A serotype-specific IgG antibody concentration was elevated beyond the protective threshold concentration. However, the opsonophagocytic activity (OPA) assay titers against serotypes 6B and 6A were below the protective serotype-specific OPA assay titer threshold. The serotype-specific OPA is considered to be necessary for protection against local pneumococcal infection as well as for protection against invasive pneumococcal disease.

When the patient received one inoculation with a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine at a later date, the serotype-specific OPA against serotypes 6B and 6A was elevated above the protection threshold four weeks later.

(受付 : 2015 年 1 月 23 日, 受理 : 2015 年 4 月 16 日)

* * *