

【総説】

わが国における侵襲性肺炎球菌感染症の実態とその予防としての肺炎球菌ワクチン

千葉 菜穂子

北里大学北里生命科学研究所病原微生物分子疫学研究室*

(平成23年7月20日受付・平成23年7月27日受理)

肺炎球菌は、抗菌薬が発達した現在においても、重篤な後遺症を残し、致命的ともなりえる侵襲性肺炎球菌感染症 (invasive pneumococcal diseases : IPD) を惹起する。

本論文では、本邦における IPD の実態と、ワクチン効果の予測に必要な莢膜型について、2006 年度に実施した疫学成績を中心に述べる。

IPD 発症例は 1 歳以下、50 歳以上に多く、また、疾患は小児では敗血症・菌血症が多かったが、成人では重症肺炎例が多くみられた。基礎疾患を有している発症例において、死亡や神経学的後遺症を残すリスクが高かった (小児 : $P=0.04$, 成人 : $P<0.01$)、入院直後の血液検査値のうち、WBC が 5.0×10^9 cells/L 以下、PLT 値が 130×10^9 cells/L 以下であった症例において、予後不良となる確率の高いことが統計学的に明らかにされた。

本邦では、小児用 PCV7 (pneumococcal conjugate vaccine) の任意接種が 2010 年から可能となったが、IPD 例に対するカバー率は 75% であった。一方、成人の IPD 例に対する PPV23 (pneumococcal polysaccharide vaccine) のカバー率は 85% であった。小児と成人由来株の莢膜型は明らかに異なっていた。すなわち、小児分離株では genotype penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* (gPRSP) の多い 6B, 19F, 14, 23F 型が優位であったが、成人においては genotype penicillin-intermediate *S. pneumoniae* (gPISP) の多い 12F, 3, 6B, 14 型等が多くを占めた。このうち、成人の 12F 型株について pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) を行っているが、耐性遺伝子型が同じ菌株では DNA プロファイルは同一であった。人口密度の高いわが国においては、新たな莢膜型の菌は短期間に全国へと拡散することが示唆された。また、菌の疫学情報を世界的に比較共有できる multilocus sequence typing による解析も行ったが、その解析結果からは、莢膜型の遺伝子領域においても遺伝子組み換え (capsular switching) の生じていることが示唆された。

肺炎球菌は、i) 6C や 11E などの新たな莢膜型の病原性の高い菌株の出現、ii) 抗菌薬の選択圧による高度耐性化した菌の出現、iii) 世界的な肺炎球菌ワクチンの普及による capsular switching を生じた菌の出現等、自らを変化させながら進化してきている。IPD の感染制御のためにはワクチン接種は必須であるが、それと同時に世界的規模の疫学研究も必要であると結論される。

Key words: *Streptococcus pneumoniae*, invasive pneumococcal disease, pneumococcal vaccine

肺炎球菌は、肺炎や急性中耳炎のポピュラーな原因菌であるが、その他に敗血症、膿胸、化膿性関節炎、あるいは化膿性髄膜炎といった侵襲性肺炎球菌感染症 (invasive pneumococcal diseases : IPD) を惹起する。抗菌薬が発達した現在においても、しばしば重篤な後遺症を残し、致命的となる場合がある¹⁾。また、本菌はインフルエンザウイルス感染症罹患後の続発感染の原因としても、最も重要な細菌の一つである²⁾。

このような肺炎球菌感染症について、世界的には 1980 年代と早い時期から菌の薬剤耐性化についての大規模疫学研究、病態解析や治療を含めた臨床研究、あるいはその予防としてのワクチン開発が行われてきた。わが国において耐性肺炎球

菌への関心が高まり始めたのは、欧米に 10 年遅れて、1990 年代初めのことである。一方、予防としてのワクチンは、23 価肺炎球菌ポリサッカライドワクチンの導入は比較的早かったものの、ワクチン接種による感染予防の気運は高まらなかった。小児用の沈降 7 価肺炎球菌結合型ワクチンは 2009 年に承認され、ようやくして定期接種化へ向けた動きがみられ始めている。

これらの状況をふまえ、この総説においては本邦における肺炎球菌感染症、特に IPD の実態と、ワクチン効果を予測するうえでの莢膜型の疫学成績を中心に述べる。

*東京都港区白金 5-9-1

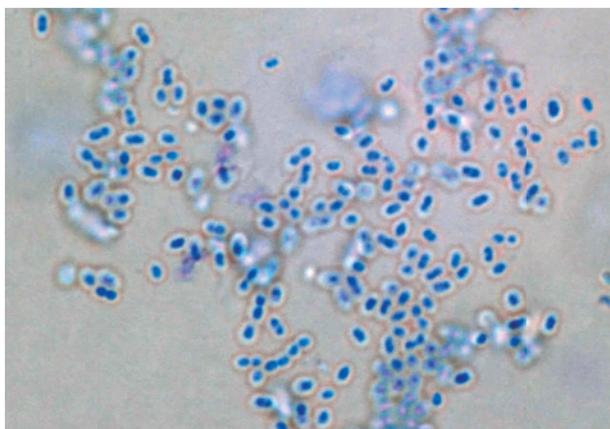


Fig. 1. Capsular swelling reaction of *S. pneumoniae* type 6B. Cells are stained dark blue using a methylene blue. Capsule is observed outside of cell wall.

I. ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) の出現と世界への拡散

1990年代における世界的に見た肺炎球菌感染症による小児の年間死亡数は、100~200万人とされ³⁾、特に発展途上国などでは小児のIPD罹患率は非常に高く、アフリカ大陸では10万人あたり213~458症例と報告されている⁴⁾。1998年の米国の成績でも、1歳以下のIPD罹患率は10万人あたり350例近いことが記載されている⁵⁾。

IPD例から明らかなペニシリン耐性肺炎球菌 (penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*; PRSP) が初めて分離されたのは南アフリカで、1977年のことである⁶⁾。分離株の莢膜型は19Aと報告され、このPRSPによる化膿性髄膜炎の3例は全例死亡している。この臨床例をきっかけに、わが国を除いた多くの国々においてPRSP感染症が注目され始め、国家レベルでの疫学調査がなされるようになった^{7,8)}。ちなみに、1990年の初期に報告されたPRSPの割合は、スペインやハンガリーは35%台と最も高く^{9,10)}、フランスが10%台¹¹⁾、米国は6%台^{12,13)}、英国は2~3%とされている¹⁴⁾。このなかで注目されるのは、PRSPのなかで今日世界的に優位な莢膜型の6B、23Fがスペインですでに高頻度に分離されていたことである。後述するように近年の分子疫学解析の進歩は、これらの耐性菌が世界中へ拡散したことを明らかにしている。

一方、日本でのPRSPによる化膿性髄膜炎の1例目は、1988年に経験されている¹⁵⁾。それ以前の約20年間は、組織的な疫学解析が行われていないので詳細は不明であるが、保存されていた過去の肺炎球菌を調べる限り、少なくとも1987年頃まではPRSPは確認されていない¹⁶⁾。当時の医療環境を振り返ってみると、抗菌薬開発の盛んな時代でもあり、また国民皆保険制度の恩恵もあってさまざまな抗菌薬が発症の初期段階で使用できたこと、基礎疾患を有する症例も少なかったために、治療に難渋する

症例がまれであったのではないかと推察される。

しかし、化膿性髄膜炎例の出現をきっかけとして、紺野・生方¹⁶⁾によって1993年から行われた大規模サーベイランスの成績は、benzylpenicillin (PCG) に2μg/mL以上のMICを示すPRSPの割合が30%に達していることを明らかにしている¹⁷⁾。人口密度の高い日本では、ひとたび存在しなかったタイプの耐性菌が国外から持ち込まれると、急速に拡散することを示している。このPRSPが先ず問題となったのは小児科領域であるが、小児急性中耳炎例においても治療に難渋する遷延化例が急速に増加してきたことが注目を集めた¹⁸⁾。そして2000年以降になると、急速な高齢化社会の到来に加え、交通網の発達や経済活動の活発化に伴う人々の激しい移動を背景に、特に50歳台以降の成人においてPRSPあるいはpenicillin-intermediate *S. pneumoniae* (PISP) によるIPDが急速に増加してきたのが実態である。Pandemic (H1N1)2009による世界的大流行にみるまでもなく、細菌においても同様の拡散が短期間に世界的レベルで生じる時代を迎えているということである。

II. ワクチン開発と世界での接種状況

肺炎球菌の病原因子としては多くの産生物が知られている¹⁹⁾。そのうち、早い段階からワクチン抗原の対象となったのは多糖体からなる莢膜である²⁰⁾。Fig. 1に示すように、菌の最外層に位置する莢膜は、ヒトの白血球表面に存在するFcレセプターやC3bレセプターを介した貪食作用に抵抗性を示し、その結果、強い病原性が発揮される¹⁶⁾。

現在、莢膜はTable 1に示す21グループに属する68の型と、25の単一型の合計93の型に分類されている^{21,22)}。

米国で開発された23種類の精製した莢膜多糖体を含む23価肺炎球菌ワクチン (pneumococcal polysaccharide vaccine: PPV23, ニューモバックス (Pneumovax[®] 23)) は、Food and Drug Administration (FDA) によって1983年に承認されている²³⁾。このワクチンは、日本では1988年に承認され、脾臓摘出例等の基礎疾患を有する成人や小児に任意で接種が行われてきた。現在、臨床で使用されているのは製造段階において牛血清などが除かれたプリオンフリーの改良型のニューモバックス (Pneumovax[®] NP) である²⁴⁾。しかし、このワクチンは多糖体のみが抗原であるため、接種によって誘発される抗体は主にT細胞非依存性メカニズムによるものである。そのため、免疫系が未熟な2歳未満の乳幼児では接種しても抗体応答が乏しいことが欠点として挙げられる。PPV23は成人を対象としているが感染防御抗体が次第に低下するため、初回接種から5年後の再接種が日本でも認められている²⁵⁾。

一方、莢膜多糖体に担体として無毒化されたジフテリマトキシン (CRM₁₉₇タンパク) を結合させ、免疫原性を

Table 1. List of 93 capsular polysaccharide serotypes in *S. pneumoniae*

Type	group	Type	group	Type	group	Type	group
①		13		25 (25F, 25A)		39	
②		⑭		27		40	
③		15 (15F, 15A, ⑮B, 15C)		28 (28F, 28A)		41 (41F, 41A)	
④		16 (16F, 16A)		29		42	
⑤		17 (⑰F, 17A)		31		43	
6 (6A, ⑱B, 6C, 6D)		18 (18F, 18A, 18B, ⑲C)		32 (32F, 32A)		44	
7 (⑳F, 7A, 7B, 7C)		19 (⑲F, ⑲A, 19B, 19C)		33 (⑳F, 33A, 33B, 33C, 33D)		45	
⑧		⑳		34		46	
9 (9A, 9L, ㉑N, ㉑V)		21		35 (35F, 35A, 35B, 35C)		47 (47F, 47A)	
10 (10F, ㉒A, 10B, 10C)		22 (㉒F, 22A)		36		48	
11 (11F, ㉓A, 11B, 11C, 11D, 11E)		23 (㉓F, 23A, 23B)		37			
12 (㉔F, 12A, 12B)		24 (24F, 24A, 24B)		38			

Circles indicate the serotypes contained in PCV7.

Circles and squares indicate the serotypes contained in PPV23.

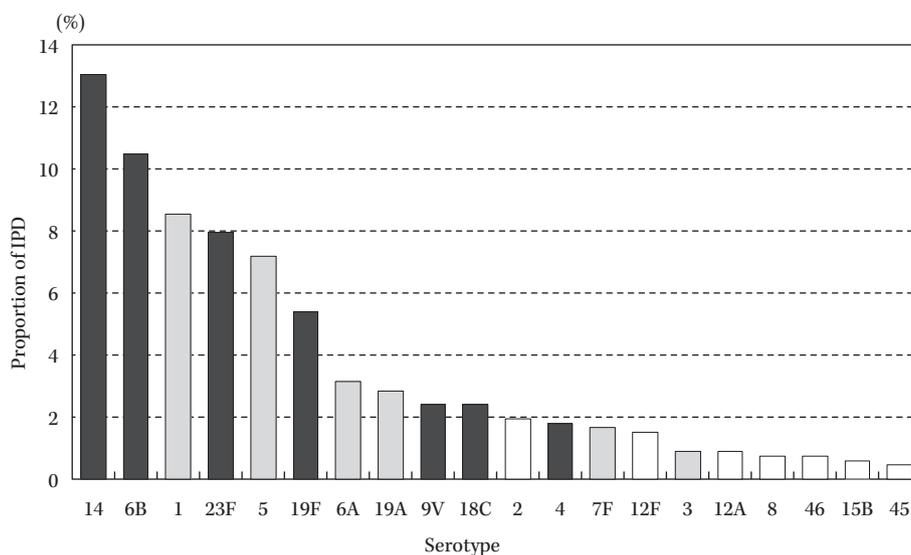


Fig. 2. Proportion of IPD due to the most common serotypes spread globally in young children.

高めたワクチンが PCV7 (pneumococcal conjugate vaccine : Prevenar[®]) である²⁶⁾。PCV7 に含まれる莢膜型は 4, 6B, 14, 9V, 18C, 19F, 23F である。米国では 2000 年に承認⁵⁾され、2003 年には早くも定期接種化されている。2010 年現在、世界の 102 カ国で承認され、45 カ国で定期接種化へと導入が進んでいる。

問題は、PCV7 では 93 種のうちの 7 種の莢膜タイプのみが選択されてワクチンが作製されていることである。このため、ワクチン導入による莢膜型の変動を常に世界的規模でサーベイランスを行う必要性が生じている。日本からは唯一著者らが参加しているサーベイランス²⁷⁾があるが、2006 年～2007 年にかけて欧米、南米、アジア、アフリカ地域から IPD 感染症由来の 6 万株の肺炎球菌データが収集され解析されている。その成績を Fig. 2 に示す。肺炎の原因となる 14 型の割合が最も高く、次いで化膿性髄膜炎の原因となることが多い 6B 型となっている。PCV7 のカバー率はおよそ 44% である。

世界的な PCV7 の導入は、ワクチンタイプ (vaccine type ; VT) の肺炎球菌に起因する IPD の罹患率を著しく減少させ^{28~30)}、派生的に成人の IPD も減少させたとも報告されている³¹⁾。しかし、ワクチンの導入によって、ワクチンに含まれない莢膜タイプ (non-VT ; NVT) の肺炎球菌、特に 6A や 19A 型の肺炎球菌が増加し始め、ワクチンカバー率が低下しつつあることが懸念されるようになった^{32~34)}。このため、PCV7 に 1, 3, 5, 7F, 6A, 19A を加えた PCV13 が開発³⁵⁾されたが、すでに 90 カ国が承認、26 カ国で定期接種化が開始されている。ちなみに、Fig. 2 に示した分離株に対する PCV13 のカバー率は、約 68% と算出される。

わが国では 2009 年に承認された PCV7 は、2010 年 2 月から任意接種が可能となったが、残念ながら PCV13 の導入の目途はついていないようである。

その他に、無莢膜インフルエンザ菌 (nontypable *Haemophilus influenzae* ; NTHi) の表層リポ蛋白 (protein D)

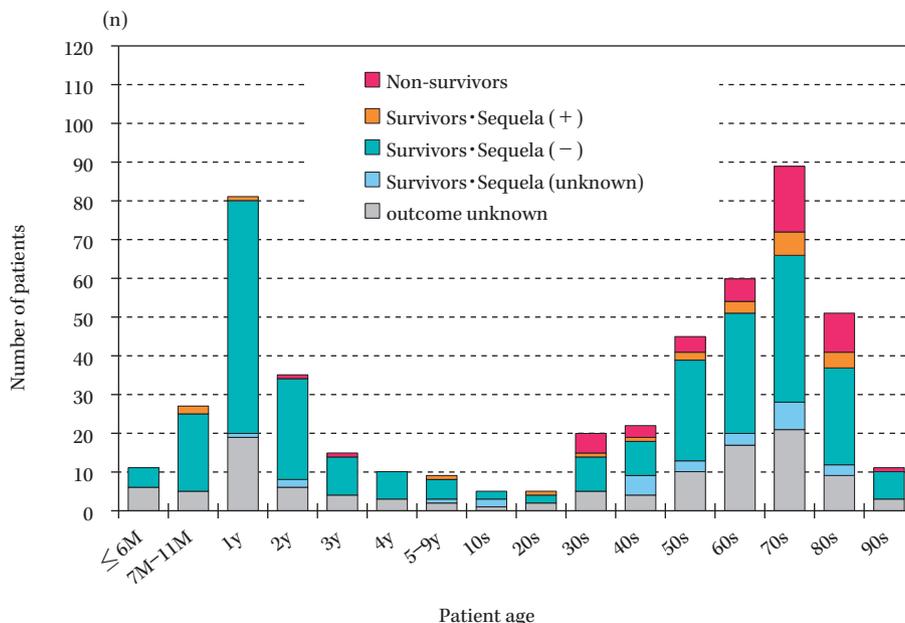


Fig. 3. Number of patients with IPD by age and outcome.

を担体として莢膜多糖体を結合させた10価ワクチン(PCV7の型に1, 5, 7F型が追加されている)が開発されているが、これは肺炎球菌と同時にNTHi感染症の予防も目的としているものである³⁶⁾。

III. わが国におけるIPD例の解析

1. 年齢と疾患

Fig. 3には、2006年³⁷⁾に全国規模で収集したIPD例(n=496)の年齢分布とその予後との関係を示す。2010年にも生方^{38,39)}が厚生労働省の研究事業で同様の解析を行っているが、ほぼ同様の成績となっている。

症例分布は2峰性を描いているが、小児のIPD例はほとんどが3歳以下であり、1歳以下が小児全体の62%を占めている。感染症としては敗血症・菌血症が最も多く59.1%、次いで血液培養から肺炎球菌が分離された肺炎が22.8%、化膿性髄膜炎が15.5%、この3疾患が大多数を占め、その他には膿胸や蜂窩織炎等もわずかながら認められている。

一方、成人におけるIPD発症例は30歳台から明らかに増えているが、発症の好発年齢は50歳台以上で、その年齢での発症例が成人全体の85%を占めている。疾患の内訳は敗血症・菌血症が38.0%、血液培養で肺炎球菌が分離された肺炎が37.0%とほぼ同数で、小児とは異なり重症肺炎が多くみられることが特徴である。また、膿胸や胸膜炎、化膿性関節炎といった疾患も認められる。

注目すべきは、図にみられるように小児に比して成人で死亡例や後遺症を残した例が明らかに多いことであるが、これは次に述べる基礎疾患の有無や受診のタイミングと大いに関係している。

2. 基礎疾患と転帰

Fig. 4には2006年のサーベイランス時における基礎疾患の有無と予後との関係を示す。小児(n=193)の基礎疾患保有率は15.5%であったが、そのほとんどは心疾患や無脾症等の先天性疾患と記載されていた。基礎疾患の有無によって症例を層別し、死亡と後遺症を残した例を含めて予後不良例として比較すると、基礎疾患(+)例での予後不良は、基礎疾患(-)例に比べて有意に高かった(P=0.04)。

一方、成人IPD例(n=303)に対する同様の解析では、さらに明らかな差が認められる。全体では59.1%が基礎疾患を有していたが、その主なものは、消化器系をはじめとするさまざまな部位の悪性腫瘍手術後、糖尿病、心疾患、肝疾患、腎疾患、免疫不全、脾臓摘出等、多岐にわたっていた。

基礎疾患の有無により層別して予後を比較すると、基礎疾患(+)の発症例では死亡や重篤な神経学的後遺症を残した例が有意に高かった(P<0.01)。特に死亡例の22%は入院当日、2日以内が半数を占め、急激な転帰を辿っていたことが特徴であり、基礎疾患の有無は発症例の予後に大きく影響するリスクファクターの一つである。

3. 入院時の血液検査値と予後との関係⁴⁰⁾

Table 2には、成人例の入院時におけるWBC、PLT、CRPの検査値と予後との関係について解析した成績を示す。予後が明らかにできた症例のみについて、「死亡群(n=43)」と「救命群(n=147)」とに層別している。

死亡群ではWBCが 5.0×10^9 cells/L以下の例が48.6%、救命群では11.0%となっており、Odds比は7.64

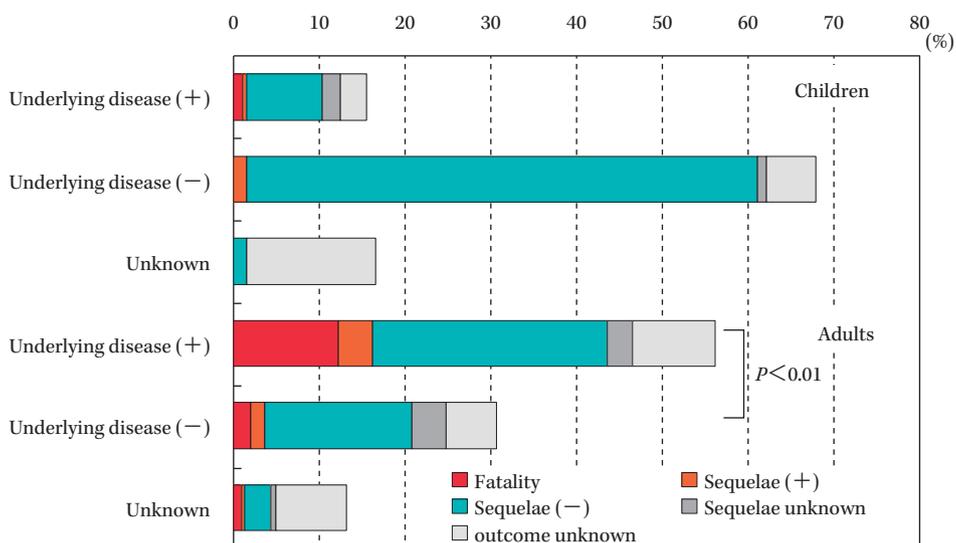


Fig. 4. Outcomes based on presence or absence of underlying diseases in IPD patients.

Table 2. Clinical laboratory findings associated with fatal outcome in adults with IPD⁽⁴⁰⁾

Median or % (25/75 percentiles) and (no./total)	Non-survivors (n = 43)	Survivors (n = 147)	Univariate analysis OR ^a	P value
WBC (10^9 cells/L) ^b <math>< 5.0 \times 10^9</math> cells/L	5.1 (2.3–8.8) (37/43) 48.6% (18/37)	13.2 (8.2–19.1) (136/147) 11.0% (15/136)	7.64 (3.30–17.68)	$P < 0.001$
C-reactive protein (mg/dL) ≥ 15 mg/dL	24.8 (16.3–31.7) (36/43) 77.8% (28/36)	20.6 (8.9–33.6) (131/147) 65.6% (86/131)	1.83 (0.77–4.35)	$P = 0.166$
PLT (10^9 cells/L) ^b <math>< 130 \times 10^9</math> /L	119 (69–171) (36/43) 55.6% (20/36)	197 (130–262) (134/147) 23.1% (31/134)	4.15 (1.92–8.97)	$P = 0.001$

^a Data are expressed as odds ratio values (95% confidence interval).

^b WBC, white blood cell count; PLT, platelet count.

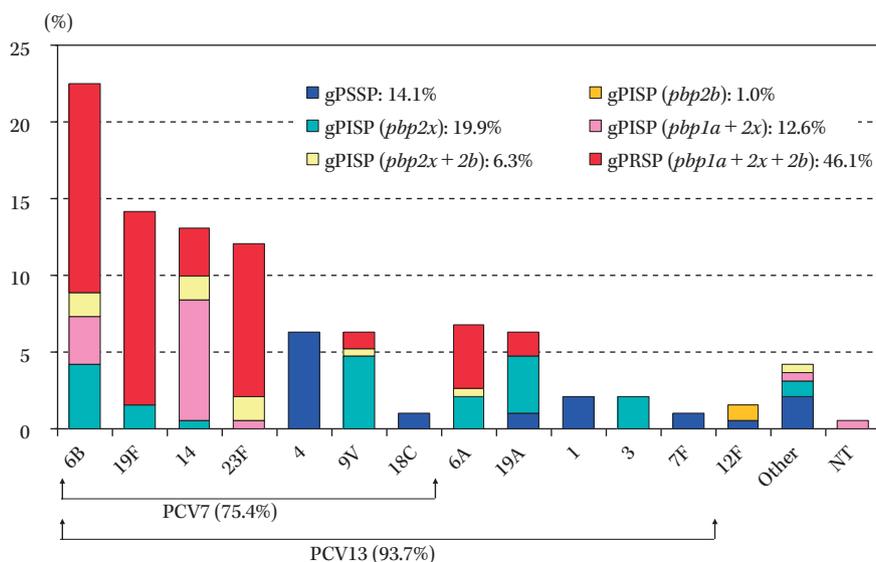


Fig. 5. Serotype distribution and resistance genes identified by PCR in *S. pneumoniae* isolated from children. "Other" includes serotypes of 15B, 23A, 8, 24, 34, 35, and 38, respectively. NT, non-typeable

倍となっている。PLT 値についても同様に、死亡群では 130×10^9 cells/L 以下が 55.6%，救命群では 23.1%，その

Odds 比は 4.15 倍であった。しかし、CRP 値においては、死亡群と救命群の間に有意差は認められていない。

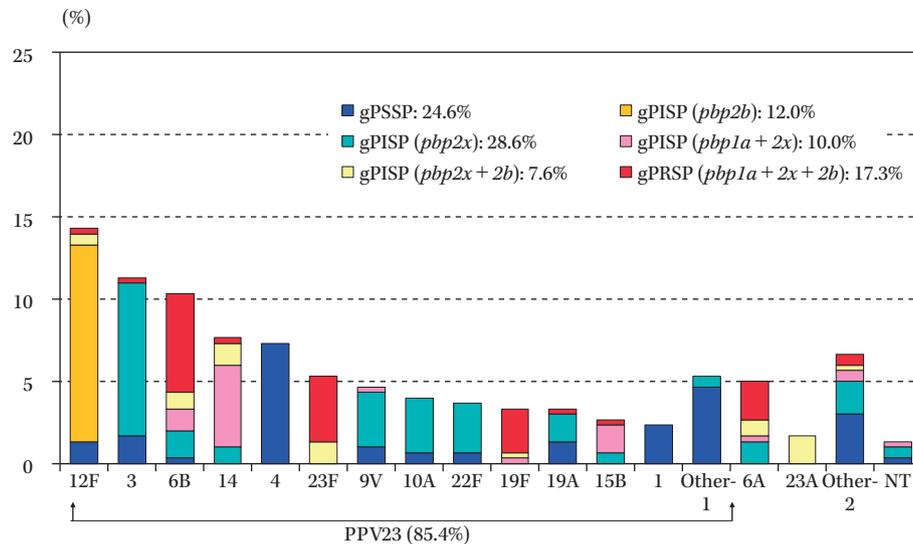


Fig. 6. Serotype distribution and resistance genes identified by PCR in *S. pneumoniae* isolated from adults. Other-1 includes serotypes of 9N, 11A, 33, 18C, 20, 2, 7F, 8; Other-2 includes serotypes of 35, 7C, 15A, 38, 15C, 31, 16, and 36, respectively.

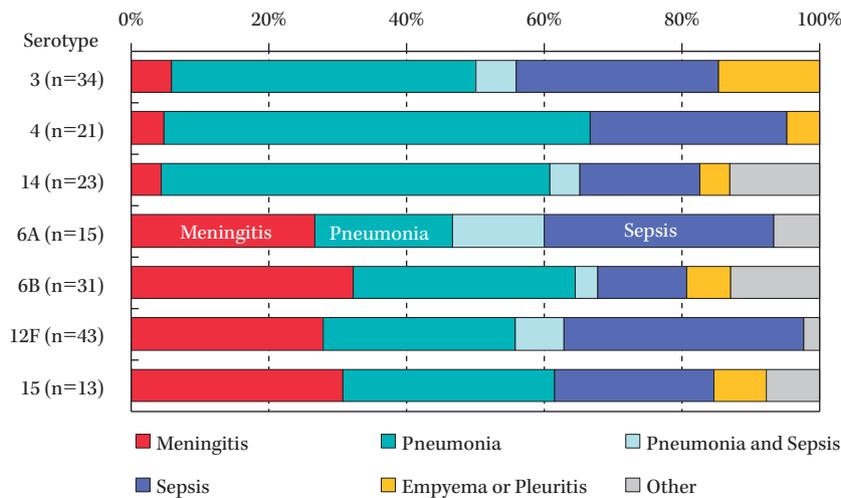


Fig. 7. Relationship between pneumococcal capsular types and the diseases in adults.

これらの成績は、IPD 例の入院時における血液検査値として最も重要視すべきは、WBC と PLT 値であり、この 2 つが上述した値以下である場合には、予後不良となる確率が非常に高いといえる。

IV. IPD 由来肺炎球菌の莢膜型と gPRSP との関係

1. 小児由来株の莢膜型

ワクチン接種による IPD コントロールの基本となる莢膜型の成績は、2006~7 年にかけて行われた全国規模のサーベイランスの菌株について、小児の成績を Fig. 5、成人のそれを Fig. 6 に示す。ワクチンカバー率を算出するために、小児では PCV7 に含まれる型、成人では PPV23 に含まれる型から順に示している。 β -ラクタム系薬耐性化には、細胞壁合成酵素 (penicillin-binding protein: PBP) のうち、主に PBP1A, PBP2X, PBP2B をそ

れぞれコードしている *pbp1a*, *pbp2x*, および *pbp2b* 遺伝子の変異が関与している。それぞれの遺伝子における重要な変異箇所は、PCR によって識別することが可能である。その表現は、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) と区別するため、3 遺伝子に変異が認められた場合は genotype を表す g をつけて gPRSP (*pbp1a+2x+2b*)、1 または 2 遺伝子に変異が認められた場合には、例えば gPISP (*pbp2x*) のように表す。また、3 遺伝子ともに変異が認められない場合は gPSSP としている。

小児で最も多かった莢膜型は 6B であり、全体の 22.5% を占めていた。次いで 19F, 14, 23F 型となっており、いずれの型でも赤で示した gPRSP が多くを占めていた。この 4 つの型で全体の 60% を占めている。その他のワクチンタイプである 4, 9V, 18C を加えると、PCV7

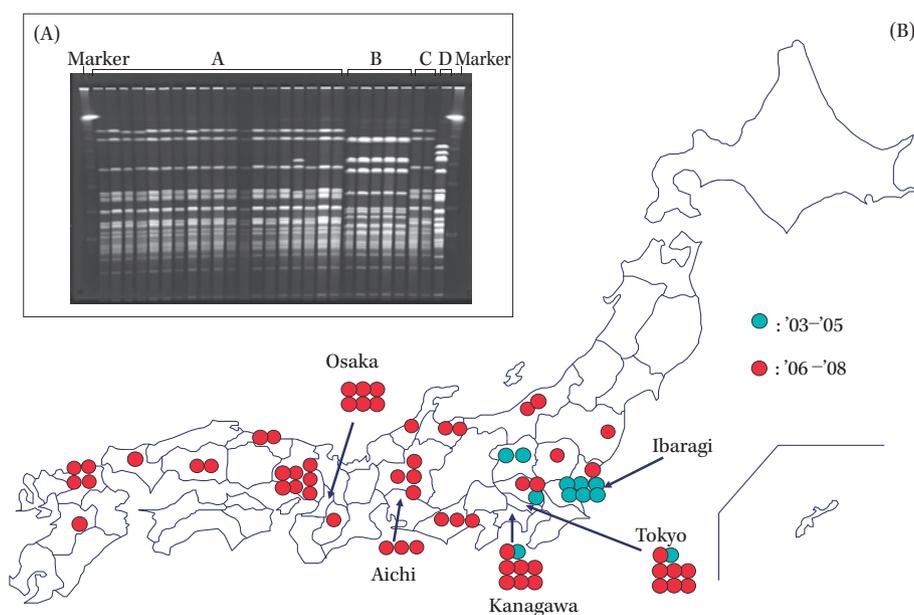


Fig. 8 A) PFGE patterns digested with *ApaI* enzyme for chromosomal DNA from serotype 12F isolates. A, gPISP (*pbp2b*) (Lane 1-19); B, gPSSP (Lane 20-24); C, gPISP (*pbp2x+2b*) (Lane 25, 26); D, gPRSP (*pbp1a+2x+2b*) (Lane 27). B) Plot of serotype 12F isolates in Japan, 2003 to 2008.

のカバー率は75.4%と算出された。定期接種化導入前にもかかわらず、ワクチンカバー率が90%に達していないことは、それだけIPD感染症を防止できない部分のあることを意味し、危惧される点でもある。図中でも6Aや19Aがそれぞれ6%前後認められるが、ワクチン接種が行われている国においては、これらのタイプが増加しつつあることが報告されており、そのことがPCV13へと移行した理由でもある⁴¹⁾。

なお、先のFig.2に示したグローバルな疫学調査では、14, 6B, 23F, 19F型は高率に分離されているが、その他に分離頻度の高い1型や5型は日本では低いことが特徴である。

その理由は定かではないが、アフリカ、ラテンアメリカで多く分離されていると報告され⁴²⁾、ヒトの激しい交流を考えるとこれらの莢膜型株の動向については注意が必要であり、PCV13への早期の切り替えが望まれる。

2. 成人由来株の莢膜型

図にみられるように、成人由来株において最も分離頻度の高かったのは12F型で、しかもそのほとんどがgPISP (*pbp2b*)であった。次いでコロニーの形態がムコイド型を呈する3型、そして6B, 14, 4, 23F型の順で分離されている。Alaneeら⁴³⁾が報告している10カ国21施設から収集した肺炎球菌による菌血症例由来の796株の成績では、1型が最も多く、次いで14, 4, 3, 23F, 6B型となっており、私達の成績の12F型と1型がちょうど入れ替わった形となっている。

成人由来株に対するPPV23のカバー率を算出すると、85.4%であった。ここにはその成績は示していないが、現

在、2010年度の同様のサーベイランスを実施しており、年度の前半に収集された89株中には、12F型は数株しか含まれておらず激減していた³⁹⁾。どうやら12F型は2006年当時、わが国の成人の間で流行していたタイプのようである。特定タイプの肺炎球菌の流行は、他の国でも過去にみられている^{44, 45)}。

一方、耐性菌の割合は小児に比して明らかに低く、gPRSPは17.3%、gPISP (*pbp2x*)が28.6%と多かった。しかし、最近の成人由来株では、gPRSPが30%をオーバーしてきており、さらに小児由来株にはみられないニューキノロン系薬高度耐性株も散見され始めている。今後それらの動向には注意を払う必要がある。

3. 莢膜型と疾患との関係

Fig.7には成人由来株について莢膜型と疾患との関係を示す。莢膜型3, 4, および14型は肺炎とそれに伴う敗血症、あるいは膿胸等を惹起するが、化膿性髄膜炎はまれである。従来から、これらのタイプの菌は肺細胞に高い親和性を有し、肺炎の原因菌となりやすいことで知られている。特に厚い莢膜を有する3型菌は、肺胞を破って胸腔中へ流出し、膿胸を引き起こす¹⁶⁾。また、小児の急性中耳炎において3型菌で発症すると、時に重症の乳様突起炎となる場合がある。

一方、莢膜型が6A, 6B, 12F, 15型では25%以上で化膿性髄膜炎が認められていたことが注目される。

4. 莢膜型と死亡との関係

成人死亡例43例から分離された菌株のうち、最も多かった莢膜型は3型菌であった。これは昔の成績と変わっていない⁴⁶⁾。このタイプによる疾患としては肺炎や

Table 3. Association of serotypes with multilocus sequence typing profiles and genetic *pbp* patterns among *S. pneumoniae* strains⁵¹⁾

Serotype	CC	ST	Genotype	No. of strains	Allele gene							First reported	
					<i>aroE</i>	<i>gdh</i>	<i>gki</i>	<i>recP</i>	<i>spi</i>	<i>xpt</i>	<i>ddl</i>	Year	Country (city)
1	306	5239	gPSSP	1	12	8	13	5	16	336	20		
3	180	5234	2x	1	7	15	2	10	6	1	383		
4	246	246	gPSSP	4	16	13	4	5	6	10	18	1997	UK
6A	3115	3115	gPRSP	2	7	32	6	1	6	14	14	1989	Korea
	3787	2756	gPRSP	1	8	8	19	16	77	1	68	2004	China
6B	3787	3787	2x	1	8	8	19	16	6	1	68	UN	Singapore
	156	90	gPRSP	7	5	6	1	2	6	3	4	1986	Spain
	156	3387	gPRSP	1	5	6	1	2	6	3	26	2002	Korea
	156	2983	2x, 1a + 2x	3	5	6	1	2	6	1	271	2003	Japan (Okayama)
	490	902	gPRSP	1	2	13	2	1	6	121	121	2000	Singapore
	490	2923	2x, 1a + 2x	2	2	13	2	5	6	121	29	2003	Japan (Kurume)
	2224	2224	gPRSP, 1a + 2x	2	7	12	7	1	116	14	29	1996	UK
6C	2924	2924	2x	1	1	5	2	6	6	1	14	2003	Japan (Hyogo)
	2924	2924	2x	1	1	5	2	6	6	1	14	2003	Japan (Hyogo)
	156	5247	2x	1	1	29	8	6	6	6	14		
	490	2923	2x	1	2	13	2	5	6	121	29	2003	Japan (Kurume)
	9V	280	280	2x, 2x + 2b	3	15	17	4	16	6	1	17	1998
12F	1527	4846	2b	4	12	32	111	1	13	48	6	UN	Japan (Osaka)
14	554	343	gPRSP	2	8	8	4	15	39	12	14	1998	Norway
	320	236	gPRSP	1	15	16	19	15	6	20	26	1993	Taiwan
	230	5240	gPRSP, 1a + 2x	4	5	19	2	17	6	22	14		
	15	13	1a + 2x	1	1	5	4	5	5	27	8	1997	Australia, USA
15A	15	2922	1a + 2x	3	1	5	4	5	5	20	8	2003	Japan (Hyogo)
	63	63	1a + 2x	1	2	5	36	12	17	21	14	1992	Sweden
15B	199	199	1a + 2x	1	8	13	14	4	17	4	14	1987	Netherlands
15C	199	199	2x	1	8	13	14	4	17	4	14	1987	Netherlands
19F	320	236	gPRSP	16	15	16	19	15	6	20	26	1993	Taiwan
	115	115	gPRSP	1	15	16	19	15	30	20	39	1994	Taiwan
19A	3111	3111	2x, 1a + 2x	2	61	60	67	16	10	104	14	1989	USA
	2331	2331	2x	1	10	16	150	1	17	1	29	1999	Czech
23F	242	242	gPRSP	7	15	29	4	21	30	1	14	1996	Taiwan
	1437	1437	gPRSP	1	1	32	6	6	6	1	14	2000	Japan
	63	63	gPRSP	1	2	5	36	12	17	21	14	1992	Sweden
	156	338	gPRSP, 2x + 2b	3	7	13	8	6	1	6	8	1995	Colombia
23A	156	338	gPRSP, 2x + 2b	3	7	13	8	6	1	6	8	1995	Colombia

New sequence types (STs) are shown in bold face and underlined. CC, clonal complex. Year, first isolation year of the same ST clone referred from the MLST database. Country, first country of isolation for the same ST clone referred from the MLST database.

敗血症、膿胸が多かったのであるが、入院にいたる経過や入院時の血液検査値を見ると、重症感が最も強い型である。次いで6A/6C(2006年には両者を区別できていない)、6Bと14型であった。12F型は死亡例は少なかったが、後遺症を残した例が最も多かった。

一方、Weinbergerら⁴⁷⁾の2010年の報告では、3, 6A, 6B, 9N, 19F型による死亡率が14型に比して高く、特に19Fと3型が高かったとしている。

医療が発達した現代においても、発症者自身が感染に気づいてタイムリーに医療機関を受診し、しかも医療現場においても迅速に肺炎球菌感染症であることが診断できないと、肺炎球菌感染症は依然として致死的感染症となりえる。

V. 市中における肺炎球菌の拡散、世界との比較

1. pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) パターンが示す莢膜12F型の全国への拡散

先に記したように、2006年度に多く分離された12F型株について、染色体DNAを抽出し、*ApaI*制限酵素で切断した後にPFGE解析を行った成績をFig. 8Aに示す。菌株の内訳は、gPISP (*pbp2b*): 19株、gPSSP: 5株、gPISP (*pbp2x+2b*): 2株、gPRSP: 1株である。これらはFig. 8Bに示すように、日本各地で分離された株であるが、耐性遺伝子型が同じ菌株のDNAプロファイルは、みごとに同一であったことが示されている。

また、図中に青丸で示した2003年から2005年にかけて分離された12F型は、関東近郊に11株しか認められていなかった。このタイプは、その後急速に全国へと拡散し、IPD感染症を引き起こしていたことが推測される。

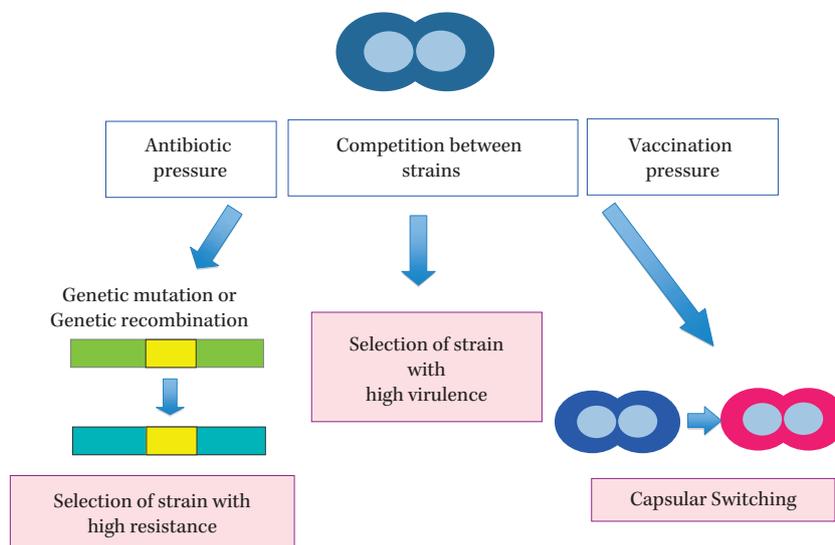


Fig. 9. Evolution of *S. pneumoniae* under the selective pressures such as antimicrobial agents and vaccines.

また、ヒトの流出入の激しい成田空港のある県から分離が始まっていることが興味深い。

2. Multilocus sequence typing (MLST) 解析

近年、菌の疫学情報を世界的に比較共有するため、PFGE 解析に替わって MLST による解析が盛んに実施されるようになった^{48, 49)}。

MLST 法は肺炎球菌の 7 種の housekeeping 遺伝子を PCR 法で増幅し、その塩基配列をインターネット上にある MLST サイト (<http://spneumoniae.mlst.net/>) へ送り、そのデータベースを介して解析する。Housekeeping 遺伝子は菌の生存の根幹にかかわる遺伝子で、遺伝子変異が生じがたく、保存性の高いものが選択されている⁵⁰⁾。例えば、糖代謝にかかわる酵素をコードしている遺伝子などがある。その性質上、MLST サイトには、これまでに世界中から収集された膨大な菌株情報が蓄積されており、サイト上の解析ソフトを利用することで世界の菌株と比較できるシステムである。

ちなみに、近年、肺炎球菌のみならず、レンサ球菌や黄色ブドウ球菌等において MLST 解析が可能であり、分子疫学的手法として必須の手法になりつつある。

Table 3 には小児化膿性髄膜炎由来株について行った MLST 解析の成績⁵¹⁾の一部を、莢膜型、耐性遺伝子型とともに示す。ST 番号は 1 つの遺伝子が従来の結果と異なっても付与されるのでデータが蓄積されるほど複雑になる。7 つの遺伝子のうち 2 遺伝子までの相違は同じ clone からの派生と考え、同一の clonal complex (CC) として表現されている。gPRSP の莢膜 19F 型菌には、2 つの CC、すなわち CC320 と CC115 がみられるが、両方の CC がすでに台湾株に認められていたことがわかる。

ここでもう一つ注目すべきことは、この CC320 を示す株が莢膜 14 型の gPRSP にも認められることである。同

様に、6B 型ではスペイン株と同じ CC156 で ST90 が多く認められているが、その他に CC490、ST2923 が認められる。この CC 型は、莢膜 6C 型の菌株にも認められる。つまり、housekeeping 遺伝子がまったく同じであるにもかかわらず、莢膜をコードする遺伝子が異なっているのである。このことは、莢膜遺伝子が組み換えを起こしていることを示唆している。この点に注目した Brueggemann ら⁵²⁾は、1999 年に分離された莢膜 4 型の ST695 型株と 2003 年以降に増加している 19A 型株について遺伝子解析を行い、莢膜型をコードする領域 (capsular locus) とその周辺領域を含めて組み換えが生じている事実、すなわち capsular switching が生じていることを明らかにしている。capsular locus 近傍には *pbp1a* と *pbp2x* 遺伝子が存在しており、これらも組み換えを起こす可能性があると考えられる。

日本株においても一つの ST 型に 2 種類の莢膜型が存在することは、この capsular switching が生じていることを示唆している。この注目すべき現象は、ワクチン選択圧からの菌のエスケープ機構であると思われ、莢膜に多様性のある肺炎球菌では、今後も持続して生じうる現象であろう。

VI. おわりに

肺炎球菌による感染症は、さまざまな抗菌薬が開発された今日においても、依然として臨床的に最も重要な疾患の一つである。ペニシリンが登場した直後には、この菌による感染症はコントロールできるのではないかと考えられた時期もあった。しかし、ここで述べたように、肺炎球菌は棲息する環境に適応して自らを変化 (遺伝子変異) させ、きわめてしなやかに生き延びてきているのである。

Fig. 9 には状況に応じて変化する肺炎球菌のまとめを

示した。先ず菌株間の生き残り競争による新たな莢膜型株の選択が挙げられる。例えば、莢膜のエピトープ部分をコードする遺伝子領域の変異、あるいは組み換えによる莢膜型の変化がある。6型は6A, 6B, 6C型に6D型が新たに加わり、11型でも同様に11Eが加わっている。

第二には、抗菌薬の選択圧による遺伝子変異、あるいは遺伝子組み換えによる高度耐性化した菌の出現がある。肺炎球菌の β -ラクタム系薬耐性化が他の菌種と最も異なる点は、遺伝子変異ではなく本来菌の生存に必要な細胞壁合成酵素をコードする *pbp* 遺伝子が他のレンサ球菌との間で遺伝子組み換えを起こしたことから始まっていることである。自己融解酵素を産生し、DNAを露出しやすい菌であればこそこの現象である。それらの遺伝子組み換えを起こした菌のなかから抗菌薬の選択圧によってさらに遺伝子変異を起こした高度耐性菌が選択されている。ちなみに、現在CTXに16~32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のMICを示す19F型菌が出現してきている。また、従来gPISP (*pbp2x*)しか認められなかった莢膜3型菌にgPRSPが出現してきているのも抗菌薬選択圧の影響であろう。

第三には、世界的な肺炎球菌ワクチンの普及によるその選択圧下において capsular switching が生じていることである。莢膜遺伝子の近位には *pbp2x* と *pbp1a* 遺伝子がコードされており、これらも含めて遺伝子の組み換えが生ずると、肺炎球菌は遺伝子学的にますます複雑化していくに違いない。

肺炎球菌はきわめて死滅しやすく、*in vitro*においては扱いたい菌であるにもかかわらず、どのような環境下におかれても巧みに変化を遂げ、人類が存続する限り進化しつづけるであろう。

謝 辞

本論文は、平成23年、第21回「上田記念感染症・化学療法研究奨励賞」の対象となった「研究題目：分子疫学的手法を用いた侵襲性肺炎球菌感染症に対する大規模研究：感染制御を目的とした基盤構築」の一部です。関連各位に心より感謝申し上げます。

文 献

- O'Brien K L, Wolfson L J, Watt J P, Henkle E, Deloria-Knoll M, McCall N, et al: Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates. *Lancet* 2009; 374: 893-902
- O'Brien K L, Walters M I, Sellman J, Quinlisk P, Regnery H, Schwartz B, et al: Severe pneumococcal pneumonia in previously healthy children: the role of preceding influenza infection. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 784-9
- World Health Organization (WHO): Global programme for vaccines and immunization: Strategic plan 1998-2001, Geneva, Switzerland, 1998
- Scott J A: The preventable burden of pneumococcal disease in the developing world. *Vaccine* 2007; 25: 2398-405
- Advisory Committee on Immunization Practices: Preventing pneumococcal disease among infants and young children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2000; 49: 1-35
- Appelbaum P C, Bhamjee A, Scragg J N, Hallett A F, Bowen A J, Cooper R C: *Streptococcus pneumoniae* resistant to penicillin and chloramphenicol. *Lancet* 1977; 2: 995-7
- Klugman K P: Pneumococcal resistance to antibiotics. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3: 171-96
- Appelbaum P C: Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: an overview. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 77-83
- Baquero F, Loza E: Antibiotic resistance of microorganisms involved in ear, nose and throat infections. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13: S9-14
- Hungarian Public Health Network: Annual reports, 1975-1992. National Institutes of Hygiene, Budapest
- Geslin P, Buu-Hoi A, Fremaux A, Acar J F: Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: an epidemiological survey in France, 1970-1990. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 95-8
- Spika J S, Facklam R R, Plikaytis B D, Oxtoby M J: Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 1979-1987. The Pneumococcal Surveillance Working Group. *J Infect Dis* 1991; 163: 1273-8
- Breiman R F, Butler J C, Tenover F C, Elliott J A, Facklam R R: Emergence of drug-resistant pneumococcal infections in the United States. *JAMA* 1994; 271: 1831-5
- Boswell T C, Frodsham D, Nye K J, Smith E G: Antibiotic resistance and serotypes of *Streptococcus pneumoniae* at Birmingham Public Health Laboratory, 1989-94. *J Infect* 1996; 33: 17-22
- 有益 修, 目黒英典, 白石裕昭, 菅又久美子, 比留間藤昭, 阿部敏明: β -ラクタム剤が無効であった肺炎球菌髄膜炎の1例. *感染症誌* 1988; 62: 682-3
- 紺野昌俊, 生方公子: 改定ペニシリン耐性肺炎球菌, 協和企画, 東京, 1999
- Ubukata K, Asahi Y, Okuzumi K, Konno M: Incidence of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Japan, 1993-1995. *J Infect Chemother* 1996; 1: 177-84
- 末武光子: 急性中耳炎病態の変貌. 山中 昇 編, 変貌する急性中耳炎: ペニシリン耐性肺炎球菌性中耳炎の現状と対策, 金原出版, 東京, 2000; 40-52
- Jedrzejewski M J: Pneumococcal virulence factors: structure and function. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001; 65: 187-207
- Kamerling J P: Pneumococcal polysaccharides: a chemical view. In Tomasz A (ed.), *Streptococcus pneumoniae*. Mary Ann Liebert, Larchmont, NY, 2000; 81-114
- Jin P, Kong F, Xiao M, Oftadeh S, Zhou F, Liu C, et al: First report of putative *Streptococcus pneumoniae* serotype 6D among nasopharyngeal isolates from Fijian children. *J Infect Dis* 2009; 200: 1375-80
- Calix J J, Nahm M H: A new pneumococcal serotype, 11E, has a variably inactivated *wcjE* gene. *J Infect*

- Dis 2010; 202: 29-38
- 23) Centers for Disease Control (CDC): Pneumococcal polysaccharide vaccine. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1989; 38: 64-8, 73-6
 - 24) 松本慶蔵: 改訂版 肺炎球菌ワクチンの新しい展開, 医薬ジャーナル社, 大阪, 2009
 - 25) 社団法人日本感染症学会肺炎球菌ワクチン再接種問題検討委員会: 肺炎球菌ワクチン再接種に関するガイドライン:
http://www.kansensho.or.jp/topics/pdf/pneumococcus_vaccine.pdf
 - 26) Black S, Shinefield H, Fireman B, Lewis E, Ray P, Hansen J R, et al: Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. Northern California Kaiser Permanente Vaccine Study Center Group. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19: 187-95
 - 27) Johnson H L, Deloria-Knoll M, Levine O S, Stoszek S K, Freimanis Hance L, Reithinger R, et al: Systematic evaluation of serotypes causing invasive pneumococcal disease among children under five: the pneumococcal global serotype project. *PLoS Med* 2010; 7: e1000348
 - 28) CDC: Direct and indirect effects of routine vaccination of children with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on incidence of invasive pneumococcal disease—United States, 1998–2003. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2005; 54: 893-7
 - 29) Poehling K A, Talbot T R, Griffin M R, Craig A S, Whitney C G, Zell E, et al: Invasive pneumococcal disease among infants before and after introduction of pneumococcal conjugate vaccine. *JAMA* 2006; 295: 1668-74
 - 30) Black S, France E K, Isaacman D, Bracken L, Lewis E, Hansen J, et al: Surveillance for invasive pneumococcal disease during 2000–2005 in a population of children who received 7-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26: 771-7
 - 31) Lexau C A, Lynfield R, Danila R, Pilishvili T, Facklam R, Farley M M, et al: Changing epidemiology of invasive pneumococcal disease among older adults in the era of pediatric pneumococcal conjugate vaccine. *JAMA* 2005; 294: 2043-51
 - 32) Pelton S I, Huot H, Finkelstein J A, Bishop C J, Hsu K K, Kellenberg J, et al: Emergence of 19A as virulent and multidrug resistant *Pneumococcus* in Massachusetts following universal immunization of infants with pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26: 468-72
 - 33) Farrell D J, Klugman K P, Pichichero M: Increased antimicrobial resistance among nonvaccine serotypes of *Streptococcus pneumoniae* in the pediatric population after the introduction of 7-valent pneumococcal vaccine in the United States. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26: 123-8
 - 34) CDC: Invasive pneumococcal disease in children 5 years after conjugate vaccine introduction—eight states, 1998–2005. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008; 57: 144-8
 - 35) CDC: Licensure of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) and recommendations for use among children—Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2010; 59: 258-61
 - 36) Prymula R, Schuerman L: 10-valent pneumococcal nontypeable *Haemophilus influenzae* PD conjugate vaccine: Synflorix™. *Expert Rev Vaccines* 2009; 8: 1479-500
 - 37) 生方公子: 新規に発生しているレンサ球菌による劇症型感染症の臨床的・細菌学的解析と診断・治療法に関する研究 (H19-新興一般-002), 2006
 - 38) 生方公子: 重症型のレンサ球菌・肺炎球菌感染症に対するサーベイランスの構築と病因解析, その診断・治療に関する研究 (H22-新興一般-013) 平成 22 年度総括・分担研究報告書, 厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業, 2011; 9-18
 - 39) 厚生労働科学研究費補助金 (新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業), 重症型のレンサ球菌・肺炎球菌感染症に対するサーベイランスの構築と病因解析, その診断治療に関する研究:
<http://strep.umin.jp/index.html>
 - 40) Chiba N, Morozumi M, Sunaoshi K, Takahashi S, Takano M, Komori T, et al: Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal disease in Japan. *Epidemiol Infect* 2010; 138: 61-8
 - 41) Paradiso P R: Advances in pneumococcal disease prevention: 13-valent pneumococcal conjugate vaccine for infants and children. *Clin Infect Dis* 2011; 52: 1241-7
 - 42) McIntosh E D, Reinert R R: Global prevailing and emerging pediatric pneumococcal serotypes. *Expert Rev Vaccines* 2011; 10: 109-29
 - 43) Alanee S R, McGee L, Jackson D, Chiou C C, Feldman C, Morris A J, et al: Association of serotypes of *Streptococcus pneumoniae* with disease severity and outcome in adults: an international study. *Clin Infect Dis* 2007; 45: 46-51
 - 44) Bruce M G, Deeks S L, Zulz T, Bruden D, Navarro C, Lovgren M, et al: International Circumpolar Surveillance System for invasive pneumococcal disease, 1999–2005. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 25-33
 - 45) Le Hello S, Watson M, Levy M, Marcon S, Brown M, Yvon J F, et al: Invasive serotype 1 *Streptococcus pneumoniae* outbreaks in the South Pacific from 2000 to 2007. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 2968-71
 - 46) Finland M: The present status of the higher types of antipneumococcus serums. *JAMA* 1942; 120: 1294-307
 - 47) Weinberger D M, Harboe Z B, Sanders E A, Ndiritu M, Klugman K P, Ruckinger S, et al: Association of serotype with risk of death due to pneumococcal pneumonia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2010; 51: 692-9
 - 48) Feil E J, Smith J M, Enright M C, Spratt B G: Estimating recombinational parameters in *Streptococcus pneumoniae* from multilocus sequence typing data. *Genetics* 2000; 154: 1439-50
 - 49) Imai S, Ito Y, Ishida T, Hirai T, Ito I, Maekawa K, et al: High prevalence of multidrug-resistant pneumococcal molecular epidemiology network clones

- among *Streptococcus pneumoniae* isolates from adult patients with community-acquired pneumonia in Japan. Clin Microbiol Infect 2009; 15: 1039-45
- 50) Enright M C, Spratt B G: Multilocus sequence typing. Trends Microbiol 1999; 7: 482-7
- 51) Sakai F, Chiba N, Ono A, Yamagata Murayama S, Ubukata K, Sunakawa K, et al: Molecular epidemiologic characteristics of *Streptococcus pneumoniae* isolates from children with meningitis in Japan from 2007 through 2009. J Infect Chemother 2011; 17: 334-40
- 52) Brueggemann A B, Pai R, Crook D W, Beall B: Vaccine escape recombinants emerge after pneumococcal vaccination in the United States. PLoS Pathog 2007; 3: e168

Current status of invasive pneumococcal diseases and the preventive pneumococcal vaccines in Japan

Naoko Chiba

Laboratory of Molecular Epidemiology for Infectious Agents, Kitasato Institute for Life Sciences, Kitasato University, 5-9-1 Shirokane, Minato-ku, Tokyo, Japan

Streptococcus pneumoniae induce invasive pneumococcal diseases (IPD) that may cause serious sequelae or be fatal, even in these days when effective antibacterial therapies are available. This article discusses the current status of IPD in Japan as well as capsular typing involved in the prediction of vaccination efficacy, primarily based on the results of an epidemiological survey conducted in 2006. The age groups that were most frequently affected by IPD were infants aged ≤ 1 year, and adults aged ≥ 50 years. In contrast to sepsis and bacteremia which were common among children, severe pneumonia was predominant among adults. Patients with underlying conditions were at a high risk for death or neurological sequelae ($P = 0.04$ for children and $P < 0.01$ for adults). Statistical analysis revealed that a white blood cell count of $\leq 5.0 \times 10^9$ cells/L and a platelet count of $\leq 130 \times 10^9$ cells/L on hematology tests immediately after hospital admission were highly predictive of a poor prognosis.

In Japan, voluntary vaccination with pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) for children was licensed in 2010, and the coverage for IPD was 75%. Pneumococcal polysaccharide vaccine (PPV23) covered 85% of adult IPD cases. The capsular types of strains isolated from children and from adults were obviously different. Specifically, serotypes 6B, 19F, 14, and 23F, which are common among gPRSP strains, were predominant in isolates from children, while serotypes 12F, 3, 6B, and 14, which are common among gPISP strains, accounted for the majority of isolates from adults. Among these isolates, the serotype 12F strain from adults was subjected to pulsed field gel electrophoresis, which showed an identical DNA profile among strains with the same genotype. This finding suggests that strains with a new capsular type spread rapidly in a short time around Japan, a densely populated country. Analysis using multilocus sequence typing, which allows global comparison and sharing of epidemiological information on bacterial infections, suggested the occurrence of genetic recombination among capsular serotypes (capsular switching).

S. pneumoniae are evolving by changing themselves, as represented by (i) the emergence of highly pathogenic strains with new capsular serotypes, such as 6C and 11E; (ii) the emergence of highly resistant strains due to antibiotic pressure; and (iii) the emergence of strains with capsular switching caused by the global popularization of pneumococcal vaccines. It is concluded that global-scale epidemiological studies are needed in addition to vaccination, which is indispensable for the control of IPD.