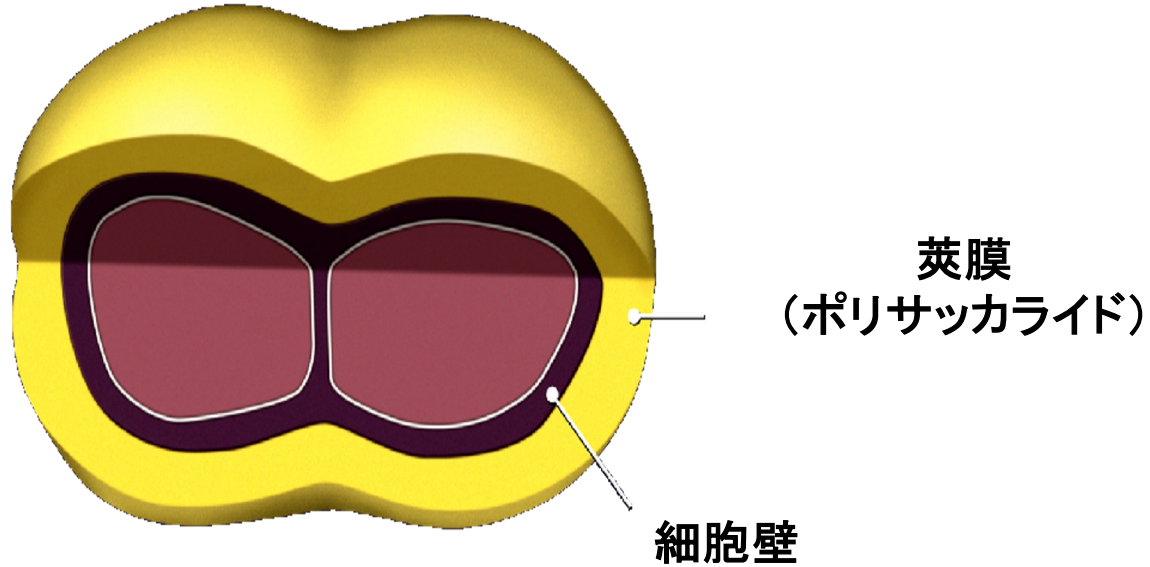


細菌－肺炎球菌

国立感染症研究所 細菌第一部

常 彬

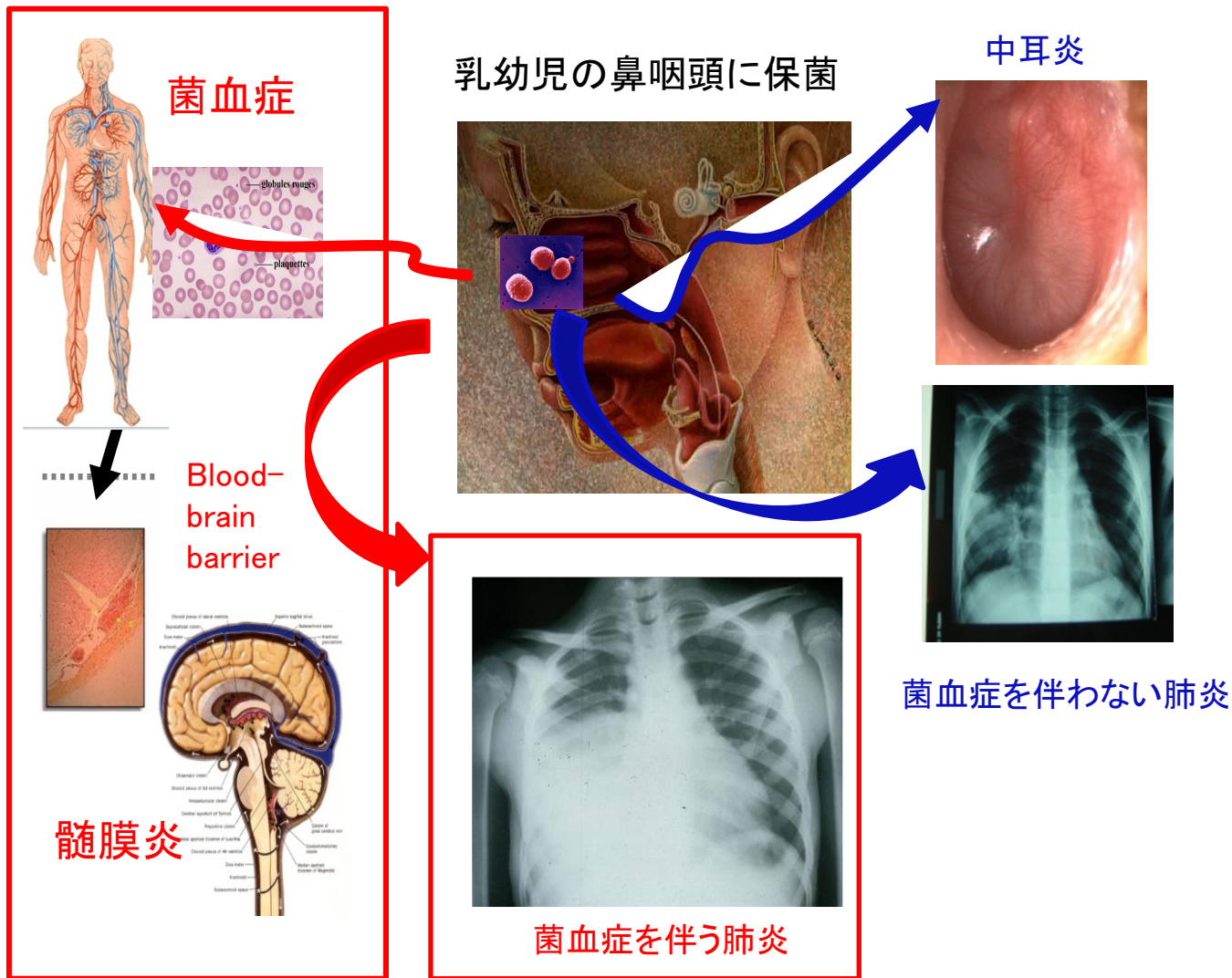
肺炎球菌



血清型 (= 莢膜型) : 100 タイプ以上

- 1881年に単離されたグラム陽性双球菌
- 表面は莢膜多糖体 (ポリサッカライド) で覆われている
- ポリサッカライドの抗原性による 100 種以上の血清型が存在し、肺炎球菌ワクチンの標的分子となる
- 血清型特異抗体が同じ血清型の肺炎球菌に対する感染防御を担っている

侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD)



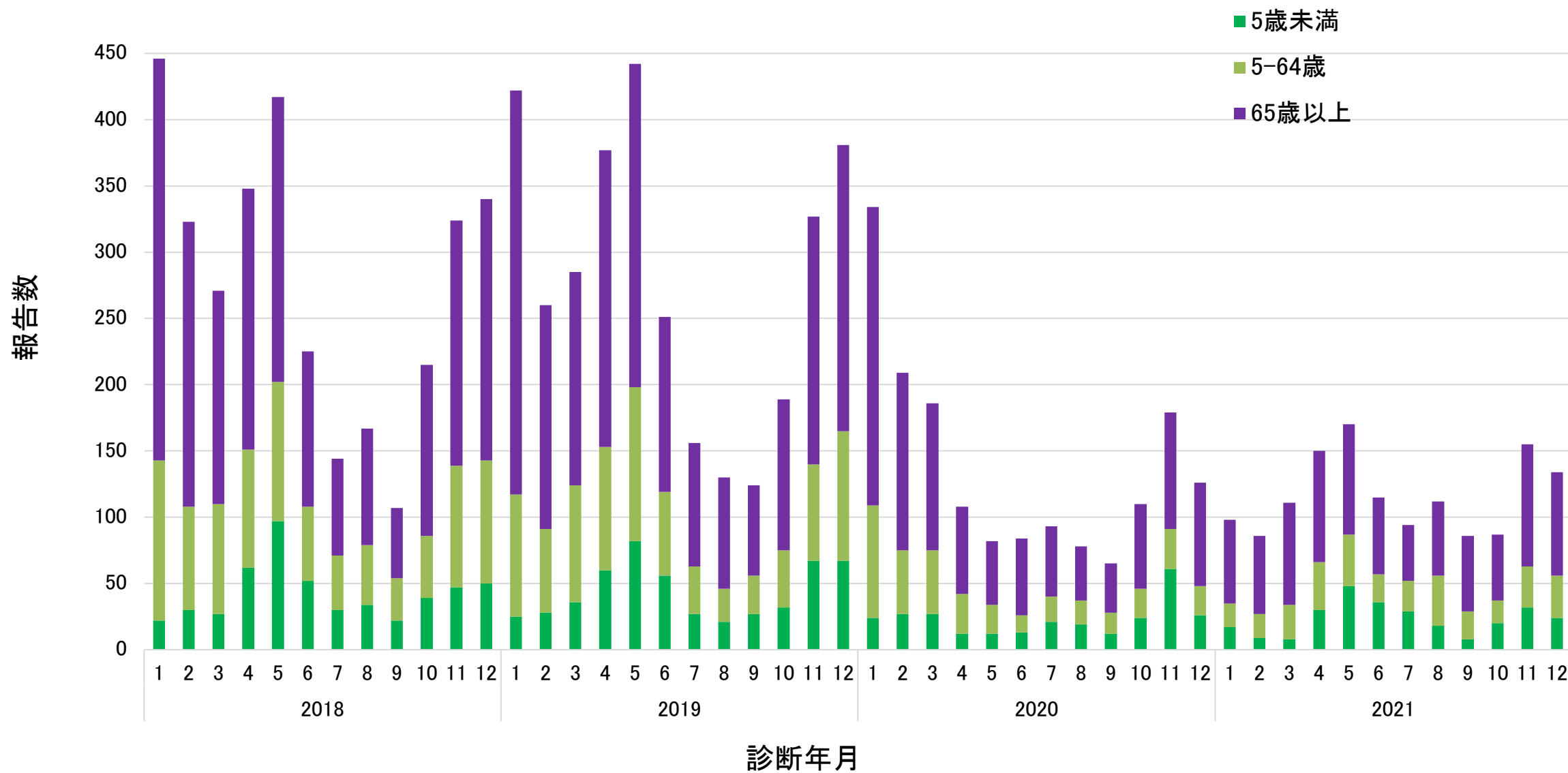
- 肺炎球菌は乳幼児の鼻咽頭に高頻度に保菌されており、市中における同菌の水平伝播に重要な役割を果たしています。
- 本菌は肺炎、中耳炎、副鼻腔炎などの非侵襲性感染症を起こします。
- 非侵襲性感染症のみならず、本菌は侵襲性肺炎球菌感染症 (Invasive Pneumococcal Disease) も引き起こす。
- 2013年4月、IPDは5類感染症に追加され、全数報告となった。

侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) 届出基準

検査方法	検査材料
分離・同定による病原体の検出	髄液、血液、その他の無菌部位
PCR 法による病原体の遺伝子の検出	髄液、血液、その他の無菌部位
ラテックス法又はイムノクロマト法による病原体抗原の検出	髄液

(厚生労働省 HP)

年齢群・診断年月別の侵襲性肺炎球菌感染症報告数、2018～2021年 (n=9,723)



日本国内の肺炎球菌ワクチンの現状

日本における肺炎球菌ワクチン導入の変遷

成人

1988年

PPSV23の承認

2014年10月

2014年6月

PCV13の承認

PPSV23の定期接種

2022年9月

PCV15の承認

2024年4月

PPSV23の65歳のみ
の定期接種

小児

2009年10月

PCV7の承認

PCV7の公費助成

2010年11月

2013年4月

PCV7の定期接種

2013年11月

PCV13に置き換え

2024年4月

PCV20の承認申請


PCV15の承認

2023年3月

2023年6月

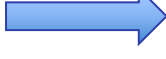
PCV15の定期接種

2024年2月現在、日本で承認されている肺炎球菌ワクチン

- ・ 13 価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV13)  本年中 → 20 価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV20)
- ・ 15 価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV15)
- ・ 23 価肺炎球菌ポリサッカライドワクチン (PPSV23)

定期接種

小児：A 類疾病、PCV13、5歳未満  4月 → PCV13 と PCV15

成人：B 類疾病、PPSV23、65 歳以上成人と、
60 歳以上 65 歳未満の者で心臓、腎臓もしくは
呼吸器の機能の障害またはヒト免疫不全ウイルス
による免疫の機能の障害を有する者  4月 → PPSV23、
65 歳成人と、60 歳以上 65 歳未満の障害を有する者 ??

15歳未満小児 IPD 症例数および分離菌の血清型の推移

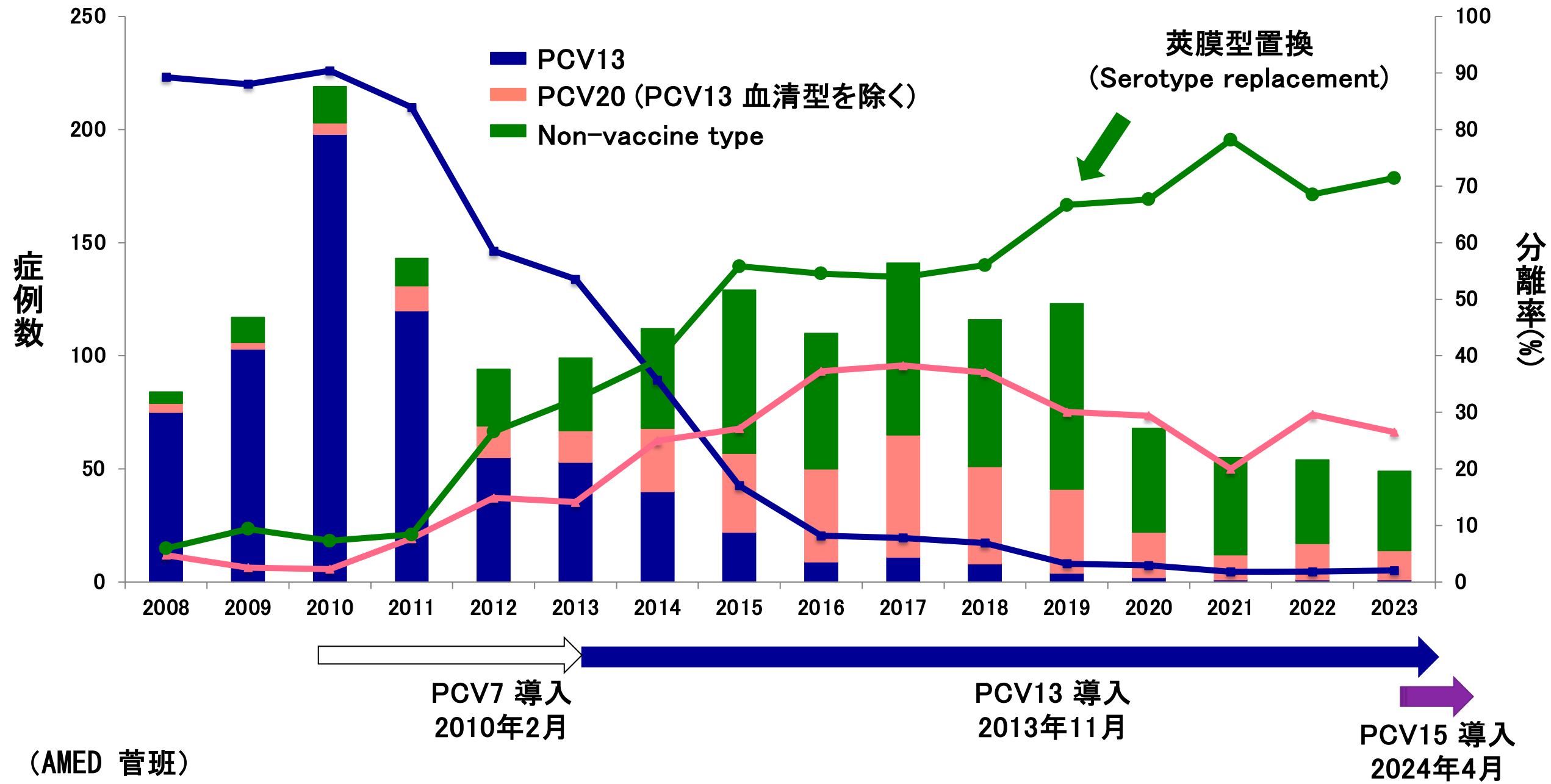


表. 肺炎球菌ワクチン 対応血清型一覧

ワクチン /開発時製剤名称 (製造販売業者)	抗原	莢膜多糖体血清型																																			開発状況 および 使用状況
		4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	3	5	6A	7F	19A	22F	33F	8	10A	11A	12F	15B	2	9N	17F	20	15A	15C	16F	23A	23B	24F	31	35B				
PPSV23 (MSD社)	莢膜多糖体	4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	3	5	*	7F	19A	22F	33F	8	10A	11A	12F	15B	2	9N	17F	20												定期接種：高齢者*1 2014年10月～（1988年販売承認） 添付文書上の接種対象：2歳以上で肺炎球菌による重篤疾患に罹患する危険が高い者
PCV7 (ファイザー社)	莢膜多糖体 (結合型 ワクチン)	4	6B	9V	14	18C	19F	23F																												2013年10月使用終了（2009年10月製造販売承認，2010年2月販売開始，2010年11月子宮頸がん等ワクチン緊急接種促進事業に基づく接種開始，2013年4月定期予防接種導入）	
PCV13 (ファイザー社)		4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	3	5	6A	7F	19A																						定期接種：生後2か月以上5歳未満（標準的接種時期：生後2か月開始）2013年11月～ 添付文書上の接種対象：高齢者又は肺炎球菌による疾患に罹患するリスクが高いと考えられる者（肺炎球菌による感染症の予防），生後2か月以上6歳未満（肺炎球菌による侵襲性感染症の予防）	
PCV15 (MSD社)		4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	3	5	6A	7F	19A	22F	33F																				2022年9月 国内業事承認（2022年12月現在未発売） 添付文書上の接種対象：高齢者又は肺炎球菌による疾患に罹患するリスクが高いと考えられる成人	
PCV20 (ファイザー社)		4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	3	5	6A	7F	19A	22F	33F	8	10A	11A	12F	15B															2022年10月現在 国内未承認 (米国：2021年6月承認、欧州EMA：2022年2月承認、ともに2022年10月現在18歳以上に適応)	
PCV21 (MSD社)										3		6A	7F	19A	22F	33F	8	10A	11A	12F			9N	17F	20	15A	deOAc 15B (*2)	16F	23A	23B	24F	31	35B	第1/2相臨床試験 (Lancet Infect Dis 2022 Sep 15: S1473-3099 (22) 00526-6)			
PCV24 (MSD社)		4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	3	5	6A	7F	19A	22F	33F	8	10A	11A	12F	15B	2	9N	17F	20											キャリアタンパク質：CRM197, 前臨床試験 (Vaccine 2021; 39 (30) : 4231-4237)	
VAX-24 (Vaxcyte社)		4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	3	5	6A	7F	19A	22F	33F	8	10A	11A	12F	15B	2	9N	17F	20											キャリアタンパク質：eCRM, 前臨床試験 (Vaccine 2021; 39 (23) : 3197-3206)	
ASP3772 (Affinivax社)		4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	3	5	6A	7F	19A	22F	33F	8	10A	11A	12F	15B	2	9N	17F	20B											多重抗原提示システム (Multiple Antigen Presentation System: MAPS™) 第1/2相臨床試験 (Vaccine. 2022; 40 (31) : 4190-4198)	
タンパク質 抗原ワクチン		肺炎球菌表層 タンパク質 (Ply, PspAなど)	共 通																																	第2b相臨床試験完了～前臨床試験までさまざま Ply (Clin Vaccine Immunol 2014; 21: 56-65, Vaccine 2019; 37: 2586-2599, Vaccine 2019; 37: 7482-7492) PspA (Vaccine 2000;18:1743-1754, Vaccine 2014; 32: 5607-5613) PhtD (Vaccine 2012; 30: 7455-7460, Vaccine 2015; 33: 577-584) PHiD-CV/dPly/PhtD (Vaccine 2017; 35: 2531-2542, Vaccine 2019; 37: 2586-2599, Vaccine 2019; 37: 7482-7492)	

※血清型 6Aは23価莢膜多糖体ワクチンには含まれない
 *1 ①65歳の者（2023年度までは、該当する年度に65歳、70歳、75歳、80歳、85歳、90歳、95歳、100歳となる者）および②60歳から65歳未満の者であって、心臓、腎臓、呼吸器の機能又はヒト免疫不全ウイルスにより免疫の機能に障害を有する者
 *2 de-O-acetylated 15B：15C莢膜多糖体に構造が類似しており、15Cに対する抗体を誘導する
 Ply: pneumolysin（膜孔形成毒素），PspA: pneumococcal surface protein A（補体の活性化阻害、宿主への侵入促進），PhtD: polyhistidine triad proteins D（補体の沈着阻害、付着定着に関与），PHiD-CV: 10-valent pneumococcal non-typeable *Haemophilus influenzae* protein D conjugate vaccine

肺炎球菌の細菌学的解析

(病原体検出マニュアルをご参照ください)

肺炎球菌の特徴

1: 血液寒天培地上に
 α -溶血を呈する

2: カタラーゼ陰性



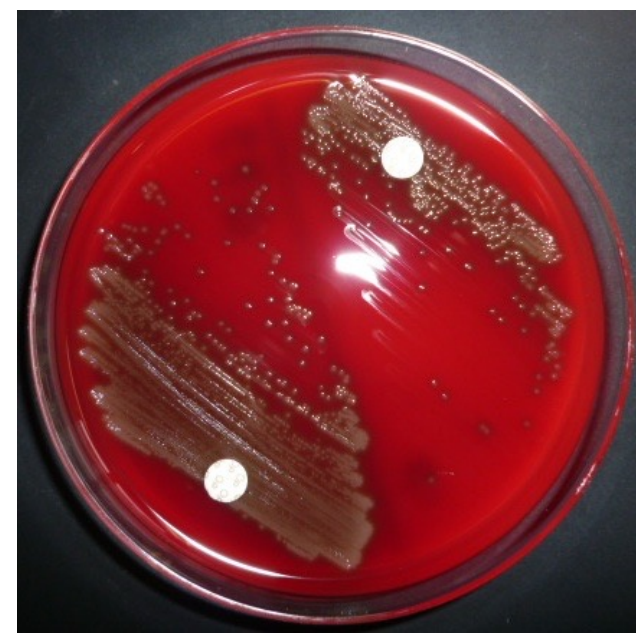
溶血の分類

3: オプトヒン感受性

オプトヒンディスク
(栄研化学)



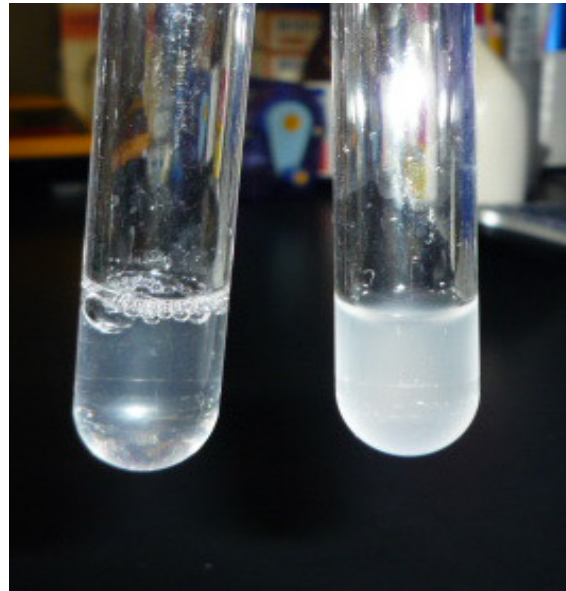
感受性



耐性

4: 胆汁酸溶解性

10% デオキシコール酸
(ナカライテスク株式会社)



胆汁酸

あり

なし

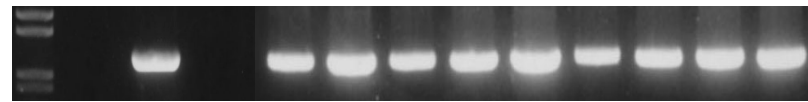
5. *lytA* 遺伝子による同定

a): PCR で *lytA* 断片を増幅させ、制限酵素 *Bsa*AI で消化 (JCM 2006, 44:1250-1256)

LA5: 5' - AAGCTTTTTAGTCTGGGGTG -3'

LA3: 5' - AAGCTTTTTCAAGACCTAATAATATG -3'

PCR product

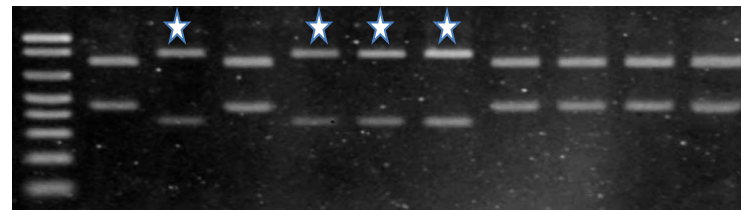


←1,213 bp

増幅できない: 肺炎球菌ではない

増幅できた、次のステップ

*Bsa*AI による消化



←761 bp

←452 bp

肺炎球菌

肺炎球菌ではない

b): real-time PCR による *lytA* 遺伝子の検出 (JCM 2007, 45:2460-2466)

lytA-CDC forward 5' -ACGCAATCTAGCAGATGAAGCA-3'

lytA-CDC reverse 5' -TCGTGCGTTTTAATTCCAGCT-3'

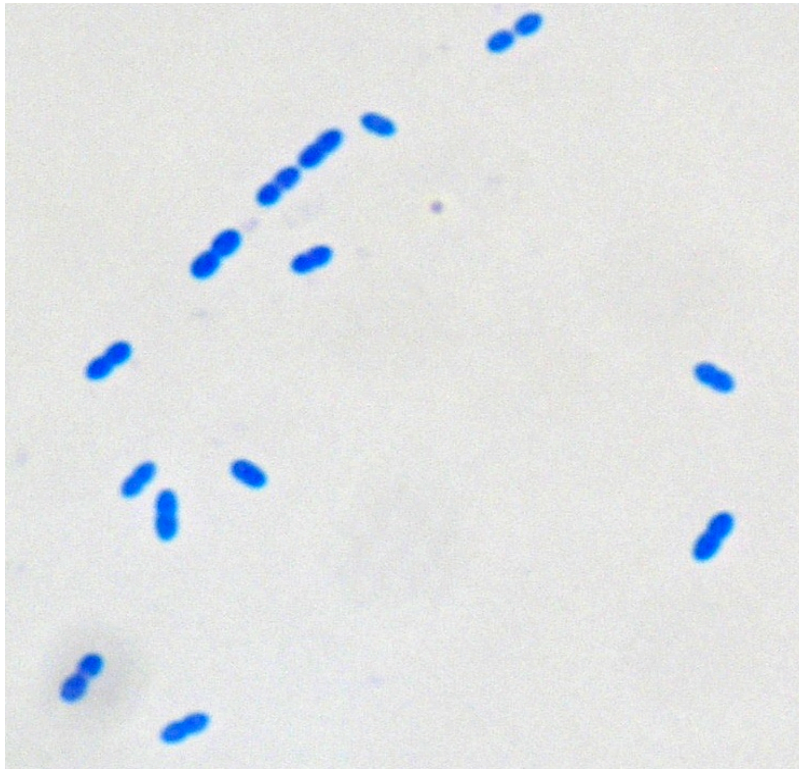
lytA-CDC probe 5' -FAM-GCCGAAAACGCTTGATACAGGGAG-3-BHQ1

血清型別

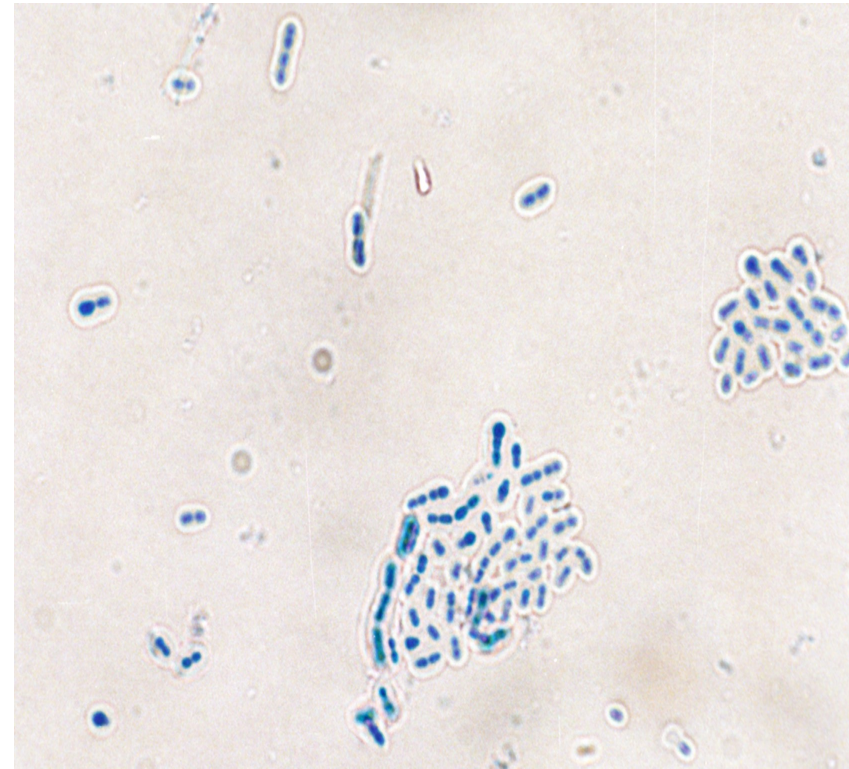
1: 莢膜膨化試験 (肺炎球菌が必要)

長所: 簡便、ほぼすべての血清型別が可能

短所: 抗血清 (Statens Serum Institut 製、高価)、顕微鏡および経験が必要



陰性



陽性

血清型別

2: Multiplex PCR 法による莢膜をコードする遺伝子の検出 (DNA が必要)

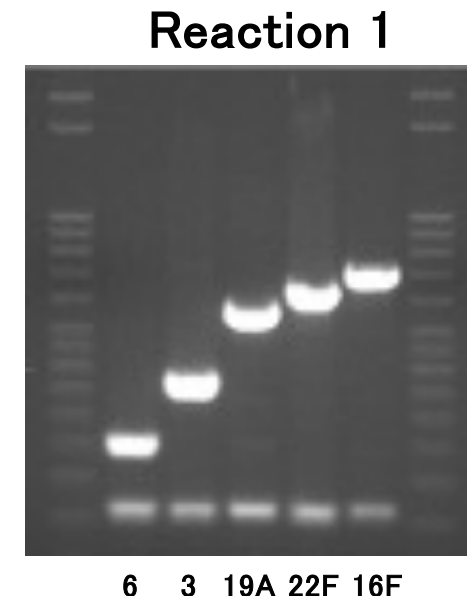
長所: 専用の試薬と機器が不要

短所: すべての血清型別に対応していない

遺伝子のみを検出 (莢膜有無の確認が必要)

非特異的な PCR 産物 (反応条件調整が必要)

PCR 産物のサイズの判定ミス (シングル PCR 反応での確認)



Reaction 1	3、6 (6A/B/C/D)、16F、19A、22 (22F/A)
Reaction 2	7 (7F/A)、8、15 (15A/F)、23A、33F/33A/37
Reaction 3	11 (11A/D)、12F/12A/44/46、19F、35B、38/25F/25A
Reaction 4	4、7C/7B/40、9 (9V/A)、18 (18A/B/C/F)、24 (24A/B/F)
Reaction 5	1、14、10A、15 (15B/C)、23F
Reaction 6	5、10F/10C/33C、17F、35F/47F、39
Reaction 7	9 (9N/L)、23B、31、34、35A/35C/42
Reaction 8	2、13、20、21

血清型別

2: Multiplex PCR 法による莢膜遺伝子の検出法
+
1: 莢膜膨化試験

併用

Reaction 1	3、6 (6A/B/C/D)、16F、19A、22 (22F/A)
Reaction 2	7 (7F/A)、8、15 (15A/F)、23A、33F/33A/37
Reaction 3	11 (11A/D)、12F/12A/44/46、19F、35B、38/25F/25A
Reaction 4	4、7C/7B/40、9 (9V/A)、18 (18A/B/C/F)、24 (24A/B/F)
Reaction 5	1、14、10A、15 (15B/C)、23F
Reaction 6	5、10F/10C/33C、17F、35F/47F、39
Reaction 7	9 (9N/L)、23B、31、34、35A/35C/42
Reaction 8	2、13、20、21



22F と 22A を区別できる
抗血清

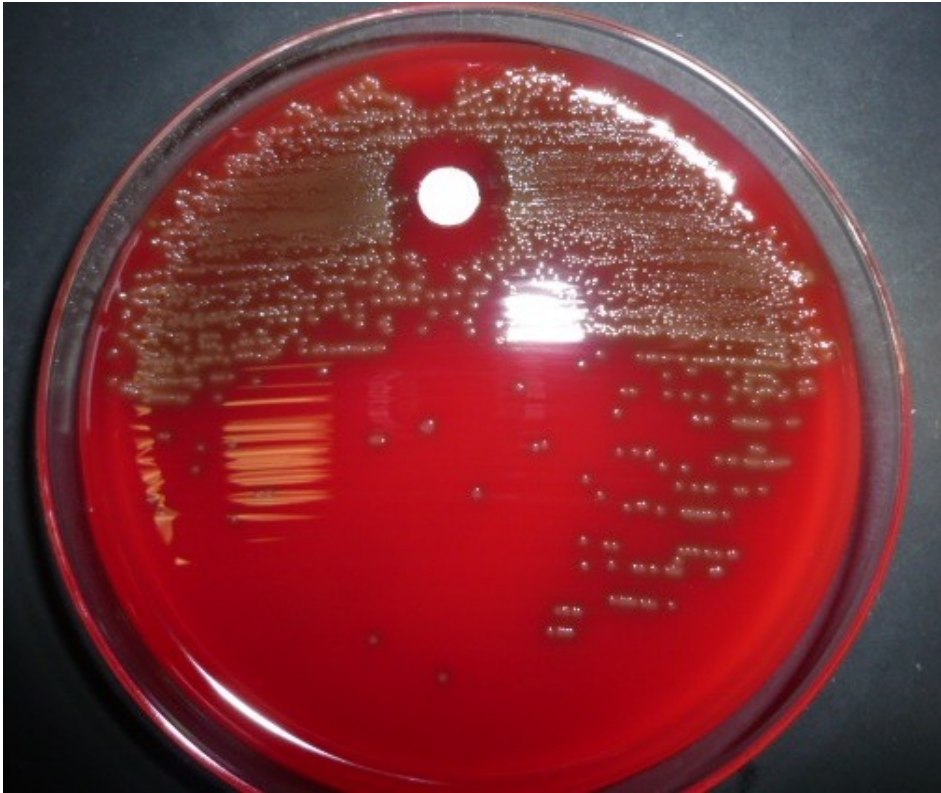


22F
(PCV15)

22A
(Non-V)

肺炎球菌の保存

10% Skim milk(日本 BD)、-80 度



なるべく新鮮な状態で
保存する

まとめ

- 1: 2013年4月より、侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) は5類感染症に追加され、全数報告となった。
- 2: IPD は、肺炎球菌ワクチン(結合型ワクチンと莢膜ポリサッカライドワクチン)によって予防できる疾病である。
- 3: 現在使用されている肺炎球菌ワクチンは、そのワクチンに含まれる血清型によって引き起される感染症のみを予防できる。

日本国内 IPD の発生動向およびワクチン効果を調査するために、
血清型別を行う必要がある

医療機関から血清型別の依頼がありましたら

感染研細菌第一部にご連絡
常彬 (b-chang@niid.go.jp)

各自で可能な方法で血清型の
スクリーニングを行う

