

[ノート]

兵庫県における侵襲性肺炎球菌感染症の発生動向, 並びに血清型及び薬剤耐性遺伝子の解析 (2019~2023 年)

池端 真帆^{1*} 齋藤 悦子¹ 坂野 桂² 押部 智宏¹ 大岡 徹彦¹

Characteristics of Invasive Pneumococcal Disease Patients, Serotypes and Antimicrobial resistance genes in Hyogo Prefecture during 2019-2023

Maho IKEBATA^{1*}, Etsuko SAITO¹, Katsura SAKANO², Tomohiro OSHIBE¹ and Tetsuhiko OOOKA¹

¹*Infectious Disease Research Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health Science, 1819-14, Kanno, Kanno-cho, Kakogawa 675-0003, Japan* ²*Kakogawa Health and Welfare Office, Higashi-Harima District Administration Office, Hyogo Prefecture*

During the Covid-19 pandemic period from 2020 to 2022, the number of Invasive Pneumococcal Disease (IPD) patients decreased. However, in 2023, the number of patients started to increase.

71 strains isolated from IPD patients were classified into 19 serotypes by Multiplex PCR. In patients under the age of four, no PCV13 serotypes were detected. This suggests that the vaccine is effective and that the serotypes are shifting to non-PCV13 serotypes.

The results of the examination for drug resistance genes revealed the high detection rate of strains with mutations in genes associated with PCG resistance and strains with macrolide resistance genes.

To verify the effectiveness of vaccines and understand the prevalent strains, it is important to continue monitoring serotype distribution and the presence of drug resistance genes, and to provide feedback on these results to medical institutions.

I はじめに

肺炎球菌は主に呼吸器感染症を引き起こすグラム陽性菌であり、髄膜炎や菌血症などの重篤な症状を引き起こす侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) の原因となることもある。IPD は血液や髄液などの無菌部位から肺炎球菌が検出された感染症と定義されており、2013 年より五類感染症の全数把握対象疾患となっている。肺炎球菌の菌表層の莢膜ポリサッカライドは宿主免疫からの逃避に関わる最も重要な病原因子であり、血清型を決める抗原でもある。現在約 100 種の血清型に分類されており、その一部

の血清型は、ワクチンにより予防可能である¹⁾。

2023年末時点で、日本で承認・使用されている肺炎球菌感染症ワクチンは、沈降13価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV13)、沈降15価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV15) 及び23価肺炎球菌莢膜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、沈降7価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV7) が2013年4月から定期接種対象ワクチンとなったが、同年11月にPCV13に切り替わった。さらに2023年6月には、PCV15が小児適応で承認された。成人に対しては、PPSV23が1988年3月、PCV13が2014年6月、PCV15が2022年9月に承認された。PPSV23は2014年10月から、65歳以上の高齢者と60歳以上64歳以下のハイリスク者を対象に定期接種が実施されている。ワクチン導

¹ 兵庫県立健康科学研究所 感染症部

* 〒675-0003 兵庫県加古川市神野町神野 1819-14

² 兵庫県東播磨県民局 加古川健康福祉事務所

Table 1 Serotypes contained in various types of vaccines

Vaccine	Serotype
7-valent pneumococcal conjugate vaccine : PCV7 ^{a)}	4,6B,9V,14,18C,19F,23F
13-valent pneumococcal conjugate vaccine : PCV13	4,6B,9V,14,18C,19F,23F, 1,5,7F,3,19A, 6A
15-valent pneumococcal conjugate vaccine : PCV15	4,6B,9V,14,18C,19F,23F, 1,5,7F,3,19A, 6A,22F,33F
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,20,22F,33F

^{a)} end of use in October 2013

入によりIPD症例数の減少が確認されており、小児を中心にIPD原因菌の血清型のワクチン非含有血清型への置き換わりが進んでいることが報告されている²⁾。

肺炎球菌の薬剤耐性について、ペニシリン (PCG) 耐性肺炎球菌の報告数は減少傾向にある³⁾が、ワクチン非含有血清型で高い薬剤耐性をもつ15Aや35Bの増加が懸念されている⁴⁾。

本稿では、既報⁵⁾に引き続き、2019年～2023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まとめた。また当期間に収集された菌株の血清型及び薬剤耐性遺伝子について解析したので報告する。

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2019年1月～2023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・薬剤耐性遺伝子の解析

2.1 検体

肺炎球菌の血清型別検査のために、2019年1月～2023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じて当研究所に搬入された71症例のIPD患者由来の分離菌株を検査対象とした。

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) が示した侵襲性肺炎球菌感染症病原体検出マニュアル⁶⁾に従い、10 mM Tris buffer (pH 8.0) 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を用いてDNAを抽出精製した。

2.3 血清型の決定

肺炎球菌の型別は、病原体検出マニュアル⁶⁾に記載されている8つのMultiplex PCR法により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。

2.4 薬剤耐性遺伝子の解析

病原体検出マニュアル⁶⁾に従い、PCG耐性遺伝子については、*pbp1a*、*pbp2x*及び*pbo2b*の3つの遺伝子の変異の有無、マクロライド耐性遺伝子については、*mefA*及び*ermB*の2つの遺伝子の保有状況についてConventional PCR法で調べた。

PCG耐性遺伝子については、3つの遺伝子全てに変異を認めた株をgPRSP、1～2つの遺伝子に変異を認めた株をgPISP、いずれの遺伝子にも変異を認めなかった株をgPSSPとして型別した。gPISPはどの遺伝子に変異が認められたかを括弧で示した。

III 結果

1. 年間患者数の推移

兵庫県におけるIPDの患者報告数をFig.1 に示した。2019年は189人であった患者数は、2020年には半数以下の92人、2022年には62人まで減少したが、2023年には102人と増加に転じた。男女比を見ると、男性の占める割合が2019年は59%、2020年は63%、2021年は74%、2022年は66%、2023年は57%となっており、男性の方が多い傾向がみられた。

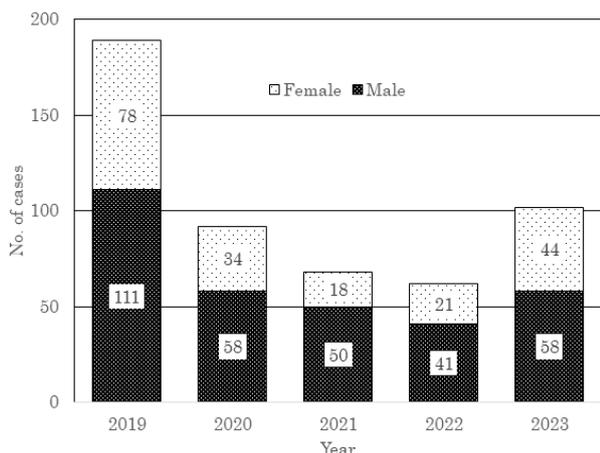


Fig.1 Number of reported invasive pneumococcal disease cases in Hyogo prefecture, 2019-2023

2. 年齢階級別患者分布

IPD患者の年齢階級別患者割合の推移をFig.2に示した。各年とも65歳以上の高齢者の割合が50%以上であり、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いた。

2023年に届け出のあった患者の年齢階級別割合は4歳以下が17% (17人)、5歳から64歳が23% (23人)、65歳以上が61% (62人) であった。

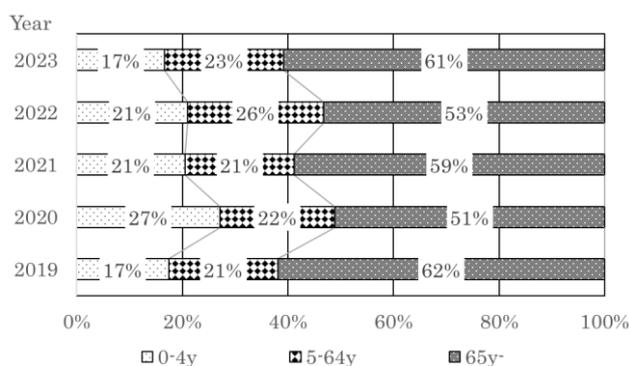


Fig.2 Proportion of reported invasive pneumococcal disease cases by age group in Hyogo prefecture, 2019-2023

3. 年齢群別ワクチン接種履歴

IPD患者の年齢群別ワクチン接種履歴の分布をFig.3に示した。小児では0歳児の72%、1~4歳児の95%がPCV13を3回以上接種していた。一方、65歳以上でワクチン接種歴ありの割合は17%、不明が48%、接種なしが35%であり、小児と比較するとワクチン接種率が低かった。

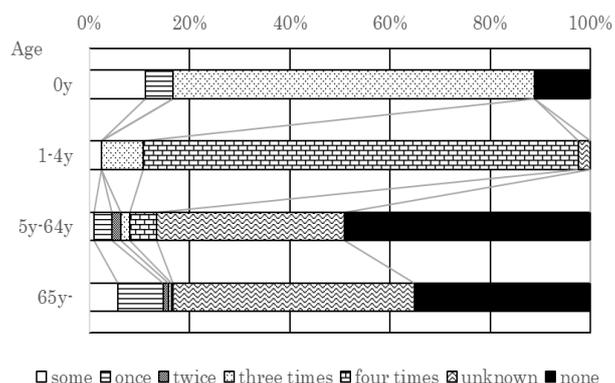


Fig.3 Vaccination career in each age group of invasive pneumococcal disease cases in Hyogo prefecture, 2019-2023

4. 肺炎球菌の血清型分布

2019年1月~2023年12月に当所に搬入された71菌株のMultiplex PCR法による血清型別の分布をFig.4に示した。その結果、70株が19種類の血清型に分類され、1株は型別不能 (UT) であった。このうち、最も多く検出された血清型は10Aが10株 (14%) であり、次いで15A/15Fが9株 (13%)、3及び23Aが8株 (11%)、15B/15C及び24(24A/24B/24F)がそれぞれ5株 (7%) 検出された。

4歳以下の患者では10A及び15B/15Cが5株(21%)と最も多く、65歳以上の患者では3及び23Aが6株 (18%) と最も多くなっていた。

5. 薬剤耐性遺伝子の解析

ペニシリン耐性遺伝子型別の結果をFig.5に示した。gPRSPは15株 (21%)、gPISP (pbp2x+pbp2b) は11株 (15%)、gPISP (pbp2x) は31株 (44%) であり、少なくとも1つの遺伝子に変異が認められた菌株は57株 (80%) であった。血清型別では35B及び15A/15Fの全ての株がgPRSPであり、23Aの1株がgPRSP、7株がgPISP (pbp2x+pbp2b) であった。7F/7A, 12F/(12A/44/46), 7C/(7B/40), 16F, 23B, 31及び38/25F/25Aでは全てがgPSSPであった。

マクロライド耐性に関与する遺伝子 *mefA*, *ermB* の保有状況をFig.6に示した。 *mefA* 及び *ermB* の2つの遺伝子を保有する菌株は3株 (4%)、 *ermB* のみ保有する菌株は40株 (56%)、 *mefA* のみ保有する菌株は10株 (14%) であり、少なくとも1つの耐性遺伝子を保有する菌株は53株 (75%) であった。血清型別では19A, 11A/11Dの株は *mefA*, *ermB* の2つの遺伝子を保有し、16F, 31及び38/25F/25A以外の菌株は少なくとも1つの耐性遺伝子を保有する菌株が存在した。

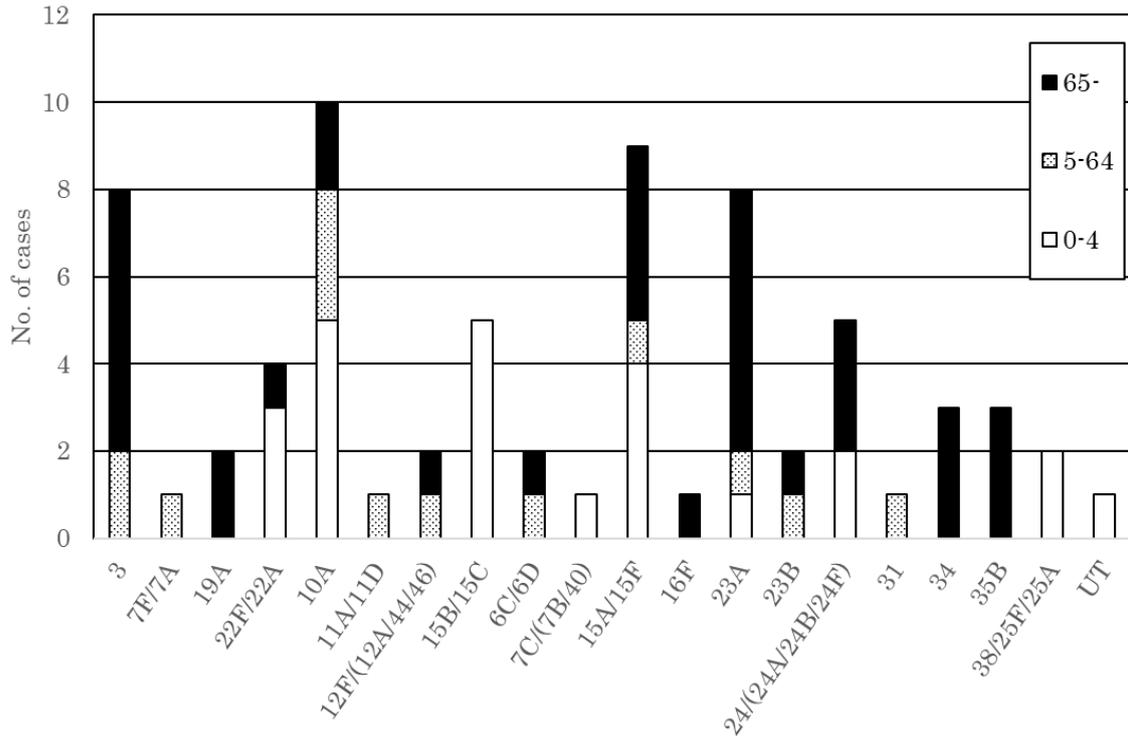


Fig.4 Distribution of the serotypes of causative pneumococcal isolates from 71 invasive pneumococcal disease case in Hyogo prefecture, 2019-2023

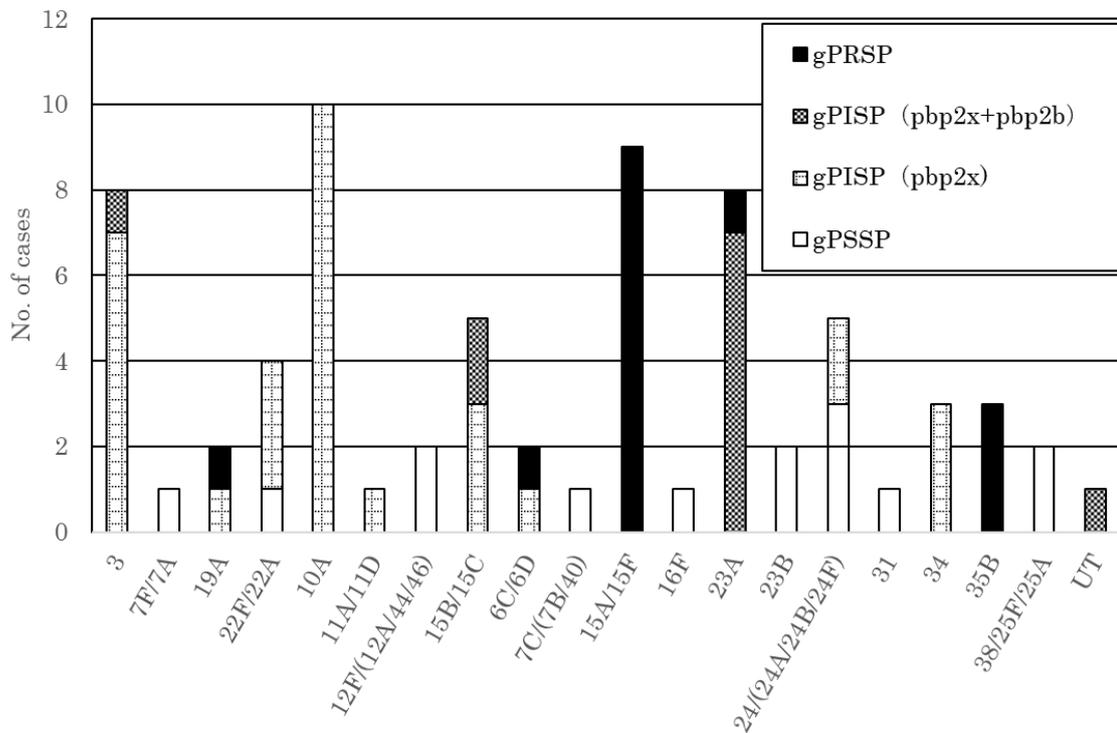


Fig.5 PCG resistance genotypes by *S. pneumoniae* serotypes in Hyogo prefecture, 2019-2023

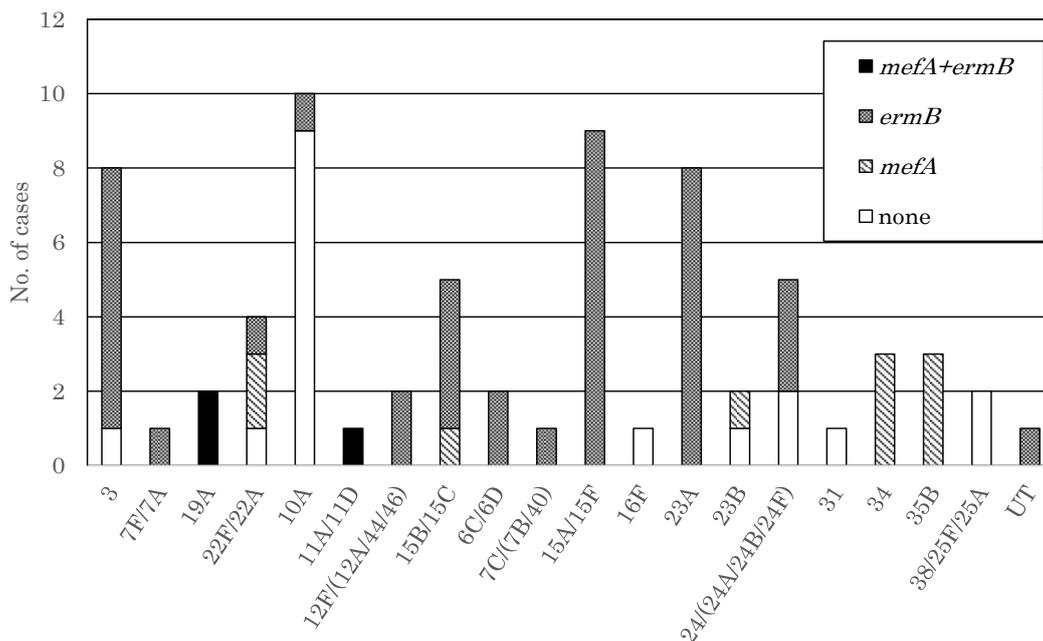


Fig.6 Prevalence of macrolide resistance genes by *S. pneumoniae* serotypes in Hyogo prefecture, 2019-2023

IV 考察

2020年以降世界的にIPDの報告が減少しており²⁾, 兵庫県でも2020年~2022年で顕著にIPDの届出数が減少した。これは新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 流行の影響により, マスク着用や手洗い等の感染症対策の徹底が強化されたことによるものと推測される。2023年の届出数増加は, 同年5月8日にCOVID-19の感染症法上の扱いが全数把握から定点把握に変わり, 人々の生活や行動がCOVID-19流行以前に戻ってきたことに起因すると考えられる。

4歳以下の患者割合は2013年のワクチン接種開始以降, 2018年までは顕著に減少していた⁵⁾が, 2019年~2023年の患者割合はほぼ横ばいであった。今回実施した血清型別では, ワクチン接種率の高い4歳以下のIPD患者からPCV13含有血清型は検出されなかった。このことからPCV13含有血清型から非含有血清型への置換が進行していることが示唆された。

2014~2018年の期間に当所で検出された血清型は11種類であり, 最も多く検出されたのは12F/(12A/44/46)であった⁵⁾。2019~2023年の期間では19種類の血清型が検出され, 兵庫県内で血清型の多様性が増していることが示唆された。また, 4歳以下の患者から10A, 15B/15Cが最も多く検出され, 解析結果から15B/15Cの全ての株がgPISPでありマクロライド耐性遺伝子も保有していることが明らかになった。神戸市でもCOVID-19流行下で5歳

未満での15B, 15Cの検出割合の増加が報告がされており⁷⁾, これらの発生状況に注意が必要と考えられた。2024年10月から小児の定期接種ワクチンがPCV13から10A及び15Bを含む沈降20価肺炎球菌結合型ワクチン(PCV20)へ変更されたため, 今後患者数の減少が期待される一方で, 血清型の動向にも注視する必要がある。

PCG耐性度が高い菌株では複数の*pbp*遺伝子に変異をもつ菌株が多いことが報告されている⁶⁾。今回, 15A/15F及び35Bの全ての菌株がgPRSPであったことから, PCG非感受性であると推測された。これら2つの血清型はPCGだけでなく, メロペネム耐性を示す菌株の割合が他の血清型よりも高いことが報告されており^{4),8)}, 今後も分離状況に注意が必要である。

マクロライド耐性について, *mefA*は薬剤の排出, *ermB*は薬剤の結合能の低下に関与する遺伝子であり, *mefA*は中等度耐性に, *ermB*は高度耐性にそれぞれ寄与している⁹⁾。今回の結果から, これらの遺伝子を少なくとも1つ保有する株が75%を占めたことから, 今回検査した71菌株の多くがマクロライド耐性を獲得していると考えられた。日本では肺炎球菌の8割がマクロライド耐性と報告されており⁹⁾, 本県でも遺伝子の保有状況から同様の傾向が示唆された。

V 結論

COVID-19流行期と重なっていた2020年から2022年

にかけて、IPD患者数は減少していたが、2023年には増加に転じた。

当所に搬入された71菌株についてMultiplex PCR法で血清型を調べた結果、19種類の血清型に分類された。ワクチン接種率の高い4歳以下のIPD患者からPCV13含有血清型は検出されなかったことから、非ワクチン血清型への置換が示唆された。

薬剤耐性遺伝子の検出結果からPCG耐性に関与する遺伝子に変異を有する株が高率に確認された。また、マクロライド耐性遺伝子を保有する株も高率に検出された。

ワクチンの効果の検証及び流行株の把握のためにも、今後も血清型分布及び薬剤耐性遺伝子の保有状況を監視していき、これらの結果を医療機関にもフィードバックしていくことが重要である。

VI 謝 辞

貴重な菌株の収集にご協力いただいた県保健医療部疾病対策課、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.272-284, 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) 国立感染症研究所：肺炎球菌感染症2022年現在. 病原微生物検出情報 (IASR), **44** (1), 1-2 (2023)
- 3) 大竹正悟, 島田智恵, 砂川富正, 新橋玲子, 有馬雄三, 鈴木基, 梶原俊毅, 矢原耕史, 北村徳一, 山岸拓也, 黒須一見, 菅井基行：基幹定点医療機関とJANISにおけるペニシリン耐性肺炎球菌感染症報告の推移. 病原微生物検出情報 (IASR), **44**(1), 16-17 (2023)

- 4) 内谷友美, 奥野ルミ, 有吉司, 田淵優里, 久保田寛頭, 鈴木淳, 貞升健志：東京都内におけるワクチン導入後の侵襲性肺炎球菌感染症由来菌株 の血清型及び薬剤感受性 (2013年~2022年). 感染症誌, **98**, 134-145 (2024)
- 5) 坂野桂, 齋藤悦子, 荻田堅一, 松尾美也子, 秋山由美：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). 兵庫県立健康科学研究所研究報告, **1**, 14-18 (2019)
- 6) 国立感染症研究所：侵襲性肺炎球菌感染症病原体検出マニュアル (2021)
- 7) 小松頌子, 藤永千波, 田中忍, 中西典子：神戸市における侵襲性肺炎球菌感染症の発生動向及び血清型分布: 2016~2023年. 神戸市健康科学研究所報, **52**, 55-58 (2024)
- 8) Nakano, S., Fujisawa, T., Ito, Y., Chang, B., Suga, S., Noguchi, T., Yamamoto, M., Matsumura, Y., Nagao, M., Takakura, S., Ohnishi, M., Ihara, T., Ichiyama, S.: Serotypes, antimicrobial susceptibility, and molecular epidemiology of invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in paediatric patients after the introduction of 13-valent conjugate vaccine in a nationwide surveillance study conducted in Japan in 2012-2014. *Vaccine*, **34**, 67-76 (2016)
- 9) 舘田 一博：市中で広がる耐性菌. 日内会誌, **104**, 572-579 (2015)

(令和7年3月31日受理)