

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461598

研究課題名(和文) 免疫低下を認める小児に対する肺炎球菌ワクチンおよびヒブワクチンの有効性の検討

研究課題名(英文) Analysis of the factor of low immune responses to pneumococcal conjugate vaccine and Hemophilus influenzae type b conjugate vaccine in immunocompromised children

研究代表者

保科 隆之 (HOSHINA, Takayuki)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：30398078

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：免疫不全小児における結合型肺炎球菌ワクチン(PCV)およびインフルエンザ桿菌b型結合ワクチン(Hibワクチン)に対する免疫応答を検討するために、対象とした小児のワクチン接種前後の抗体価およびオプソニン活性(Hibに対しては血清細菌活性)と末梢血リンパ球サブセットを測定したところ、造血幹細胞移植後小児例では、PCV接種後の抗体価およびオプソニン活性が健常小児と比較して有意に低値であり、末梢血中のCD4陽性T細胞数とメモリーB細胞数が有意に少なく、メモリーB細胞数は、乳児のそれに類似していた。この結果から、造血幹細胞移植後の小児では、ワクチン接種スケジュールの再検討が必要であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to investigate the factor of low immune response to pneumococcal conjugate vaccine and Hemophilus influenzae type b conjugate vaccine in immunocompromised children.

We measured anti-pneumococcal IgG antibodies and opsonization index and anti-Hemophilus influenzae type b antibody and serum bactericidal antibody after the vaccinations in immunocompromised children [children who underwent hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) and the patients with immunosuppressive treatments] and immunocompetent children. Anti-pneumococcal IgG antibodies and opsonization index in the patient after HSCT were significantly lower than those in immunocompetent children. In addition, memory B cell and CD4+ T cell counts in the patients after HSCT were lower than those in immunocompetent children, suggesting that these cells might have an important role in the immune response to conjugate vaccine.

研究分野：小児感染症学

キーワード：免疫不全 結合型肺炎球菌ワクチン 免疫応答低下 メモリーB細胞 ヘルパーT細胞

1. 研究開始当初の背景

肺炎球菌とインフルエンザ桿菌 b 型(Hib) は、小児において髄膜炎などの侵襲性感染症の代表的な起炎菌である。これらの予防として 7 価肺炎球菌結合型ワクチン

(pneumococcal conjugate vaccine, PCV7) と Hib ワクチンが開発され、それぞれの侵襲感染症の減少に大きく貢献している。

我が国でも Hib ワクチンは 2008 年より、PCV7 は 2009 年より接種が可能となっている。健常小児に対する有効性は、前述のように証明されているが、原発性免疫不全患者や悪性腫瘍に罹患し、造血幹細胞移植を施行されたり、膠原病などに罹患し免疫抑制療法を施行されている、いわゆる続発性免疫不全状態の小児や、免疫応答が正常産児よりも低下していることが予測される早産児に対する PCV7 および Hib ワクチンの有効性に関する研究は少ない。

我々は、これまで、悪性腫瘍に対して化学療法を施行している小児や早産児に対して、PCV7、Hib ワクチンと同じ不活化ワクチンであるインフルエンザワクチンを接種して有効性を検討した。がん化学療法中の患児においては、血清 IgG 低値群において抗体産生が不良であり、B 細胞の役割が重要であることが示唆された。一方、早産児においては、血清 IgG 低値群でもワクチン接種後の抗体産生は良好であった。原発性免疫不全症例では、T 細胞機能不全を呈する ataxia telangiectasia の患者において PCV7 接種後の抗体産生が不良であったことから、ワクチン接種による宿主側の免疫応答機構に関しては、B 細胞による抗体産生に関連する免疫担当細胞のレポーター解析など詳細な解析を行うことが必要である。

2. 研究の目的

7 価肺炎球菌結合ワクチン(PCV7)接種前後の抗体価とオプソニン活性、インフルエンザ桿菌 b 型結合ワクチン(Hib ワクチン)接種前後の抗体価と血清細菌活性を測定し、それぞれを健常児と免疫不全児および早産児との間で比較し、免疫応答が低下している小児における PCV7 と Hib ワクチンの有効性を検討する。さらに、ワクチン低感受性者の要因を探るために、末梢血リンパ球サブセット(特にメモリー T、B 細胞の割合)を解析する。これらの結果を基に免疫応答が低下している小児への最適なワクチンスケジュールの確立を目指す。

3. 研究の方法

(1) 対象者からの検体採取

PCV7 および Hib ワクチンを接種し、本人またはご家族から同意の得られた小児(免疫不全小児、早産児および健常児)を対象に PCV7 および Hib ワクチン接種前と PCV7 および Hib ワクチン接種初回スケジュール終了 4 週間後と追加接種終了 4 週間後に検

体の採取を行った。接種スケジュールは接種開始月齢によって異なるため(生後 7 か月未満: いずれも初回免疫 3 回、追加免疫 1 回、生後 7 か月以上 12 か月未満: いずれも初回免疫 2 回、追加免疫 1 回、生後 12 か月以上 24 か月未満: PCV7 初回免疫 1 回、追加免疫 1 回、Hib ワクチン 1 回接種のみ、生後 24 か月以上: いずれも 1 回接種のみ)、それぞれのスケジュールごとに比較を行った。

(2) PCV7 前後での抗体価およびオプソニン活性の測定と Hib ワクチン接種前後での抗体価および血清細菌活性の測定

それぞれの項目の測定を行うために、対象者から血液を採取し、血清を分離した。肺炎球菌に関する検査については、PCV7 に含まれている血清型に対する IgG 抗体価とオプソニン活性の測定をそれぞれ行い、Hib に関連する検査については、IgG 抗体価と血清細菌活性の測定をそれぞれ行った。得られた結果を、健常児、免疫不全症例および早産児で比較することに加えて、感染防御レベルに達していない症例数の比較も行った。

(3) リンパ球サブセットの比較

免疫不全症例における免疫応答低下の宿主側の要因として、リンパ球サブセットの異常が考えられたため、ワクチン接種時に血液を採取し、フローサイトメトリーを用いてメモリー B 細胞、メモリー T 細胞の割合およびこれらに関するサブセットを各群間で比較し、これらの結果と各群のワクチン感受性との関連について検討した。

4. 研究成果

研究参加の同意が得られた免疫不全小児は全例 1 歳以上であり、早産児は、いずれも 1 歳未満であったため、前者は 1 歳以上の健常小児との比較を行い、後者は、1 歳未満の正常産児との比較を行った。

(1) PCV7 含有血清型特異的 IgG 抗体価およびオプソニン活性の比較

免疫不全小児を造血幹細胞移植後の児(A 群)、免疫抑制療法中の児(B 群)に分けて、それぞれと健常小児(C 群)を比較した。ワクチン接種前の IgG 抗体価およびオプソニン活性に有意差はなかった。一方、ワクチン接種後の A 群の IgG 抗体価およびオプソニン活性の中央値は、C 群のそれらと比較して有意に低値となった血清型が多かった。B 群と C 群に差はなかった。早産児と正常産児で同様の比較を行ったところ、ワクチン接種前、接種後のいずれにおいても IgG 抗体価およびオプソニン活性の中央値に差はなかった。

1 歳以上の 3 群においては、各血清型の IgG 抗体価とオプソニン活性の感染防御レ

ベル到達率の比較も行った。感染防御レベルは、IgG は長期的な感染防御として推奨されている 1 µg/ml とし、オプソニン活性は 8 と設定した。A 群では、ワクチン接種後の 6B、9V、18C および 23F の IgG 抗体価が感染防御レベルに到達した症例の割合が C 群のそれらと比較して有意に少なくなっていた (図 1)。オプソニン活性についても各血清型の感染防御レベル到達者が A 群では C 群と比較して少ない傾向にあったが、有意差はなかった。B 群と C 群の比較では差はなかった。

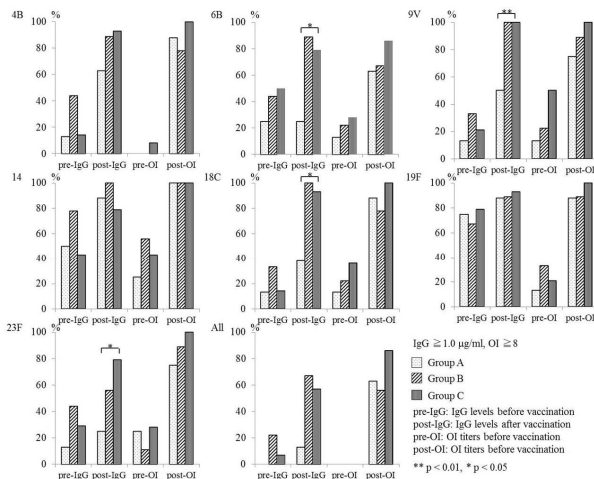


図1 各血清型IgG、オプソニン活性(OI)の感染防御レベル到達率

(2) Hib 特異的 IgG 抗体価および血清細菌活性の比較

(1)と同様に1歳以上の対象者を3群に1歳未満の対象者を2群に分けて比較を行った。IgG 抗体価については、A 群で C 群よりも中央値が低値であったが、有意差はなかった。B 群と C 群の IgG 抗体価の中央値に差はなかった。1 歳未満の乳児においては、いずれも 2 群間で差はなかった。

(3) リンパ球サブセットの比較

各群の白血球数およびリンパ球数を比較したところ、A 群では CD4 陽性 T 細胞とメモリー B 細胞を示す IgD 陽性および IgD 陰性 CD27 陽性 B 細胞数が C 群と比較して有意に少なくなっていた。A 群のメモリー B 細胞数は、乳児のそれに類似していた。B 群では B 細胞数は減少していたが、メモリー B 細胞数の有意な減少はなかった。

1 歳以上の症例においては、IgG 抗体価とオプソニン活性の両方が感染防御レベルに到達した症例群とそれ以外の症例群の CD4 陽性 T 細胞数およびメモリー B 細胞数を比較も行った。各細胞数が、全症例の中央値を上回った症例の割合で 2 群を比較した。どの血清型においても比較した細胞数は、感染防御レベル到達者で多い傾向があったが、特にメモリー B 細胞数は、感染防御レベル到達者で有意に細胞数の中央値を超えている症例が多くなっていた (表 1)。

表1 感染防御レベル到達者と未到達者のCD4陽性T細胞数およびメモリーB細胞数

	Responder	Non-responder	P値
6B	n=19	n=12	
CD4 ⁺ T cells > 697 /µl	11 (58%)	5 (42%)	0.473
IgD ⁺ CD27 ⁺ B cells > 12 /µl	14 (74%)	2 (17%)	0.003
IgD ⁺ CD27 ⁺ B cells > 44 /µl	14 (74%)	2 (17%)	0.003
9V	n=26	n=5	
CD4 ⁺ T cells > 697 /µl	14 (54%)	1 (20%)	0.333
IgD ⁺ CD27 ⁺ B cells > 12 /µl	16 (62%)	0 (0%)	0.018
IgD ⁺ CD27 ⁺ B cells > 44 /µl	15 (58%)	1 (20%)	0.172
18C	n=23	n=8	
CD4 ⁺ T cells > 697 /µl	13 (57%)	3 (38%)	0.433
IgD ⁺ CD27 ⁺ B cells > 12 /µl	15 (65%)	1 (13%)	0.016
IgD ⁺ CD27 ⁺ B cells > 44 /µl	14 (61%)	2 (25%)	0.113
23F	n=20	n=11	
CD4 ⁺ T cells > 697 /µl	12 (60%)	4 (36%)	0.273
IgD ⁺ CD27 ⁺ B cells > 12 /µl	12 (60%)	4 (36%)	0.273
IgD ⁺ CD27 ⁺ B cells > 44 /µl	12 (60%)	4 (36%)	0.273

A・B・C群の症例で比較 Responder: IgG ≥ 1.0 µg/mLかつOI ≥ 8と定義

(1)から(3)によって得られた結果から、造血幹細胞移植後の症例では、PCV7 接種後の免疫応答が健常児と比較して低下しており、その要因として、CD4 陽性 T 細胞数とメモリー B 細胞数の減少が考えられた。特に、メモリー B 細胞数は、乳児のそれに類似しており、結合型ワクチンに対する免疫応答低下を補うためには、基礎免疫を構築する際に、乳児と同様に複数回のワクチン接種が必要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

Hoshina T, Ohga S, Fujiyoshi J, Nanishi E, Takimoto T, Kanno S, Nishio H, Saito M, Akeda Y, Oishi K, Hara T:

Memory B cell pools predict the immune response to pneumococcal conjugate vaccine in immunocompromised children. Journal of Infectious Diseases 216 (5): 848-855, 2016 査読有

Hoshina T, Takimoto T, Nanishi E, Nishio H, Kusuhara K, Hara T:

The uselessness of procalcitonin in the diagnosis of focal bacterial central nervous system infection. Journal of Infection & Chemotherapy 21 (8): 620-622, 2015 査読有

Yamamoto N, Sato K, Hoshina T, Kojiro M, Kusuhara K:

Utility of ferritin as a predictor of the patients with Kawasaki disease refractory to intravenous immunoglobulin therapy. Modern Rheumatology 25 (6): 898-902, 2015 査読有

Hoshina T, Nanishi E, Kanno S, Nishio H, Kusuhara K, Hara T:

The utility of biomarkers in differentiating bacterial from non-bacterial lower respiratory tract infection in hospitalized children:

Difference of the diagnostic performance between acute pneumonia and bronchitis. Journal of Infection & Chemotherapy 20 (10): 616-620, 2014 査読有

Onoyama S, Hoshina T, Honjo S, Ihara K, Hara T:

Respiratory syncytial virus infection in children with severe motor and intellectual disabilities.

European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases 32 (10): 1353-1357, 2013 査読有

Ishimura M, Yamamoto H, Mizuno Y, Takada H, Goto M, Doi T, Hoshina T, Ohga S, Ohshima K, Hara T:

A non-invasive diagnosis of histiocytic necrotizing lymphadenitis by means of gene expression profile analysis of peripheral blood mononuclear cells.

Journal of Clinical Immunology 33 (5): 1018-1026, 2013 査読有

[学会発表](計 11 件)

保科隆之、名西悦郎、西尾壽乗 :

中枢神経系細菌感染症の診断および重症度・予後予測に対するプロカルシトニンの有用性

第 89 回日本感染症学会 2015.4.16-17 京都国際会館(京都市)

保科隆之、瀧本朋子、名西悦郎、西尾壽乗、原 寿郎 :

小児気管支炎症例における procalcitonin 測定の有用性 - 肺炎との違いおよび細菌性とウイルス性による違いの検討 -

第 118 回日本小児科学会 2015.4.17-19 大阪国際会議場(大阪市)

保科隆之、瀧本朋子、名西悦郎、西尾壽乗、原 寿郎 :

小児気管支炎症例における procalcitonin 測定の有用性 - 肺炎との違いおよび細菌性とウイルス性による違いの検討 -

第 85 回日本感染症学会西日本地方会 2015.10.15-17 奈良春日野国際フォーラム(奈良市)

保科隆之、大賀正一、名西悦郎、神野俊介、西尾壽乗、齋藤光正、原 寿郎 :

免疫不全小児の結合型肺炎球菌ワクチンに対する免疫応答低下の要因の検討

第 47 回日本小児感染症学会 2015.10.31-11.1 ザ・セレクトン福島(福島市)

Hoshina T, Onoyama S, Honjo S, Ihara K, Hara T:

Respiratory syncytial virus infection in children with severe motor and intellectual disabilities.

The 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. May 10-13, 2014, Barcelona, Spain.

保科隆之、小野山さかの、本荘 哲、井

原健二、原 寿郎 :

重症心身障害児における RS ウイルス感染症に関する検討

第 88 回日本感染症学会 2014.6.18-20 ヒルトン福岡シーホーク(福岡市)

保科隆之、小川将人、楠原浩一 :

任意接種ワクチンに対する医師の意識調査の結果に基づいた接種率向上のために必要な施策の検討

第 46 回日本小児感染症学会 2014.10.18-19 京王プラザホテル(東京都新宿区)

Hoshina T, Takada H, Mihara Y, Kusuhara K, Hara T:

Clinical and host genetic characteristics of the patients with BCG osteomyelitis.

International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance 2013. February 15-18, 2013, Wien, Austria.

保科隆之、小野山さかの、本荘 哲、原 寿郎 :

重症心身障害児における RS ウイルス感染症に関する検討

第 116 回日本小児科学会 2013.4.19-21 広島国際会議場(広島市)

保科隆之、名西悦郎、西尾壽乗、原 寿郎 :
細菌感染症鑑別における Procalcitonin の有用性の検討

第 87 回日本感染症学会 2013.6.5-6 パシフィコ横浜(横浜市)

保科隆之、瀧本朋子、名西悦郎、西尾壽乗、原 寿郎 :

小児気管支炎症例における procalcitonin 測定の有用性 - 肺炎との違いおよび細菌性とウイルス性による違いの検討 -

第 45 回日本小児感染症学会 2013.10.26-27 札幌コンベンションセンター(札幌市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

保科 隆之 (HOSHINA Takayuki)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号 : 30398078

(2) 研究分担者

西尾 壽乗 (NISHIO Hisanori)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号 : 00507783

(3) 連携研究者

大賀 正一 (OHGA Shiouichi)

山口大学・医学部・教授

研究者番号 : 60233053

大石 和徳 (OISHI Kazunori)

国立感染症研究所・感染症疫学センター・センター長

研究者番号 : 80160414