

12. ワクチニアウイルス、ポックスウイルスの実験室内感染予防のためのワクチン接種に関する施策の考え方と実施方法に関する討議（出張報告書）

森川 茂（国立感染症研究所ウイルス第1部外来性ウイルス室長）

出張期間．平成12年3月26～30日

出張先． 米国 CDC

痘瘡が根絶されて種痘が行われなくなったが、ワクチニアウイルス等を用いた組換え DNA 実験が広く行われ、種痘歴のない若年層の研究従事者に対するワクチン接種の必要性、免疫グロブリンの備蓄の必要性が議論されている。また、アフリカでのサルポックスウイルスのヒトへの大規模な感染が起きると、このような地域への渡航者への痘瘡ワクチンの必要性も議論されている。しかし、わが国の備蓄痘瘡ワクチンは既に有効期限切れとなっており、また免疫グロブリンの備蓄もない。今回、米国 CDC の Poxvirus 部門長の Dr J Espositi さんから、この分野で最も対策の進んでいる米国の現状に関する以下の情報を得た。

1) 種痘および対象者

米国では、CDC の方針では、ワクチニアウイルスの実験従事者は 10 年毎、モンキーポックス実験従事者は 3 年毎、痘瘡ウイルス実験者は毎年、それぞれ種痘することになっている。一方、大学および民間研究所に対しては、ワクチニアウイルスの実験従事者は 10 年毎に種痘することを勧告している。

2) 米国の痘瘡ワクチン備蓄量および今後の生産計画

現在、全世界の痘瘡ワクチン備蓄量は、6000 万人分であるが、米国ではそのうち 1540 万人分を備蓄している。これらは、上記の対象者への種痘に用いられている。しかし、痘瘡ウイルスを用いたハイオテロリズム対策を考慮すると、米国では今後 4000 万人分の備蓄が必要との見解が出されており、そのために NYCBH 株由来の Wyeth 株を Vero 細胞または、CEF 細胞に順化して、新たに細胞培養ワクチンを生産する方向で準備が進んでいる。有効期限等の観点から、1000 万人分を 5 ないし 10 年毎に生産することで総量 4000 万人分を確保する計画である。

3) 抗ワクチニア免疫グロブリンの確保

免疫グロブリンは、種痘後まれに見られる、progressive vaccinia, generalized vaccinia, autoinoculation, 種痘後脳炎等の副反応が見られた場合に用いられるもので、米軍では、1990 年までは兵士の種痘を行ってきたが、種痘後の兵士のプラズマが保存されている。これから免疫グロブリンへの精製が十分行われていなかったため、今後民間会社に委託して免疫グロブリン製剤として確保する予定である。

4) 米国での、痘瘡ウイルス研究プロジェクト

WHO/CDS/CSR/2000 1, WHO advisory committee on variola virus research report of a WHO meeting に基づき、2002 年末までの期限付きで以下の研究プロジェクトが行わ

れている。

- i) 痘瘡ウイルスのゲノムの塩基配列
現在まで痘瘡ウイルスの遺伝子配列は、Bangladesh 1975, India 1967, Gambia 1966 の全塩基配列と Somalia 1977, Congo 1970, Harvey 1944, Sierra Leone and Butler 1952 の部分配列が決定されているが、今後さらに Congo 1070, Somalia 1977 などの株の全塩基配列の決定を行う。その他のいくつかの株に関しては、DNA clone library を作製する。
- ii) 痘瘡ウイルスの診断法
PCR 法等の迅速診断法の開発と評価を行っている。Variola major と variola minor に関しては、これまでにウイルスゲノム両端にそれぞれ variola major に数百 bp の欠損が共通して同定されており、この領域を検出する PCR 法により簡便に識別できることを明らかにしている。また、poxvirus 共通の複数の primer sets を用いて、6-12kbp の PCR 産物で全ゲノムをカッピングして、各フラグメントの制限酵素地図を比較することにより、ウイルスの種類、株まで同定できる系を構築している。この系で既に 50 種類の variola virus をはじめ、monkeypox や他のオルソポックスウイルスのデータを得ている。
- iii) 抗ウイルス剤の開発
現在、DNA 合成酵素阻害剤である Cidofovir が細胞レベル、動物実験レベルで有効性が認められている。今後 15 種類の薬剤に関して、有効性の検討を行う予定である。
- iv) 動物モデル
現在まで、カニクイサルへの痘瘡ウイルス接種実験で 60% の死亡が確認されている。動物モデルにより、抗ウイルス剤の有効性、ワクチン効果、迅速診断法の評価を行う予定である。
- v) その他
より安全性の高いワクチンの開発、ウイルス中和活性をもつモノクローナル抗体の作製とヒト型抗体への変換等、必要と考えられる実験があるが、実験期間の制約から可能か否かはわからない。

論文発表

論文発表

- 1 Watanabe T, Morikawa S, Suzuki K, Miyamura T, Tamaki K, Ueda Y. Two major antigenic polypeptides of *Molluscum Contagiosum* virus. *J Infect Dis* 177: 284-292, 1998
- 2 Okada H, Morikawa S, Tashiro M. HIV-1 Nef binding protein expressed on the surface of murine blood cells. *Med Microbiol Immunol* 186: 201-207, 1998
- 3 Yasuda S, Iwasaki M, Oka S, Naganawa S, Nakasone T, Honda M, Sata T, Kojima A, Matsuda S, Takemori T, Tsunetsugu-Yokota Y. Detection of HIV-Gagp24-specific antibodies in sera and saliva of HIV-1-infected adults and in sera of infants born to HIV-1-infected mothers. *Microbiol Immunol* 42: 305-311, 1998
- 4 Tokunaga K, Kiyokawa E, Nakaya M, Otsuka N, Kojima A, Kurata T, Matsuda M. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 virion entry by dominant-negative Hck. *J Virol* 72: 6257-6259, 1998
- 5 Tokunaga K, Kojima A, Kurata T, Ikuta K, Akari H, Koyama H, Kawamura M, Inubushi R, Shimano R, Adachi A. Enhancement of human immunodeficiency virus type 1 infectivity by Nef is producer cell-dependent. *J Gen Virol* 78: 2447-2453, 1998
- 6 Tokunaga K, Kojima A, Kurata T, Ikuta K, Inubushi R, Shimano R, Kawamura M, Akari H, Koyama H, Adachi A. Producer cell-dependent requirement of the Nef protein for efficient entry of HIV-1 into cells. *Biochem Biophys Res Commun* 250: 565-568, 1998
- 7 Tamura S, Iwasaki T, Thompson AH, Asanuma H, Chen Z, Suzuki Y, Aizawa C, Kurata T. Antibody-forming cells in the nasal-associated lymphoid tissue during primary influenza virus infection. *J Gen Virol* 79: 291-299, 1998
- 8 Saijo M, Suzutani T, Itoh K, Hirano Y, Muron K, Nukura M, Morikawa S. Nucleotide sequence of thymidine kinase gene of sequential acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1 recovered from a child with Wiskott-Aldrich syndrome: evidence for reactivation of acyclovir-resistant herpes simplex virus. *J Med Virol* 58(4): 387-393, 1999
- 9 Amano H, Morikawa S, Shimizu H, Shoji I, Kurosawa D, Matsuura Y, Miyamura T, Ueda Y. Identification of the canarypox virus thymidine kinase gene and insertion of foreign genes. *Virology* 256(2): 280-290, 1999
- 10 Tokunaga K, Ikuta K, Adachi A, Matsuda M, Kurata T, Kojima A. The cellular kinase binding motifs (PxxP and RP) in human immunodeficiency virus type 1 Nef protein are dispensable for producer cell-dependent enhancement of viral entry. *Virology* 257: 285-289, 1999
- 11 Mochizuki N, Otsuka N, Matsuo K, Shino T, Kojima A, Kurata T, Sakai K, Yamamoto N, Isomura S, Dhole TN, Takebe Y, Matsuda M, Tatsumi M. An infectious DNA clone of HIV type 1 subtype C. *AIDS Res Human Retroviruses* 15: 1321-1324, 1999
- 12 Iwasaki T, Tamura S, Kumasaka T, Sato Y, Hasegawa H, Asanuma H, Aizawa S, Yanagihara R, Kurata T. Exacerbation of influenzavirus pneumonia by intranasal administration of surfactant in a mouse model. *Arch Virol* 144: 675-685, 1999
- 13 Chen A, Matsuo K, Asanuma H, Takahashi H, Iwasaki T, Suzuki Y, Aizawa C, Kurata T, Tamura S. Enhanced protection against a lethal influenza virus challenge by immunization with both hemagglutinin- and neuraminidase-expressing DNAs. *Vaccine* 17: 653-659, 1999

- 14 Hagiwara Y, Komase K, Chen Z, Matsuo K, Suzuki Y, Aizawa C, Kurata T, Tamura S. Mutants of cholera toxin as an effective and safe adjuvant for nasal influenza vaccine. *Vaccine* 17: 2918-2926, 1999.
- 15 Chen Z, Yoshikawa T, Kadowaki S, Hagiwara Y, Matsuo K, Asanuma H, Aizawa C, Kurata T, Tamura S. Protection and antibody responses in different strains of mouse immunized with plasmid DNAs encoding influenza virus haemagglutinin, neuraminidase and nucleoprotein. *J Gen Virol* 80: 2559-2564, 1999.
- 16 Chen Z, Kadowaki S, Hagiwara Y, Yoshikawa T, Matsuo K, Kurata T, Tamura S. Cross-protection against a lethal influenza virus infection by DNA vaccine to neuraminidase. *Vaccine* 18: 3214-3222, 2000.
- 17 Yoshikawa T, Uchida T, Naito S, Horino A, Taneichi M, Kato H, Konuro K, Nakano Y, Mori M, Nishinohara S, Chiba J, Kurata T, Tamura S. Suppression of specific IgE antibody responses by liposome-conjugated ovalbumin in mice sensitized with ovalbumin via the respiratory tract. *Int Arch Allergy Immunol* 121: 108-115, 2000.
- 18 Murakami M, Hoshikawa Y, Satoh Y, Ito H, Tauma M, Okinaga K, Miyazawa Y, Kurata T, Saireni T. Tumorigenesis of Epstein-Barr Virus-Positive Epithelial Cell Clines Derived from Gastric Tissues in the SCID Mouse. *Virology* 277: 20-26, 2000.