

(7) ELISA 法による肺炎球菌血清型特異的 IgG 定量。ロンドン大学 WHO Reference Laboratory で使われている ELISA を導入した。標準血清は米国 CDC から供給されたヒト血清であるが、今後の供給が保証されないので、動物の免疫血清と酵素標識プロテイン G を使う系を考えている。感染防御レベルについては今後の課題である。

(8) E 型肝炎抗体検出系の開発

組換えバキュロウイルスを用いて E 型肝炎ウイルスの中空粒子を作製し、それを抗原とする ELISA 系を作った。これを使って血清診断と血清疫学調査ができる。E 型肝炎の 3 割は海外渡航歴がなかった。また全年齢の抗体保有率は 5.4% で、地域差があった。

(9) ヒトパピローマウイルス感染中和抗体について。パピローマウイルスの L1/L2 カプシド蛋白でウイルス様粒子を作ると、型共通の中和抗体を作らせるワクチンとなり得る。中和抗体活性は、ウイルス様粒子に β ガラクトシダーゼ遺伝子 DNA を取り込ませた偽ウイルスを使って測定できる。

(10) ヒトモノサイト株化細胞を用いた新しい発熱性物質試験法

生物製剤中のエンドトキシンの定量に有用なヒト単球株化細胞を見つけた。この細胞を使って、ワクチンのエンドトキシン安全性を簡便に調べることができるかもしれない。この演題は抗体とは関係ないが、ワクチン安全性の研究を臨床家に紹介する目的で話していただいた。

発表文献

- 1) Yoshikawa T, Suzuki Y, Nomoto A, Sata T, Kurata T, Tamura S. Antibody responses and protection against influenza virus infection in different congenic strains of mice immunized intranasally with adjuvant-combined A/Beijing/262/95 (H1N1) virus hemagglutinin or neuraminidase. *Vaccine* 21,60-66, 20002
- 2) Takeda Y, McGhee JR, Chiba J, Sata T, Kurata T, Tamura S. Characterization of protective immune responses induced by nasal influenza vaccine containing mutant cholera toxin as a safe adjuvant (CT112K). *Vaccine* 20,3443-3455, 2002. R
- 3) Asahi Y, Yoshikawa T, Watanabe I, Iwasaki T, Hasegawa H, Sato Y, Shimada S, Nanno M, Matsuoka Y, Ohwaki M, Iwakura Y, Suzuki Y, Aizawa C, Sata T, Kurata T, Tamura S. Protection against influenza virus infection in polymeric Ig receptor knockout mice immunized intranasally with adjuvant-combined vaccines. *J Immunol* 168,2930-2938, 2002
- 4) Hasegawa H, Kadowaki S, Watanabe I, Aizawa H, Takahashi H, Iwasaki T, Tamura S, Kurata T, Sata T. Persistent infection of influenza virus in irradiated mice and its prevention by intranasal vaccination. *Vaccine* 20,1050-1057, 2002
- 5) Sakaguchi M, Nakayama T, Kaku H, Taniguchi K, Saito S, Kimura A, Inouye S.: Analysis of HLA in children with gelatin allergy. *Tissue Antigens* 59: 412-416, 2002.
- 6) Hori H, Hattori S, InouyeS, Kimura A, Irie S, Miyazawa H, Sakaguchi M.: Analysis of major epitope of $\alpha 2$ chain of bovine type I collagen in children with bovine gelatin allergy. *J Allergy Clin Immunol* 110:652-657, 2002.
- 7) Yamamoto A, Nagata N, Ochiai M, Kataoka M, Toyozumi H, Okada K, Horiuchi Y.: Enhanced sensitisation of mice with diphtheria tetanus acellular pertussis vaccine to local swelling reaction to the booster immunisation. *Vaccine* 20:3088-3094, 2002.
- 8) Nakayam T, Zhou J, Fujino M.: Current status of measles in Japan. *J Infect Chemother* 9:1-7, 2003
- 9) 周 剣恵、藤野元子、伊能容子、熊田 篤、岩田 敏、中山哲夫：麻疹流行株の変異。 *小児感染免疫* 14: 109-115, 2002

低アレルゲン性ゼラチン開発のための ゼラチンのIgE抗体結合エピトープの解析

阪口 雅弘（国立感染症研究所免疫部） 宮沢 博（杏林大学）

堀 久江（東京医科歯科大学難治研） 服部 俊治、入江 伸吉（ニッピ）

井上 栄（大妻大学）

【目的】

日本において生ワクチンや不活化ワクチン接種後にアナフィラキシーを起こす例があり、ワクチンに含まれるゼラチンが原因であることが明らかになった(1-4)。その発生率は100万接種あたりで4-10であった(5)。また、日本においてゼラチンが食事性アレルギーの原因となることも報告した(6)。また、エリスロポエチン製剤や座薬投与後のアナフィラキシーもゼラチンが原因であることが判った(7,8)。I型コラーゲン α 2鎖がゼラチンアレルギーの主要アレルゲンとなっていることも判った(9)。最近、米国においても、ワクチン接種後のアナフィラキシーの原因アレルゲンはゼラチンであることがCDCの調査で明らかになった(10)。世界的にゼラチンを含むワクチンおよび薬剤の安全性を確保するために、低アレルゲン性ゼラチンの開発が急務となっている。本研究において低アレルゲン性ゼラチンの開発の基礎的な研究として、ゼラチンの主要アレルゲンのI型コラーゲン α 2鎖のIgE抗体結合エピトープの解析を行ったので報告する。

【材料と方法】

患者：ゼラチンを含んでいるワクチン接種後、アナフィラキシーを含むアレルギー性反応を起こした小児15例から血液が得られた。対照としてワクチン接種後、アレルギー性反応を起こさなかった小児26例から血液が得られた。

IgE抗体の測定：蛍光ELISA法にてコラーゲンおよび各に対するIgE抗体を用いて測定した(11)。

ELISA inhibition法：コアのエピトープを決定するのにELISA inhibition法を用いた(12)。

組み換え蛋白の作製：I型コラーゲン α 2鎖のフラグメントの組み換え蛋白の作製は以前報告した方法を用いた(12)。

【結果】

ワクチン接種後のアナフィラキシーの原因アレルゲンがコラーゲンI型 α 2鎖が主要アレルゲンであることが判っている。より安全な低アレルゲン性のゼラチンを開発するために、 α 2鎖内のIgE-B細胞エピトープの解析を行った。まず、 α 2鎖cDNAをクローニングして(13)、その α 2鎖を6つに分けて、組換え蛋白を作成し(Fig 1A)、IgE抗体をELISA法で測定した。No. 1から6までの組換え蛋白のうち、No. 3の蛋白に15例中13例のゼラチンアレルギー患者血清中のIgEが反応した(Table 1)。さらに詳しい解析を行うためにNo. 3の蛋白を3a, 3b, 3cの3つに分けて組み換え蛋白をアレルゲン性を検討したところ、3aの強いアレルゲン性があることが判った(Fig 2)。次にこの3aをさらに3a-1, 3a-2, 3a-3と3つの組み換え蛋白を作製し(Fig 1B)、アレルゲン性を検討した。3a-3に強いアレルゲン性が認められた(Fig 3)。さらに合成ペプチドを使ったELISA inhibition法を用いてコア部分のエピトープを解析した(Table 2)。その結果から**485 Ile-Pro-Gly - Glu-Phe-Gly-Leu- Pro- Gly-Pro 494**が主要なIgE結合エピトープであることが判った。

【考察】

本研究において、ゼラチンの主要アレルゲンであるコラーゲンI型 α 2鎖の主要なIgE結合エピトープが判った。このエピトープは以下の10個のアミノ酸から構成されている。人のコラーゲンのシーケンスと比較したところ、485IleがLeuに、486ProがHisになっていた。他の動物のコラーゲンのアミノ酸シーケンスと比較したところ、これと同じシーケンスはなかった。本研究で明らかになったIgEエピトープのアミノ酸シーケンスを切断する酵素を調べたところ、ペプシンにより切断できることが判った(Fig 4)。現在、ペプシン酵素を利用した低アレルゲン

ゼラチン作製の検討を行っている。米国においても、ワクチン接種後のアナフィラキシーの原因アレルゲンはゼラチンであることが、明らかになった。そのため、現在、低アレルゲン性のゼラチンの開発が急務となっている。特に米国のワクチンは低開発国向けに輸出されているので、ワクチンの安定性の保持は重要な課題になっている。今後、本研究においてワクチンの安定性を保持した低アレルゲン性ゼラチンの開発を行なう予定である。

【文献】

1. Sakaguchi M, Ogura H, Inouye S. :IgE antibody to gelatin in children with immediate-type reactions to measles and mumps vaccines. *J Allergy Clin Immunol* 96: 563-565, 1995.
2. Nakayama T, Aizawa C, Kuno-Sakai H.: A clinical analysis of gelatin allergy and determination of its causal relationship to the previous administration of gelatin-containing a cellular pertussis vaccine combined with diphtheria and tetanus toxoids. *J Allergy Clin Immunol* 103: 321-325, 1999.
3. Taniguchi K, Fujisawa T, Ihara T, Kamiya H. : Gelatin-induced T-cell activation in children with nonanaphylactic-type reactions to vaccines containing gelatin. *J Allergy Clin Immunol* 102: 1028-1032, 1998.
4. Sakaguchi M, Inouye S.:Systemic allergic reactions to gelatin included in vaccines as a stabilizer. *Jpn J Inf Dis* 53:189-195, 2000.
5. Sakaguchi M, Nakayama T, Fujita H, Toda M, Inouye S.:Minimum estimated incidence in Japan of anaphylaxis of live virus vaccines including gelatin. *Vaccine* 19:431-436, 2000.
6. Sakaguchi M, Nakayama T, Inouye S. :Food allergy to gelatin in children with systemic immediate-type reactions including anaphylaxis to vaccines. *J Allergy Clin Immunol* 98: 1058-1061, 1996.
7. Sakaguchi M, Kaneda H, Inouye S.: A case of anaphylaxis to gelatin included in erythropoietin products. *J Allergy Clin Immunol* 103: 349-350,1999.
8. Sakaguchi, M. Inouye S. :Anaphylaxis to gelatin containing rectal suppositories. *J Allergy Clinical Immunol* 108: 1033-1034, 2001.
9. Sakaguchi M, Hori H, Hattori S, Irie S, Imai A, Yanagida M, Miyazawa H, Toda M, Inouye S.:IgE reactivity to alpha1 and alpha2 chains of bovine type I collagen in children with bovine gelatin allergy. *J Allergy Clin Immunol* 104:695-699, 1999.
10. Pool V, Braun MM, Kelso JM, Mootrey G, Chen RT, Yunginger JW, Jacobson RM, Gargiullo PM.: Prevalence of anti-gelatin IgE antibodies in people with anaphylaxis after measles -mumps-rubella vaccine in the United State. *Pediatrics* 110:e71, 2002.
11. Sakaguchi M, Toda M, Ebihara T, Irie S, Hori H, Imai A, Yanagida M, Miyazawa H, Ohsuna H, Ikezawa Z, Inouye S.:IgE antibody to fish gelatin (type I collagen) in patients with fish allergy. *J Allergy Clin Immunol* 106:579-584, 2000.
12. Hori H, Hattori S, InouyeS, Kimura A, Irie S, Miyazawa H, Sakaguchi M.: Analysis of major epitope of $\alpha 2$ chain of bovine type I collagen in children with bovine gelatin allergy. *J Allergy Clin Immunol* 110:652-657, 2002.
13. Shirai T, Hattori S, Sakaguchi M, InouyeS, Kimura A, Ebihara T, Irie S, Nagai Y, Hori H. : The complete cDNA coding sequence for the bovine pro $\alpha 2(I)$ chain of type I procollagen. *Matrix Biol* 17:85-88, 1998.

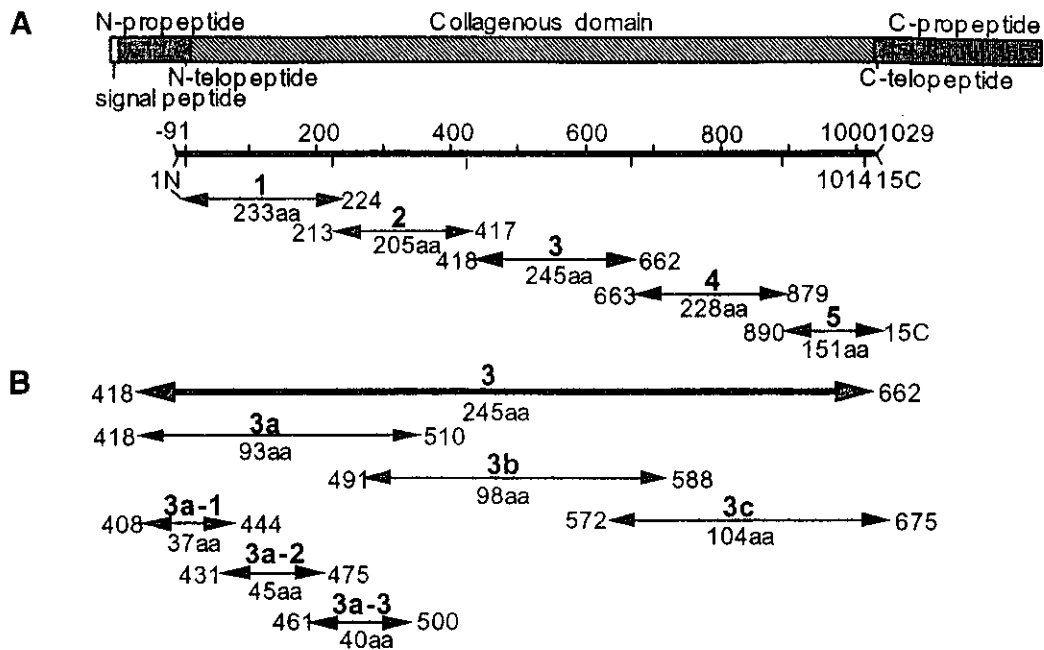


FIG 1. Schematic presentation of recombinant proteins of bovine pro- $\alpha 2(I)$ chain: **A**, 5 recombinant proteins covering the collagenous domain and both telopeptides; **B**, 6 recombinant proteins covering the 418Gly-675Ser and 408Lys-500Glu residues of the $\alpha 2(I)$ chain. The numbers above the amino acid sequences represent the number from the N-terminus of the pepsin-treated type I collagen.¹⁸ The first amino acid position of the collagenous domain corresponded to the 89Gly residue of the pro- $\alpha 2$ chain.¹⁵ 1N-9N, N-telopeptide; 1C-15C, C-telopeptide.

TABLE I. Reactivity of antigelatin IgE to recombinant proteins for $\alpha 2(I)$

Patient no.	Type I collagen*	IgE reactivity to:				
		No. 1, 1N-224	No. 2, 213-417	No. 3, 418-662	No. 4, 663-890	No. 5, 879-15C
1	2800*	-†	-	+++	-	±
2	2116	-	-	+++	±	±
3	1494	-	-	+++	-	-
4	834	-	-	+++	+	-
5	1833	-	-	+++	-	-
6	2455	-	±	+++	-	-
7	1773	-	±	+++	-	±
8	868	-	±	+++	-	±
9	1019	-	+++	++	-	-
10	2600	-	-	+	++	-
11	1152	-	+	+	±	±
12	1820	-	+	+	+	-
13	814	-	+	+	-	-
14	772	-	+++	±	+	+++
15	2179	-	++	-	-	-

*Levels of IgE to type I collagen are expressed as FU.

†Results are expressed as a percentage of the binding of IgE to each recombinant protein compared with that to bovine type I collagen: +++ ≥75%, 75% > ++ ≥50%, 50% > + ≥25%, 25% > ± ≥5%, - <5%.

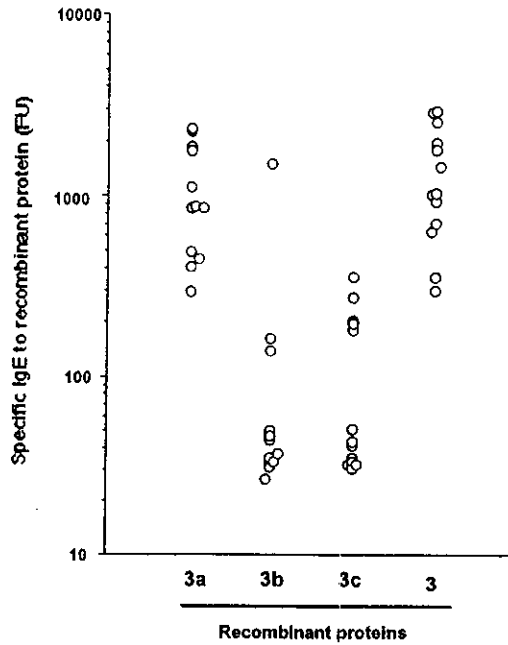
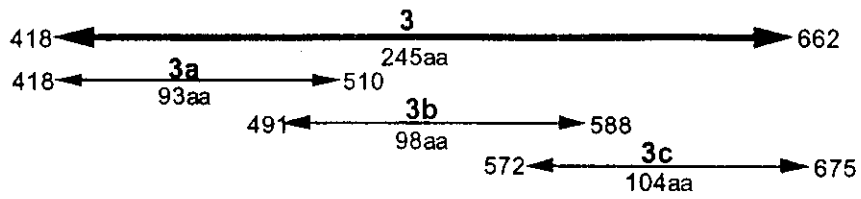


FIG 2. IgE reactivity to 3 overlapping recombinant proteins covering residues 418Gly-675Ser of the bovine $\alpha 2(I)$ chain. 3a, 418Gly-510Ala; 3b, 491Leu-588Pro; 3c, 572Leu-675Ser.

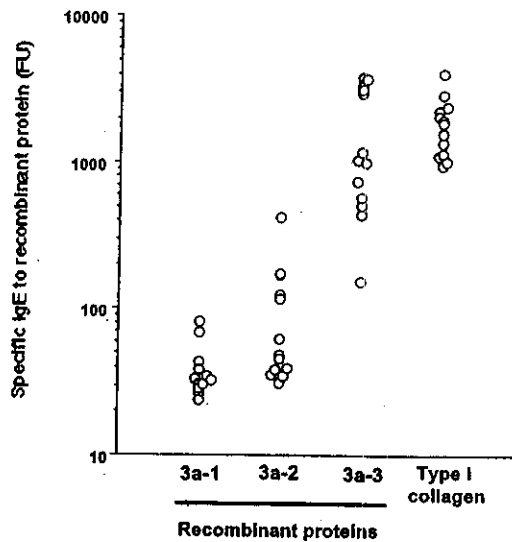
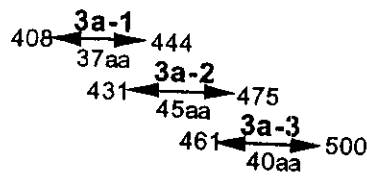


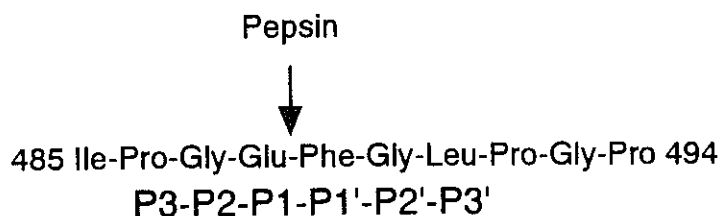
FIG 3. IgE reactivity to 3 overlapping recombinant proteins covering residues 408Lys-500Glu of the bovine $\alpha 2(I)$ chain. 3a-1, 408Lys-444Pro; 3a-2, 431Ala-475Gly; 3a-3, 461Pro-500Glu.

TABLE II. Inhibition of IgE binding to recombinant protein 3a-3

Inhibitor	Amino acid sequence	Inhibition
Peptide		IgE to 3a-3*
3a-3-P1	461 PPGFQGLPGPAGTAGEAGKP 480	-
3a-3-P2	471 AGTAGEAGKPGERGIPGEFG 490	-
3a-3-P3	481 GERGIPGEFGLPGPAGARGE 500	+
3a-3-P4	RGIPGEFGLPGPAGA	+
3a-3-P5-1	IPGEFGLPGPA	+
3a-3-P5-2	IPGEFGLPGP	+
3a-3-P5-3	IPGEFGLPG	-
3a-3-P5-4	IPGEFGLP	-
3a-3-P5-5	IPGEFGL	-
3a-3-P5-6	IPGEFG	-
3a-3-P5-7	PGEFGLPGPA	-
3a-3-P5-8	GEFGLPGPA	-
3a-3-P5-9	EFGLPGPA	-
3a-3-P5-10	FGLPGPA	-
3a-3-P5-11	GLPGPA	-
Recombinant protein		
3a-3	461 PPGFQGLPGPAGTAGEAGKPGERGIPGEFGLPGPAGARGE 500	

*In pooled serum each child's serum was diluted to the same levels of specific IgE to 3a-3. The FU levels in wells that do not contain each inhibitor ranged from 1035 to 1257.

+, Greater than 80% inhibition; -, less than 10% inhibition.



PEPSIN CLEAVAGE SITES		Protein Science (2000), 9: 1947-1959
<p>↓</p> <p>P3 - P2 - P1 - P1' - P2' - P3'</p>	<ul style="list-style-type: none"> •P1^{or} P1' : hydrophobic amino acid residues (© Phe, Tyr, Met, Leu, Ile, Val) •P2~P3' : no proline or hydroxyproline residues (X Pro, Hypro) •P3 : no positively charged residues (X Lys, Arg) 	

FIG 4. Pepsin cleavage site in IgE antibody binding peptide

マウスモデルを用いた沈降精製 DPT ワクチンおよび DT 混合トキソイド追加接種時の局所反応原性の検討

堀内 善信、山本 明彦、永田 典代、落合 雅樹、
片岡 紀代、豊泉 裕美 (国立感染症研究所)
岡田 賢司 (国立療養所南福岡病院)

我が国の沈降精製 DPT および DT 予防接種については、追加接種時の局所反応が問題とされてきた。この問題は接種技術が大きく影響すると考えられている。我々は追加接種時のワクチン側関連因子に関するマウスを用いた評価モデルを作成し、現行ワクチンの評価を行ったので報告する。

【材料と方法】

免疫用抗原：試験百日せきワクチン(aP-Ag)：Tタイプワクチンと同等組成(FHA、PTおよびその他の抗原)の抗原を0.8%ホルマリンにて37°C2週間滅毒後透析。

試験 DPT ワクチン(Exp-DTaP)：1ml中に aP-Ag 120 μ g、ジフテリアトキソイド(D-td) 30Lf、破傷風トキソイド 10Lf および Al(OH)₃ ゲル 0.15mgAl を含むよう調製。

PT 加 DT トキソイド(DT-PT)：上記 Exp-DTaP で aP-Ag に代わり精製 PT 4 μ g/ml あるいは 2 μ g/ml を含む抗原液 DT-PT-4 μ g、DT-PT-2 μ g および PT を含まない DT-td を調製。

DT-td：上記 Exp-DTaP に aP-Ag を加えないものと同様の沈降 DT トキソイドを調製。

市販 DTaP ワクチン：1990 以前のワクチン 8 ロットおよび 1991 年以降のもの 6 ロットを用いた。

攻撃用抗原：aP-Ag120 μ g、ジフテリアトキソイド(D-td)30Lf、破傷風トキソイド(T-td)10Lf およびそれぞれ Al(OH)₃ ゲル 0.15mgAl を含む各溶液を調製。足蹠攻撃に用いた。

ヒスタミン増感(HS)活性：感作4日、11日について生物学的製剤基準に基づき計測した。

実験：8週齢 BALB/c(CRJ)マウス大腿筋に上記各抗原 0.3ml を1ヶ月間隔で2回免疫、2週後に攻撃用抗原 50 μ l をマウス足蹠に攻撃、あるいは同様に1ヶ月間隔で上記各抗原 0.1ml を免疫、2週後に攻撃する際3日前よりインドメタシン 2.5 μ g を連日腹腔投与した。対照足に生理食塩液を攻撃、レーザー肥厚計で攻撃足の対照足に対する相対肥厚を測った。

【結果と考察】Exp-DTaP 免疫マウスを攻撃用 D-td(a)、T-td(b)、aP-Ag(c)で攻撃し、経時的に足蹠肥厚を計測した。結果は

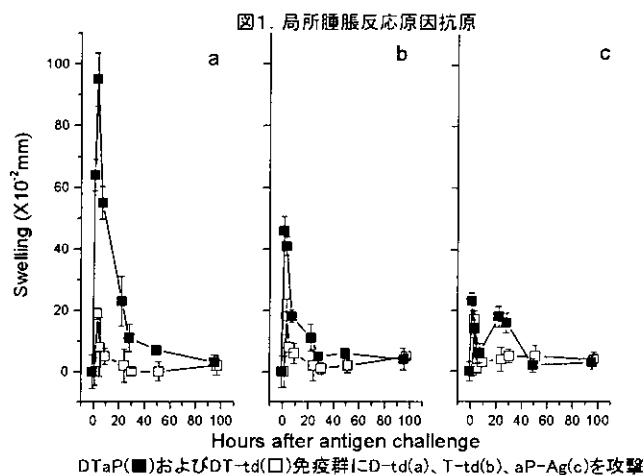


図1に示したように、抗原量は攻撃抗原中 aP-Ag が最も多かったにも関わらず、D-td 攻撃により最も強い腫脹が観察された。そこで D-td に対する感作の要因を探るため、まず免疫用抗原 Exp-DTaP、DT-PT-4 μ g、DT-PT-2 μ g および

図2.追加接種時の局所腫脹に対する感作

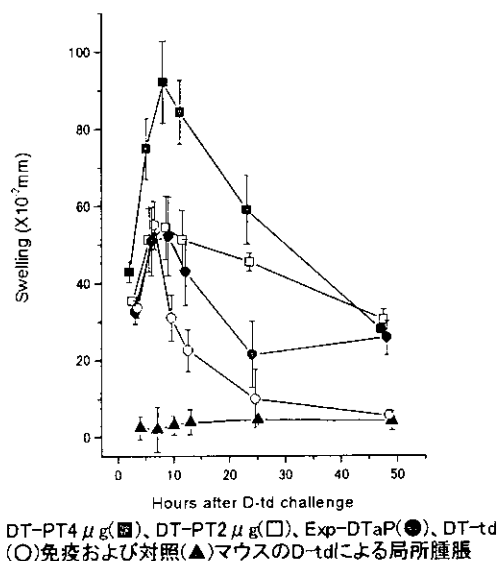
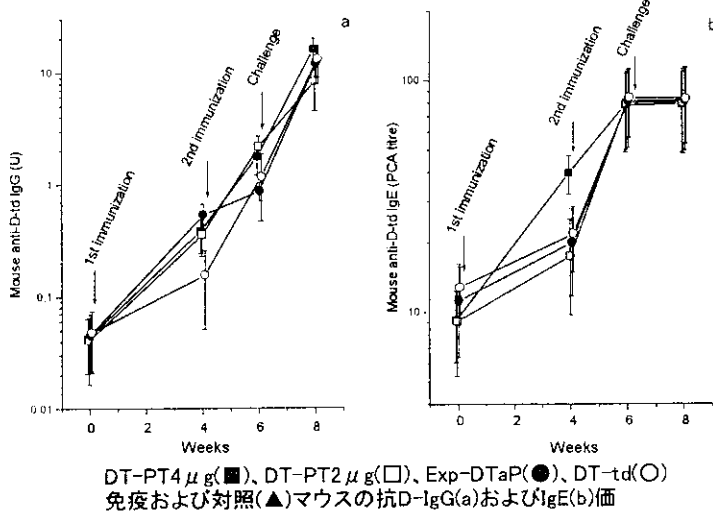


図3. 各種免疫抗原での免疫群の抗体産生

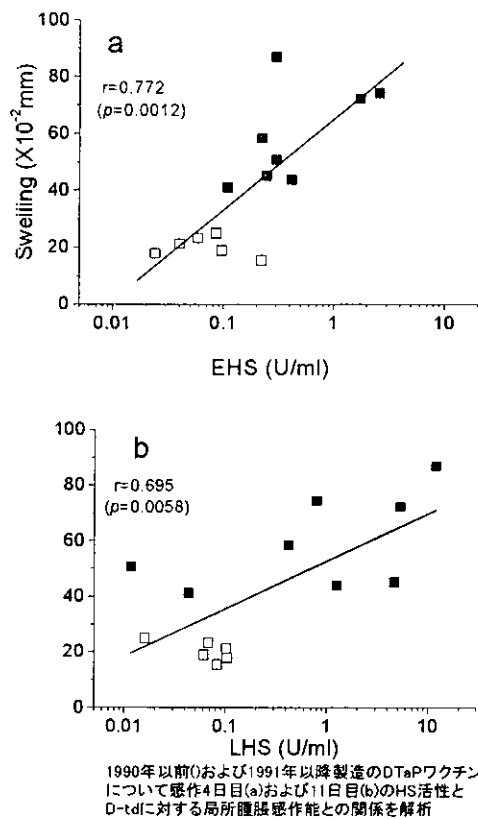


DT-td を免役し、D-td 攻撃に対する感作の程度を比較した。その結果図2に示すように、何れの免疫群でも非免疫対照(▲)に比べるとD-td 攻撃に対して有意な腫脹を示した。中でもDT-PT-4 μg 免疫群(■)で最も強い腫脹が観察された。いずれの場合も攻撃約10時間後に最大腫脹を示し、その程度はDT-PT-4 μg 群を除いてほぼ同程度であったが、その後の残存の程度をみると、DT-PT-2 μg (□)、Exp-DTaP (●)、DT-td (○)の順に強い腫脹の残存が認められた。すなわち、全ての免疫抗原のD-td量は等しいに関わらず、PT活性に相関するかたちでD-tdによる局所腫脹反応への感作が認められた。そこでこの感作の機構を調べるため、免疫、攻撃各々の直前および攻撃後2週目に尾静脈から部分採血して、血中のD-特異IgG、IgEを測定した。

その結果図3に示すように、D-特異IgG、IgEともに免疫群間に腫脹反応の差を説明し得るような違いは認められなかった。従ってD-td攻撃に対する感作は、細胞性免疫を介したものである可能性が示唆された。これまでの処、感作の詳細な機構は不明であるが、一応ワクチン側の因子として、残存PT活性がD-tdによる局所反応に対する感作能を示す可能性が示唆された。そこで、このモデルを用いて実際の市販

DTaP ワクチンについて、D-td に対する局所反応感作能の評価を行ってみた。PT 残存活性に関しては、保存期間中の PT 活性の毒性復帰を制御するため、1991 年に加温検体の HS 試験が導入された。具体的には、検体ワクチンを 37°C 4 週間加温した後、HS 活性復帰の有無を確認する試験である。このことにより従来に比べ減毒条件が強化され、残存 PT 活性の低下が認められた。そこで 1991 年より前に製造され、長期氷室保存により PT 活性の部分的復帰がみられていると思われる検体 8 ロットと、基準改正以降の検体 6 ロットをマウス

図4. DTaP ワクチン残存 HS 活性と局所腫脹感作能



に免役し、D-tdによる局所腫脹反応に対する感作能を調べることにした。これらの検体について、マウス投与4日目(EHS)および11日目(LHS)にヒスタミン攻撃を行い、30分後の直腸体温降下を利用してそれぞれHS活性を測定した。得られた活性値と局所腫脹反応の間の相関分析を行ったところ、図4のように、両HS活性とも局所腫脹反応との間に有意な相関を示した。また1991年の基準改正以前のワクチン(■)は、残存HS活性に依存した局所腫脹反応感作能を示したが、基準改正以降のワクチン(□)はこうした感作能を示さなかった。実際には局所反応には接種技術をはじめ様々な要因が関わることが知られている。今回作成した局所反応モデルは、あくまでワクチン側の要因に絞って評価する為のものである。またワクチンの安全性からみると、ワクチン側の要因として、基本的には臨床的に局所腫脹反応に対する感作能がなくなれば、一応可能な問題解決の措置は済んでいると考えてよいことになる。

いことになる。

今回作成した局所反応モデルが臨床的局所反応を反映したワクチン側の因子解析モデルになり得ているかどうかは、実際に初回免疫を1991年以降のDTaPで受けた場合とそれ以前のワクチンで受けた場合についてDT追加免疫での局所反応の発生および程度を臨床的に比較する調査により判定しうる。こうした調査結果は、臨床関連性のある安全性試験法確立の点からも大変重要な意味を持つ。今後海外からのワクチン導入の可能性も考える必要があるとすると、そうしたワクチンも含めた国内でのワクチンの互換使用での安全性、有効性が問題となる。これまで我が国では、百日咳菌抗原組成に違いのあるDTaPワクチンが互換使用されてきた。この場合、現在の接種方法をとる限り基本的にはIgGおよび細胞性免疫を誘導することになり、特に長期免疫記憶ということでIgG誘導が主たる百日せきワクチン有効性の機構と考えられる。この場合PTに対する抗毒素免疫誘導が重要ということになり、いずれのワクチンも一定程度のPTトキソイドを含んでおり、互換使用に問題が生じなかったと考えられる。しかし海外ワクチンの場合、臨床評価はなされていても、それが我が国の免疫スケジュールに合致したものであったかが問題となる。有効で安全な予防接種のためには、我が国の既存ワクチンとの互換性が不可欠であるが、その確認の為に、ますます臨床関連性の立証された品質管理試験法が重要になるものと思われる。

乳児に対する麻疹生ワクチン接種の有効性と安全性の検討

岡田 晴恵、田代 真人（国立感染症研ウイルス第3部）

〔目的〕

我々はこれまで麻疹患者における免疫抑制機序を解析し、麻疹急性期に非感染細胞のアポトーシスと骨髄リンパ球の増殖・成熟抑制による強いリンパ球減少が起ること、関連する血漿サイトカインが変動することを示した。特に乳児患者では、1～2歳の患者に比べて、これらの回復・正常化が大幅に遅延し、免疫抑制病態が遷延する可能性を報告した。また、ワクチン接種を受けた1～2歳児でも、接種後7～10日目に一過性で軽度のリンパ球減少とサイトカインの変動が起こるので、乳児では、より強い変化が生じる可能性が推測された。

一方、移行抗体消失後の乳児が麻疹に感受性が高く、また乳児麻疹が重症であることから、WHOでは麻疹ワクチンを生後9ヶ月（緊急時には6ヶ月）で接種することを推奨している。麻疹が十分にコントロールされていない我が国でも、移行免疫消失直後の乳児が麻疹に罹患する事例は多いため、9～10ヶ月の乳児に対するワクチン接種前倒しの必要性が議論されている。特に平成10年の沖縄県における麻疹大流行の際には、多数の重篤な乳児麻疹患者と死亡例が報告され、大きな社会問題となった。

この様な状況の中で、沖縄県では平成13年の春から初夏にかけて再び麻疹流行が予想される事態が生じた。そこで県内の15市町村では、定期接種の徹底に加えて、麻疹流行に対する緊急的な対策として、同年5月から4ヶ月間にわたり、生後6ヶ月以上の乳児を対象とした麻疹生ワクチンの接種が行われた。これは、予防接種法予防接種要領（平成7年4月1日以後）に規定された流行時の緊急措置であり、各自治体首長の責任に基づき、費用は公費で負担されたが、十分なインフォームド・コンセントの下での任意接種であった。沖縄県における乳児への麻疹ワクチン緊急接種については、安全性と有効性について十分な事後調査をする必要があるとの担当医師会および行政当局の判断があり、我々がこの貴重な事例の調査に協力することになった。

〔対象と方法〕

検査対象は生後6～11ヶ月で麻疹ワクチンの接種を受けた乳児151名（男82、女69名）で、インフォームド・コンセントを得て接種後1年間に亘って1～数回採血した。末梢血のサブセット別リンパ球数をフローサイトメトリーで、細胞傷害性・炎症性サイトカインの血中濃度をELISAで、血清麻疹抗体価をPA法で、血液中の麻疹ウイルス遺伝子コピー数をTaqmanで定量し、それらの経時的変動を同月齢の麻疹患者および1～2歳のワクチン接種児と比較検討した。

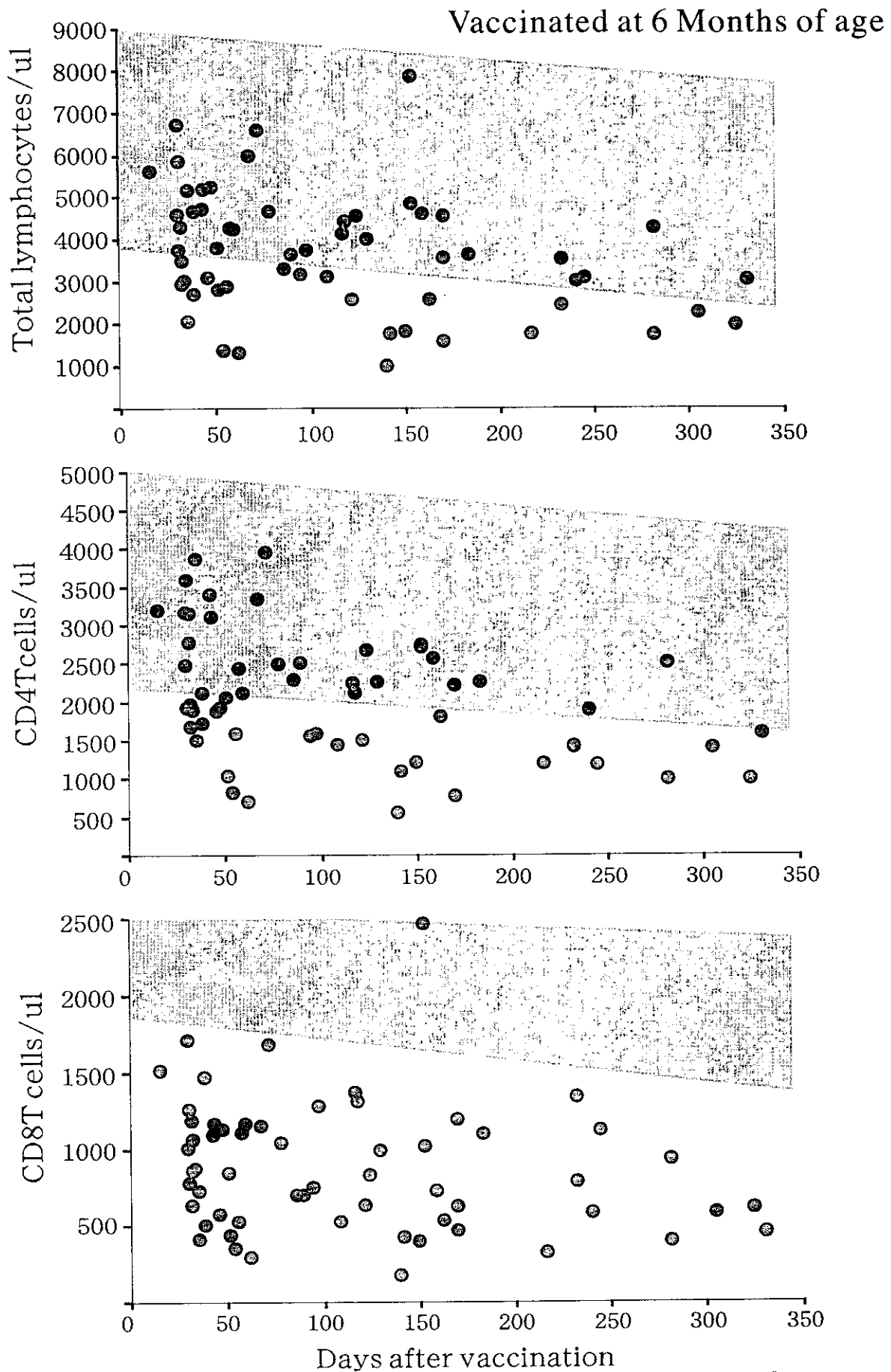
〔結果〕

1～2歳のワクチン接種児では、接種後7～10日目に起こるリンパ球減少やサイトカイン変動はほぼ正常範囲下限以内に留まり、14日以内に元に戻った。これに対して6～11ヶ月乳児では、血清抗体は同程度に誘導されたが（図5）、接種児の約半数で

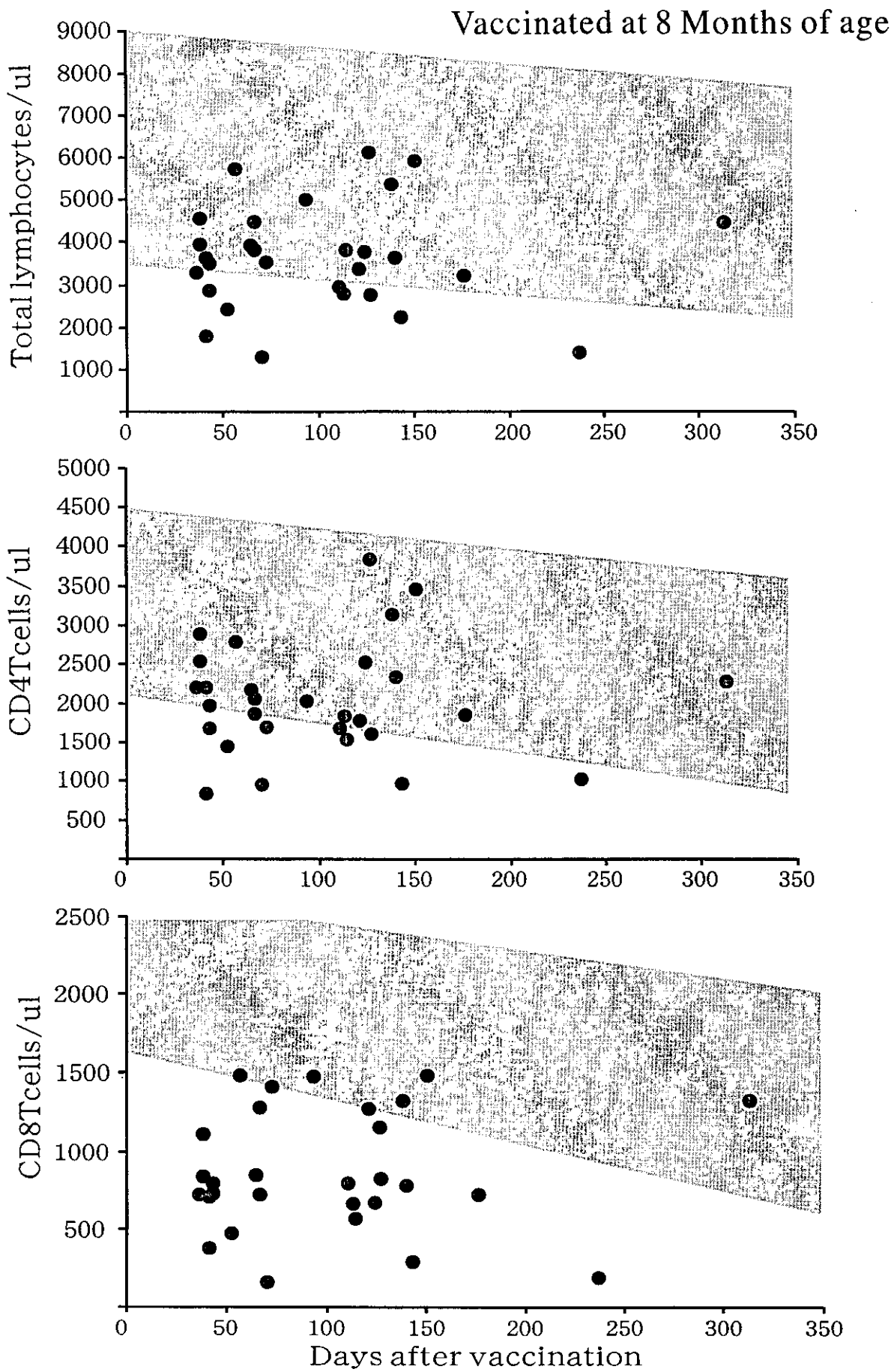
中程度のリンパ球減少（特に CD 8 T 細胞で著明）が起こり 1 年以上続いた。図 1 - 3 に 6 ヶ月児、8 ヶ月児、10 ヶ月児の各リンパ球サブセットの絶対数（1 ul 当たりの数）を示す。この間に細胞傷害性のサイトカイン変動も持続し、ウイルス遺伝子や IgM 抗体が長期間検出された例もあった（図 4）。

[考察]

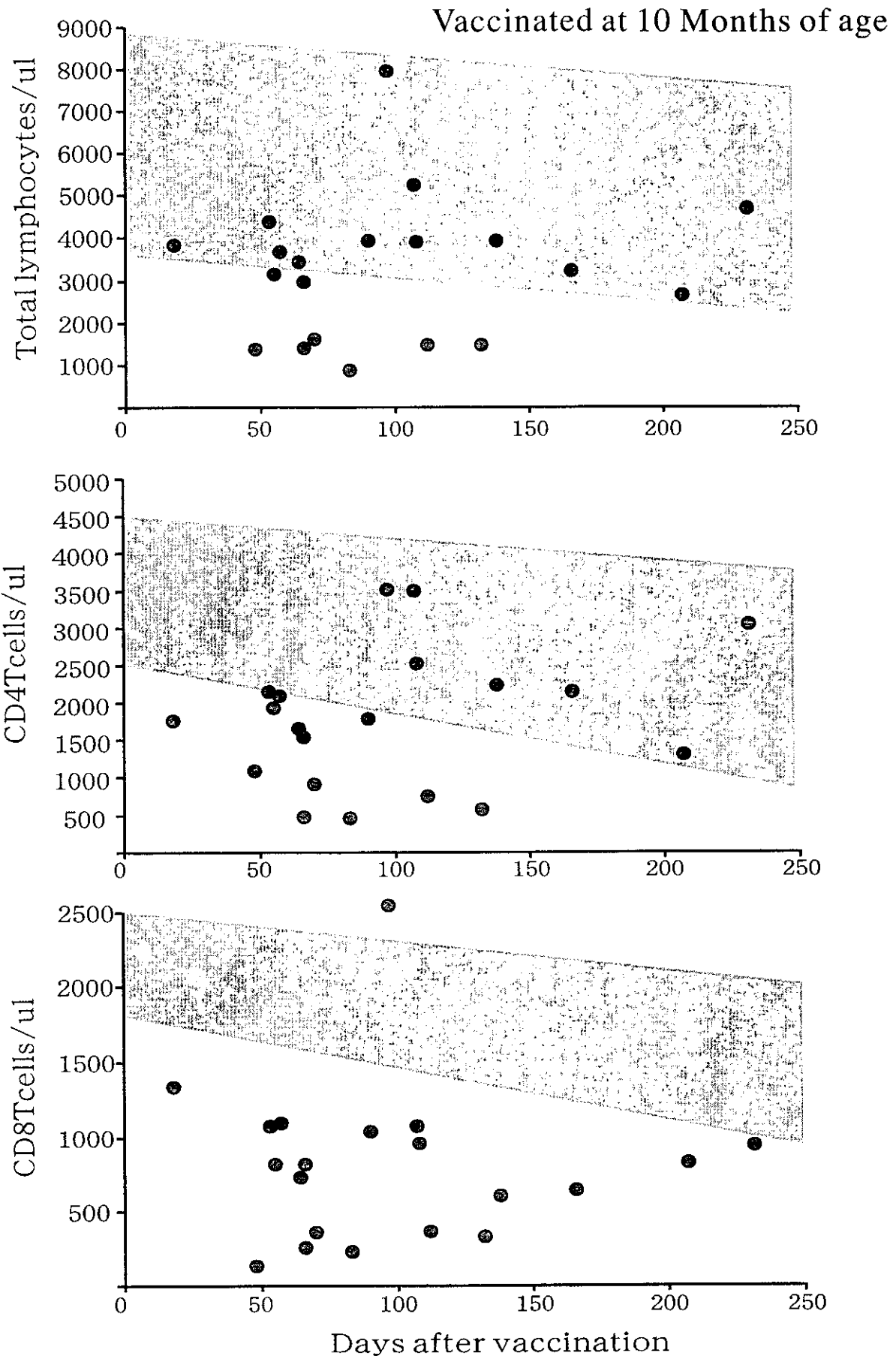
乳児麻疹患者では、1 ~ 2 歳児に比べてリンパ球減少やサイトカイン変動が強く、回復も大幅に遅延するが、ワクチン接種児でも同種の年齢依存傾向が認められた。乳児に対する麻疹生ワクチン接種については、抗体上昇が認められて有効性が示唆されたが、約半数にリンパ球の持続的減少が起っており、免疫機能成熟期における影響が懸念される。更に IgM 抗体の長期間陽性は持続感染の可能性も示唆される。今後は更に長期的に亘り十分な安全性の検証をしてゆく方針である。



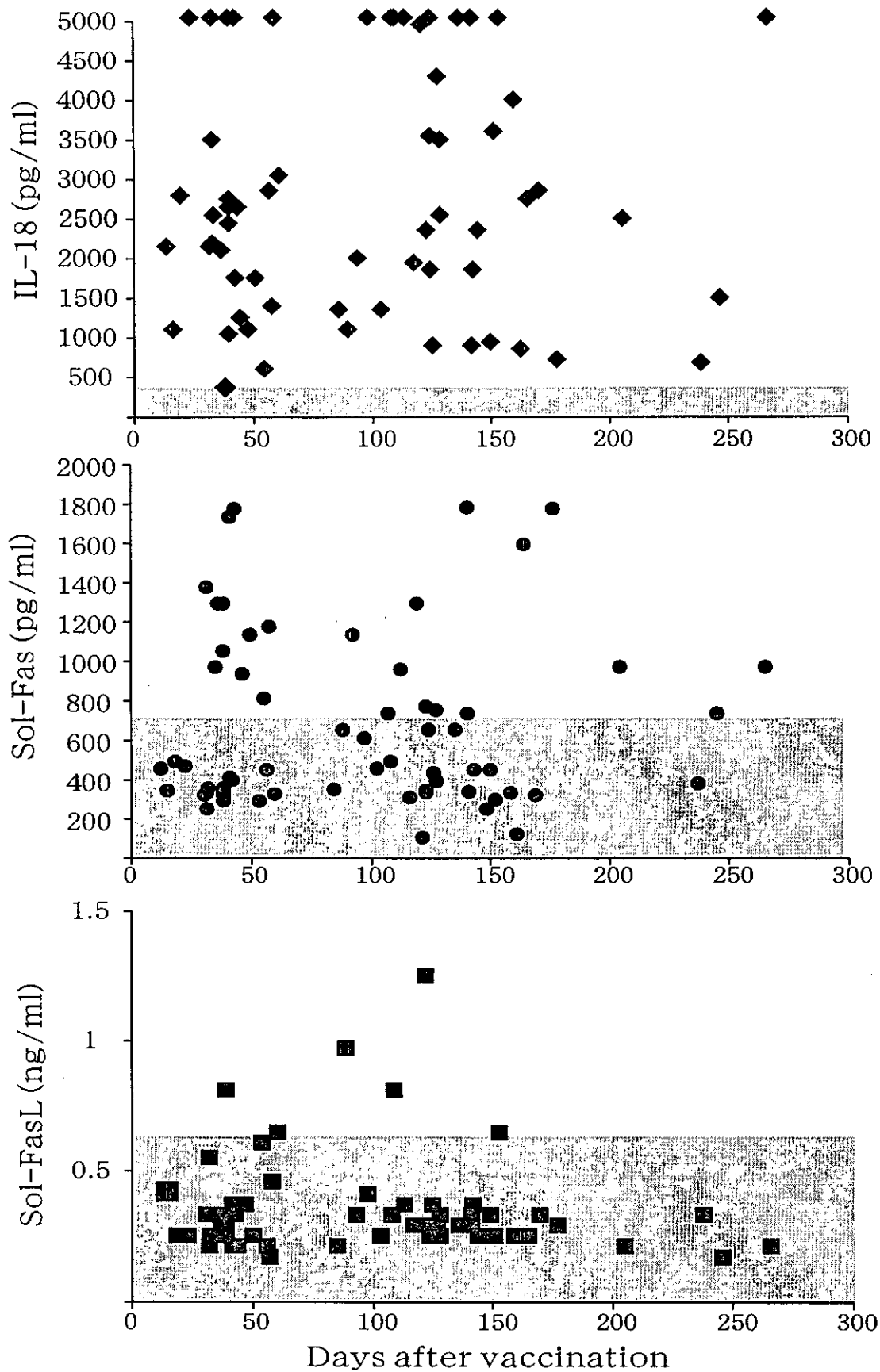
[☒1] Number of peripheral blood lymphocytes after measles vaccination. Bars indicate 5~95% of normal ranges of infants.



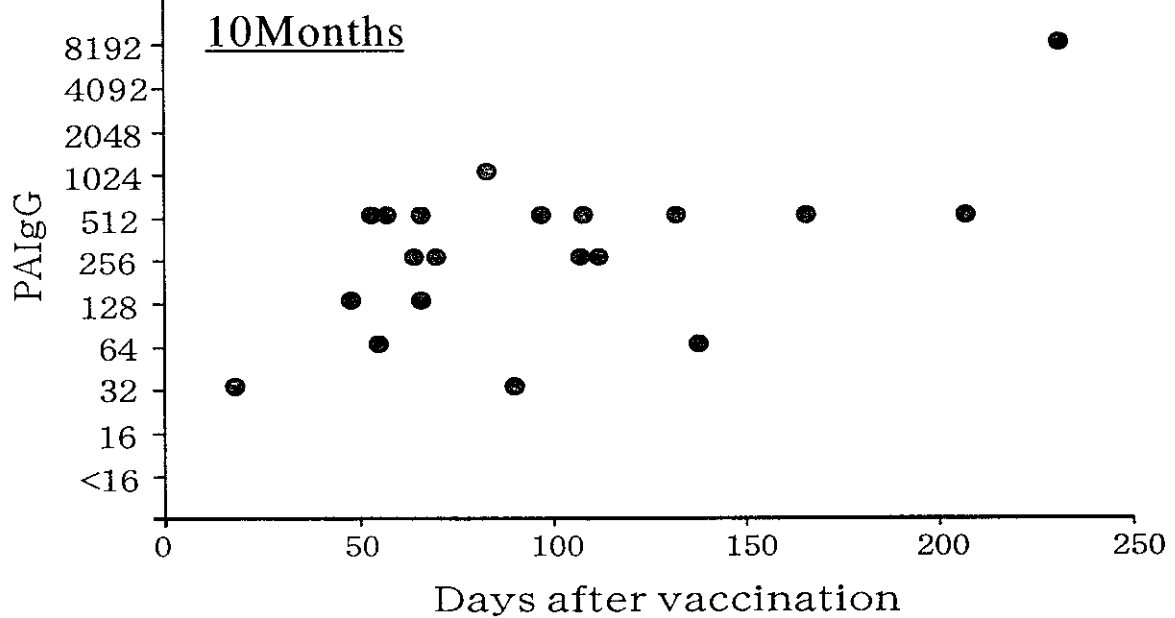
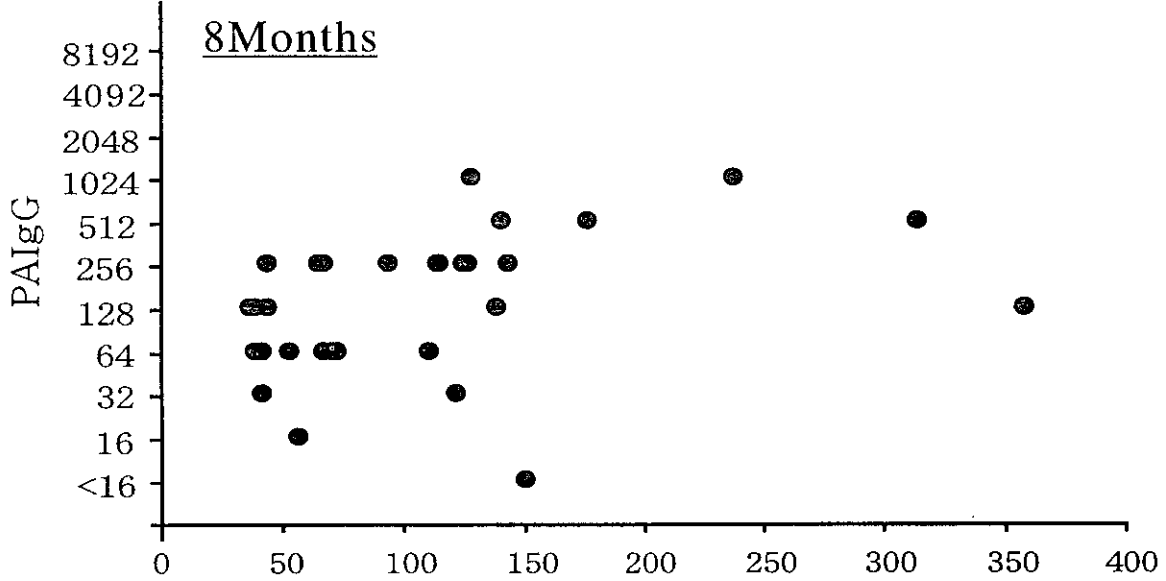
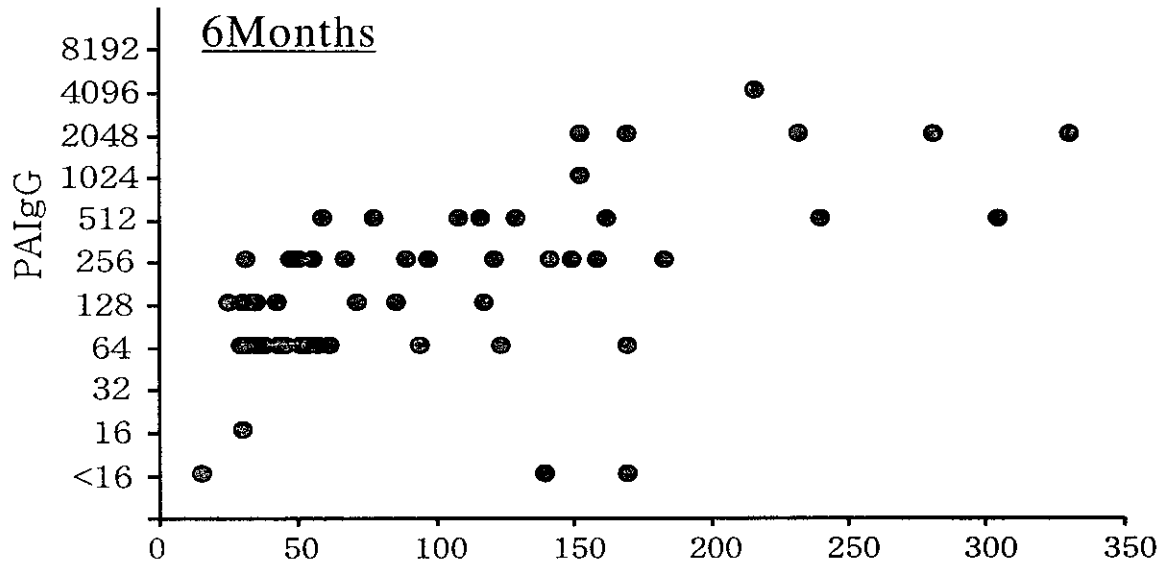
[図2] Number of peripheral blood lymphocytes after measles vaccination. Bars indicate 5~95% of normal ranges of infants.



[Fig 3] Number of peripheral blood lymphocytes after measles vaccination. Bars indicate 5~95% of normal ranges of infants.



[]4 Changes of plasma cytokines (IL-18, Soluble Fas and Fas L) of infant vaccinees.



[☒]5 Anti-measles virus antibody responses in vaccinees assayed by the particle-agglutination method.

二次性ワクチン効果不全 (SVF) の病態解析

岡田 晴恵、佐藤 威、田代 真人 (国立感染症ウイルス第3部)

柏木 玲一、直井 高歩、浜野 建三 (北茨城市立総合病院)

〔目的〕

近年若年成人における麻疹罹患者が増加の傾向が見られ、また、中学高校での麻疹の集団感染事例が報告されている。これらの世代の人は、麻疹生ワクチンの接種経験があると考えられることから、二次性ワクチン効果不全 (SVF) の可能性も考えられる。この実態を解明するには、母子手帳による予防接種歴の確認に加えて、初感染患者との血清学的鑑別方法の確立が必要である。

平成14年3月に北茨城市の中学校で麻疹の集団流行が発生した。罹患中学生には麻疹ワクチン接種歴が確認された者もあり、SVFが疑われた。そこで、SVFの病態解明および初感染患者との鑑別方法の開発を目的として、ワクチン接種歴のある中学生患者や同時期に北茨城市立病院を受診した麻疹患者について、同年齢の麻疹初感染患者と比較解析した。また、ほぼ同時期に同県の取手市においても麻疹の流行が見られたので、この取手市の麻疹患者のデータも同様に解析した。

〔対象と方法〕

麻疹患者 (13-17歳の中高生11名、18歳以上の成人8名) をワクチン接種歴の有無により2群に分け、有熱期間と、発疹出現期間およびそれらの程度、その他の臨床症状、生化学的検査、末梢血リンパ球サブセット数、血中サイトカイン濃度、麻疹ウイルス遺伝子コピー数、抗麻疹ウイルスIgM抗体およびIgG抗体のアビディティの各変動を経日的に比較解析した。また、分離ウイルス株について遺伝子型の同定を行った。

〔成績〕

図1に一人の成人麻疹患者の急性期から125日目までの血清抗体価およびそのアビディティ (IgG抗体の親和力) について、さまざまな濃度の尿素処理した前後のELISA法による結果を示す。その結果6M尿素で洗浄する条件が最適と判断された。免疫記憶のない初感染患者では、急性期にはアビディティは低値を示し、経日的に高値となる。一方、免疫記憶のある場合には、初期から高値を示す。そこで、この条件下で、第30病日までのIgG抗体のアビディティを測定することにより、初感染とSVFに分け、母子手帳のワクチン接種歴と比較した。

図2に中高生の患者、図3に成人麻疹のデータを示す。ワクチン接種歴のある患者では、同年齢で接種歴のない初感染患者に比較して一般に症状は軽く、修飾麻疹がほとんどであった。リンパ球減少やサイトカイン変動の程度も比較的軽度で、持続期間も短かった。ウイルス遺伝子は発症後にはほとんど検出されず、発症直後から比較的高い血清抗体価を示した。

しかし、患者の咽頭や末梢血からもH1型 (北茨城) およびD5型 (取手) のウイル

スが分離され、また、SVF の 4 例では家族内感染が続発した。

SVF と初感染患者の血清抗体価とアビディティの変化、末梢血におけるリンパ球の減少とその回復、ウイルス遺伝子の消長及び臨床症状の一覧を図 4 に示す。

【結論】

今回の北茨城の麻疹における流行は、H1 型麻疹ウイルスによる国内初の集団感染例と考えられる。中学生年代における SVF では、発熱・発疹などの臨床症状や末梢血リンパ球数・サイトカインの変動などにおいて、初感染患者に比べて軽症化傾向が認められたが、感染源となることが示唆された。更に軽症の SVF では不顕性感染の可能性も推定される。一方、成人の SVF は中高生よりも重症でリンパ球減少やサイトカインの変動も長期化する。従って、小児期におけるワクチン接種の徹底と、中学入学以前に追加接種を行って、感染防御免疫を高く且つ長期的に維持する必要があると考えられる。

