

厚生労働科学研究
医薬品等医療技術リスク評価研究事業

安全なワクチン確保と
その接種方法に関する総合的研究

平成15年度研究報告書

平成16年3月

主任研究者：竹 中 浩 治
（財）予防接種リサーチセンター

厚生労働省厚生科学研究補助金（医薬安全総合研究事業）
安全なワクチン確保とその接種方法に関する総合的研究
平成 15 年度研究報告書

総括研究報告書	主任研究者 竹中浩治	1
	分担研究者 平山宗宏	

I. ワクチンの副反応要因とその除去に関する研究

分担研究報告書	分担研究者 倉田 毅	11
	研究協力者 井上 栄	
1. 気道の異なる部位における IgA および IgG 抗体の分布と濃度：CTB*併用経鼻 インフルエンザワクチンによる感染防御成立マウスにおいて	倉田 毅他	15
2. ゼラチンアレルギー児におけるヒト I 型コラーゲンに対する IgE 反応性の検討	阪口雅弘他	18
3. 国内外の沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン(DTaP) 初回接種時の局所反応原性の検討	堀内善信他	22
4. マウスモデルを用いた沈降精製の 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	堀内善信他	24
5. マウスを用いた DPT 三種混合ワクチン接種後の局所反応に関する研究	本庄綾子他	27
6. ヘモフィルスインフルエンザ b 型菌 (Hib) ワクチンの問題点	高橋元秀他	31
7. 麻疹ウイルスの温度感受性	中山哲夫他	33
8. 風疹ウイルスの弱毒化の分子的基盤に関する研究—TO-336 ワクチン株の 5'領域の役割—	牛島廣治他	37
9. ムンプスウイルスの国内分離状況	加藤 篤他	39
10. 抗体測定法研究会の開催	井上 栄他	42
11. 風疹抗体測定法のための国内標準品の作製	海野幸子他	43
12. HI 法、EIA 法、NT 法に対する抗麻疹標準血清作製の試み	齋藤義弘他	45
13. 日本脳炎ワクチン接種集団から自然感染個体を識別する NS1 抗体測定のための ELISA 法	小西英二他	46
14. 逆サンドイッチ ELISA による微量抗体の測定—原理と応用	宮沢 博他	47
15. インフルエンザワクチンに対する抗体レスポンスの頭打ち現象について —1997-1998 年シーズン以来連続 7 シーズンにわたる高齢者施設における インフルエンザワクチン接種の経験から—	堺 春美他	48
16. 高齢者施設において、同一の入所者、職員を対象としたインフルエンザ ワクチン連続 2 年接種成績について	堺 春美他	50

17. 麻疹、ムンプズの LAMP 法による迅速診断	藤野元子他	52
18. Real Time PCR による Dengue virus の血清型分類	伊藤美佳子他	53
19. IV型遺伝子を持つ E 型肝炎ウイルス様中空粒子の作製と抗原性の解析	李 天成他	54

II. ワクチン改良の必要性に関する臨床疫学的研究

分担研究報告書	分担研究者 岡部信彦	55
	研究協力者 宮崎千明	
1. 第 2 期 DT 予防接種副反応調査報告ー基準改正後の DPT ワクチンに対してー	岩間義彦他	63
2. DPT 副反応調査報告 局所反応ロット別比較 (第 12 報)	太田耕造他	66
3. ジフテリア・破傷風(DT)トキソイド第 2 期予防接種副反応 (第 8 報)		
ーDT 接種後の局所副反応と DTaP ワクチン中の百日咳毒素活性 (ヒスタミン増感活性)との相関ー	岡田賢司他	69
4. DTaP ワクチン第 I 期 3 回接種法の接種成績	西村直子他	72
5. 大阪府民のジフテリア、破傷風、百日咳に対する抗体保有状況	勝川千尋他	74
6. 前橋市内のある中学校 2 年生における麻疹及び風疹ワクチン接種率と抗体陽性率の検討	今泉友一他	82
7. 小学 1 年生入学時の麻疹・ムンプス・風疹の血清疫学調査	木村慶子他	84
8. 麻疹入院患者からみた麻疹コントロール対策の検討	庵原俊昭他	87
9. 免疫を有する者への麻疹ワクチン再接種の検討	友田隆士他	90
10. 麻疹抗体の持続性	布上 董他	93
11. 大学生の風疹に対する意識と抗体保有状況	小林正夫他	96
12. 成人の風疹抗体保有状況の変化	友田隆士他	99
13. 愛知県におけるポリオワクチン調査 [2003 年]	宮津光伸他	102
14. 水痘ワクチン被接種者の水痘罹患 (前方視的調査)	山本 光興	105
15. 水痘ワクチン前方視的調査全国集計 (第 11 報、平成 15 年度)	神谷 齊他	108
16. 家族内曝露時のムンプスワクチン有効性の検討	庵原俊昭他	110
17. b 型インフルエンザ菌(Hib)による化膿性髄膜炎を発症した小児における Hib 抗体価の推移について	中野貴司他	112
18. ワクチン改良の必要性に関する臨床疫学的研究 ワクチンの効果と副反応を評価するための臨床疫学的研究	阿部祥英他	114
19. 2003 年、奈良県における小児急性神経疾患の発生状況	西野正人他	117
20. 小児急性神経系疾患 (Acute Neurological Disorders: AND)調査 (2001-2002 年) 集計報告	宮崎千明他	119

Ⅲ. ワクチンの接種対象と接種方法のあり方に関する研究

分担研究報告書	分担研究者	神谷 齊	139
	研究協力者	松本慶蔵 前川喜平 栗屋 豊 岡田賢司	
1. 安全なワクチン確保とその接種方法に関する研究	堺 春美他		144
2. 安全なインフルエンザワクチン接種方法に関する研究－インフルエンザ HA ワクチン 皮下接種手技による副反応発現頻度の違いについて－	堺 春美他		153
3. 介護老人保健施設におけるインフルエンザ対策に関する研究 (2001-2002)	木村三生夫他		161
4. 連続 2 シーズンにわたって AH1N1 と AH3N2 株が共通しているインフルエンザ ワクチンを同一対象に接種した場合の血清 HI 抗体価の推移－高齢者、成人、 学童の体液性免疫能の反応の程度、記憶力、記憶把持能力の相違と抗体反応の 頭打ち現象について	木村三生夫他		181
5. 群馬県の知的障害者施設におけるインフルエンザ接種の現況報告と けいれん重積の一例	阿部敏明他		189
6. 高齢者 (65 歳以上) のインフルエンザ予防接種に関する研究	杉下由行他		194
7. 病院職員に対するインフルエンザワクチン接種状況 (平成 15 年度)	三田村敬子他		197
8. インフルエンザワクチンの問題点 1999 年～2000 年の検討から	出川 聡他		199
9. 老健施設におけるインフルエンザワクチン接種後の抗体価の推移	岡 成寛他		201
10. 帯状疱疹神経痛の予防を目的とする成人高齢者への水痘ワクチン接種による 免疫増強効果	高橋理明他		204
11. 慢性下気道感染症を持つ患者における肺炎球菌莢膜ポリサッカライド(CPS) ワクチンによる血清中肺炎球菌抗 CPSIgG の測定	川上健司他		210
12. 乳幼児のインフルエンザ HA ワクチン接種時における特異的免疫の動態 (第 2 報)	熊谷卓司他		212
13. インフルエンザワクチンの接種方法に関するアンケート調査	鳥谷部真一他		218
14. インフルエンザ HA ワクチンの抗体持続について	宮津光伸		225
15. インフルエンザ感染に伴う入院症例の年齢分布について －乳幼児での予防・ 治療方法確立の重要性－	吉川哲史他		227
16. 迅速キットでインフルエンザと診断された予防接種歴を有する小児の、発症時の 血中 HI 抗体価に関する研究	中野貴司他		229
17. 簡易キットによるインフルエンザ抗原の検出と流行状況の把握 －発熱時及び 解熱後の検出率 (2003/2004 年)－	馬場宏一他		231

18. インフルエンザワクチン一回接種後の抗体保有状況	指原淳志他	232	
19. チメロサルフリーインフルエンザワクチンの副反応の臨床的検討	同一個体での 検討を含めて	喜多村哲朗	233
20. 徳島大学病院におけるインフルエンザワクチン接種件数の年次推移		黒田泰弘他	234
21. ワクチンの接種対象と接種方法のあり方に関する研究	神経疾患児など ハイリスク児への接種	前川喜平他	238
22. 難治てんかんをもつ小児に対する予防接種実施状況	広島県での後方 視的アンケート調査から	伊予田邦昭	242
23. 重症心身障害児施設における予防接種の現状について		町田裕一他	247
24. West 症候群治療後の予防接種実施状況に関する調査研究(第2報)		永井利三郎他	250
25. 重症心身障害児(者)における感染罹患状況と予防接種状況		栗原まな	254
26. 重症心身障害児(者)に対するインフルエンザワクチン接種量に関する検討		小倉英郎他	260
27. アレルギー疾患児における麻疹ワクチン接種後の発熱に関する検討		松石豊次郎他	264
28. インフルエンザ関連有熱性けいれんを示した年長児の臨床的特徴		山本克哉	268
29. インフルエンザワクチン皮内テストによるアナフィラキシーショックの1例		宮津光伸	272
30. 横浜市内小児科医に対するアレルギー児への予防接種実施状況アンケート調査		菅井和子他	273
31. 重障児(者)における麻疹ワクチン接種の有効性と安全性の検討		岡田晴恵他	281
32. 一重症心身障害児施設に於ける血清麻疹抗体価について		町田裕一他	284
33. 重症心身障害児に対するインフルエンザワクチン1回接種の抗体反応に関する検討		小倉英郎他	293
34. 重症心身障害児への予防接種と副反応対策：麻疹ワクチン後脳症時に、低カルニチン血症による非ケトン性低血糖症と心不全を呈し、致死的経過を取った両側視床基底核小脳脳幹症の一例		泉 達郎他	296
35. ワクチン接種後の副反応 市販後調査 1994~2003		中山 哲夫	300
36. ムンプスワクチンの副反応調査(最終報告)		永井崇雄他	306
37. 当科における定期予防接種の実施状況および副反応に関する研究(第7報)		荒川浩一他	317
38. DPT 予防接種副反応報告		村岡徹二他	318
39. ポリオワクチン接種後に発症したポリオ様麻痺の一例		市山高志他	319
40. 小児生体肝移植後における生ワクチン接種について		新庄正宜他	320
41. 早期産児にみられる低ガンマグロブリン血症とインフルエンザワクチン接種後の抗体反応		佐々木由佳他	321
42. ステロイド治療中の潰瘍性大腸炎患者における重症水痘	LAMP 法による 迅速診断の有用性を含め	吉川哲史他	323

43. 免疫機能低下を有する小児に対する予防接種の検討（第2報）－免疫獲得に関する検討－
 ……………近藤直実他…329
44. RS ウイルス初感染並びに再感染の臨床と疫学　－乳児喘息・乳児突然死症候群など
 重症化の背景について－ ……………馬場宏一他…333
45. 鼻症状を合併する気管支喘息児に対するライノウオッシュを用いた鼻洗浄の効果
 ……………菅井和子他…334

IV. ワクチンの意義と品質への理解を高めるための健康教育に関する研究

- 分担研究報告書 ……………分担研究者 富樫 武弘…341
 研究協力者 堤 裕幸
1. 北海道麻疹ゼロ作戦 ……………富樫武弘…344
2. 北海道旭川市における麻疹予防接種状況について ……………堤 裕幸他…346
3. 福島県での麻疹状況と麻疹予防接種について　－小児科医へのアンケート調査結果－
 ……………太神和廣他…348
4. 福島県内の一高等学校における麻疹の流行と麻疹ワクチン接種率に関する検討
 ……………鈴木 仁他…352
5. 習志野市における修飾麻疹の小流行について ……………齋藤 裕康…355
6. 感染症サーベイランスを利用した千葉県における麻疹罹患者のワクチン接種に
 関する状況調査　－1年間のまとめ－ ……………一戸貞人他…362
7. 麻疹ワクチン累積接種率の年次推移：石川中央保健福祉センター……………川島ひろ子他…364
8. 入学児童予防接種状況調査報告（9報）……………太田耕造他…365
9. 1歳児・1歳8か月児におけるBCG接種率の検討 ……………平岩 幹男…368
10. 保育所に在籍する外国籍の児童における予防接種の状況 ……………牛島廣治他…371
11. 某大学附属高校女子生徒を対象とした、未接種者に対する風疹ワクチンおよび
 麻疹ワクチン接種勧奨とその効果 ……………渡辺 博他…373
12. 健診受診の有無と予防接種歴について ……………崎山 弘…376
13. 某小学校の健康診断時における指導が各種予防接種率に及ぼす影響 ……………山本光興…378
14. 学校における麻疹集団感染事例の報告 ……………桐生康生他…380
15. 麻疹接種率調査　－甲府保健所管内甲府市および敷島町の調査結果より－
 ……………中川美紀他…388
16. 地域における麻疹ワクチン接種の実態　特に基礎疾患や未接種に関連して
 ……………山崎嘉久他…391
17. 姫路市における麻疹ワクチン接種率の向上対策 ……………岡藤 輝夫…395
18. 個別接種外来の重要性と目標 ……………宮津 光伸…400
19. 京都府における平成15年度専門的予防接種事業の実施報告……………有本晃子他…402
20. 大阪府下における予防接種の実施成績に関する研究 ……………村岡徹二他…407

21. 大阪市における予防接種の実施成績に関する研究	大國英和他	414
22. 卒後の予防接種実地研修の機会について -NPO 法人「大阪新興・再興感染症 対策協議会」の発足に向けて-	山西弘一他	416
23. 麻疹および麻疹ワクチンに関するフォーカス・グループ法を用いたインタビュー調査	安井良則他	422
24. 市民公開講座「子どものための予防接種」の開催	国富泰二他	429
25. 予防接種率向上政策の不備を考える -予防接種案内状郵送の効果-	脇口 宏他	430
26. 麻疹ワクチン累積接種率の年次推移：大分市保健所	佐田玲子他	435
27. 予防接種要注意者の現状：福岡県予防接種センター平成 15 年度報告.....	岡田賢司他	436
28. 医療系学生に対する病院感染対策としての既往歴アンケート調査に有用性の検討	真砂州宏他	438
29. 国内で市販されていない海外渡航者用ワクチン接種希望者の検討	高山 直秀	440
V. 班員名簿		443

総括研究報告書

安全なワクチン確保とその接種方法に関する総合的研究 総括研究報告書

主任研究者 竹中 浩治（財団法人予防接種リサーチセンター理事長）

分担研究者 平山 宗宏（母子愛育会・日本子ども家庭総合研究所所長）

研究要旨

本研究では4課題につき分担研究者による研究を実施したが、最終年度であるので本年度の研究結果を中心としながら3年間の研究成果の要旨を総括的に述べる。

(1) ワクチンの副反応要因とその除去について

本研究開始に先立ち、ワクチンに含まれていたゼラチンが原因でアナフィラキシーなどのアレルギー反応が引き起こされることを発見、確認し、副反応発現者 HLA の遺伝的要因やゼラチンの抗原性等を解析した。本研究の知見に基づき、各ワクチンメーカーはすべての添加物及び微量混入物質の除去に努力し、以下の成果を得た。

- ①ゼラチンは、製造途上の混入を含めて、すべてのワクチンから除去された。
- ②ヒト由来の血液製剤の使用を避け、ヒトアルブミンのワクチンへの添加が中止された。
- ③チメロサールの添加は、pre-filled 技術等の向上により除去、減量された。
- ④日本脳炎ワクチンは、細胞培養法による新ワクチンが接種試験段階に達した。
- ⑤DPTとBCGを同時接種することにより IgG 抗体価産生は増強され、IgE 抗体は抑制される成績が得られ、予防接種スケジュールを考える上での示唆となる。
- ⑥DPTワクチンは減毒条件の強化により追加接種時の局所反応が軽減された。
- ⑦海外製ワクチンと比較して国産ワクチンは局所反応原性等が低い。

(2) 変異コレラ毒素併用経鼻インフルエンザワクチンの開発

変異コレラ毒素CK112をアジュバントとした不活化インフルエンザHAワクチンは経鼻接種により気道の局所免疫を与えられ、ウイルス感染予防に重要なのは、上気道のIgA抗体、下気道のIgG抗体であることが判明した。現行の注射法では上気道のIgA抗体の産生は効率が悪く、ワクチンの発病阻止効果に限界があること、このIgA抗体は同じ亜型内の変異ウイルスに交差防御能を有することから、このワクチンの実用化が期待される。

(3) 変異麻疹ウイルスの流行とワクチン対策

2001年頃から各地で麻疹ウイルスH1型の流行が報告され、同時に中学生以上での罹患多発ないし流行の報告も多い。現行麻疹ワクチンによる獲得抗体は有効であるが、中和能はやや悪く、今後のサーベイランスが必須である。流行株と現行ワクチン株とのキメラウイルスの作成に成功している。ムンプスについても変異ウイルスの流行が報告された。

(4) 生ワクチンによる獲得抗体低下と二回接種の必要性

生ワクチンによる獲得抗体の低下（二次フェーラー）が起きている。麻疹では中学生以上で獲得抗体の低下による罹患が証明され、青年期の麻疹抗体価は自然感染を受けた高齢者より低く、経胎盤抗体価も低下している。生ワクチンも二回接種が必要となってきた。

(5) 高齢者やリスク者に対するワクチン接種について

インフルエンザワクチンの高齢者への年1回接種の有効性は証明でき、重症障害児者への接種も有効かつ安全と報告された。乳幼児については、規定量での抗体獲得は不十分で、脳症の発症予防に有効との証拠は未だない。脳症発症機序の解明と共に今後検討を要する。

けいれん既往者への予防接種のガイドラインが作製され、アレルギー疾患児への接種に際しての検査法も報告された。高齢者への肺炎球菌多糖体ワクチン（23価）接種の勧告も報告された。また乳幼児に対する Hib ワクチンの有効性と安全性についても確認された。

(6) 多価ワクチン採用の要望について

ポリオを不活化ワクチンに切り替えるに当たっては、DPTとの混合ワクチンが必要である。今後新ワクチンの採用に備え、混合ワクチンの認可方式の検討が要望される。

(7) ワクチン取り違い等の事故予防について

ワクチンの取り違いや接種量の過誤の防止には、pre-filled 形式の注射器封入型のワクチンが有効と現場で評価され、チメロサールの除去も可能となった。

(8) ワクチンの意義と品質への理解を高めるための健康教育について

予防接種率の向上のため、とくに麻しん根絶を目標として、北海道をはじめ各地から健康教育とPRの努力と方法が報告されつつある。また県下全域で個別接種可能な「相互乗り入れ方式」も各地で進められており、更なる普及が望まれる。

(9) 感染症・ワクチン関連情報の全国的ネットワークの構築

本研究班はワクチン関連の専門学者のみならず、全国すべての都道府県の感染症ないしワクチン実用に熱意を持つ実地医家に研究協力を依頼しており、この全国的ネットワークを活用して多くの情報を得、また最新情報を伝えることを実施してきた。問題疾患の発生状況、変異ウイルス株の流行状況、ワクチン接種後に見られた副反応を疑う症例、ワクチン接種率向上を目指す試みなどである。大学・研究所・医師会・ワクチンメーカー等を網羅したネットワークの構築はきわめて有用かつ貴重であり、このシステムの維持のために努力する必要がある。

A. 研究目的

本研究は安全なワクチンの確保とその接種方法に関する研究を総合的に行い、感染症の予防によって国民の健康を守り、ひいては世界の感染症対策に貢献することを目的とする。

全国各地域の臨床的・疫学的情報を収集して検討し、その成果を活用してより安全かつ効果的なワクチンに改良して用いる一方、感染症予防に関わる住民や子どもたちへの健康教育にも努め、国民の保健福祉の向上を図る。

B. 研究方法

全国のワクチン・予防接種に関する、基礎医学、臨床医学、疫学、ワクチン製造の研究者、各地域における予防接種事業の指導的立場の臨床医の協力を得て、総合的に研究を行った。すなわち、感染症とワクチンの副反応に関する全国各地の臨床的・疫学的情報を収集して検討し、対策を立て、ワクチンの改良に活用するため、研究協力者とは常時情報交換を行い、分科会と全研究協力者の会する総会を開催して討議して能率よい研究を行った。

本研究は分担研究者により以下の4研究課題を実施した。

- ①ワクチンの副反応要因とその除去に関する研究
- ②ワクチン改良の必要性に関する臨床疫学的研究
- ③ワクチンの接種対象と接種方法のあり方に関する研究
- ④ワクチンの意義と品質への理解を高めるための健康教育に関する研究

C. 研究結果

本研究は3年計画の第3年度を終了したので、本年度の研究成果を中心に、過去3年間の成果にも言及しながら報告する。

(1)「ワクチン副反応要因とその除去に関する研究」

安全で効果的なワクチンを開発していくために以下の研究成果を得た。

①本研究班ではワクチンに含有ないし混入していたゼラチンによるアレルギー反応の存在を確認し、すでにすべての定期接種のワクチンからゼラチンは除去されているが、低アレルギー性ゼラチンの開発のためにゼラチンのIgE結合エピトープを同定した。また組み替え型ヒトI型コラーゲンはゼラチンアレルギー児のIgEと反応性が認められたが、組み替え型ヒトゼラチンとの間には認められず、今後の実用性が示唆された。

②乳児に麻疹ワクチンを接種した場合、接種児の半数にリンパ球の持続的減少が認められた。乳児期での接種には慎重を要しよう。

③麻疹ワクチンの成人での二次性ワクチン効果不全(SVF)は、中高校生のSVFに比べ、罹患時の症状が重く、リンパ球の減少も長期化した。中学生時期のブースターが望まれよう。

④近年の麻疹では、変異したH1株が全

国的に流行している。現行ワクチンは有効であるが、ワクチン株による抗体の変異株に対する中和能はやや低下しており、今後の経過と対応の研究が必要である。

⑤最近流行のムンプスウイルス株にも変異の兆候が見られる。

⑥不活化インフルエンザ経鼻ワクチンによって産生されたIgA抗体は、マウスの実験で、同じ亜型内のウイルスに対する交差防御機能があった。またIgA抗体は上気道、IgG抗体は肺胞の分泌物に多く分布し、特異IgA抗体は上気道の感染防止に、IgG抗体は肺炎の防止に有効であると考えられた。

⑦国内外のDaTPワクチンの初回接種時の局所反応原性を動物実験で調査したところ、海外ワクチンは国産ワクチンに比してより強かった。また、破傷風トキシイドをキャリアーとした海外製Hibワクチンの4ロットにつきエンドトキシン含有量を評価したところ、かなりのエンドトキシンが含まれており、破傷風免疫原性が認められた。ワクチンの国際化とわが国への導入の場合に備えて、海外ワクチンの安全性の向上が望まれる。

⑧1991年以降のDPTワクチンの減毒条件の強化により、ヒスタミン増感活性に依存した局所腫脹反応が減弱した。

⑨日本脳炎についてマウス脳を用いずVero細胞由来の不活化ワクチンが開発された。⑩DPTや日本脳炎についてチメロサルを含まないワクチンが市販された。pre-filled型のワクチンは誤接種の予防にも有効である。

⑪予防接種および関連疾患の抗体測定法の開発、改良、現状の問題点を討議した。

(2)「ワクチン改良の必要性に関する臨床疫学的研究」

ワクチン改良が求められる問題点を解析

し、安全なワクチンを確保するための研究を行い、次の如き成果を得た。

①麻しんワクチンによる抗体価は、年齢の推移と共に減衰しており、各地から中学生以上での流行が報告されている。わが国としては徹底した麻しん対策のために効果的な追加接種の時期の検討を始めなければならない。

②風しんは自然感染例は減少しているが、ワクチンの接種率が低いままに経過した中学生年代の影響、及び若年者の知識不足のために、風しんの再流行と先天性風しん症候群の発生が懸念される。風しん対策は重要かつ緊急な事項である。

③ポリオの抗体保有状況は、3型が経過年と共に低下傾向にある。

④水痘ワクチン接種者における水痘罹患は10～20%であり、ワクチンからゼラチンを除去したことによる効果に変化はない。

⑤おたふくかぜワクチンの有効率は、家族内暴露時において76%、発症率の高い6歳以上では84%であった。

⑥成人層の調査で、破傷風では20歳代後半から、ジフテリアでは40代後半から抗体保有率が低く、成人へのワクチン接種の必要性が提起された。

⑦急性神経系疾患調査(AND)の17地域からの報告では、麻しん脳炎、風しん脳炎は減少したが、インフルエンザ脳症、ムンプス、エコー13による無菌性髄膜炎の増加が認められた。予防接種年齢における背景疾患としての神経系疾患の継続的調査は、今後とも安全な予防接種の実施を続ける上で重要である。

⑧希ながら起こるいわゆるワクチン事故を疑う症例の報告、免疫不全や心身障害を持つ者への予防接種の安全性の検討も行われた。

(3)「ワクチンの接種対象と接種方法のあり方に関する研究」

高齢者やハイリスク者に対する安全、有効な予防接種のあり方を検討し、次のような成果を得た。

①高齢者に対するインフルエンザワクチンについては、A型のHI抗体価はある程度以上は上昇せず(頭打ち現象)、体液性免疫能の記憶保持能力の低下もあること、抗ウイルス剤の早期使用で抗体上昇が起きないことがあること、B型は抗体獲得の悪いことなどが示された。

②小児に対するインフルエンザワクチンについては、特に乳児での抗体獲得が低く、現行の接種量では不十分である。インフルエンザ脳症への予防効果についての証拠は得られていない。

③重症心身障害児(者)へのインフルエンザ等の予防接種は積極的に対応している施設は多いので、接種基準を調整中である。

④アレルギー児へのワクチン接種は、ゼラチンの除去や精製によって副反応は減少しているが、接種基準も報告され、これまでアレルギーのために中止してきた80%以上の症例への接種が可能となろう。

⑤Hibワクチンは接種試験を終わり、安全性と有効性が確認され、審査中である。高齢者の帯状疱疹予防に水痘ワクチンの応用が報告されたが有用性については今後の検討が必要である。

⑥ポリオ不活化ワクチン、Hibワクチン等の導入と乳幼児の負担を考えると、多価混合ワクチンの検討が必要になる。

⑦ムンプスの自然感染による無菌性髄膜炎の合併率は1.2%、ワクチンでは0.04%であり、ワクチンの有用性が評価された。

⑧肺炎球菌ワクチン的高齢者や慢性気道感染症患者への接種やインフルエンザワクチンとの併用が評価され、接種率の向上が望まれた。

(4) 「ワクチンの意義と品質への理解を高めるための健康教育に関する研究」

予防接種率の向上による対象疾患の制圧のための健康教育のあり方を検討し、地域ごとの接種率の把握と接種率の向上に関して次の成果が得られた。

①中学生以上での麻しん流行例や修飾麻しんの小流行が各地から報告された。

②麻しんゼロ作戦は北海道をはじめ神奈川、大阪、石川、宮崎、沖縄等の各地域で開始され、小児科医学会も呼びかけを強め、予防接種率の向上を認めつつある。

③累積接種率曲線を利用する各年齢別接種達成率を計算する方式が各地に普及している。

④各ワクチンの接種率の実態が各地から報告された。小学校入学前の時点での調査では、BCGとポリオが95%を越え、麻しん、DPTも90%を越えたが、風しん、日本脳炎はなお不十分であった。

D. 考察

本研究はより安全で効果的なワクチンへの改良や開発に関わる基礎的研究と共に、全国的かつ各専門職種にわたる研究者と臨床医家のネットワークにより、わが国のワクチンと予防接種行政への貢献を目的としている。既述の研究成果の中に考察も含めているが、行政研究的活用にも重要と考えられる研究内容について重ねて記述して考察とする。

①安全性に関わるワクチンの改良については、ゼラチンアレルギー問題に端を発した添加物ないし混入物質の除去の努力としては、ゼラチン、ヒトアルブミンの除去に成功し、チメロサールの除去も進みつつあり、マウス脳を用いない日本脳炎組織培養ワクチンの開発にも成功した。抗原以外の物質を含まないワクチンの開発は確実に進歩している。併せて海外製のワクチンの品

質についても実際の副反応との関連において検討していく必要がある。

②インフルエンザの不活化経鼻ワクチンの有用性が証明されてきており、実用化に努力すべきである。

③麻しんの流行状況から、生ワクチンの抗体持続や流行ウイルス株の変異が問題になってきた。麻しん、風しんの生ワクチンの二回接種をその接種時期の検討と共に具体化すべき状況にある。

④高齢者やハイリスク者への予防接種のあり方、接種指針について研究が進んでいる。有効かつ安全な接種を臨床現場に浸透する必要がある。

⑤ポリオ不活化ワクチンの採用が迫られており、海外で普遍化しているワクチンの導入も考慮して、乳幼児に負担の少ない混合ワクチンの採用を積極的に進める必要がある。

⑥ワクチンの間違い接種の予防にpre-filled型のワクチンが有効であり、チメロサールの除去にも役立っている。更なる普及が望まれる。

⑦予防接種率の向上による当該疾患（とくに麻しん）の制圧はグローバルにも極めて重要であり、健康教育の普及と有効な方法の開発に努めているが、さらなる工夫と努力が必要である。

⑧本研究を通じて、ワクチン、病原微生物、疫学、病理学等の専門家、各地の臨床医家、地域保健医療関係者等の幅広いネットワークが組織され、連携を取りながら協働の実が上がってきている。この貴重な組織を保持し活用する必要性と有効性は極めて大きいので、今後とも育成していただきたい。

E. 発表文献

各分担研究報告書に記載する。

(1) ワクチンの副反応要因と
その除去に関する研究

(倉田班)

ワクチン副反応要因とその除去に関する研究

分担研究者 倉田 毅（国立感染症研究所）

研究協力者 井上 栄（大妻女子大学）

研究要旨

ワクチン副反応要因とその除去に関する研究において本年度は次のような研究成果が得られた。1) CTB 併用経鼻インフルエンザワクチン接種マウスの気道の異なる部位における IgA および IgG 抗体の分布と濃度を調べた。2) アレルゲン性のない安定剤の開発を目的に組換え体ヒトコラーゲンに対する IgE 反応性を検討した。3) 沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチンの初回接種時の局所反応原性を検討した。4) マウスモデルを用いて沈降精製 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した。5) マウスを用いて DPT 三種混合ワクチン接種後の局所反応に関する病理学的な検討を行った。6) ヘモフィルスインフルエンザ b 型菌(Hib)ワクチンの早期導入における問題点の検討を行った。7) 麻疹ウイルスの温度感受性とその関連遺伝子の検討を行った。8) 風疹ウイルスの弱毒化の分子生物学的解析を行った。9) ムンプスウイルスの遺伝子型別を行うことにより、どの様な株が国内で流行しているのかを確かめ、現行ワクチン株との比較・検討した。10) 「抗体測定法研究会」において予防接種疾患に関係する抗体測定法の開発、改良また現状の問題点などを広く討議した。

A. 研究目的

感染症から国民の健康を守るためには、安全で効果的なワクチンが不可欠である。特にワクチン接種率を増加されるためには、より安全なワクチンが求められている。本研究は、より安全で効果的なワクチンへの改良・開発のための基礎的研究を行うことが目的である。具体的な各研究の目的として1) ウイルス感染を完全に阻止しうるワクチン最小有効量での免疫条件下での気道各部位の IgA および IgG 抗体の分布と濃度を測定することが目的である。2) アレルゲン性のない安定剤の開発を目的として作製された組換え体ヒトコラーゲンにおけるゼラチンアレルギー患者の IgE の反応性の有無を調べた。3) 沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチンの初回接種時の局所反応が国内外で問題になっており、国内外のワクチンを比較検討することを目的とした。4) 我が国では沈降精製 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が大きな問題となっており、マウスモデルを使用し、現行ワクチンの局所反応性を調べた。5) DPT 三種混合ワクチン接種後の局所反応に関する病理学的な検討をマウスモデルで行なうことを目的とした。6) ヘモフィルスインフルエンザ感染症は大きな問題となっており、このワクチンの早期導入における問題点について検討することを目的とした。7) 麻疹ウイルスの温度感受性とその病原性の関連について明らかにするために麻疹ウイルスの各遺伝子の関与を調べた。8) 風疹ウイルスの弱毒化のメカニズムを解析するために分子生物学的解析を行った。9) 最近、大規模なムンプスの流行があったため、現在流行のムンプスウイルスの遺伝子型を調べ、現行ワクチン株との比較した。10) 予防接種抗体測定法研究会を開催し（主催者 大妻女子大学 井上 栄）、予防接種疾患に関係する抗体測定法の開発、改良ま

た現状の問題点などを広く討議・情報交換を目的とした。

B. 結果と考察

1) 気道の異なる部位における IgA および IgG 抗体の分布と濃度

致死量のウイルス感染に対する完全な感染阻止が成立する CTB 併用経鼻インフルエンザワクチンの最小有効量での免疫条件で気道の様々な部位におけるインフルエンザ特異的 IgA および IgG 抗体の分布と濃度を検討し、IgA は上気道におけるインフルエンザの阻止に IgG 抗体はウイルス性肺炎の発症の阻止に重要な役割をはたしていることが示された。

2) ゼラチンアレルギー児におけるヒト I 型コラーゲンに対する IgE 反応性の検討

ゼラチンアレルギー小児の中でヒト・I 型コラーゲンに対する IgE 抗体を持つ者が存在することが明らかになった。ヒト・コラーゲンに対する反応性を持つ小児の血清中の IgE 抗体は、この組み換え体ヒト・ゼラチンの断片に反応しなかったので、組換え体ヒト・ゼラチンはアレルギー性の低い安定剤として有望であると考えられた。

3) 国内外の沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン(DtaP)の初回接種時の局所反応原性の検討

動物実験において海外ワクチンは国内ワクチンに比べて、より強い局所反応原性を有していることが判った。ワクチンの国際化を考えると、我が国にワクチンを導入する場合に備えて、海外ワクチンの安全性の向上が望まれる。

4) 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

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を検討するために、マウスの評価モデル系を作製して、1991年以前のワクチンと減毒条件が強化された現行のワクチンの評価を行ったところ、以前のワクチンはヒスタミン増感活性に依存した局所腫脹反応を示したが現行のワクチンは示さなかった。

5) マウスを用いた DPT 三種混合ワクチン接種後の局所反応に関する研究

DPT 三種混合ワクチン接種後の局所反応には、D・P・T・塩化アルミニウム・チメロザールの中でいずれか1つが、かかっているのではなく、これらの成分がそれぞれの機序で局所反応を起こしていることがわかった。

6) ヘモフィルスインフルエンザ b 型菌(Hib)ワクチンの問題点

海外で製造された破傷風トキソイドをキャリアーとした Hib ワクチン 4 ロットを入手し、エンドトキシン含有量を評価したところ、かなりのエンドトキシンが含まれていることが判った。またキャリアーの破傷風トキソイドの免疫原性について、マウスおよびモルモットでの評価を行ったところ、明確な破傷風免疫原性が確認された。

7) 麻疹ウイルスの温度感受性

重症の麻疹患者から分離されたウイルスの中に 39° C でも良く増殖するウイルスが見つかり、こうした特性は強毒株と考えられた。また、エンベロープ蛋白は 39° C の増殖能とは関係ないことが明らかになった。

8) 風疹ウイルスの弱毒化の分子的基盤に関する研究—T0-336 ワクチン株の5' 領域の役割

野外風疹ウイルスを弱毒化し得られた T0-336 ワクチン株の5' 領域の5つの変異に注目して弱毒化に関する部位を検討した。その結果、どの変異が弱毒化に関わっているか決定できなかったが、この5つの変異はウイルスの増殖に感染初期に関係していることが判った。

9) ムンプスウイルスの国内分離状況

2000 年から 2002 年のムンプスウイルスの流行時の SH 遺伝子型別により調査をしたところ、配列の異なる複数の株が流行していたことが判った。今のところは遺伝子型間で中和抗原エпитープには大幅な変化は起きていないと考えられ、現行ワクチンの効果が減弱したという事実はなかった。

12) 抗体測定法研究会

平成15年度の抗体測定法研究会には次の9の演題が発表された。

1. 風疹抗体測定法のための国内標準品の作製(海野ら)。2. HI法、EIA法、NT 法に対する抗麻疹標準血清作製の試み(齋藤ら)。感染研が WHO の風疹、麻疹ヒト抗体の標準品を参照として国内標準品を試作した。以前から「ウイルス検査技術連絡会」などから標準品の要望があった。IgM 抗体陽性血清に関しては抗体価を設定するのではなく、EIA 法での検出を目的とするので、その抗体検出期間を定める必要があるとの議論があった。

3. 日本脳炎ワクチン接種集団から自然感染個体を識別する NS1 抗体測定のための ELISA (小西ら)。ワクチンに含まれない非構造蛋白 NS1 に対する抗体を測定することで自然感染を調べることができるが、非粒子状抗原は免疫刺激能が低く、産生された抗体の濃度が低く、その持続も短いことが問題点である。

4. 逆サンドイッチ ELISA による微量抗体測定—原理と応用(宮沢ら)。この測定法は、同一エピトープの繰り返しを持たない蛋白(非ウイルス粒子)に対する高親和性抗体を高感度、高特異性で測定でき、かつ異なった動物間での抗体濃度を比較できる、という利点がある。牛、豚、人血清中の腸管出血性大腸菌毒素に対する抗体濃度を比較できた。

5. インフルエンザワクチンに対する抗体レスポンスの頭打ち現象について(塚ら)。

6. 高齢者施設において、同一の入所者、職員を対象としてインフルエンザワクチン連続2年接種成績について(塚ら)。インフルエンザ HI 抗体価が低い個体では、ワクチン接種(1回)で抗体価が上昇したが、抗体価が高い個体では、抗体価が上昇しない例が多かった。中高年者では上昇した抗体価は持続しないが、毎年のワクチン接種で抗体価が上昇した。

7. 麻疹、ムンプスの LAMP 法による迅速診断(藤野ら)。LAMP 法を使って 60 分以内で麻疹、ムンプスウイルスの検出・定量が可能になった。ムンプス生ワクチン接種で耳下腺が腫脹した者では唾液中のウイルス量が多かった。再感染でのウイルス量は少なかった。

8. リアルタイム PCR による Dengue ウイルスの血清型分類(伊藤ら)。患者血清から RNA を抽出しリアルタイム PCR で感度よく Dengue 熱ウイルスを型別検出できた。

9. IV型遺伝子を持つ E 型肝炎ウイルス様中空粒子の作製と抗原性の解析(李ら)。ウイルス様中空粒子(VLP)には型特異および型共通エピトープが存在するが、IV型 VLP を抗原とした ELISA で他の型の抗体も検出できた。

発表文献

- 1) Watanabe I, Ross TM, Tamura S, Ichinohe T, Ito S, Takahashi H, Sawa H, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H. Protection against influenza virus infection by intranasal administration of C3d-fused hemagglutinin. *Vaccine* 21, (31):4532-8.
- 2) Ito R, Ozaki YA, Yoshikawa T, Hasegawa H, Sato Y, Suzuki Y, Inoue R, Morishima T, Kondo N, Sata T, Kurata T, Tamura S. Roles of anti-hemagglutinin IgA and IgG antibodies in different sites of the respiratory tract of vaccinated mice in preventing lethal influenza pneumonia. *Vaccine*. 2003, 21(19-20):2362-71.
- 3) Hagiwara Y, McGhee JR, Fujihashi K, Kobayashi R, Yoshino N, Kataoka K, Etani Y, Kweon MN, Tamura S, Kurata T, Takeda Y, Kiyono H, Fujihashi K. Protective mucosal immunity in aging is associated with functional CD4⁺ T cells in nasopharyngeal-associated lymphoreticular tissue. *J Immunol*. 2003, 170(4):1754-62.
- 4) Kumada A, Komase K, Nakayama T. Recombinant measles AIK-C strain expressing current wild-type hemagglutinin protein. *Vaccine*. 2004, 22(3-4):309-16.
- 5) Nakayama T, Fujino M, Yoshida N. Molecular epidemiology of measles virus in Japan. *Pediatr Int*. 2004, 46(2):214-23.

気道の異なる部位における IgA および IgG 抗体の分布と濃度： CTB*併用経鼻インフルエンザワクチンによる感染防御成立マウスにおいて

倉田 毅（国立感染症研究所）

田村 慎一（大阪大学微生物病研究所）

【目的】

これまでワクチンを経鼻免疫したマウスにおいて、上気道に分泌される IgA 抗体が変異ウイルスの流行に対する交差感染防御をする重要な因子であること、また、下気道の IgG 抗体がウイルス性肺炎の発症阻止に重要な因子であることが示唆されている。本研究では、ウイルス感染を完全阻止できるワクチンの最小有効量免疫条件で、マウスの気道の様々な部位（鼻腔、気管、気管支及び気管細支の粘膜及び肺胞）におけるウイルスのヘマグルチニン(HA)に対する IgA および IgG 抗体の分布と濃度を検討した。

【方法】

鼻腔、咽頭、気管、気管支及び気管細支の粘膜、及び肺胞の表面積とその粘液および漿液の体積の測定；BALB/c マウスの鼻腔領域及び気管肺組織をホルマリン固定し、パラフィンに胞埋後、連続切片（4 μ m）を作製した。その連続切片の組織像を染色し、100 μ m 間隔で写真撮影（適当な倍率で）した。その写真上で、各部位の切片毎に粘膜あるいは肺胞上皮の周囲長を計測し、連続切片間の厚さを掛けて気道部位の全体分を積算し、それぞれの表面積を算定した。また、粘膜部位の粘液の体積はその液層の厚さを 0.01mm と仮定し、また、肺胞上の漿液の体積はその液層の厚さを 0.0001mm と仮定して各表面性を基に算定された。 ワクチン： マウスに馴化したウイルス、A/PR8(H1N1)由来の HA ワクチンを用いた。 免疫： 1群5匹のマウスに、麻酔条件下で、CTB*併用 HA ワクチン(各 0.1 μ g)を左右鼻孔から 1 μ l ずつ点鼻投与し、4 週間後ワクチンのみ(0.1 μ g)を同様に点鼻追加免疫した。 感染： マウスに麻酔条件下で、A/PR8 ウイルス (10⁴EID₅₀) を片方の鼻孔から 20 μ l (致死量) 点鼻投与した。 抗体およびウイルス価測定材料：血清； 麻酔条件下のワクチン免疫マウスの心臓から全採血し、その血清を材料とした。気管肺洗浄液；全採血後、気管肺を分離し、気管経由で 0.1%BSA を含む 2ml の PBS を 3 回出し入れすることにより気管肺洗浄液を調整した。気管洗浄液；分離した気管肺より気管を分離し、その内腔を 0.1%BSA を含む 0.2ml の PBS で 3 回洗浄することによって気管洗浄液を得た。鼻洗浄液；全採血後のマウスの鼻腔を 0.1%BSA を含む 1ml の PBS で 3 回洗浄することによって鼻洗浄液を得た。 抗体応答を ELISA 法により測定した。 ウイルス価；MDCK 細胞を用いたブラック法により測定した。

【成果】

(1) 気道各部位の表面積と粘液及び漿液の体積：鼻腔、気管、気管支及び気管細支の粘膜の表面積がそれぞれ 299mm²、20mm²、及び 260mm² であり、また、それぞれの粘膜上の粘液の体積は、3.0mm³、0.2mm³ 及び 2.6mm³ であった。また、肺胞の表面積はおよそ 220,000mm² で、それを覆う漿液の体積は 22mm³ であった。

(2) 最小有効量のワクチンを経鼻免疫したマウスにおける感染防御：CTB*(0.1 μg)併用不活化ワクチン(0.1 μg)を初回経鼻投与し4週後にワクチン(0.1 μg)のみを追加免疫した BALB/c マウスにおいて上気道でも下気道でも完全な感染阻止が実現し、どちらか一方の免疫やワクチンのみの2回免疫では完全な感染阻止は成立しなかった。また、この2回免疫群でのみ主に上気道に IgA 抗体が、下気道に IgG 抗体が誘導され、相関して完全な感染阻止が成立した。

(3) CTB*併用ワクチン免疫マウスの気道の各部位の IgA および IgG 抗体の分布と濃度 (図1)：感染阻止が成立しているマウスにおける鼻腔、気管肺、および気管洗浄液さらに血清の抗 IgA および IgG 抗体量(ng/mouse)の実測値をもとに、気道の残りの部位の抗体量が推定された。これらを基に、IgA の74%が上気道に、IgG の91%が肺胞領域に分布していることが算定された。また、気道の各部位の IgA および IgG 抗体濃度(μg/ml)が粘液及び漿液の体積(mm³=μl)から変換された。粘液中の IgA 濃度が漿液や血清のそれに比して明らかに高く IgA が積極的に分泌されていること、逆に、IgG 濃度は肺胞上の漿液中では血清と同等に高く粘膜領域では濃度勾配によって浸みだしているために低いことが示唆された。

【考察】

マウスの気道の各部位の表面積や体積はヒトのそれと相関しており、マウスの気道の各部位の IgA や IgG 抗体の分布や濃度もヒトのものと相関している可能性が示唆され、また、それらの役割の重要性も示唆された。

【結論】

致死量のウイルス感染に対する完全な感染阻止が成立するワクチンの最小有効量免疫条件で、気道の様々な部位（鼻腔、気管、気管支及び気管細支の粘膜及び肺胞）における特異 IgA および IgG 抗体の分布と濃度を検討し、IgA は上気道におけるインフルエンザの阻止に IgG はウイルス性肺炎の発症の阻止に主要な役割を果たしていることが示された。