

厚生労働科学研究費補助金

厚生科学特別研究事業

天然痘ワクチンの科学的備蓄規模と使用に関する研究

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 蟻田 功

平成 17 (2005) 年 3 月

目 次

I.	総括研究報告	1
	研究総括－ワクチンの効果的備蓄及び有効な使用に関する調査研究 蟻田 功 財団法人国際保健医療交流センター 理事長	
II.	分担研究報告	13
	1. 備蓄ワクチンの有効期間に関する実験的研究	13
	加速変性試験による旧痘そうワクチンと細胞培養痘そうワクチンの保存安定性 の比較～ 森川 茂 国立感染症研究所 ウイルス第一部第一室長	
	2. 天然痘ワクチン接種時における接種不相当及び要注意者の頻度に関する調査	22
	研究（東北地区） 岩崎美生子 厚生労働省仙台検疫所 所長	
	3. 天然痘ワクチン接種時における接種不相当及び要注意者の頻度に関する調査	41
	研究（関西地区） 中野貴司 国立病院機構三重病院 臨床研究部国際保健医療研究室長	
	4. 天然痘（痘そう）ワクチン接種効果の疫学統計に関する検討：LC16m8、	46
	MVA-BN の天然痘感染防御効果についての文献的比較研究 ～Calf Lymph ワクチンの防御効果を標準として～ 齋藤智也 慶応義塾大学医学部熱帯医学寄生虫学教室 助手	
	5. 天然痘発生時のパニック対策に関する調査研究	57
	～天然痘アウトブレイク発生時における天然痘ワクチンの使用方法に関する研究～ 谷口清州 国立感染症研究所感染症情報センター 室長	
III.	資料	66
	1. ワクチン備蓄量について：平成16年6月18日～19日 会議記録	66
	2. WHO Expert Committee on Biological Standardization, Geneva,	75
	15 to 19 November 2004	
	3. Arita I: Essay on smallpox vaccine and its stockpile in 2005, submitted to	84
	Lancet Infectious Diseases	
IV.	研究成果の刊行に関する一覧表	94

厚生労働科学研究補助金（厚生科学研究事業）
総括研究報告書

天然痘ワクチンの科学的備蓄規模と使用に関する研究

主任研究者 蟻田 功 財団法人国際保健医療交流センター 理事長

研究要旨 本研究は技術的また社会的に極めて不確定性の多い点の特徴であるので、日本最高の専門家の協力を得て実施した。備蓄する LC16m8 ワクチンの品質は適当であり、備蓄量は 5600 万人分を提案した。緊急時にこの量で十分対応できると現在考えている。ただし、LC16m8 ワクチンの日本のみならず国際的貢献を考慮すると、ワクチンの動物モデルを用いた安全性や有効性について更なる官民共同作業による研究が望ましいと結論した。

分担研究者氏名・所属機関名及び職名(50音順)

岩崎恵美子 厚生労働省仙台検疫所 所長
金谷泰宏 防衛医科大学校防衛医学研究センター
助教授
桑原紀之 自衛隊中央病院保健管理センター長
齋藤智也 慶応義塾大学医学部熱帯医学寄生
虫学教室 助手
谷口清州 国立感染症研究所感染症情報センター
室長
中野貴司 国立病院機構三重病院臨床研究部
国際保健医療研究室長
森川 茂 国立感染症研究所 ウイルス第一部
第一室長

A. 研究目的

本研究の目的は天然痘ウイルスを用いたバイオテロリズムまたはラボの過失から発生した流行に対してその最良の防御武器であるワクチンを備蓄する場合、その量と使い方の最善の方法は何かということであった。問題は流行の起こる確率の不確定性、ワクチン副作用、緊急な研究課題、国際間の流行における近隣国と日本との関係など、多岐にわたる。

したがって、本研究の目的を明確にするため、下記の3つのシナリオを考えた。

シナリオ1: 今世紀、憂慮されたが流行なし。

シナリオ2: 日本列島の一部にテロによるウイルスのエアゾールによる導入、数百名程度の発生、緊急ワクチン対策で制圧。

シナリオ3: シナリオ2の対策の失敗または複数箇所のエアゾールによる日本列島へのウイルス散布、複数の流行地域と数千人の患者発生、数千万人地域の隔離、経済機能麻痺、1年余りの全国的対策（サーベイランス、封じ込めとしての全国民接種）で終息、しかし経済的な打撃で国民総生産減少。

本研究の備蓄規模はシナリオ1及び2に不足ない規模及びその使用法の観点から考えるが、天然痘の伝播性を考慮し、国際間の流行に対処する点も考えに加えた。

B. 研究方法

日本最高レベルのこの問題に関する専門家及び研究協力者により、日本及び欧米のBiodefense研究所の情報も勘案して、1. 備蓄のためのワクチンの種類、品質の確認、2. 備

蓄ワクチンの平時及び緊急時の想定からみた場合の規模、3. 使用方法、厚生労働省天然痘対策指針（平成 16 年 5 月 14 日改訂版）を基盤として、臨床実験成績も含めての問題点の検討及び備蓄の将来問題－財政面も含めて－の研究を行った。

倫理面の配慮としては、現在の備蓄ワクチンの臨床実験を行ったが、すでに認可ワクチンで被接種者の同意もあり、また重篤な副作用も無かった。

C. 研究結果

別添 1 の各研究者、協力者の報告及び討議を基礎として、その要点を以下のようにまとめた。

1. 備蓄ワクチンの品質は大丈夫か

現在、リスター株をクローンした弱毒株 LC16m8 をウサギ腎細胞で培養したワクチン（LC ワクチンと呼ぶ）を備蓄している。この株は 1970 年代に、当時の実験室及び野外実験でその弱毒化が確立され（特に神経毒性の軽減）、中和抗体産生、更に細胞免疫の存在もあり、製造許可されたものである。ただ WHO 天然痘根絶成功の後で開発され、実際の天然痘流行に活用されて感染防御を行った成績はない。加えて、ワクチニア株の免疫原生に関係があると考えられている遺伝子の一つ、B5R が欠如している。しかし、1990 年代から 2005 年現在までの動物実験（マウス、ウサギ、サル）で感染防御が証明されており、その弱毒性の利点もあり、備蓄に相当と考える。また近い将来もし緊急事態が起これば、直ちに LC ワクチンを使う。

なお、天然痘備蓄ワクチンは欧米では従来の Calf-Lymph ワクチン、組織培養ワクチン－ACAM2000 及び MVA ワクチン（弱毒化、増殖なし）の 3 種類があり、例えば米国ではこの 3 種類を備蓄しつつあるが、日本は LC ワクチンだけでよいのかという問題があるが、これは考

察で述べる。

2. 備蓄ワクチンの規模は？

天然痘ウイルス導入の予測不能、米国の事前接種挫折そしてワクチン副作用の三要素により、備蓄規模の判断は困難である。ただ、天然痘根絶時代、インド流行が Surveillance - Containment（村落単位のワクチン接種による局地的流行対策）により、それまで 10 年全国民接種で流行を制圧できなかったのを、18 ヶ月で伝播を断ち切った事実、また疫学数理モデルで全国接種は追跡接種より能率が劣ることが証明されたことにより、全国民接種はまだ必要ないことが国際社会の通年となった。ただ、最大の安全度または最悪の事態（シナリオ 3）を避けるには、全国民を接種できる量という考え方に欧米ではなっている。これはパニック対策またはテロに対する抑止力という意味もある。

日本は現在、シナリオ 1 と 2 を考え、1976 年以降の接種廃止以来の感受性者、それ以前でも接種を受けなかった人、パニック対策また緊急医療対策員を考え、資料 1 にあるように約 5600 万人程度の備蓄を研究班としては適当と考えるが、あくまで暫定的である。

現在、財団法人化学及血清療法研究所（化血研）1 ヶ所が LC ワクチンの製造許可を持っており、国はこの製造者が常に一定の製造能力を維持する契約を結ぶ必要がある。年間 7000 万人程度の製造能力がある。

なお、WHO は国際天然痘ワクチンの備蓄を本年からでも開始する計画があるが（総会決議があれば）、LC ワクチンが国際備蓄ワクチンと見なされるかどうかはまだ決まっていない。

3. 野外臨床接種による問題点の発見

天然痘対策指針（第 5 版）を基礎として本研究で特に問題となる点について調査研究した。

LC ワクチンの使用は 1970 年代であり、新しく当時の厚生省研究報告の成績を再確認するとともに、新しい被接種人口の接種に対する心理的また身体的影響について調査研究（現在続行中）を行った。

3.1 臨床試験

19-54 才の 1071 名について血液、生化学的検査などの予備検査、また HIV 陰性の確認、その他の禁忌を除いて、二又針により LC ワクチン（日本基準合格）を上腕伸展部に接種した。

接種回数は 1976 年以降に生まれた被接種者（I 群）と 1975 年以前に生まれた者（II 群）に分けた。I 群は殆どが初回接種、II 群は相当数が再接種と考えられるが、当時の記憶また接種皮膚痕を参考としても完全な分類は出来なかった。接種は 2 回の異なった時期に行われた。

主な結果は下記の通りである。

- (1) 善感率は合計で I 群 88-95% 及び II 群 75-86% であった。なお I 群は 5 回、II 群は 10 回の二又針の乱刺で行った（この回数は厚労省指針とは異なる）（表 1）。
- (2) 150 名について接種前後の血抗中の中和抗体価を下表に示す。
ただ、接種後年齢が高くなるほど上昇程度が低いという傾向があった（図 1）。

中和抗体価測定結果

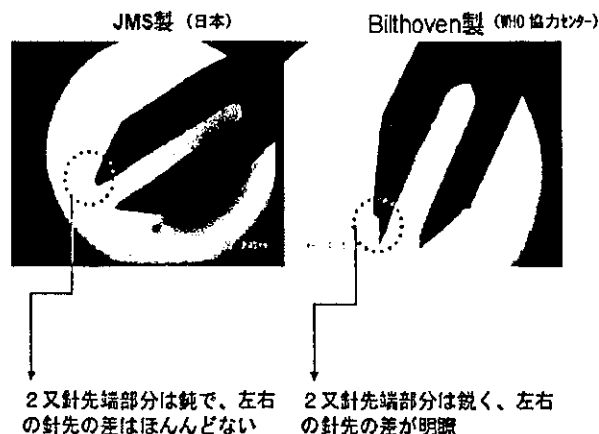
	例数	接種前	接種後 1 ヶ月
A (初種痘)	35	<8	99
B (初種痘)	11	<8	180
B (再種痘)	26	40	343
C (再種痘)	33	30	117
D (再種痘)	45	34	132

接種後 10 日目に善感判定を行い、善感判定を受けたもののみ中和抗体を測定した。

- (3) 副作用についても 1970 年代の厚生省の成績と大差なし。重篤な副作用の発生はなかった（表 2）。特に I 群と II 群の比較では、I 群に腋下リンパ節腫脹、発熱など全身症状の頻度が II 群に比べて高かった。特記すべき循環器系統の副作用は認められなかった。なお、このような症状の発

生は I 群より II 群のほうが接種後早く出る傾向があった（表 3）。

- (4) 二又針を WHO の二又針と比較して、下写真のように先端の形状が WHO 基準のほうが鋭い。この違いが善感率に影響するかは不明である。ただし、第 1 回の II 群の善感度が第 4 回のそれに比べ低かったのは乱刺の程度が弱く、時間をかけた乱刺方法のためと考えられる。第 4 回に急速に 4 秒程度の乱刺で血がにじむ程度に行い、善感度は良かった。ただし B 群の I 群の善感度が低かった理由は不明であるが、B 群は接種廃止前に生まれた者であるので、再接種者が相当数含まれていることが疑われる。流行時の混乱を避けて迅速な接種キャンペーンを行う場合を考え、初回と再接種を区別して接種回数を変えることは無いと考えられる。WHO の根絶計画及び厚労省指針で初回・再接種とも 15 回の乱刺となっており、これに従う。
- (5) 1 バイアル 0.5ml のグリセリン液で溶解後のバイアルから 1 回ずつ二又針で液をとれば計算では一針が 0.004ml であるので、125 人程度の接種が出来る。これは WHO の 0.0025ml と比べて多いが、その差について先端の形状によるものであろう。「4-5 秒ですばやく血のにじむ程度の乱刺をする」という WHO の方針を応用して十分



な善感度を保つことができた。

- (6) 緊急ワクチン接種を行う場合、1バイアルが少数の人数に使われることもあるが、溶解したワクチン液は翌日には使用しない原則である。したがって、1バイアルは表示の50人として、地域接種計画また国の備蓄量の計算もそれに従うのが安全であり、対策の目的にかなうと考える。

3.2 接種対象人口の予備調査

接種不適当者の調査が宮城県多賀城市一般人口についてのアンケートにより行われた。アンケート回収率は79%で、約2000人の状況が分かった。同時に独立行政法人国立病院機構三重病院及び三重県下小児科10医院の11病医院に来院した保護者1035名へのアンケート回答を調べた。

上述二地域の天然痘ワクチン接種に際して不適当だと思われる疾病の頻度がアンケート又は問診で判明した。実際に検査した場合はない。しかしその結果は以下の通りである。

- (1) 副作用の従来の経験から見た住民の有病観察

副作用	左記を起こす可能性のある疾病
Eczema vaccinatum	アトピー
Progressive vaccinia	ステロイドや免疫抑制療法による治療中、HIV陽性者
Postvaccinal encephalitis	ひきつけ、痙攣のある者
Myopericarditis	日本側で現在まで特記すべきものなし

- (2) 以上に関連して多賀城市では約2000名のアンケートにより上記のような疾病の有病率を調査した。年齢別は別添の精密な分担報告書を参照されたいが、全年齢としては下記の通りである。

心疾患*	15%	40歳以上から多くなる
血液病*	4%	

がん*	4%	
高血圧*	43%	30歳から多くなる
脳血管障害*	9%	40歳から多くなる
けいれん	4%	小児に多い
何らかの皮膚炎	20%	アトピー性皮膚炎を含む
妊娠	30-39才 4% 20-29才 3%	

* 免疫抑制剤、高血圧剤など服用天然痘ワクチン以外の予防接種の経験では2%の人が発熱、蕁麻疹、意識障害などを経験している。

以上、二箇所のアンケート調査から天然痘ウイルスの導入による流行対策として、はじめに述べたシナリオに照らして考えれば、慎重に行えば、一般の天然痘予防接種は以上のような接種不適当者が約20%が出てくる。従って、その効果はシナリオ1では相当数の未接種者である。即ちPre-emptiveの全国民接種キャンペーンは、よほどの広範囲な流行対策、即ちシナリオ3ではない限り実際的ではないということになるだろう。

この状況下で、シナリオ2の場合、三つの状況—即ち、患者発生地又は何らかの方法で患者に接触したことが分かった人(A群)、接触の可能性あり(B群)そして接触無し(C群)の3群について予防接種の可否を考え、その対応として、厚生労働省指針を基本とするが、表4のような提案をしたい。

接種については、両地域の報告で相当部分の人が接種を希望する回答があるので、接種事業には支障が無いが、むしろ十分な状況報告をしてパニックにならないように注意すべきであろう。

例えば、神戸地域に発生の場合、関東、東北、中国、九州などはどうするか、という素早い決断をすべき状況も考えられる。地域別の隔離(交通遮断)とサーベイランスの徹底により新発地の封じ込めという方法と一方、全国民接種(ドイツなど)という方法もある。またこの

際、日本ではまず推定 5600 万人のみ接種者の接種という考え方もある。既接種者の天然痘免疫度は予想外に長いというレポートもある⁽¹⁾。

これらは緊急対策のマネジメントの領域となるので、本研究班では問題提起をして、これ以上は触れない。

4. 備蓄の将来問題 —経費的問題も含めて—

備蓄の将来問題として、経費の問題がある。例えば LC ワクチン 1 ドースが仮に約 300 円として、5000 万ドース備蓄するのであれば、その価格はワクチンだけで 150 億円という大きな額となる。ただし、その備蓄期間が 20 年、30 年であれば、その経費は“緊急使用可能という保障”と考えて許容度も高まるであろう。

この点から国立感染症研究所で加速変性試験による従来の痘瘡ワクチンと LC ワクチンの保存安定性が比較された。その結果、従来ワクチンに比べて LC ワクチンの保存安定性が低いことが考えられた。なお、WHO 協力センター 英国 国立生物基準管理研究所 (NIBSC) では組織培養ワクチンは従来の動物皮膚由来のものより安定性が低いという成績がある (資料 2)。しかし、 -20°C での保存ではその力価低下は 0.5Log pfu 以内となるだろうと推定された。ワクチン力価の保持は備蓄条件の最低条件であり、その推定を確認するにあたり、さしあたり長期の追跡調査が必要である。NIBSC は WHO 協力センターであり、共同研究が望ましい。

備蓄のワクチンの種類について、LC ワクチンだけで良いかどうかについて、前述した表 4 のバイオテロ発生時の我が国における天然痘ワクチン接種基準を参照されたい。LC ワクチンを接触者には強行接種とするが、接触不明者には接種を最小限度とした。もし、人体で増殖しない MVA、NB のワクチンがあれば、あるいは免疫不全者や高齢者にも接種を考えても

良いかもしれない。MVA の免疫不全マウスの効力試験と同様なものが LC ワクチンでも行われれば、大いに参考になる。

これまでの 1-4 の報告を通じて、下記の研究を近い将来に行えば、これらにより、現在の備蓄ポリシーの有効性が更に確実になるだろう。

a. LC ワクチン品質について

- LC ワクチンの感染防御について、適当な動物モデル (特にサルモデル) における NYBH ワクチン、ACAM2000 ワクチン及び MVA ワクチンと比較した実験による研究 (WHO の国際研究とならないか)
- LC ワクチンの免疫不全動物における安全、効果の実験的研究

b. 備蓄について

- 備蓄ワクチンの安定性の継続的研究
- 日本製造二又針と WHO 二又針の比較検討: 4 秒程度の血のにじむ程度の乱刺方法 (WHO 方法) を使えば善感度に有意の差なしとの確認
- 本研究では触れなかったが、緊急時における備蓄ワクチンの円滑な配布についての準備

c. 国際標準規格天然痘ワクチンの確保と Working Vaccine Standard の製造とその使用: LC ワクチン研究が国際的な評価を受けるためにも必須である。すでに英国 NIBSC に連絡中。

d. LC ワクチンの WHO 国際備蓄システムに関する役割の検討

D. 考察

天然痘テロ対策は日本及び国際社会においても初めての事例であり、また流行がもし起これば国境を越えた流行の予測が大きいことから日本だけの対策が独立して行われるわけではない。ピッツバーグ大学バイオデフェンス研究所の表 5 は、米国の医科大学の最近の情報で

ある（日本は3100万ドースとWHOに報告とあるが要確認）。化血研は世界5大ワクチン研究所の一つである。WHOは5月の総会で国際天然痘ワクチン備蓄計画を検討する予定であるが、日本の役割は何か。LCワクチンは国際間流行対策にも貢献できるのか？このような課題を十分に検討し、日本の国益を第一としても、日本で出来ることと出来ないことを決める必要がある。変動するこの世界で日本はアジアのリーダーとして適切な対処をする役目があると考えられる。LCワクチンが国際基準又は勧告（もしあるのであれば）に合致しているかどうかなどは、日本政府は早急に解決しておくべきであろう。

現在の5600万人程度の備蓄は適当と考えられるが、研究班の数理モデルを使用した検討から、Surveillance-Containment（追跡接種）か集団接種のいずれが有効であるかは、最初に曝露を受けた患者数が多いほど、また曝露から公衆衛生当局からの対応が開始されるタイミングが遅れるほど、集団接種の方がより有効となるという。その際に、集団接種の場合には2000万人分前後のワクチン接種が必要となる。一方でSurveillance-Containment（追跡接種）の場合での必要なワクチン接種は少ないが、最初に曝露を受けた患者数が多く、しかも曝露から公衆衛生当局からの対応が開始が遅れた場合には、1000万人以上のワクチン接種が必要となる場合もあると計算された。これらに、医療従事者および公衆衛生対応者に対する必要分が加えられる。これはあくまで数理仮説であるが、備蓄量がウイルスの導入パターン、その国のサーベイランスシステムの強弱、ひいては緊急対策開始の時期などの要因に左右されることを示しているため、念のためここに記した。

20世紀後半、日本は新ワクチンの開発に大いに貢献した。古くは日本脳炎ワクチン、無細胞百日咳ワクチンそして水痘ワクチンである。

これら3つとも多数の国々の予防接種事業に貢献した。LC16m8はその最後の新ワクチン開発のひとつであり（1970年代）、もし天然痘根絶が終わっていなければ、実際の流行制圧に使用され、その品質が認められ、国際的なワクチンとなっていたかもしれない。これは日本のバイオテクノロジー（或いはワクチン研究開発技術）が世界で優れたものであることを示す一方、例えば日本脳炎ワクチンの普及が遅いなど、折角の開発技術が国際的に生かされていない。LCワクチンも日本の官民連携の下で前述した研究課題を追跡すれば、米国のVaxGen社（現在LCワクチン研究グループ）とも協力して、或いはLCワクチンは大きな国際的な貢献ができるかもしれない。

最後に、将来の未接種人口の増大及び世界政治の変化を考慮に入れ、将来、適時、本研究の戦略について確認、調整を行うことが必要であるが、本研究ではこれを記するにとどめる。

E. 結論

標記の研究課題について、LCワクチンが備蓄に相当であること、備蓄の規模として5600万人程度が考えられるとした。ただしLCワクチンの今後の研究課題として免疫不全動物モデルを使った安全性の研究及び動物モデル（特にサル）における感染防御について他ワクチン（NYBHワクチン、ACAM2000ワクチン及びMVAワクチン）との比較研究が備蓄ワクチンとして極めて望ましい。最後の比較研究はWHOの介入が必要かもしれない。なおこれらの研究は官民共同で特に公的機関の精神的資金的協力をもってしか行うことが出来ない。

参考文献

- (1) Arita I: Duration of immunity after smallpox vaccination: a study on vaccination policy against smallpox bioterrorism in Japan. Jpn J

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Arita I: Essay on smallpox vaccine and its stockpile in 2005, Lancet Infectious Diseases,に投稿中 (資料 3)

2. 学会発表

特記事項なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記事項なし

表1 各世代における善感率の比較

群	出生年	区分	第1回				第4回				合計				
			善感	不善感	合計	善感率 (%)	善感	不善感	合計	善感率 (%)	善感	不善感	合計	善感率 (%)	
A	1976以降	I群	初種痘	85	5	90	94.44	163	9	172	94.77	248	14	262	94.66
B	1969-1975			65	10	75	86.67	69	9	78	88.46	134	19	153	87.58
C	1962-1968	II群	再種痘	56	18	74	75.68	72	3	75	96.00	128	21	149	85.91
D	1961以前			82	60	142	57.75	120	8	128	93.75	202	68	270	74.81
				86	48	134	64.18	97	6	103	94.17	183	54	237	77.22

図1 各世代における種痘前後の血清中の中和抗体価*

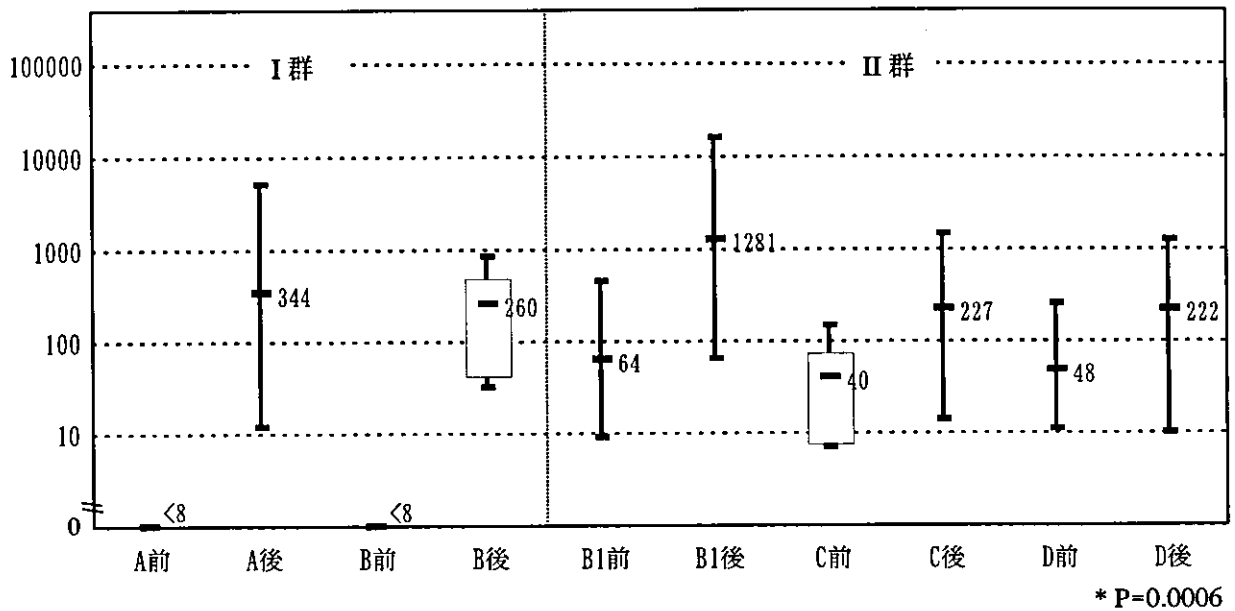


表2 種痘に伴う副反応（第4回接種時期のみ）*

	I群	II群
	初種痘 (N=163)	再種痘 (N=289)
腋下リンパ節腫脹	53 (32.5)	15 (5.2)
発熱 (37.5℃以上)	12 (7.4)	6 (2.1)
頭痛	6 (3.7)	-
感冒様症状	4 (2.5)	2 (0.7)
頸部リンパ節腫脹	5 (3.1)	1 (0.3)
皮膚搔痒感	3 (1.8)	1 (0.3)
下痢	2 (1.2)	-
関節痛	-	-
感音性難聴	1 (0.6)	-
眼周囲腫脹	-	-
胸痛	1 (0.6)	-
めまい	-	-

* 中間報告、調査継続中

表3 種痘後の発熱発生時期の経過観察 (N=18)

		接種日からの経過日数										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
II群	再種痘	1	2	2								
I群	初種痘			1	1	1	2	3	3	2		
		1	2	3	1	1	2	3	3	2		

種痘後の腋下リンパ節腫脹発生時期の経過観察 (N=63)

		接種日からの経過日数										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
II群	再種痘	2		3	3	1	2	1				
I群	初種痘			3	4	4	7	14	8	7	2	2
		2		6	7	5	9	15	8	7	2	2

表4 バイオテロ発生時のわが国における天然痘ワクチン接種基準 (案)

○：接種 ×：非接種

	① 天然痘患者と 明らかな接触あり	② 接触不明	③ 接触なし
37.5℃以上の発熱	○	×	×
重篤な急性疾患	○	×	×
天然痘ワクチン液にア ナフィラキシー歴	×	×	×
妊娠中	○*	×	×
免疫不全宿主	○	×	×
アトピー性皮膚炎を現 在有する	○	×	×
アトピー性皮膚炎の既 往歴がある	○	○	×
心/循環器疾患	○	○	×
生後2ヶ月未満	○**	×	×
2ヶ月以上1歳未満	○	○	×
1歳以上28歳未満***	○	○	○
28歳以上65歳未満	○	○	×
65歳以上	○	×	×

* 母体の保護に鑑み接種するが、胎児への影響については説明が必要。

** 生後2ヶ月未満児に対する、わが国にける過去の接種データはないことを説明する。

*** 28歳未満は、現在における天然痘ワクチン未接種世代である。

表5 天然痘ワクチン備蓄状況

Smallpox Vaccine Stockpiles: Europe and North America

Country	#doses (millions)	% population covered	Source
World Health Organization	3	N/A	E
Austria	3	40	D
Belgium	1	10	A, D
Canada	13	50	A
Croatia	<1	<1	A
Denmark	6	100	A, D
France	60	100	A, D
Germany	100	100	A, D
Greece	2	15	A
Hungary	1	10	B
Italy	5	10	C
Ireland	1	15	A
Netherlands	20	100	C, D
Norway	<1	15	D
Poland	1	3	A
Spain	6	15	D
Switzerland	3	10	A
Turkey	<1	<1	D
United Kingdom	80	100	A, D
United States	300	100	E

Note: Other countries having some vaccine in storage (amount not indicated, but most stocks are likely to be small): Czech Republic, Estonia, Iceland, Ireland, Mexico, Portugal, Romania, Russia Slovakia, Sweden

Smallpox Vaccine Stockpiles: Rest of the World

Country	#doses (millions)	% population covered	Source
Australia	<1	<5	B
India	6	<1	B
Iran	2	3	B
Israel	7	100	B
Japan*	31	<1	B
Korea (Rep. of)	10	20	B
Malaysia	15	66	D
Singapore	4	100	D
South Africa	30	70	B

Sources: A - Media reports (mainly indicating intent to purchase), B - 1999 Report of WHO, C - National smallpox response plan summary, D - Commercial Sources, E - Other

*not confirmed

Vaccine Production Facilities Currently in Operation (Informed Approximation)

Company	Country of Origin	Est. Production Capacity (million doses/year)
Acambis/Baxter	United States/Austria	100
Bavarian-Nordic	Denmark/Germany	150
Rijks Institute	Netherlands	2-4
Kaketsuken	Japan	10-20
Unknown	Russia	10-20 million

Note: 1) The US has contracted with Acambis/Baxter for a “warm base” of production capacity such that, given 2 months notice, 20 million doses per month could be produced.

2) Russia has indicated that vaccine is being produced, but details not disclosed.

Source: Center for Biosecurity, University of Pittsburgh Medical Center, USA

分担研究者及び研究協力者及び研究課題リスト

齋藤智也 慶応義塾大学医学部熱帯医学寄生虫学教室 助手

天然痘（痘そう）ワクチン接種効果の疫学統計に関する検討：LC16m8、MVA-BN の天然痘感染防御効果についての文献的比較研究～Calf Lymph ワクチンの防御効果を標準として～

谷口清州 国立感染症研究所感染症情報センター 室長

研究協力者：大日康史（同感染症情報センター）

天然痘発生時のパニック対策に関する調査研究～天然痘アウトブレイク発生時における天然痘ワクチンの使用方法に関する研究～

森川 茂 国立感染症研究所 ウイルス第一部第一室長

協力研究者：緒方もも子、倉根一郎（同ウイルス第一部）、堀内善信（同細菌第二部）

備蓄ワクチンの有効期間に関する実験的研究 ～加速変性試験による旧痘そうワクチンと細胞培養痘そうワクチンの保存安定性の比較～

岩崎恵美子 厚生労働省仙台検疫所 所長

天然痘ワクチン接種時における接種不相当及び要注意者の頻度に関する調査研究（東北地区）

中野貴司 国立病院機構三重病院 臨床研究部国際保健医療研究室長

天然痘ワクチン接種時における接種不相当及び要注意者の頻度に関する調査研究（関西地区）

桑原紀之 自衛隊中央病院保健管理センター長

金谷泰宏 防衛医科大学校防衛医学研究センター 助教授

研究協力者：藤井達也（自衛隊中央病院内科）、松村琢也（防衛庁陸上幕僚監部衛生部医務保健班）

天然痘（痘瘡）ワクチン株の免疫学的有効性に関する調査

金谷泰宏 防衛医科大学校防衛医学研究センター 助教授

桑原紀之 自衛隊中央病院保健管理センター長

研究協力者：藤井達也（自衛隊中央病院内科）、松村琢也（防衛庁陸上幕僚監部衛生部医務保健班）

ワクチン接種方法に関する文献的及び実験的調査研究

総括研究協力者

有田峰生 国立感染症研究所 名誉所員

橋爪 壯 財団法人日本ポリオ研究所 理事（LC16m8 開発者）

平山宗宏 恩賜財団母子愛育会日本子ども家庭総合研究所 所長

中根美幸 財団法人国際保健医療交流センター

資料リスト

1. ワクチン備蓄量について：平成 16 年 6 月 18 日～19 日 会議記録
2. WHO Expert Committee on Biological Standardization, Geneva, 15 to 19 November 2004
3. Arita I: Essay on smallpox vaccine and its stockpile in 2005, submitted to Lancet Infectious Diseases

厚生労働科学研究費補助金（厚生科学特別研究事業）

分担研究報告書

天然痘ワクチンの科学的備蓄規模と使用に関する研究

備蓄ワクチンの有効期間に関する実験的研究

～加速変性試験による旧痘そうワクチンと細胞培養痘そうワクチンの保存安定性の比較～

分担研究者：森川 茂（国立感染症研究所ウイルス第 1 部第 1 室長）

協力研究者：緒方もも子、倉根一郎（同ウイルス第 1 部）、堀内善信（同細菌第 2 部）

研究要旨：バイオテロ対策として痘そうワクチンの製造が再開され備蓄されている。旧ワクチンは、ウシの皮膚に接種した痘苗を粗精製し適当な分散媒を加えて凍結乾燥されたもので 100℃、1 時間の加熱による力価低下が 1 log₁₀ 以下である分散媒が用いられている。このため、長期にわたる保存が可能と想定され、実際に備蓄されている旧ワクチンは、多くのロットで -15 ないし -20℃ 保存で備蓄期間 24 年においても有効な力価が維持されている。一方、乾燥細胞培養痘そうワクチンは、昭和 55 年度に 1 ロットのみの製造・備蓄されたが -20℃ での備蓄期間 9 年目で生物製剤に定める有効力価を下回り、備蓄 15 年目で力価の大幅な低下をみて廃棄されている。平成 13 年度より製造の再開された乾燥細胞培養痘そうワクチンの備蓄可能期間に関しては不明である。そこで、本研究では、1972 年に製造され国立感染症研究所で 4℃ 保存されている Lister 株による旧ワクチン（乾燥痘そうワクチン）と平成 13 年に製造された乾燥細胞培養痘そうワクチンを用いて加速変性試験を行い両ワクチンの保存安定性を比較した。その結果、旧ワクチンに比べて乾燥細胞培養痘そうワクチンは保存安定性が低いことが推定された。この相違は、用いられている分散媒と蛋白濃度の相違によると思われる。しかし、-20℃ での保存による力価推移を予測すると両者とも、長期にわたる保存が可能であることが推定された。

A. 研究目的

バイオテロ対策として痘そうワクチン（乾燥細胞培養痘そうワクチン）の製造が再開され国家備蓄されている。本ワクチンは、生物学的製剤基準では -20℃ 以下の保存で 3 年間と定められている。旧ワクチンである乾燥痘そうワクチンは、昭和 55 年度に製造された全ロットが備蓄されている。一方、乾燥細胞培養痘そうワクチンは、昭和 55 年度に 1 ロットのみの製造・備蓄されたが -20℃ での備蓄期間 9 年目で生物

製剤に定める有効力価を下回り、備蓄 15 年目で力価の大幅な低下をみて廃棄されている。乾燥細胞培養痘そうワクチンの力価が -20℃ 保存でどのくらいの期間有効力価を維持するかは、当該保存温度でのデータが必要であるが極めて長期間にわたる試験結果が必要となる。そこで本研究では、現在製造が再開された乾燥細胞培養痘そうワクチンの保存安定性を旧ワクチンと比較し、さらに備蓄可能期間を推定することを目的とした。

B. 研究方法

1) ワクチン：

旧ワクチンとして Lister 株を用いた Calf lymph vaccine (1972年に国立感染症研究所の参照痘そうワクチンとして素材買い上げされたもの：当初の力価は $8.75 \log_{10}/\text{mL}$)、乾燥細胞培養痘そうワクチンとしては、平成13年度に製造された2ロット(チバ血清より分与)を用いた。

2) 加速変性試験：

各ワクチンを 37°C (30日間、56日間)、 45°C (32日間、63日間)、 50°C (3日間、10日間、34日間、61日間)、 60°C (3日間、10日間、21日間、31日間) 保存し、保存前の力価と比較した。力価は、RK13細胞を用いたブラック試験により求めた。力価測定は、3ないし4回行った。

3) 保存温度、期間と力価低下の関係評価：

加速変性試験結果より Arrhenius の方程式を用いて、各ワクチンの各種温度での力価の低下速度を推定した。Arrhenius の方程式の対数変換で得られる $\ln(K) = \ln(A) - E_a / RT$ (ただし K は反応速度常数(反応系に固有)、 A は定数、 E_a は活性化エネルギー、 R は気体常数 ($R=8.314 \times 10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1}\text{K}^{-1}$)、 T は絶対温度)により、反応速度の温度に対する関数を得た。その際、反応速度常数は、加速変性試験結果より温度毎に初期力価に対する各保存期間での残存力価の比を求め、その対数値の保存時間に対する関係式の回帰係数として求めた。これらをもとに、各ワクチンの 4°C および -20°C 保存における力価推移を予測した。

C. 結果と考察：

1) 熱安定性：

乾燥細胞培養痘そうワクチン(千葉血清ロット2)と旧ワクチン(感染研参照品ロット4)で熱安定性を比較すると、図1に示すように旧ワクチンの方が熱安定性は高かった。

2) 加速変性試験による各種温度での力価の低下速度の推定：

乾燥細胞培養痘そうワクチン(千葉血清ロット2、3)と旧ワクチン(感染研参照品ロット4)の加速変性試験の成績は、Arrhenius の方程式によく当てはまるものであった。そこで、各ワクチンの各種温度での力価の低下速度を推定した(図2)。反応速度常数は、加速変性試験結果より温度毎に初期力価に対する各保存期間での残存力価の比を求め、その対数値の保存時間に対する関係式の回帰係数として求めた(図2)。その結果、 4°C 保存よりも -20°C 保存の方が推定保存可能期間は長かった(表1)。しかし、乾燥細胞培養痘そうワクチンの2ロットでは推定保存可能期間に大きな違いが認められた。これは、 50°C 保存での熱安定性試験のデータに千葉血清ロット3で大きなばらつきがみられたためと考えられる。また、 37°C 、 45°C の保存期間は6ヶ月まで行う予定で、これらの結果が得られればより正確な推定が可能になると考えられる。

旧ワクチンは、 100°C 、1時間の加熱による力価低下が $1 \log_{10}$ 以下である分散媒が検討され用いられている。このため、長期にわたる保存が可能であり、備蓄されている旧ワクチンの多くのロットで -15 ないし -20°C での備蓄期間24年においても有効な力価が維持されていると考えられる。一方、乾燥細胞培養痘そうワクチンでは、旧ワクチンとは、蛋白濃度が明らかに低く、さらに異なる分散媒(ソルビトールを含む)が用いられているため保存安定性が若干劣ったと考えられる。しかし、図3に示すように、乾燥細胞培養痘そうワクチンでは加熱(45°C 以上)によりソルビトールがカラメル化するため、ワクチンの可溶化に2時間ほど要し

た。このソルビトールのカラメル化が加速変性試験の結果に影響する可能性は否定できない。また、旧ワクチンの4℃での安定性はこの推定値よりも実測値の方が高いことから、乾燥細胞培養痘そうワクチンの4℃での安定性も推定値より高い可能性がある。-20℃での安定性は両者とも非常に高く、製造時の力価が $10^{8.5}$ pfu/mL であった場合には、 $10^{8.0}$ pfu/mL まで低下するのに50年以上かかると推定される。現実には、キャップゴムの劣化速度の影響があるため保存可能期間はより短期間になると考えられる。より精度の高い推定を行うためには、45℃、37℃での保存期間を延長したデータを得る必要がある。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Saijo M, Tang Q, Shimayi B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, Tianshu D, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. (2004) Possible horizontal transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus from a mother to her child. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 57:55-57.
- 2) Niikura M, Maeda A, Ikegami T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. (2004) Modification of endothelial cell functions by hantaan virus infection: prolonged hyper-permeability induced by TNF-alpha of hantaan virus infected endothelial cell monolayers. *Archives of Virology* 149: 1279-92.
- 3) Mizutani T, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. (2004) Phosphorylation of p38 MAPK and its downstream targets in SARS coronavirus-infected cells. *Biochemical Biophysical Research Communication* 319: 1228-1234.
- 4) Mizutani T, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. (2004) Importance of Akt signaling pathway for apoptosis in SARS-CoV-infected Vero E6 cells. *Virology* 327: 169-74.
- 5) Mizutani T, Fukushi S, Murakami M, Hirano T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. (2004) Tyrosine dephosphorylation of STAT3 in SARS coronavirus-infected Vero E6 cells. *FEBS letter* 5;577(1-2):187-92
- 6) Takasuka N, Fujii H, Takahashi Y, Kasai M, Morikawa S, Itamura S, Ishii K, Sakaguchi M, Ohnishi K, Ohshima M, Hashimoto SI, Odagiri T, Tashiro M, Yoshikura H, Takemori T, Tsunetsugu-Yokota Y. (2004): A subcutaneously injected UV-inactivated SARS coronavirus vaccine elicits systemic humoral immunity in mice. *Int Immunol.*, 16(10): 1423-30
- 7) Iwasaki, T., Inoue, S., Tanaka, K., Sato, Y., Morikawa, S., Hayasaka, D., Moriyama, M., Ono, T., Kanai, S., Yamada, A. and Kurata, T. (2004): Characterization of Oita virus 296/1972 of Rhabdoviridae isolated from a horseshoe bat bearing characteristics of both lyssavirus and vesiculovirus. *Arch. Virol.*, 149(6): 1139-1154.
- 8) Saijo M, Tang Q, Shimayi B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, Tianshu D, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. (2005) Recombinant nucleoprotein-based serological diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infections. *Journal of Medical Virology* 75:295-299
- 9) Okada M, Takemoto Y, Okuno Y, Hashimoto S, Yoshida S, Fukunaga Y, Tanaka T, Kita Y, Kuwayama S, Muraki Y, Kanamaru N, Takai H, Okada C, Sakaguchi Y, Furukawa I, Yamada K, Matsumoto M, Kase T, Demello D.E., Peiris JSM, Chen P.J., Yamamoto N, Yoshinaka Y, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M.: (2005) The Development of vaccines against SARS Corona Virus in Mice and SCID-PBL/hu Mice. *Vaccine* (in press).
- 10) Saijo, M., Ogino, T., Taguchi, F., Fukushi, S.,

- Mizutani, T., Notomi, T., Kanda, H., Minekawa, H., Matsuyama, S., Hoang Thuy Long, Nguyen Thi Hong Hanh, Kurane, I., Tashiro, M., Morikawa, S.. (2005): Recombinant nucleocapsid protein-based IgG enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of SARS. *J. Virol. Methods* (in press)
- 11) Saijo, M., Niikura, M., Maeda, A., Kurane, I., Sata, T., Kurata, T., and Morikawa, S. (2005): Characterization of monoclonal antibodies to Marburg virus nucleoprotein (NP) that can be used for NP-capture enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Med. Virol.* (in press)
 - 12) Hatakeyama, S., Moriya, K., Saijo, M., Morisawa, Y., Kurane, I., Koike, K., Kimura, S., and Morikawa, S. (2005): Persisting humoral antiviral immunity among the Japanese population after the discontinuation in 1976 of routine smallpox vaccinations. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, in press.
 - 13) 森川 茂 (2004): ウイルス性出血熱、アニムス、第9巻第1号、15-20
 - 14) 小田切孝人, 二宮愛, 板村繁之, 西藤岳彦, 宮島直子, 森川茂, 西條政幸, 田代真人 (2004): SARS 診断法の開発と SARS 検査の結果. *インフルエンザ (メディカルレビュー社)* 5:35-42.
 - 15) 森川 茂 (2004): サル痘、感染症の事典、朝倉書店、pp107-109
 - 16) 森川 茂 (2004): ラッサ熱、獣医公衆衛生学 (第3版)、文永堂出版、pp91-92
 - 17) 森川 茂 (2004): 南米型出血熱、獣医公衆衛生学 (第3版)、文永堂出版、pp92-93
 - 18) 森川 茂 (2004): ニパウイルス感染症、家庭医学大全科、法研、pp2770
 - 19) 森川 茂 (2004): リンパ球性脈絡髄膜炎、共通感染症ハンドブック、日本獣医師会、pp230-231
 - 20) 森川 茂 (2004): マールブルグ病、感染症の診断・治療ガイドライン 2004、日本医師会、pp78-79
 - 21) 森川 茂 (2004): サル痘、感染症の診断・治療ガイドライン 2004、日本医師会、pp144-145
 - 22) 森川 茂 (2004): ニパウイルス感染症、感染症の診断・治療ガイドライン 2004、日本医師会、pp128-129
 - 23) 森川茂 (2004): サル痘、新興再興感染症—SARS の教訓 [からだの科学 (増刊)] 日本評論社、pp188-191
 - 24) 森川茂 (2004): 天然痘ワクチンの復活 小児科臨床 (特大号/ワクチンのすべて) 67:11
 - 25) 西條政幸, 森川茂, 倉根 一郎. (2004) クリミア・コンゴ出血熱. *ウイルス* 54:223-228.
2. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
特許取得: 該当なし
 3. 学会発表
 - 1) Saijo M, Tang Q, Kurane I, Morikawa S. Molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infections in the Xinjiang Uygur Autonomous Region, P. R. China. 5th Japan-China Virology Conference. June, 2004, Osaka
 - 2) Saijo M. Crimean-Congo hemorrhagic fever in the Xinjiang Uygur Autonomous Region, P. R. China. Research activities towards the control of viral hemorrhagic fever (University of Hokkaido). June 2004, Sapporo
 - 3) Niikura M, Maeda A, Ikegami T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Modification of endothelial cell functions by Hantaan virus infection: prolonged heperpermeability induced by TNF-alpha of Hantaan virus-infected endothelial cell monolayers. International Conference on Hantavirus infections. June 2004, Seoul, South Korea
 - 4) 西條政幸. 母親から感染したと考えられるクリミア・コンゴ出血熱の4歳女児例. 第36回日本小児感染症学会, 2004年11月, 東京
 - 5) 山田靖子, 水谷哲也, 高橋 一郎, 福士秀悦, 西條政幸, 倉根 一郎, 森川茂. SARS-CoV の継代

培養による変異ウイルスの出現. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月, 横浜

6) 永田典代, 岩田奈織子, 長谷川秀樹, 福士秀悦, 西條政幸, 森川茂, 佐藤由子, 佐多徹太郎. マウスとラットを用いた SARS-CoV 感染モデルの作製. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月, 横浜

7) 西條政幸, 福士秀悦, 荻野利夫, 田口文広, 水谷哲也, 松山州徳, 倉根 一郎, 田代真人, 森川茂. SARS コロナウイルスの組換え核蛋白を抗原とした ELISA 法の開発を評価. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月, 横浜

8) 森川茂, 長谷川秀樹, 西條政幸, 前田秋彦, 倉根 一郎, 尾崎泰子, 佐多徹太郎, 倉田毅, 小島朝人. ワクチニアウイルス LC16m8 株の有効性と遺伝子構造の解析. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月, 横浜

9) 西條政幸, 網康至, 永田典代, 須崎百合子, 緒方もも子, 福士秀悦, 水谷哲也, 長谷川秀樹, 岩田奈織子, 佐多徹太郎, 倉根 一郎, 倉田毅, 森川茂. LC16m8 株痘そうワクチンによるカニクイザルにおけるサル痘発症予防効果. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月, 横浜

10) 福士秀悦, 水谷哲也, 西條政幸, 緒方もも子, 倉根 一郎, 森川茂. ACE2 発現細胞を用いた SARS コロナウイルス感染の検討. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月, 横浜

11) 水谷哲也, 福士秀悦, 西條政幸, 緒方もも子, 倉根 一郎, 森川茂. SARS-CoV 感染細胞におけるアポトーシスに関するシグナル伝達系の網羅的検討. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004 年 11 月, 横浜

12) 水谷哲也, 福士秀悦, 村上正晃, 西條政幸, 倉根 一郎, 平野俊夫, 森川茂. SARS コロナウイルスの感染に誘導されるシグナル伝達の解析. 第 27 回日本分子生物学会年会. 2004 年 12 月, 神戸
福士秀悦, 水谷哲也, 西條政幸, 倉根 一郎, 西條政幸. Efficient replication of SARS coronavirus on

the cells expressin mouse ACE2.第27回日本分子生物学会年会. 2004年12月, 神戸

図 1 各ワクチンの熱安定性

