

200400623A

厚生労働科学研究研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

水痘、流行性耳下腺炎、肺炎球菌による肺炎等の  
今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 岡部 信彦

平成17(2005)年3月

## 目次

### I. 総括研究年度終了報告

水痘、流行性耳下腺炎、肺炎球菌による肺炎等の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究・岡部信彦	1
---	---

### II. 分担研究年度終了報告

1. ムンプスウイルスのラット脳内接種試験	6
岡部信彦、斉加志津子、永田典代、一戸真人	
2. 水痘-带状疱疹、流行性耳下腺炎、肺炎球菌感染症の臨床とワクチンに関する研究	10
神谷 齊、庵原俊昭、中野貴司	
3. 水痘带状疱疹ウイルス感染症及び水痘ワクチンの臨床的研究	20
浅野喜造、吉川哲史	
4. 肺炎球菌感染症および肺炎球菌ワクチンの基礎研究	23
生方公子	
5. 弱毒おたふくかぜ生ワクチンの神経病原性評価に関する研究	26
田代真人、加藤 篤、木所 稔、久保田耐、永田典代	
6. 2004 年の北海道内 24 施設における水痘、ムンプス、肺炎球菌感染症などによる入院例の検討	29
堤 裕幸	
7. 成人における肺炎球菌性肺炎と肺炎球菌ワクチンの効果に関する研究	34
大石和徳、吉嶺裕之、古本朗嗣	
8. 水痘ワクチン弱毒化に関する研究	38
森 康子	
9. 水痘、流行性耳下腺炎重症化例に関する全国調査	40
多屋馨子、神谷 齊、浅野喜造、堤 裕幸、中野貴司、庵原俊昭、吉川哲史、佐藤 弘、森兼啓太、丹生隆、荒木和子、上野久美、多田有希、稲葉茉莉、奥野一平、岡部信彦 (資料)	
1) 水痘・ムンプス重症化例 全国調査 (平成 16 年 1 月～12 月) 調査票	
2) 水痘・ムンプス重症化例 全国調査 (平成 16 年 1 月～12 月) 調査票 別紙	
3) 水痘調査票	
10. 堺市の保育所、幼稚園、小・中学校における水痘、ムンプス、麻疹、風疹の罹患状況とワクチン接種に関する研究	49
安井良則、藤井史敏、中島一敏、多屋馨子、岡部信彦	
11. ムンプスの疾病負担と定期接種化の費用対効果分析	63
大日康史、菅原民枝、及川 馨、羽根田紀幸、菊池 清、加藤文英、山口清次、木村 正、岡部信彦	
12. 水痘の疾病負担と定期接種化の費用対効果分析	72
大日康史、菅原民枝、及川 馨、羽根田紀幸、菊池 清、加藤文英、山口清次、木村 正、岡部信彦	
13. 風疹流行にともなう母児感染の予防対策構築に関する研究	81
平原史樹、寺田喜平、種村光代、川名尚、藤原成悦、多屋馨子、海野幸子、加藤茂孝、久保隆彦、及川馨、金子政時、干場勉、林純、横田俊平、小島俊行、宮崎千明、奥田美加、水上尚典、上原茂樹、室月淳、千葉喜英、末原則幸、中田高公、夫律子、藤田恭之	

(資料)

- 1) 風疹流行および先天性風疹症候群の発生抑制に関する緊急提言 平成16年8月…… 85  
厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業分担研究班「風疹流行にともなう母子感染の予防対策構築に関する研究」
- 2) 風疹 Q&A …………… 105
- 3) 風疹予防接種に関するガイドライン-任意接種を実施する医師のために…………… 113
- 4) 任意接種用風疹ワクチン説明書、問診票…………… 130
- 5) わが国の風疹の現状とその対策…………… 133  
国立感染症研究所感染症情報センター風疹対策チーム、鹿児島県保健福祉部
  
14. 小児の急性散在性脳脊髄炎の疫学に関する研究…………… 144  
宮崎千明、多屋馨子、岡部信彦

水痘、流行性耳下腺炎、肺炎球菌による肺炎等の今後の感染症対策に必要な  
予防接種に関する研究

主任研究者 岡部 信彦 国立感染症研究所感染症情報センター長

研究要旨 分担研究者らによる広域な地域における水痘、ムンプス、肺炎球菌などの重症化例につきほぼ全数報告に近いかたちでの調査を行い、これを基礎にアンケート調査項目などを新たに作成、全国約2万件の内科、泌尿器科、皮膚科、小児科、産婦人科、耳鼻咽喉科の医療機関（入院施設）を対象に成人、小児の水痘、ムンプスの重症化例の発生動向調査を行い、中間報告が得られた。平成17年3月31日時点の集計であるが、2,536名の入院患者と内5名の死亡が報告された。死亡例は全例水痘関連であった。一方、ワクチンによる副反応での入院は8名（全例おたふくかぜワクチン）と少なかった。小児の疾患と考えられてきた両疾患における入院例は、小児、成人ほぼ同数であり、幼児と30歳前後の2峰性のピークが認められた。男女比は1.7:1で男性に多かった。入院症例における合併症の種類は、水痘は肺炎が最も多く、次いで、熱性痙攣、肝機能異常であった。ムンプスは、髄膜炎が最も多く、次いで、精巣炎、難聴であった詳細な分析については続行中である。ムンプス、水痘などについて、愛知県、島根県などにおいて調査を行い、自然感染対ワクチンの費用効果を算定した。中間報告では、費用対効果分析は、ムンプスでは予防接種は4.2-4.7倍の費用効果、水痘では4.4-5.9倍の費用効果であった。

基礎的研究としては、マーモセット脊髄内接種試験はムンプスウイルスの神経病原性を評価する方法として妥当な試験方法であるとすでに齋加・岡部らが報告しているが、感染研加藤・田代によって追試、確認が行われた。また齋加・岡部らはラットモデルにおける水頭症発現、脳内ウイルス増殖について、ファームによるラット差のあることを見出した。またウイルス増殖に遅れてIFN $\gamma$ mRNAの発現が認められた。

水痘ワクチンの弱毒化機構に関する研究については、山西より森に引き継がれた。水痘ワクチン株および原株について全塩基配列を行い、配列の相違を見出した。またワクチン株は数種のクローンの混合したものであることも解明された。

肺炎球菌では、高齢者における肺炎球菌ワクチン接種群の観察を継続して行い、その有用性ことにインフルエンザワクチンとの併用の有用性（呼吸器症状の急性憎悪回数の減少）などの成績が得られている。またPRSPが増加しつつあることが示唆され、ワクチン接種によって重症感染症を防止出来得るものと推察された。

風疹については、風疹の現状分析、CRS予防の重要性など緊急的にまとめ、健康危機情報「風疹流行および先天性風疹症候群の発生抑制に関する緊急提言」として厚生労働省に提出、風疹対策の推進のきっかけを作った。またこの提言作成資料を基に、広い分野での啓発活動を積極的に行った。

ADEMの調査については、これまでに全国10地域での調査は継続的に行われていたが、2003-2004年のADEM、MS等の神経疾患について、全国小児科標榜入院医療機関3000の協力を得て、大規模でのアンケート調査を開始した。これまでに100例以上のADEMが集積されつつある。

分担研究者氏名・所属研究機関・職名：	教授
神谷 齊 独立行政法人国立三重病院・名誉 院長	宮崎 千明 福岡市立西部療育センター・セン ター長
浅野 喜造 藤田保健衛生大学医学部小児科学 講座・教授	森 康子 大阪大学大学院医学系研究科微生 物学講座・助教授
生方 公子 北里大学生命科学研究所感染情報 学研究室・教授	多屋 馨子 国立感染症研究所感染症情報セン ター・室長
田代 真人 国立感染症研究所ウイルス第三部 ・部長	大日 康史 国立感染症研究所感染症情報セン ター・主任研究官
堤 裕幸 札幌医科大学医学部小児科学講 座・教授	
大石 和徳 長崎大学熱帯医学研究所感染症予 防治療分野・助教授	
平原 史樹 横浜市立大学大学院医学研究科生 殖生育病態医学 (産婦人科学)・	

## A 研究目的

水痘-帯状疱疹ウイルス、ムンプスウイルス、肺炎球菌感染症の発生状況、特に重症化例、合併症併発例を全国レベルで把握し、予防接種の必要性に関して基礎、臨床、疫学、医療経済学の観点から検討することを最大の目的とする。いずれも現在わが国でワクチンが定期接種に導入されていない感染症であるため、本研究班の成果は今後の公衆衛生行政に貢献できることが期待される。また平成16年度より、風疹について、その地域的流行、先天性風疹症候群(CRS)の発生届けの増加などから、さらに詳細な現状分析と対策、今後の風疹ワクチンのあり方について 2) 日本脳炎について、ワクチン接種との因果関係は不明であるが接種後の急性散在性脳炎(ADEM)報告数が増加しているところからさらに詳細な現状分析と疫学調査、今後の日本脳炎ワクチンのあり方 などについての検討を研究班の目的に緊急的に加えた。

## B 研究方法

- ・岡部主任研究者：本研究全体を統括する。なお一部の実験室研究(ムンプスワクチンウイルスの病原性に関する動物モデル)も岡部班において行っている。
- ・神谷分担班：3種類の予防接種の接種率、効果、副反応につき検討すると共に、三重県全域にお

ける水痘、ムンプス重症化例の把握とその治療法予防法につき臨床的に検討し、おたふくかぜワクチンあるいは水痘ワクチンの効果と副反応について臨床的に検討する。全国調査を行う。

- ・森分担班：水痘-帯状疱疹ウイルスのウイルス学的研究を実施し、水痘-帯状疱疹重症化例ならびに水痘ワクチンの効果と副反応につきウイルス学的に検討する。水痘ワクチン株とワクチン親株の遺伝子配列を比較検討し、弱毒化に関するメカニズムの解析を行う。
- ・浅野分担班：愛知県全域における水痘-帯状疱疹ウイルス感染症、ムンプスの重症化例の把握とその治療法予防法につき臨床的に検討し、水痘ワクチン、ムンプスワクチンの効果と副反応について臨床的に検討する。全国調査を行う。
- ・田代分担班：流行しているムンプスウイルスの遺伝子学的解析およびワクチンの効果などに関する研究を実施し、流行性耳下腺炎重症化例ならびにおたふくかぜワクチン、(可能であれば)MMRワクチンあるいはMRワクチンの効果と副反応につきウイルス学的に検討する。ムンプスワクチンウイルスの神経病原性につき、適切な評価法を検討する
- ・堤分担班：北海道地区の水痘-帯状疱疹、ムンプス、肺炎球菌感染症の重症化例の把握とその治療法予防法につき臨床的に検討し、ワクチン

の効果と副反応について臨床的に検討する。全国調査を行う。

- ・ 生方分担班：肺炎球菌の細菌学的研究、ことに抗生剤耐性の状況、血清型別の流行状況の把握などを実施し、肺炎球菌感染症、肺炎球菌ワクチンの効果につき細菌学的に検討する。
- ・ 大石分担班：肺炎球菌感染症の重症化例の把握とその治療法予防法につき臨床的に検討し、肺炎球菌ワクチンの長期的効果と副反応について臨床的に検討する。ことにインフルエンザワクチンとの関係などにつき、検討を行う。
- ・ 多屋分担班：ワクチンの効果と副反応につき国内外の情報を収集する。Disease burdenの全国調査を中心的に行い、ワクチンの定期予防接種導入の適否につき検討し、全国の重症化例報告システムの構築について検討し、重症化例の全国的な発生動向調査と重症化例のリスク解析、予防接種導入による効果について疫学的に検討する。地域における状況の検討も併せて行う。
- ・ 大日分担班：水痘、帯状疱疹、ムンプスなどの医療費ならびにワクチン接種の有無による費用対効果について医療経済学的に検討する。
- ・ 平原分担班：CRS予防のための方策、産科・小児科の協力した風疹対策、ワクチンの普及、一般への啓発等を行い、国内からCESの発生をゼロにする運動を展開する。
- ・ 宮崎分担班：日本脳炎ワクチン接種とADEMの因果関係は不明であるが、ワクチン接種後の急性散在性脳炎(ADEM)報告などについて、詳細な現状分析と疫学調査を行うことによって、今後の日本脳炎ワクチンおよびその他の不活化ワクチンのあり方などについて一定の結論を出す。

#### (倫理面への配慮)

なお本研究では、取り扱う情報の中に個人が特定されるような情報が含まれることは原則としてない。仮にあったとしても、それを研究の結果として含むようなことはしない。従って研究成果の公表にあたって個人的情報が含まれることはない。万一個人的情報が本研究の中に含まれる場合には、それに関する機密保護に万全を期するものである。

動物実験を実施する場合は、「動物の愛護及び管理に関する法律」「実験動物の使用及び保管等に関

する基準」に基づき、各施設の動物実験指針に基づいた研究を実施している。

本研究における別紙個人票を用いた全国アンケート調査の実施に関しては、国立感染症研究所に設置された倫理委員会に申請し、承認が得られている。

神谷分担研究班、浅野分担研究班、堤分担研究班でも、同一のフォームを用いた調査が実施されるが、その件に関しても、上記倫理委員会において承認が得られている。

#### C 研究結果

水痘、流行性耳下腺炎については、1982年から2004年までの水痘の国内疫学データをまとめ、関連情報とともに病原体検出情報(月報:IASR)に特集号として報告した。また、全国の医療機関を対象に水痘、ムンプスの重症化例の発生動向を調査し、小児のみならず成人についてもその発生動向を調査することとし、分担研究者らによる広域な地域における水痘、ムンプス、肺炎球菌などの重症化例につきほぼ全数報告に近いかたちでの調査を行い、これを基礎にアンケート調査項目などを新たに作成、全国約2万件の内科、泌尿器科、皮膚科、小児科、産婦人科、耳鼻咽喉科の医療機関(入院施設)を対象に成人、小児の水痘、ムンプスの重症化例の発生動向調査を行い、中間報告が得られた。平成17年3月31日時点の集計であるが、2,536名の入院患者と内5名の死亡が報告された。死亡例は全例水痘関連であった。一方、ワクチンによる副反応での入院は8名(全例おたふくかぜワクチン)と少なかった。小児の疾患と考えられてきた両疾患における入院例は、小児、成人ほぼ同数であり、幼児と30歳前後の2峰性のピークが認められた。男女比は1.7:1で男性に多かった。入院症例における合併症の種類は、水痘は肺炎が最も多く、次いで、熱性痙攣、肝機能異常であった。ムンプスは、髄膜炎が最も多く、次いで、精巣炎、難聴であった詳細な分析については続行中である。ムンプス、水痘などについて、愛知県、島根県などにおいて調査を行い、自然感染対ワクチンの費用効果を算定した。中間報告では、費用対効果分析は、ムンプスでは予防接種は4.2-4.7倍の費用効果、水痘では4.4-5.9倍の費用効果であった。

また、水痘、ムンプスについて、保育施設等の集団生活を送っている小児を対象として実態調査、社

会的な影響も含めたこれらの感染症に対する予防の重要性を検討した。また島根県出雲市の医療機関の協力を得て、ムンプス、水痘などの自然感染ワクチンの費用効果を算定、小規模ではワクチンによる対費用効果があることを確認し、さらに調査対象の規模を広げる。

ムンプスの基礎的研究としては、平成 16 年度の研究を踏まえてマーモセット脊髄内接種試験はムンプスウイルスの神経病原性を評価する方法として妥当な試験方法であることを確認した。

水痘の基礎的研究については、ウイルスの弱毒化の機構についての解明を続けている。

肺炎球菌では、高齢者における肺炎球菌ワクチン接種グループにおける抗体の維持、感染防御、の観察を継続して行い、その有用性ことにインフルエンザワクチンとの併用の有用性などを検討中である。基礎的研究として、本邦では経口、注射用セフェム系薬に対する耐性化が一段と進んだ PRSP が増加しつつあることが示唆され、このような耐性菌の 89.8%は、7 価ワクチンに含まれる 6B, 14, 19F, 23F 型であり、ワクチン接種によって重症感染症を防止出来得るものと推察された。しかし、病原性が高く、肺炎や中耳炎の重症化をもたらしている 3, 22 型等は当該ワクチンには含まれず、このようなタイプの菌の動向を見極める必要があると結論された。

風疹については、産婦人科・小児科・基礎研究のグループより、風疹の現状分析、CRS 予防の重要性など緊急的にまとめ、健康危機情報「風疹流行および先天性風疹症候群の発生抑制に関する緊急提言」として厚生労働省に提出、風疹対策の推進のきっかけを作った。またこの提言作成資料を基に、一般市民への啓発など、ポスター作成、Q&A 作成、説明会への参加などを積極的に行った。

ADEM の調査については、これまで行われていた小児の急性神経疾患サーベイランス (AND) 調査方式を進展させ、大規模での ADEM アンケート調査を開始している。

#### D. 考察

水痘、ムンプスにおいては小児、肺炎球菌感染症については高齢者に対してその健康障害に大きく関与することが明らかにされているが、最近の研究では更に幅広い年齢層における影響も述べられつつあ

る。しかしわが国において広範な調査はまだ行われていないと言える状況である。そこで基礎、臨床、疫学、医療経済学分野の分担研究者がチームを構成し、これまでの研究をさらに発展させこれらが人およびその社会に与える影響 (disease burden) を多角的に検討し、ワクチンによる予防が公衆衛生学的インパクトを有するか否かを検討することが本研究の目的である。その成果として得られるものは、今後のわが国の感染症対策、特に予防接種政策、行政対応の指針に結びつけ、国民さらには広く人類の健康の維持、福祉の向上に寄与することが十分期待される。

風疹については、本研究の結果を踏まえてワクチンによる予防施策を強化推進することによって、国内から CRS の発生を限りなくゼロに近づけることが期待される。

日本脳炎については、同じくこれまでに得られたワクチン接種の因果関係は不明であるが接種後の急性散在性脳炎 (ADEM) 報告などについて、詳細な現状分析と疫学調査を行うことによって、今後の日本脳炎ワクチンおよびその他の不活化ワクチンのあり方などについて一定の結論がでることが期待される。

これまでのところは 3 年研究の 2 年目であり最終結論は得られていないが、3 年目には種々の研究成績が出そろって予定である。本研究の結果として得られたこれらの成績は、今後のわが国の公衆衛生行政における予防接種のあり方を論ずるにあたって、科学的な資料となると思われる。

#### E. 結論

本研究から得られるこれらの成果は、国の水痘、流行性耳下腺炎、肺炎球菌感染症、風疹、日本脳炎対策、行政対応の指針となり、国民の健康、福祉の向上に貢献すると考えている。

#### F. 健康危険情報

従来軽症と考えられてきた水痘、ムンプスにより全国で多くの入院患者が発生していることが明らかとなった。一方、ワクチンによる副反応での入院例は極めて少数であった。

#### G 研究発表 (分担者はそれぞれに記載)

##### 1. 論文発表

1. 岡部信彦、新井 智：日本脳炎ワクチン 臨床と微生物 31(4):343-347, 2004
  2. 岡部信彦：黄熱ワクチン ワクチンの事典 P.240-246 編・日本ワクチン学会 朝倉書店 2004. 9.
  3. 岡部信彦：国際感染症対策-インフルエンザ- 臨床と微生物学 31(5):407-411, 2004.
  4. 岡部信彦、多屋馨子（監修）：予防接種に関するQ&A集 2004 細菌製剤協会 2004. 9.
  5. 岡部信彦（監修・訳）：R-Book 2003 -小児感染症の手引き- 編・米國小児科学会 小児医事出版 2004. 10
  6. 岡部信彦：予防接種法（予防接種制度） 小児看護 27(12):1569-1573, 2004.
  7. 岡部信彦：学校における予防接種 学校保健の動向 P. 39 編/発行・日本学校保健会 2004. 11
  8. 岡部信彦：天然痘（痘瘡） 感染症 P. 21-24 編集・竹田美文、木村 哲 朝倉書店 2004. 9.
  9. Harada S, Kamata Y, Ishii Y, Eda H, Kitamura R, Obayashi M, Ito S, Ban F, Kuranari J, Nakajima H, Kuze T, Hayashi, M, Okabe N, Senpuku H, Miyasaka N, Nakamura Y, Kanegane H, Yanagi K. : Maintenance of serum immunoglobulin G antibodies to EBV nuclear antigen2 in healthy individuals from different age groups in a Japanese population with a high childhood incidence of asymptomatic primary EBV infection. Clin Duag Lab Immunology Jan. 2004, P.123-130
  10. Matsui T, Suzuki S, Takahashi H, Ohyama T, Kobayashi J, Izumiya H, Watanabe H, Kasuga F, Kijima H, Shibata K, Okabe N. : Salmonella Enteritidis outbreak associated with a school-lunch dessert: cross-contamination and a long incubation period, Japan, 2001. Epidemiol Infect. 2004 ; 132(5) : 873-879.
  11. Tanaka T, Takahashi H, Kobayashi JM, Ohyama T and Okabe N. : A Nosocomial Outbreak of Febrile Bloodstream Infection Caused by Heparinized-Saline Contaminated with Serratia marcescens, Tokyo, 2002. Jpn J Infect Dis 57, 189-192, 2004.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得  
特になし
  2. 実用新案登録  
特になし
  3. その他  
特になし



厚生労働科学研究費補助金 (新興・再興感染症研究事業)  
分担研究年度終了報告書

水痘、流行性耳下腺炎、肺炎球菌による肺炎等の今後の感染症対策に必要な  
予防接種に関する研究

ムンプスウイルスのラット脳内接種試験

主任研究者 岡部 信彦 国立感染症研究所感染症情報センター長  
研究協力者 斉加志津子 千葉県衛生研究所感染疫学研究室  
永田 典代 国立感染症研究所感染病理部  
一戸 貞人 千葉県衛生研究所感染疫学研究室

研究要旨 ムンプスウイルスを哺乳ラットの脳内に接種すると水頭症が惹起され、その程度がウイルス株の神経病原性を反映していると報告されている。今回、異なるファームに由来する哺乳ラットで試験したところ、水頭症の程度及び脳内でのウイルス増殖が有意に異なっていた。今後、多施設で試験する場合は、データの標準化という点で考慮する必要がある。また、ウイルス増殖とサイトカイン発現についての検討したところ、ウイルス増殖に後れて IFN $\gamma$  mRNA の発現が認められた。

A. 研究目的

ムンプスウイルスの神経病原性を評価する動物モデルは確立されていない。最近、ラット<sup>1,2)</sup> 及びマーモセット科サル<sup>3,4)</sup> を使う試験が有望視されている。我々は昨年度本研究班において、ワクチン株（占部株、鳥居株、星野株、宮原株、NK-M46株、Jeryl Lynn株）についてラット脳内接種試験を行い、水頭症の程度で見ると、日本のワクチン株5株はJeryl Lynn株に比べて有意に大きいことを報告した。しかしながら、得られた水頭症の程度は、Rubin等<sup>1)</sup> が報告している値と比べて大きかった。ラットの系統の違いが影響しているのであろうと考えられたので、ラットの系統について検討した。また、水頭症の感染病理を明らかにするためにウイルス接種後の脳内でのウイルス増殖とサイトカイン発現についても検討した。

B. 研究方法

1) ウイルス株

秋田県の無菌性髄膜炎患者から分離された大館株（1993年）（秋田県衛生研究所より分与）並びにワクチン株として Jeryl Lynn 株（メルク）と占部株（阪大微研）を用いた。ワクチン株は市販品を CE 細胞で 1 代継代し用いた。

2) ラット接種と採脳

吉富セアック (LEW/sea) と日本 SLC (LEW/Ssn Slc) の 2 つのファームから入手したルイスラットを用いた。生後 24 時間以内のラット脳内に  $10^{2.0}$  PFU のウイルス液を接種した。対照としてウイルス希釈液を同様に接種した。

ウイルス接種後 3 匹ずつ経時的に脳を採取し、イーグル MEM 培地 (E-MEM) に 2% 牛胎児血清 (FCS) を加えたもので 10% 乳剤にし、その遠心上清 (2000rpm10 分) を採取した。その 100  $\mu$  L を 900  $\mu$  L の TRIzol (Invitrogenlife technologies) に加えイ

インターフェロン $\gamma$  mRNA 検出用として、また、残りはウイルス量測定用として試験するまで $-80^{\circ}\text{C}$ に保存した。

接種後 4 週目にそれぞれ 10 匹ずつのラットを解剖し、ホルマリン固定後、脳を正中で切り肉眼的に水頭症の発生を確認した。また、水頭症の程度は画像解析ソフト WIN ROOF (Mitani corporation) を用いて、脳全体の断面積に対する脳室の面積の割合で求めた。

### 3) ウイルス量の測定

12 ウェルプレートに形成された Vero 細胞の単層細胞に 10 倍階段希釈されたウイルス液を 0.1mL 接種し  $37^{\circ}\text{C}$  1 時間吸着した。吸着後 0.6%アガロース、2%FCS を含む E-MEM を重層し、 $35^{\circ}\text{C}$ 、5%炭酸ガス培養器で培養した。

14

日後、重層培地を除去し 0.2%ニュートラルレッドを含む E-MEM を加えて 1 時間染色後、染色液を除去し、形成されたブラックを数え、ウイルス感染価を求めた。

### 4) インターフェロン (IFN) $\gamma$ mRNA の検出

TRIzol Reagent を加え凍結保存しておいた脳乳剤にクロロホルムを 0.2mL 加え、振り混ぜ、12,000g 15 分遠心後上層を集めた。集めた上層液に Isopropyl alcohol を加え RNA を沈殿させ、蒸留水で溶解後、DNase 処理で DNA を除去した。得られた RNA を RT 反応で cDNA にし、LightCycler プライマー & プロブセット Rat IFN  $\gamma$  及び Rat  $\beta$  actin (日本遺伝子研究所) を用いて  $\beta$  actin  $10^6$  コピー当たりの IFN  $\gamma$  mRNA のコピー数を求めた。

## C. 研究結果

LEW/sea 及び LEW/Ssn Slc ラットの脳内にムンプスウイルスを接種し、4 週後の水頭症の発症率を比較したところ、LEW/Ssn Slc よりも LEW/sea ラットの方が大館株及び占部株両株ともに水頭症の発生率が高かった。また、その程度も有意に大きかった (大館株、占部株ともに  $p < 0.001$ )。また、Jeryl Lynn

株ではどちらの系統のラットにおいても水頭症は認められなかった (表 1)。

接種後脳内のウイルス量を図 1 に示した。大館株はどちらの系統のラットにおいても 2 ~ 3 日後に脳内ウイルス量は  $10^{4.0}$  pfu/g 以上に増殖していた。一方、占部株は LEW/sea においては 3 日後  $10^{3.7}$  pfu/g に増殖していたが、LEW/Ssn Slc では増殖傾向は認められなかった。また、Jeryl Lynn 株は LEW/sea 及び LEW/Ssn Slc 両系統のラットにおいて増殖は認められなかった。

IFN  $\gamma$  mRNA の発現量を図 2 に示した。大館株は 4 日後、Jeryl Lynn 株は 5 日後ピークを示した。2 日後の両株間の発現量に有意差が認められた。

## D. 考察

ムンプスウイルスを哺乳ラット脳内接種することにより、水頭症が惹起され、その程度がヒトにおける神経病原性を反映していることが報告されている。今回、ファームの異なる 2 系統のルイスラットを用いて試験したところ、ファームの違いにより水頭症の程度が大きく異なることが明らかとなった。今後、多施設で試験する場合は、データの標準化という点で考慮する必要がある。今回用いた系統の中では、水頭症の程度が大きく、また、脳内ウイルス量からみても、野外株、占部株及び Jeryl Lynn 株間の差が認められる LEW/sea が本試験に適していると考えられた。IFN  $\gamma$  mRNA 発現については、予備的データではあるが、脳内でのウイルス増殖がピークとなった 1~2 日後に最大の発現量を示した。個体間のばらつきが大きかったため株間に有意差が認められたのは、接種 2 日後のみであった。今後個体差を考慮したうえで、他のサイトカインについても検討したい。

## 参考文献

1) Rubin, S.A., Pletnikov, M., Taffs,

- R., Snoy, P. J., Kobasa, D., Brown, E. G., Wright, K. E. & Cabone, K. M. (2000). Evaluation of a neonatal rat model for prediction of mumps virus neurovirulence in humans. *J Virol* 74, 5382-5384.
- 2) Rubin, S. Afzal, A. M., Powell, C. L., Bently, M. L., Audi, G. R. Traffs, R. E. and Carbone, K. M. (2005). The rata-based neurovirulence safety test for the assessment of mumps virus neurovirulence in humans: an international collaborative study.
- 3) Saika, S., Kidokoro, M., Ohkawa, T., Aoki, A. & Suzuki, K. (2002). Pathogenesis of mumps virus in the marmoset. *J Med Virol* 66, 115-122
- 4) Saika, S., Kidokoro, M., Aoki, A. & Ohkawa, T. (2004). Neurovirulence of mumps virus: intraspinal inoculation

test in marmosets. *Biologicals* 32, 147-152

#### E. 結論

哺乳ラット脳内にムンプスウイルスを接種することにより水頭症が惹起されるが、その程度はラットのファームによって異なった。LEW/Ssn Slc よりも LEW/sea ラットの方が高い感度を示した。また、脳内ウイルスは接種後 2~3 日後にピークとなり、それに 1~2 日後れて IFN $\gamma$  mRNA の発現がピークとなった。

#### F. 健康危険情報

総括研究報告書にまとめて記入

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 ムンプスウイルスを脳内接種された2系統のラットの水頭症の発生率とその程度

ウイルス株	LEW/sea		LEW/SsN Slc		t 検定**
	発生率(%)	程度*	発生率(%)	程度*	
Odate	100	0.46	50	0.07	P<0.01
Urabe	100	0.20	10	0.01	P<0.01
Jeryl Lynn	0	0.00	0	0.00	n.t.***

\* 脳を正中で切った時の大脳の面積に対する脳室の面積の割合

\*\* 系統間の水頭症の程度を比較した

\*\*\* 試験せず

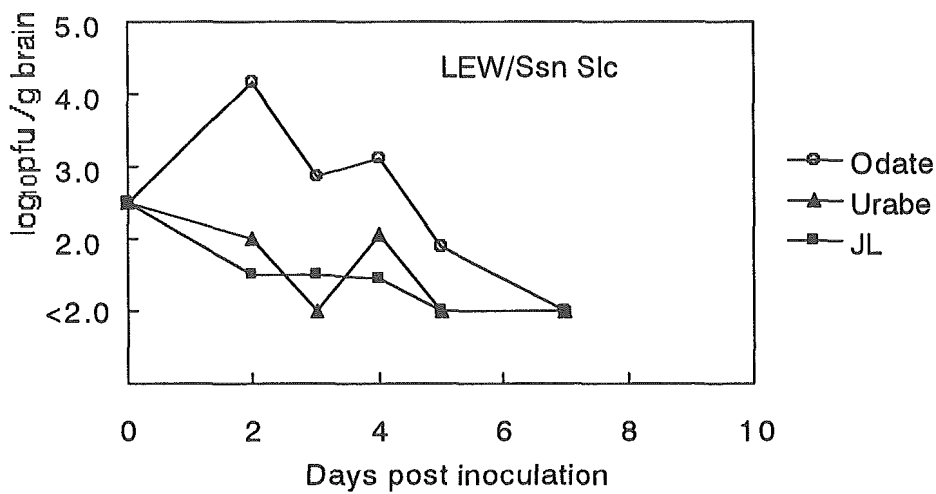
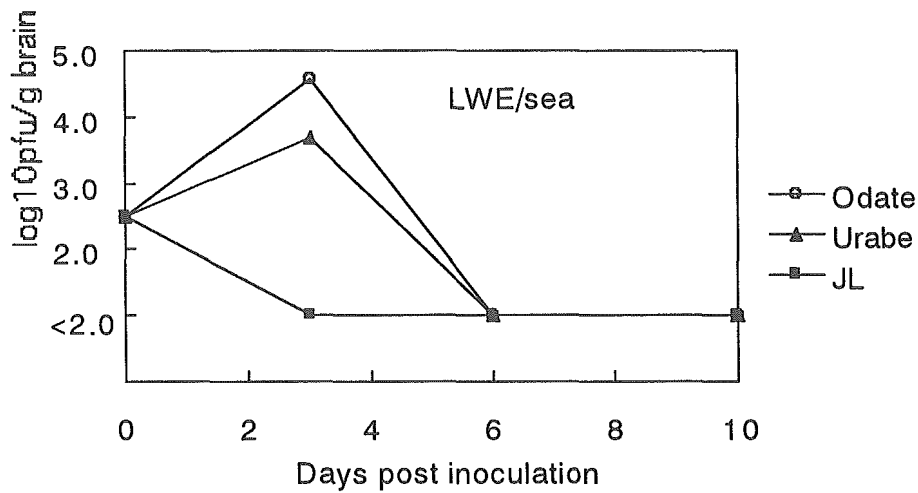


図1 ムンプスウイルスを脳内接種された2系統のラットの脳内ウイルス量3匹の平均値を示した。

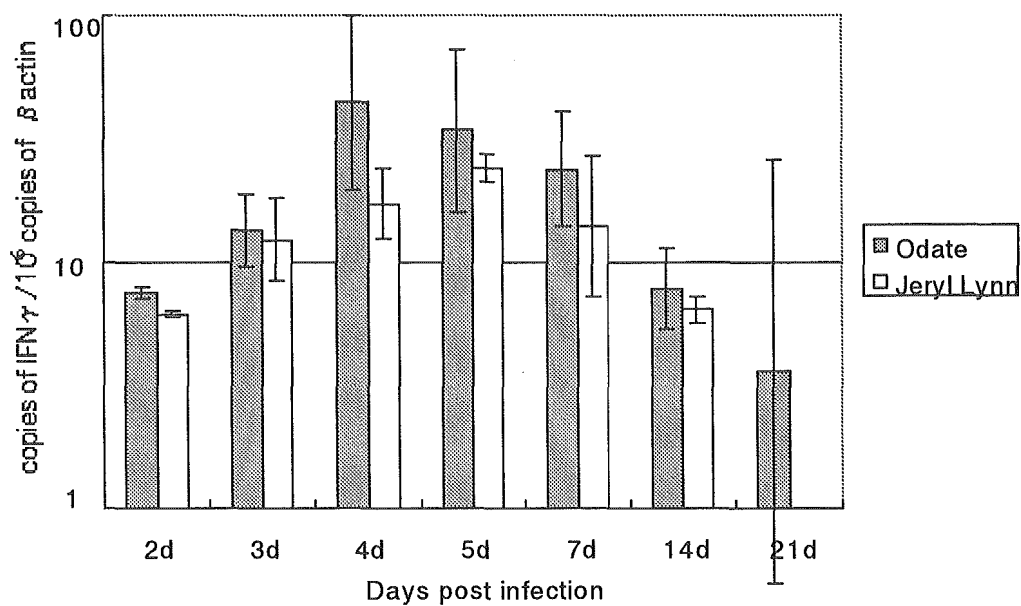


図2 ムンプスウイルス接種後のラット (LEW/Ssn SLC) 脳中インターフェロン $\gamma$ m-RNA 発現量 3匹の平均と標準偏差を示した。

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究年度終了報告書

水痘、流行性耳下腺炎、肺炎球菌による肺炎等の今後の感染症対策に必要な  
予防接種に関する研究

水痘-帯状疱疹、流行性耳下腺炎、肺炎球菌感染症の臨床とワクチンに関する研究

分担研究者 神谷 齊 国立病院機構三重病院 名誉院長  
研究協力者 庵原俊昭 国立病院機構三重病院長  
中野貴司 国立病院機構国際保健医療研究室長

1. 水痘ワクチン接種後の長期観察結果について

A. 研究目的

水痘ワクチンは我が国で高橋博士により開発後 30 年が経過した。すでにこのワクチンを採用した先進諸国では流行疫学に変化が認められ、ワクチン効果がみられている。我が国は厚生労働省ワクチン検討委員会でもこのワクチンの有効性は理解されていると判断されるが、未だ定期接種への採用は決定されておらず、今後の進展が大いに期待されているところである。

このワクチンは接種後一部の人に再罹患（軽症）が認められることから、接種後の免疫の持続に疑義が持たれており、定期接種としての採用が遅れている。

我々はこれらの事実関係を明らかにする一手段として、平成 3 年 4 月 1 日から水痘ワクチン接種例の症例登録を開始した。賛同していただき協力していただいた施設で接種された水痘ワクチンを平成 7 年迄順次登録し、その時

点で症例を固定（2、356 例）、これ以後定期的にアンケート調査を実施した。平成 4 年迄は毎年各施設経由で実施し、以後は登録センター（当院）から平成 10 年（5 年後）、平成 12 年（7 年後）に実施し本研究班で報告してきた。昨年（平成 15 年）に 10 年後の調査を実施したが、返信の遅れた方があったため、本年整理をし直した。

B. 研究方法

往復葉書によるアンケート調査で、平成 7 年の登録台帳にしたがって、各被接種者へ送付した。平成 15 年度は各被接種者へ各主治医の了解を得て登録住所へ送付した。主治医の協力も得て一部は登録住所の再確認をしていた。また、

この年齢の子供達を持つ保護者は転居先不明になった人が多く、表 1 に示した如く、1,077 名（45.7%）あり、送付した 1,279 名（54.3%）のうち回

回収出来た数は 704 名 (55.0%) 未回収は 575 名 (45.0%) であった。

### C. 研究結果

今回調査出来た数は初回登録からみると 704/2,356 (29.4%) であった。

結果の正確性を確認するため、水痘と診断した人を確認したところ医師による診断が 122 名 (90.4%) であり、あとは家族やその他の人の確認 12 名 (8.9%) であった。不明は 1 名 (0.7%) であった。

回収出来た結果は表 2 に示したが、ワクチン接種後水痘罹患をしなかった人は回収出来た内の 565 名 (80.2%)、水痘に罹患したと答えた人は 135 名 (19.2%) であった。回答のなかった人の中にも罹患した人は存在する可能性はあるが、だいたい罹患した人は返信される可能性が高い傾向があるが、

それを知ることは不可能である。しかしこの種の調査ではこれが限度と思われるので御了承いただきたい。

水痘の感染は一人の感染者から周囲約 10 人に感染させるといわれているし集団の免疫保有率は 90%ないと感染阻止は難しいと言われておりますので、現状の接種率では保育園や学校での感染、家族内感染は止められないであろう。今回のデータでも患者と接触があった場合には家族で 43.5%、保育園・幼稚園・学校等では 50.2%となっているのは納得出来る数値と思う。なお医院や病院の待ち合いでは 3.5%となっているが、ワクチン接種をしていない人の集団ではもっと高いものと思われる。

他の研究班でも報告したが、とう研究班にも関連した話題のため要約して報告する。(担当神谷 齊)

表1 水痘罹患調査（平成15年度実施）

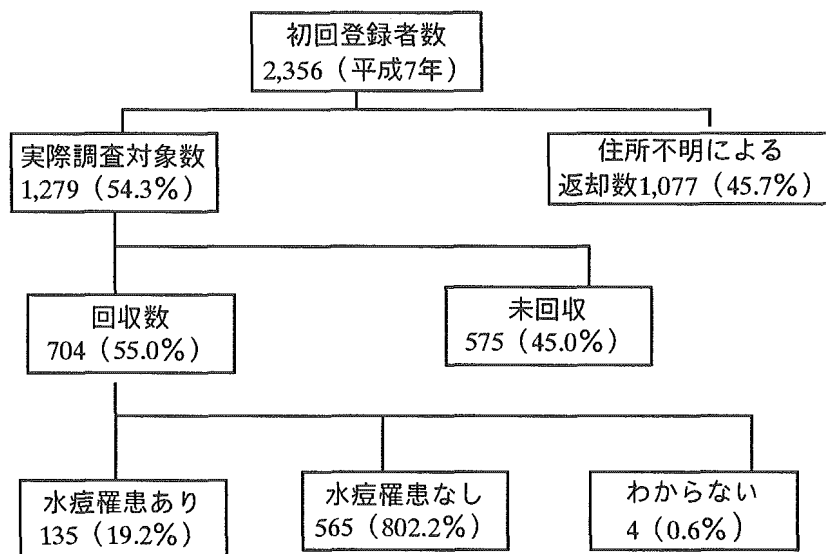
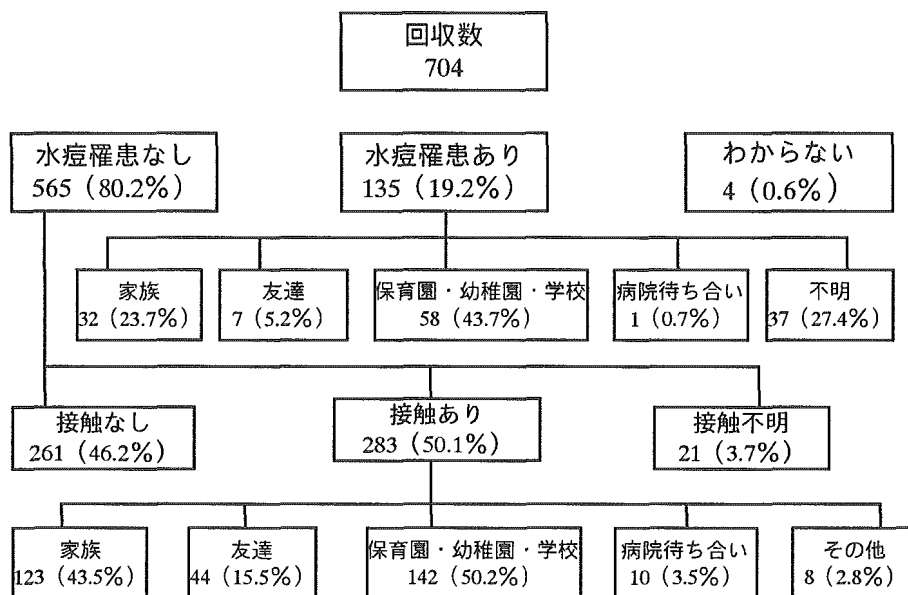


表2 水痘罹患調査（平成15年度実施）



診断者 医師122 (90.4%) ,家族6 (4.4%) ,その他6 (4.4%) ,不明1 (0.7%)

2 岡部班（分担；ムンプスワクチン有効性に関する研究）

### 1. これまでの研究実績の概要

初年度は本邦におけるムンプスワクチンの有効率についてレビューした。今年度は、「Genotype の異なるムンプスウイルス野生株に対するムンプスワクチンの効果」について検討した。ムンプスウイルスには 12 種類の遺伝子型が知られており、1994 年頃は genotype K が、1996～1998 にかけては genotype B が流行し、2000 年からは genotype G が流行の主流となっている。現行のムンプスワクチン株は genotype B 由来であり、ムンプスワクチンにより誘導された抗体が、遺伝子型の異なる野生株に対して効果があるかについては十分に検討されていない。今回成人血清 12 検体を用いて、星野ワクチン株(B)、金津株(B)、白井株(K)、相馬株(G)に対する中和抗体価を測定した。4 株に対する平均中和抗体価には有意な差はなく、また 4 株間相互の抗体価は有意の相関が認められた。

以上の結果から、現行のワクチン株と現在日本で流行している野生株との間には、中和抗原レベルでは大きな変異はなく、現行のワクチン株は genotype の異なる野生株に対して有効と判断された。

### 2. H17 年度の研究計画

今までの研究から現行のムンプスワクチンは、欧米で使用されているムンプスワクチンとほぼ同等の有効性を持っており、genotype の異なる野生株の流行に対しても有効であることが示された。H17

年度は、ムンプスワクチンの接種率を高めたとき地域の流行抑制に対する効果について検討するとともに、ムンプスの移行抗体レベルや 1 歳未満児の抗体レベルについて調査し、初回ワクチン接種時期についても検討する。

### 3. 研究の新規性

ムンプスには 12 種類の遺伝子型があり、現行の本邦ワクチン株が遺伝子型の異なる野生株について有効かについては十分に検討されていない。また、多くの先進国では MMR ワクチンが導入され、ムンプス流行はまれにしか認められなくなっている。一方、本邦はムンプスウイルスを含むワクチンが定期接種化されておらず、約 4 年ごとに流行を認めている。本邦ムンプスワクチンによる感染防御効果および集団免疫効果について検討することは、ムンプスワクチンの定期接種化を勧める上で重要な研究である。また、流行を阻止するための適切な接種時期について検討することも、ムンプスワクチンの定期接種化を勧める上で重要な研究である。

### 4. ムンプスワクチンの今後の位置づけ

ムンプスによる合併症として、髄膜炎、脳炎、めまい・難聴、睾丸炎、卵巣炎などがある。ムンプス髄膜炎（3～10/100）は予後のよい合併症であるが、脳炎（1/1000）および難聴（1/400～200,000）は予後の悪い合併症であり、最近ではムンプス睾丸炎と睾丸ガンとの関係が指摘されている。髄膜炎や難聴などの合併症は、年齢が高くなるほど合併率が高くなる。



麻疹や風疹と同様にワクチン接種率が中途半端なレベルだと、中高生や成人になってからムンプスに罹患する人が増加し、難聴、睾丸炎に罹患する成人が増加する危険性がある。また、妊娠 13 週以内の妊婦がムンプスに罹患すると、約 1/3 の妊婦が自然流産する。

ムンプスワクチンによる髄膜炎は避けられない合併症(1/2000~6000)であるが、自然感染時よりも明らかに合併率が低く、自然感染時と同様に予後のよい合併症である。また、ムンプスワクチンによる難聴や睾丸炎は極めてまれな合併症である。自然感染時の合併症の頻度および重症度とワクチン接種による合併症の頻度と重症度を比較すると、ムンプスはワクチンの定期接種によりコントロールされるべき疾患である。

以上の点、およびムンプスワクチンによる髄膜炎も年齢が高くなるほどその合併率が高いことなどから、合併症の頻度が比較的低い 1 歳代にムンプスワクチンを接種すれば、合併症の頻度は減らすことが期待できると思われる。また、ムンプスワクチンを定期接種化にすることにより接種率の向上、地域での流行阻止(約 90%発症者数の低下)が期待できる。なお、95%以上の発症者数低下を期待するならば、他の先進国と同様に MMR ワクチンの 2 回接種を計るべきである。

ムンプスウイルスによる神経病原性のメカニズムが不明な段階では、本邦で市販されている現行ムンプスワクチンの髄膜炎合併率を低下させることは困難である。ムンプスワクチンによる髄膜炎合併率の低下を期待するならば、免疫原性は

Urabe 株よりも劣るものの、髄膜炎合併率が世界で一番低い Jeryl Lynn 株の導入を考えるべきである。(担当 国立病院機構三重病院 庵原俊昭)

## 5. 発表業績

### I. 著書

庵原俊昭：ムンプス（流行性耳下腺炎）ワクチン．日本ワクチン学会編「ワクチンの辞典」、朝倉書店、2004、119-131

庵原俊昭：流行性耳下腺炎（ムンプス）．感染症の診断・治療ガイドライン編集委員会編「感染症の診断・治療ガイドライン 2004」、日本医師会 2004、262-265

### II. 論文発表

落合 仁、庵原俊昭：三種混合ワクチンを一度も受けていない小学生への対応．小児内科 36；445-448，2004

庵原俊昭：水痘ワクチンを誰に勧めるか．小児内科 36；467-470，2004

Inou Y, Nakayama T, Yoshida N, Uejima H, Yuri K, Kamada M, Kumagai T, Sakiyama H, Miyata A, Ochiai H, Ihara T, Okafuji T, Okafuji T, Nagai T, Suzuki E, Shimomura K, Ito Y, Miyazaki C: Molecular epidemiology of mumps virus in Japan and proposal of two new genotypes. J Med Virol 73; 97-104, 2004

庵原俊昭：予防接種の現状と将来—おたふくかぜワクチン—. 小児科 45; 871-875, 2004

庵原俊昭：感染症の流行と予防：基本再生産数 (R0)、集団免疫率 (H) と予防接種

率. 小児保健研究 63; 461-462, 2004  
落合 仁、庵原俊昭、中野貴司：麻疹患者受診時における二次感染予防対策とその後の経過. 小児科臨床 57; 2017-2021, 2004  
落合 仁、庵原俊昭、中野貴司：保育園・幼稚園におけるインフルエンザの流行とインフルエンザワクチン有効性の検討. 小児科臨床 57; 2029-2034, 2004  
庵原俊昭：予防接種の方法—望ましい接種時期と接種方法. 小児科診療 67;2005-2011, 2004  
庵原俊昭：ムンプスワクチン. 小児看護 27;1646-1650, 2004  
庵原俊昭、井上正和、柴田丈夫：三重県

の麻疹疫学からみた麻疹ワクチン接種率向上対策. 日本小児科医会会報 38;157-160,2004  
庵原俊昭：世界からみた日本の予防接種—予防接種ガイドラインの改訂を受けて—. モダンメディア 50 ; 8-14, 2004

3 岡部班（分担；20 歳代成人のムンプス、水痘、風疹に対する抗体保有状況と予防接種の効果に関する検討）

#### A. 研究目的

現在 20 歳代の成人は、ムンプスや水痘ワクチンがわが国で使用され始めた頃に乳幼児であった世代である。しかし、これら任意接種ワクチンの接種率は決して高くはなく、ムンプス、水痘の患者発生は毎年続いている。風疹に関しては、予防接種法改正によりワクチン接種対象が中学女子から乳児全員へ変更された頃、彼らは中高生であり、風疹予防接種をうけていない者が相当数存在する世代である。感染症サーベイランス報告によると、風疹の疾病流行状況はムンプスや水痘とは異なり、かつては数年周期で流行が認められたが、このところ流行間隔が空いている。彼らのムンプス、水痘、風疹に対する抗体保有状況を調査し、抗体陰性者には予防接種を勧告し、今後の感染症対策に活用することを目的とした。

#### B. 対象と方法

某大学医学部第 5 学年生のうち、血清抗体検査に同意した 112 名から採血を行い、(株) SRL で抗体価（ムンプス：EIA 法、水痘 IAHA 法、風疹：HI 法）を測定した。抗体陰性者に対しては、まもなく始まるベッドサイド実習での罹患や感染伝播のリスクについて説明し、ワクチン接種を勧告した。三重病院へ受診した学生に対しては、母子手帳の呈示を依頼し、過去の接種歴を確認した。三重病院で接種し、

かつ接種 2 ヶ月後の抗体価測定に同意した者については、接種前抗体価とあわせて、阪大微生物病研究会で抗体価の再検討（ムンプス：EIA 法、水痘 IAHA 法、風疹：HI 法）を行なった。

#### C. 研究結果

(1) 抗体保有率 ((株) SRL で抗体価測定)

①ムンプス：EIA 抗体価 4 以上の陽性者 96 名、2-4 の境界域者 11 名、陰性者 5 名で、抗体保有率 85.7% (EIA 抗体価 4 以上の者) であった。

②水痘：IAHA 抗体価 2 倍以上の陽性者 109 名、判定不能者 3 名、陰性者は無かった。

③風疹：HI 抗体価 8 倍以上の陽性者 96 名、陰性者 16 名で、抗体保有率 85.7% であった。

(2) 抗体陰性者における過去の予防接種歴 (母子手帳による確認)

①ムンプス：抗体陰性者 5 名全員が三重病院を受診した。過去の予防接種歴は、接種歴あり 1 名 (20%)、接種歴なし 3 名 (60%)、母子手帳による確認ができず 1 名 (20%) であった。境界域抗体保有者 11 名中 7 名が三重病院を受診した。過去の予防接種歴は、接種歴あり 3 名 (42.9%)、接種歴なし 1 名 (14.3%)、母子手帳による確認ができず 3 名 (42.9%) であった。

②風疹：抗体陰性者 16 名中 15 名が三重病院を受診した。過去の予防接種歴は、母子手帳で接種歴ありと確認できた者は 1 名もなく、接種歴なし 10 名 (66.7%)、母子手帳による確認ができず 5 名

(33.3%)であった。

(3) 抗体陰性者に対する予防接種と接種前後の抗体価(阪大微研で抗体価測定)

各疾患に対する血清抗体価が陰性(ムンプスは、EIA法による境界域抗体保有者を含む)であった者のうち、三重病院で予防接種を実施した者は、ムンプス16名、風疹13名であった。他のワクチン予防可能疾患も含めて2種類以上の抗体価が陰性であった者については、接種部位を変えて同日に複数ワクチンの同時接種を行なった。問題となるような副作用の報告は無かった。ムンプス接種者7名、風疹接種者12名において、今回の接種前後での血清抗体価を検討することができた。

ムンプスは、接種前抗体価陰性者5例、抗体価境界域者2例の合計7例を検討した。接種前抗体価陰性の1例が、接種後も抗体価は境界域にとどまったが、他の6例では接種後のEIA抗体価は陽性であった(表1)。

風疹は、12例中9例で接種後にHI抗体価が陽性となった。ただし、9例中4例のHI抗体価は8倍であった。3例では接種後もHI抗体価が8倍未満であった(表2)。接種後もHI抗体価が8倍未満あるいは8倍であった7例に対しては、初回接種から9ヶ月経過した時点で追加接種を行なった。その結果、全例で風疹抗体価は16倍以上に上昇した(表2)。

#### D. 考察

20歳代成人(某大学医学部5年生)の抗体保有状況を調べたところ、ムンプス

(EIA法)抗体保有率85.7%、水痘(IAHA法)97.3%、風疹(HI法)85.7%という結果で、風疹抗体陰性者には特に予防接種歴の無い者が目だった。

風疹抗体陰性者12例に対してワクチンを接種したところ、3例(25%)では抗体陽転を認めず、陽転した9例中4例の接種後抗体価は8倍と低値であった。彼ら計7名に対して再接種を行なったところ、全例抗体価は16倍以上に上昇した。初回の風疹ワクチン接種後の抗体反応が不良な例が多かったことに関しては、①成人に対して接種した場合の現行のワクチンの有効性(抗体陽転率)、②複数ワクチン同時接種の影響、について今後検討が必要である。

ムンプス抗体陰性者と境界領域抗体保有者については、ワクチン接種後の抗体反応は風疹に比べて良好であった。しかし、ムンプスは水痘と同じように通年性に流行しているため、風疹よりも感染や自然ブースター機会が多く、彼らの中には真の抗体陰性者は少数しか居なかった可能性も考えられる。参考までに接種前EIA抗体価について、SRLと阪大微研の測定結果を表3に比較して示した。

#### E. 結語

①現在20歳代の成人におけるムンプス、水痘、風疹の抗体保有率は、ムンプス、風疹では85.7%、水痘は97.3%という結果であった。

②ムンプスと風疹の抗体陰性者に対してワクチンを接種したが、風疹の抗体陽転率が良好ではなかった。そして、9ヶ月後の追加接種により、全例抗体は陽転し