

厚生労働科学研究費補助金

厚生労働科学特別研究事業

強毒株ウイルスを原材料とする不活化ポリオワクチンの有効性と  
安全性の評価に関する研究

平成 17 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 宮村 達男

平成 18 (2006) 年 4 月

## 目 次

### I. 総括研究報告書

強毒株ウイルスを原料とする不活化ポリオワクチンの 有効性と安全性の評価に関する研究 .....	宮村 達男 .....	1
--	-------------	---

### II. 分担研究報告書

1. 海外混合ワクチンの力価の検討 .....	高橋 元秀 .....	5
2. I P Vの安全性の評価 .....	堀内 善信 .....	9
3. 強毒株 I P Vの力価の評価 .....	武田 直和 .....	13

### III. 研究成果の刊行に関する一覧 .....

15

### IV. 研究成果の刊行物・別冊 .....

17

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）  
総括研究報告書

強毒株ウイルスを原材料とする不活化ポリオワクチンの有効性と安全性の評価に関する研究

主任研究者 宮村 達男 国立感染症研究所 ウイルス第二部長

研究要旨 HepB、IPV、Hib の混合により DTaP のジフテリアトキソイドの力価は大きな影響を殆ど受けない事がわかった。一方、破傷風トキソイドの力価は、HepB や IPV の混合では、ジフテリアトキソイドと同様に影響は少なかったが、破傷風トキソイドをキャリア蛋白として含んでいる Hib を混合した場合、破傷風トキソイドの力価は大きく上昇した。DTaP-wIPV について、特に局所反応原性に注目して国内の DTaP-sIPV 試作品との動物モデルによる比較・評価を行ったが、安全性についての顕著な問題は検出されなかった。

分担研究者

高橋元秀 国立感染症研究所  
堀内善信 同上  
武田 直和 同上

協力研究者

山本 明彦 国立感染症研究所  
蒲地 一成 同上  
落合 雅樹 同上  
片岡 紀代 同上  
豊泉 裕美 同上  
永田 典代 同上  
原嶋 綾子 同上  
倉田 毅 同上  
李 天成 同上  
白土 東子 同上

A. 研究目的

先進国のほとんどは、すでに IPV（通常、4回接種）を使用しているが、OPV から IPV に転換するには、高い接種率を保持することが必須の条件となる。わが国の（財）日本ポリオ研究所においては、生ワクチン株である弱毒株のセービン株に由来する IPV（sIPV）の開発を行っている。ワクチン製造上の安全性からも、sIPV 製造が有利であるという判断からである。ラットの免疫試験で、sIPV によって強毒株ウイルスを十分中和する抗体が産生されることが確認されている。安全性および有効性を確認するための臨床試験が計画されているが、一方でこれと平行して現在諸外国で用いられている強

毒株 IPV（wIPV）の導入も視野に入れ、日本のポリオコントロールの選択肢を広げておく必要がある。新たなワクチンを導入するためには、製剤の品質規格を作成した上で、臨床試験でヒトへの有効性安全性を確認していくこととなる。wIPV については、品質管理上、科学的考証が必要であることから、本研究ではその安全性、有効性の評価に関する科学的知見を集積することを目的とする。世界レベルでのポリオ根絶が達成され、その後10年ほどの精緻なフォローアップでもポリオの新しい発生がなければ、ワクチンを廃止することができる。

B. 研究方法

1. DTP 力価試験および安全性試験

海外の DTaP、DTaP-wIPV、国産 DTaP と wIPV の局所反応原性を比較、評価した。試験としてワクチンをマウス足蹠皮下に 0.05mL (2.5mL/kg) およびウサギ背部皮内に 0.1mL (0.04mL/kg) 接種し、それぞれ経日的に腫脹を計測した。また接種5日目のマウスおよび21日目のウサギの接種局所について病理組織学的評価を行った。

2. ジフテリアトキソイドおよび破傷風トキソイドの力価測定

現在、海外で市販されている DTaP-IPV-Hib、DTaP-IPV、DTaP、そして Hib を輸入し、国内の生物学的製剤基準に従い、ジフテリアと破傷風トキソイドの力価を測定し、2004年度に国内で国家検定に出検された DTaP（20件）の力と比

較・検討した。

### 3. 局所反応原性

マウス足蹠皮下に 0.05mL (2.5mL/kg) およびウサギ背部皮内に 0.1mL (0.04mL/kg) 接種し、それぞれ経目的に腫脹を計測した。また接種 5 日目のマウスおよび 21 日目のウサギの接種局所について病理組織学的評価を行った。

### 4. ポリオウイルス免疫原性試験法

不活化ポリオワクチンを対数等間隔に階段希釈したものを各群のラット（ウィスター系）の後肢大腿部筋肉内に免疫した。21 日後に採血し、得られた血清について中和抗体価の測定を行った。

## C. 研究結果

### 1. 海外で市販されている各種混合ワクチンのジフテリアトキソイドの力価

今回、輸入した DTaP-IPVHib (1 件)、DTaP-IPVB-HepB (1 件)、DTaP-IPV (2 件)、そして DTaP (2 件) のジフテリアトキソイドの力価 (65-122 単位/mL) には大きな違いはみられず、国内で製造されている DTaP と同様な力価を保持していた。

### 2. 海外で市販されている各種混合ワクチンの破傷風トキソイドの力価

今回、輸入した DTaP-IPVHib (2 件)、DTaP-IPVB-HepB (1 件)、DTaP-IPV (2 件)、そして DTaP (2 件) の破傷風トキソイドの力価 (179-3376 単位/mL) であった。国内の 2004 年度に出検された DTaP (20 件：平均力価 143 単位/mL) に対して、DTaP-HepB、DTaP-IPV、そして DTaP は 1.25-5.02 倍の力価であったが、DTaP-IPV-Hib は 19.8 と 23.6 倍の力価であった。

### 3. DTaP-IPV-Hib とこれらの構成ワクチン、Hib 単独ワクチンの破傷風トキソイドの力価

DTaP-IPV-Hib の力価が 2830・3376 単位/mL であったのに対して、これらを構成する DTaP-IPV と Hib は、それぞれ 284・373 単位/mL と 777・937 単位/mL であった。また、Hib の単独ワクチンである Hiberix (GSK、キャリア蛋白とし破傷風トキソイドを含む) は 434 単位/mL、PedavaxHib は検出限界未満であった。

### 4. 局所反応原性

海外の DTaP では、接種 5 日目をピークとする明らかなマウス足蹠の腫脹がみられたが、国産の DTaP では目立った腫脹は認められなかった。そこで海外の wIPV を同様にマウス、ウサ

ギに接種したところ、いずれも目立った腫脹はみられなかった。

## D. 考察

Hib は、ワクチン中に菌の莢膜多糖体に対するキャリア蛋白として破傷風トキソイドや髄膜炎菌の外膜蛋白など含んでいる。今回検討した 2 種類の Hib は、Hiberix は破傷風トキソイドを、PedavaxHib は髄膜炎菌の外膜蛋白を、それぞれ含んでいる。Hiberix はそれ自身で国内の DTaP の 6 倍程度の力価を有しているが、PedavaxHib は破傷風トキソイドの力価が認められなかった。Hib による DTaP-IPV の破傷風トキソイドの力価の増強作用はキャリア蛋白として破傷風トキソイドを含む Hib の作用であると推測される。海外ワクチンによる接種局所の腫脹は IPV ではなく DTaP が関与したものであると考えられた。

## E. 結論

IPV、HepB の混合による DTaP のジフテリアと破傷風トキソイドの力価は大きく影響を受けないと推測される。一方、Hib を DTaP に混合した場合、ジフテリアトキソイドの力価は大きな影響を受けないが、破傷風トキソイドの力価は、混合前よりも 10 倍以上に上昇する可能性がある。

海外の wIPV には明確な局所反応原性は確認されなかった。しかし海外の DTaP ワクチンは、国産ワクチンに比べて非常に強い局所反応原性を有する可能性が示唆された。

## F. 健康危険情報

現在、日本で接種されている DTaP は、小児期の 4 回の接種により破傷風の発症防御に十分な抗体 (0.01 単位/mL 以上) を誘導する事がわかっている。しかし、DTaP-IPV-Hib に含まれる Hib は、現在国内で接種されている DTaP よりも高い破傷風トキソイドの力価を有し、これらの Hib を日本国内の DTaP と混合した場合、DTaP の破傷風トキソイドの力価は増強し、現在以上に破傷風トキソイドに対して高い免疫を誘導する可能性がある。現在までに、日本国内では、これ程の高い破傷風トキソイドの力価 (2000 単位/mL 以上) を持つワクチンを使用した経験が無い。そこで、今後、日本国内でこのような混合ワクチンを導入する際には、ワクチンの接種後における破傷風抗体価の推移や

副反応を十分に調査する必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

Chen-Fu Yang, Hour-Young Chen, Jaume Jorba, Hui-Chih Sun, Su-Ju Yang, Hsiang-Chi Lee, Yhu-Chering Huang, Tzou-Yien Lin, Pei-Jer Chen, Hiroyuki Shimizu, Yorihiko Nishimura, Andi Utama, Mark Pallansch, Tatsuo Miyamura, Olen Kew, and Jyh-Yuan Yang. Intratypic Recombination among Lineages of Type 1 Vaccine-Derived Poliovirus Emerging during Chronic Infection of an Immunodeficient Patient.

J. Virol. 2005 79: 12623-12634.

Minetaro Arita, Shuang-Li Zhu, Hiromu Yoshida, Tetsuo Yoneyama, Tatsuo Miyamura, and Hiroyuki Shimizu. A Sabin 3-Derived Poliovirus Recombinant Contained a Sequence Homologous with Indigenous Human Enterovirus Species C in the Viral Polymerase Coding Region. J. Virol. 2005 79: 12650-12657.

Q Sue Huang, Gail Greening, Michael G Baker, Keith Grimwood, Joanne Hewitt, Debbie Hulston, Lisa van Duin, Amanda Fitzsimons, Nick Garrett, David Graham, Diana Lennon, Hiroyuki Shimizu, Tatsuo Miyamura, Mark A Pallansch. Persistence of oral polio vaccine virus after its removal from

the immunisation schedule in New Zealand.

*Lancet* 2005; 366: 394-396.

清水博之、吉田 弘、宮村達男：野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関するWHO世界的行動計画（第2版） ウイ

ルス 55:161-178, 2005.

清水博之、武田直和、宮村達男：ポリオワクチン 臨床と微生物 32:441-444, 2005.

2. 学会発表

岩城 正昭、堀内 喜信、小宮 貴子、福田 靖、荒川 宜親、高橋 元秀：レーザー粒径測定型血小板凝集計を用いたフロキュラシオンアッセイ系の構築、第9回日本ワクチン学会学術集会 平成17年10月 大阪市

福田 靖、岩城 正昭、小宮 貴子、荒川 宜親、高橋 元秀：ヘモフィルス インフルエンザ B 型菌ワクチンに含まれる破傷風トキソイドの免疫原性の検討、第9回日本ワクチン学会学術集会 平成17年10月 大阪市

片岡紀代、山本明彦、永田典代、落合雅樹、長谷川秀樹、蒲地一成、豊泉裕美、荒川宜親、倉田毅、堀内善信（原嶋綾子、長岡芳昭）：沈降精製 DPT 及び DPT-IPV ワクチンの安全性 第9回日本ワクチン学会学術集会 平成17年10月 大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

「混合ワクチンの品質確保に関する研究」

－海外混合ワクチンの力価の検討－

分担研究者 高橋元秀 国立感染症研究所細菌第二部第三室長

研究要旨：海外では、DTaP に HepB、IPV、Hib など混じた混合ワクチンが広く実用化されている。しかし、これらの混合化により、有効性などのワクチンの品質への影響は十分解明されていないので、今回これらの混合ワクチンの有効性（ジフテリアと破傷風トキソイドの力価）を測定した。その結果、HepB、IPV、Hib の混合により DTaP のジフテリアトキソイドの力価は大きな影響を殆ど受けない事がわかった。一方、破傷風トキソイドの力価は、HepB や IPV の混合では、ジフテリアトキソイドと同様に影響は少なかったが、破傷風トキソイドをキャリア蛋白として含んでいる Hib を混合した場合、破傷風トキソイドの力価は大きく上昇する事が判った。Hib を混合した DTaP を導入する際には、破傷風抗体価の推移などを広く調査する必要がある。

A. 研究目的

ワクチンの効率的接種やコスト削減のためには、ワクチンの多価化が重要である。海外では、既に小児に対して広く接種されている沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン（DTaP）に、ヘモフィルスインフルエンザ B 型菌ワクチン（Hib）、不活化ポリオワクチン（IPV）、そして B 型肝炎ワクチン（HepB）などを混合した混合ワクチンが広く接種されている。今後、日本国内でもこのような混合ワクチンの導入が期待されているが、これらのワクチンでは混合化による有効性への影響は十分調べられていない。そこで、現在海外で接種されている、これ

らのワクチンのジフテリアトキソイドと破傷風トキソイドの力価を測定し、ワクチンの混合化によるこれらの力価が受ける影響の程度を検討した。

B. 研究方法

現在、海外で市販されている DTaP-IPV-Hib、DTaP-IPV、DTaP、そして Hib を輸入し、国内の生物学的製剤基準に従い、ジフテリアと破傷風トキソイドの力価を測定し、2004 年度に国内で国家検定に出検された DTaP (20 件) の力と比較・検討した。

C. 研究結果

1. 海外で市販されている各種混合ワクチンのジフテリアトキソイドの力価 (表.)

今回、輸入した DTaP-IPV Hib (1 件)、DTaP-IPVB-HepB (1 件)、DTaP-IPV (2 件)、そして DTaP (2 件) のジフテリアトキソイドの力価 (65-122 単位/mL) には大きな違いはみられなかった。国内で 2004 年度に国家検定に出検された DTaP (20 件) の平均力価は 120 単位/mL であったことから、海外で接種されているこれらのワクチンは国内で製造されている DTaP と同様な力価を保持していた。

2. 海外で市販されている各種混合ワクチンの破傷風トキソイドの力価 (表.)

今回、輸入した DTaP-IPV Hib (2 件)、DTaP-IPVB-HepB (1 件)、DTaP-IPV (2 件)、そして DTaP (2 件) の破傷風トキソイドの力価 (179-3376 単位/mL) はであった。国内の 2004 年度に出検された DTaP (20 件: 平均力価 143 単位/mL) に対して、DTaP-HepB、DTaP-IPV、そして DTaP は 1.25-5.02 倍の力価であったが、DTaP-IPV-Hib は 19.8 と 23.6 倍の力価であった。

3. DTaP-IPV-Hib とこれらの構成ワクチン、そして Hib 単独ワクチンの破傷風トキソイドの力価 (表.)

DTaP-IPV-Hib (液状品である DTaP-IPV で、凍結乾燥品である Hib を溶解し、DTaP-IPV-Hib とするキットワクチン) の力価が 2830・3376 単位/mL であったのに対して、これらを構成する DTaP-IPV と Hib は、それぞれ 284・373 単位/mL と

777・937 単位/mL であった。また、Hib の単独ワクチンである Hiberix (GSK、キャリア蛋白とし破傷風トキソイドを含む) は 434 単位/mL、PedavaxHib (Merck、キャリア蛋白として髄膜炎菌の外膜蛋白を含む) は検出限界未満 (破傷風毒素の攻撃により免疫マウスが全て死亡) であった。これらは、平均値として国内の 2004 年度に出検された DTaP よりも、DTaP-IPV-Hib で約 21.6 倍、DTaP-IPV で約 2.28 倍、Hib (DTaP-IPV-Hib の構成成分) で約 5.97 倍で、Hib (Hiberix: 単独ワクチン) で 3.03 倍高い価あった。

#### D. 考察

ジフテリアトキソイドの力価に関しては、今回試験した DTaP-IPV-Hib、DTaP-IPV、DTaP-HepB、DTaP の結果より、国内のワクチン製造所が DTaP に Hib、IPV、そして HepB を混合しても力価が大きく変化する事は無いと考えられた。破傷風トキソイドの力価でも、DTaP への IPV や HepB の混合による影響は大きく無いと推測されるが、Hib を混合した場合、Hib の作用により DTaP-IPV の力価が 10 倍以上に上昇する事がわかった。

ヘモフィルスインフルエンザ B 型菌に対するワクチンである Hib は、ワクチン中にヘモフィルスインフルエンザ B 型菌の莢膜多糖体に対するキャリア蛋白として破傷風トキソイドや髄膜炎菌の外膜蛋白など含んでいる。今回検討した 2 種類の Hib は、Hiberix は破傷風トキソイドを、PedavaxHib は髄膜炎菌の外膜蛋白を、それぞれ含んでいる。Hiberix はそれ自身で国内の DTaP の 6 倍程度の力価を有して

いるが、PedavaxHibは破傷風トキソイドの力価が認められなかった。HibによるDTaP-IPVの破傷風トキソイドの力価の増強作用はキャリア蛋白として破傷風トキソイドを含むHibの作用であると推測される。

#### E. 結論

IPV、HepBの混合によるDTaPのジフテリアと破傷風トキソイドの力価は大きく影響を受けないと推測される。一方、HibをDTaPに混合した場合、ジフテリアトキソイドの力価は大きな影響を受けないが、破傷風トキソイドの力価は、混合前よりも10倍以上に上昇する可能性がある。

#### F. 健康危険情報

現在、海外では、ワクチンの効率的な接種やコスト削減のために、DTaPと、HepB、IPVやHibなどとの混合ワクチンが導入され、広く接種されている。今後、日本でもこれらの混合ワクチンの導入が検討されると考えられる。現在、日本で接種されているDTaPは、小児期の4回の接種により破傷風の発症防御に十分な抗体

(0.01単位/mL以上)を誘導する事がわかっている。しかし、DTaP-IPV-Hibに含まれるHibは、現在国内で接種されているDTaPよりも高い破傷風トキソイドの力価を有し、これらのHibを日本国内のDTaPと混合した場合、DTaPの破傷風トキソイドの力価は増強し、現在以上に破傷風トキソイドに対して高い免疫を誘導する可能性がある。現在までに、日本国内では、これ程の高い破傷風トキソイドの力価(2000単位/mL以上)を持つワクチ

ンを使用した経験が無い。そこで、今後、日本国内でこのような混合ワクチンを導入する際には、ワクチンの接種後における破傷風抗体価の推移や副反応を十分に調査する必要がある。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

(1)岩城 正昭、堀内 喜信、小宮 貴子、福田 靖、荒川 宜親、高橋 元秀：レーザー粒径測定型血小板凝集計を用いたフロキュラシオンアッセイ系の構築、第9回日本ワクチン学会学術集会 平成17年10月 大阪市

(2)福田 靖、岩城 正昭、小宮 貴子、荒川 宜親、高橋 元秀：ヘモフィルスインフルエンザB型菌ワクチンに含まれる破傷風トキソイドの免疫原性の検討、第9回日本ワクチン学会学術集会 平成17年10月 大阪市

##### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

特許取得

なし

実用新案登録

なし

その他

なし



表. 海外市販各種ワクチンのジフテリアと破傷風トキソイドの力価

製造所	ワクチン名	製剤	ジフテリアトキソイド			破傷風トキソイド		
			力価	95%信頼限界		力価	95%信頼限界	
Aventis	Pentavac <sup>a)</sup>	DTaP-IPV-Hib <sup>b)</sup>	122	89 -	170	3376	1682 -	23646
		DTaP -IPV	81	59 -	112	373	232 -	600
		Hib <sup>b)</sup>		未実施		777	492 -	1448
	Pentaxim <sup>a)</sup>	DTaP-IPV-Hib <sup>b)</sup>		未実施		2830	1472 -	16393
		DTaP -IPV		未実施		284	169 -	447
		Hib <sup>b)</sup>		未実施		937	577 -	1953
	Tetravac	DTaP -IPV	76	56 -	101	179	121 -	247
Tripacel	DTaP	65	48 -	87	487	362 -	672	
GSK	Pediarix	DTaP-IPV-Hib <sup>b)</sup>	76	56 -	101	718	522 -	1040
	Infarix-IPV	DTaP -IPV	80	58	110	612	390 -	1072
	Infarix	DTaP	74	55 -	99	347	255 -	469
	Hiberix	Hib <sup>b)</sup>		未実施		434	274 -	711
Merck	PedvaxHib	Hib <sup>c)</sup>		未実施		測定レベル以下		
国内製造所 2004年度出検分		DTaP	120	(平均値)		143	(平均値)	

(U/mL)

<sup>a)</sup> DTaP-IPV-Hibは、Hib（凍結乾燥品）をDTaP-IPV（液状）で溶解後用いるキットワクチン

<sup>b)</sup> キャリア蛋白として破傷風トキソイドを含む製剤

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）

分担研究報告書

「強毒株ウイルスを原材料とする不活化ポリオワクチンの有効性と安全性の評価に関する研究」

－IPVの安全性の評価－

分担研究者 堀内善信 国立感染症研究所細菌第二部第五室長  
研究協力者 片岡紀代、落合雅樹、山本明彦、蒲地一成、豊泉裕美（第五室）  
永田典代、原嶋綾子、倉田毅（感染病理部）

研究要旨：野外株由来不活化ポリオワクチン混合沈降精製百日せきジフテリア破傷風ワクチン(DTaP-wIPV)について、特に局所反応原性に注目して国内のDTaP-sIPV試作品との動物モデルによる比較・評価を行い、wIPVについて安全性についての顕著な問題は検出されなかった。

A. 研究目的

不活化ポリオワクチン(IPV)の早期実用化に向け、野外株IPV(wIPV)の安全性を動物モデルにより評価することとした。同様に海外の市販沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン(DTaP-wIPV)の安全性を評価し、その導入の可能性について検討することとした。

B. 研究方法

海外のDTaP、DTaP-wIPV、国産DTaPとwIPVの局所反応原性を比較、評価した。試験としてワクチンをマウス足蹠皮下に0.05mL(2.5mL/kg)およびウサギ背部皮内に0.1mL(0.04mL/kg)接種し、それぞれ経日的に腫脹を計測した。また接種5日目のマウスおよび21日目のウサギの接種局所について病理組織学的評価を行った。

C. 研究結果

マウス足蹠皮下およびウサギ背部皮内

に接種して経日的に腫脹を計測し、またその病理組織学的解析を行った。その結果、海外のDTaPでは、接種5日目をピークとする明らかなマウス足蹠の腫脹がみられたが、国産のDTaPでは目立った腫脹は認められず、同様にウサギ背部皮内接種の場合も、海外ワクチンでは強い腫脹が見られるが、国産ワクチンではみられなかった。またマウスおよびウサギの接種部位について病理組織学的検討を行った結果、海外ワクチンの場合、マウス、ウサギとも接種局所の強い炎症が観察されたが、国産ワクチンの場合、明確な炎症像は見られなかった。従ってこれらのモデルで局所反応原性の違うDTaPワクチンを識別できると考えられた。そこで海外のwIPVを同様にマウス、ウサギに接種したところ、いずれも目立った腫脹はみられなかった。(図1、2)。

#### D. 考察

海外と国産のDTaPについて、動物種、接種量、接種部位にかかわらず、一貫した接種局所の腫脹および炎症像の差が認められ、海外と国産のワクチンには明らかな性状の違いがあることが示唆された。しかし海外のwIPVではマウス足蹠、ウサギ皮内いずれにおいても明確な接種局所の腫脹は認められなかった。すなわち海外ワクチンによる接種局所の腫脹はIPVではなくDTaPが関与したものであると考えられた。

#### E. 結論

海外のwIPVには明確な局所反応原性は確認されなかった。しかし海外のDTaPワクチンは、国産ワクチンに比べて非常に強い局所反応原性を有する可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. 参考文献
2. 学会発表

片岡紀代、山本明彦、永田典代、落合雅樹、長谷川秀樹、蒲地一成、豊泉裕美、荒川宜親、倉田毅、堀内善信（原嶋綾子、長岡芳昭）：沈降精製DPT及びDPT-IPVワクチンの安全性 第9回日本ワクチン学会学術集会 平成17年10月 大阪

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む）  
特記すべきものなし

図1. マウス足蹠腫脹

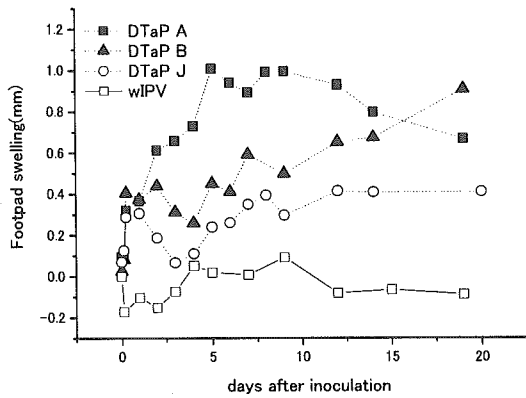
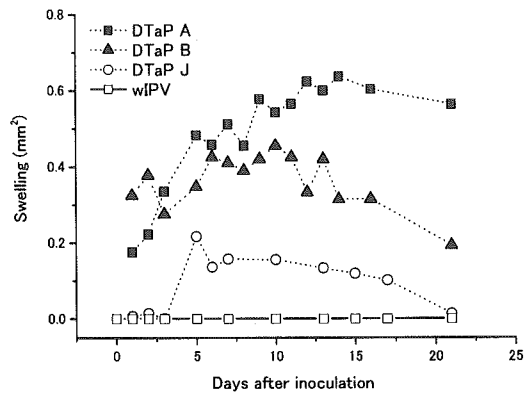
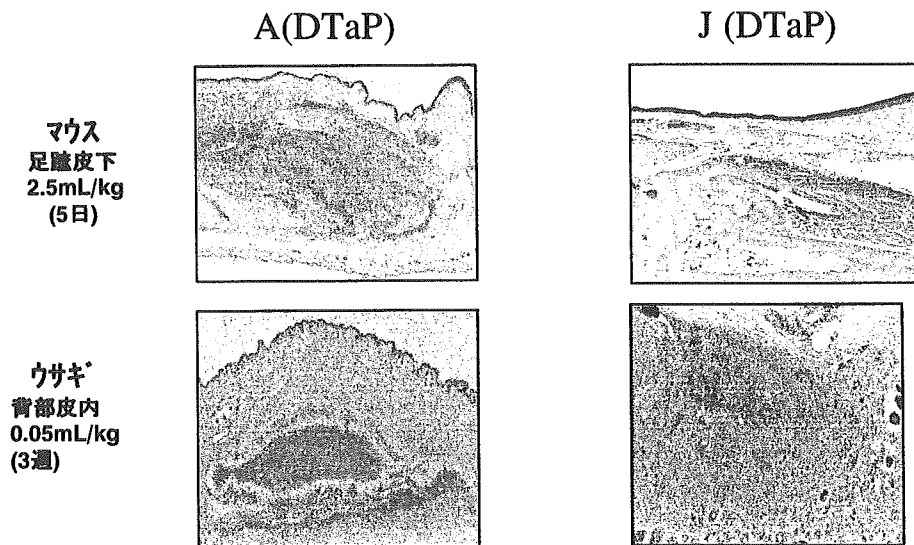


図2. ウサギ背部皮内接種による腫



腫

図3. 局所反応動物モデルの病理組織学的評価



厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）

「混合ワクチンの品質確保に関する研究」

分担研究報告書

強毒株 IPV の力価の評価

分担研究者 武田直和 国立感染症研究所ウイルス第二部第一室長  
研究協力者 李 天成、白土東子（国立感染症研究所ウイルス第二部）

研究要旨：弱毒ポリオウイルスセービン株を用いた不活化ポリオワクチン（sIPV）、ならびにこれと現在製造市販されている沈降精製ジフテリア百日咳破傷風混合ワクチン（DPT）を混合した sIPV・DPT 混合ワクチンの力価を評価するにあたり、海外の強毒株 IPV の力価を測定した。

A. 研究目的

わが国で独自に開発された弱毒ポリオウイルスセービン株を用いた不活化ポリオワクチン（sIPV）、ならびにこれと現在製造市販されている沈降精製ジフテリア百日咳破傷風混合ワクチン（DPT）を混合した sIPV・DPT 4 価ワクチンの開発が進んでいる。海外の強毒株 IPV（wIPV）の力価について比較検討した。

B. 研究方法

使用動物：ラットの種は SPF、Wister 種（SLC）、メスである。これらを各ワクチン群 10 匹ずつ、4 用量に割り当てた。ラットは生後 7 週齢で入荷し、一週間観察した後 8 週齢で接種した。接種部位 は後足筋肉、接種量は 0.5 ml/ラットである。接種回数は 1 回とし、21 日の免疫期間 の後に採血した。

接種ワクチン：日本ポリオ研究所製 TIPV #05J、および海外メーカーの wIPV についてはワクチン希釈液（0.15%Bica を含む Eagle's MEM）で原液、2 倍希釈、4 倍希釈、8 倍希釈となるように、DTaP-wIPV は原液、4 倍希釈、8 倍希釈、16 倍希釈となるように調製した。

中和試験：2002 年の WHO TRS910 に示されている A.3.6.2 Potency tests に基づいて行なった。

解析：Bioassay Assist、および近似最尤法による平行線定量法と Probit 法を用いた。

（倫理面への配慮）

動物実験に関しては「動物の保護及び管理に関する法律」（昭和 48 年法律第 105 号）及び「実験動物の飼育及び保管に関する基準」（昭和 55 年総理府公示第 6 号）の法律及び

基準の他、国立感染症研究所における動物実験指針に基づき、用いる動物の数は最小限とし、採血時には麻酔を施し動物愛護の精神のもとに実験を行った。

#### C. 研究結果ならびに考察

厚生労働科学研究費補助金(医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)「混合ワクチンの品質確保に関する研究」班で得られたラット免疫原性試験に係る結果から、本実験ではメスのラットのみを用いて行なった。体重は全ての個体が平均値±10%以内に納まっていた。また、上記研究班の結果から、#05Jと海外メーカーのwIPVは1、2、4、8倍希釈検体を、DTaP-wIPVは1、4、8、16倍希釈検体を免疫に用いた。

現在、免疫期間中であるが、抗体価は、国立感染症研究所、堀内によって開発された近似最尤法による平行線定量法と Probit 法で求め比較検討する予定である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

Chen-Fu Yang, Hour-Young Chen, Jaume Jorba, Hui-Chih Sun, Su-Ju Yang, Hsiang-Chi Lee, Yhu-Chering Huang, Tzou-Yien Lin, Pei-Jer Chen, Hiroyuki Shimizu, Yorihiro Nishimura, Andi Utama, Mark Pallansch, Tatsuo Miyamura, Olen Kew, and Jyh-Yuan Yang. Intratypic Recombination among Lineages of Type 1 Vaccine-Derived Poliovirus Emerging during Chronic Infection of an Immunodeficient Patient. *J. Virol.* 2005 79: 12623-12634.

Minetaro Arita, Shuang-Li Zhu, Hiromu Yoshida, Tetsuo Yoneyama, Tatsuo Miyamura, and Hiroyuki Shimizu. A Sabin 3-Derived Poliovirus Recombinant Contained a Sequence Homologous with Indigenous Human Enterovirus Species C in the Viral Polymerase Coding Region. *J. Virol.* 2005 79: 12650-12657.

Q Sue Huang, Gail Greening, Michael G Baker, Keith Grimwood, Joanne Hewitt, Debbie Hulston, Lisa van Duin, Amanda Fitzsimons, Nick Garrett, David Graham, Diana Lennon, Hiroyuki Shimizu, Tatsuo Miyamura, Mark A Pallansch. Persistence of oral polio vaccine virus after its removal from the immunisation schedule in New Zealand. *Lancet* 2005; 366: 394-396.

清水博之、吉田 弘、宮村達男：野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する WHO 世界的行動計画（第2版） ウイルス 55:161-178, 2005.

清水博之、武田直和、宮村達男：ポリオワクチン 臨床と微生物 32:441-444, 2005.

## トピックス

# 野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する WHO 世界的行動計画 第2版

清水 博之, 吉田 弘, 宮村 達男

国立感染症研究所 ウイルス第2部

本稿は、WHO global action plan for laboratory containment of wild polioviruses (Second edition) の全訳である。天然痘や SARS コロナウイルスの例を挙げるまでもなく、実験室に由来する感染症流行の社会的リスクは、きわめて現実的な問題である。野生株ポリオウイルス根絶が間近となり、ポリオワクチン接種停止について議論されている現在、野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めについても具体的な行動が求められている。日本語訳作成の主たる目的のひとつは、必ずしも周知されていないポリオウイルス野生株の定義や実験室封じ込めの基準に関する現時点における WHO 指針を明確にすることにある。同時にまた、感染症以外の広範な施設がポリオウイルスを保有する可能性について、担当者に理解していただくための基本的資料を提供することを目的としている。

## 略 語

BSL	biosafety level	バイオセーフティ・レベル
CNS	central nervous system	中枢神経系
GCC	Global Commission for the Certification of the Eradication of Poliomyelitis	世界ポリオ根絶認定委員会
HEPA	high efficiency particulate air filter	高性能微粒子フィルター
IPV	inactivated polio vaccine	不活化ポリオワクチン
OPV	oral polio vaccine	経口ポリオワクチン
SOP	Standard Operating Procedure	標準作業手順書
PVR	poliovirus receptor	ポリオウイルス受容体
VAPP	vaccine-associated paralytic poliomyelitis	ワクチン関連麻痺性ポリオ
VDPV	vaccine-derived poliovirus	ワクチン由来ポリオウイルス
WHO	World Health Organization	世界保健機関

## 目 的

実験室から一般社会への野生株ポリオウイルスの再侵入のリスクを最小限とするための活動の体系的かつ包括的な計画を準備すること。

## 連絡先

〒208-0011 東京都武蔵村山市学園 4-7-1  
TEL : 042-561-0771 ・ FAX : 042-561-4729  
E-mail : hshimizu@nih.go.jp



## 要 約

すべての地域が、最低過去3年間継続して野生株ポリオウイルスの伝播が存在しないこと、および、野生株ポリオウイルス材料を保管している実験室が適切な封じ込め処理を施したことを立証し、世界ポリオ根絶認定委員会 (Global Commission for the Certification of the Eradication of Poliomyelitis ; GCC) により確認された時点で、世界ポリオ根絶宣言が可能となる。<sup>1)</sup> 実験室から一般社会への野生株ポリオウイルス伝播の可能性は小さい。しかしポリオフリーの地域が増加し、ポリオに対する予防接種活動が低下あるいは停止するにしたいが、実験室からのウイルス伝播の潜在的な重要性は、いっそう大きくなる。野生株ポリオウイルス感染性材料および野生株ポリオウイルスを含む可能性がある材料についての安全な取扱い、最終的には、適切な実験室封じ込めを達成することが重要である。

*Global action plan for laboratory containment of wild polioviruses* (WHO/V&B/99.32) の初版は、1999年12月にWHOから発行された。初版は、バイオセーフティの専門家、疫学者、実験科学者、厚生省およびワクチン製造業者からの広範な意見に基づくものであった。

Global action plan 第2版は、初版を改訂するものである。第2版には、WHO管轄の世界6地域のうち5地域における100カ国以上での医科学実験室の調査と保有記録作成から得られた教訓が含まれている。第2版では、ワクチン由来ポリオウイルス (vaccine-derived poliovirus ; VDPV) を含むよう初版における勧告が拡張されている。そしてリスクに関してバイオセーフティの条件を定義している。また封じ込めを達成するための活動に関する2つの段階を説明している。すなわち、実験室調査および保有記録作成の段階、および、世界ポリオ根絶の認定段階である。第2版では最後に、ポリオウイルスのバイオセーフティの必要性とポリオ根絶認定後の予防接種政策との兼ね合いについて検討する。

### 国内の実験室調査・保有記録の作成

本段階では、ポリオフリーの国・地域が増加しているが、同時に野生株ポリオウイルスが世界のどこかの地域で未だ伝播し続けている。各国は；

1. 野生株ポリオウイルス感染性材料あるいは野生株ポリオウイルスを含む可能性のある材料を有する医科学実験室を特定するため、すべての実験室を調査し不必要な材料の廃棄を促す。
2. 上記材料を有する実験室のリストを作成し、地域根絶認定委員会 (Regional Certification Commission ; RCC) に報告する。
3. 野生株ポリオウイルス感染性材料あるいは野生株ポリオウイルスを含む可能性のある材料を保有し

ている実験室に、安全な取扱いのため、強化したバイオセーフティレベル-2 (BSL-2/polio) 基準を施行するよう指導する。

4. 世界ポリオ根絶認定についての準備を行う。

### 世界ポリオ根絶の認定

本段階は、世界のすべての地域で野生株ポリオウイルスが分離されず1年間が経過した時点で開始する。各国は；

1. 野生株ポリオウイルス伝播の終息を各医科学研究室に通知する。
2. 国内保有記録にリストアップされた実験室に対し、以下の選択肢のうち、ひとつを選択するよう指示する。
  - 野生株ポリオウイルスに関連した材料を不活化するか、適切な方法により廃棄する (Annex 2)。
  - 野生株ポリオウイルス感染性材料、あるいは野生株ポリオウイルスを含む可能性のある材料を、必要なバイオセーフティ基準を満たすことが可能な実験室に移動する。
  - BSL-2/polio あるいは BSL-3/polio 実験室として運用するのに相応しいバイオセーフティ対策を実施する。
3. 世界ポリオ根絶認定のため必要とされる封じ込めに関するすべての要求事項に関する達成状況を記録する。

### ポリオ根絶認定後

第2版は、世界的なポリオ根絶認定に必要とされる野生株ポリオウイルス封じ込め基準を示すものである。この基準は、現行のポリオ予防接種方針が継続するかぎり有効であると考えられる。ポリオ根絶認定後に、もし全世界がOPV定期接種停止を決めるのであれば、IPVの導入の如何にかかわらず、野生株およびOPVウイルスに対する封じ込めの基準は、本稿で述べた以上に厳格となると考えられる。あらたなバイオセーフティ基準は、OPV接種停止戦略、および、世界的に次第に増加するポリオ感受性集団への不用意なポリオウイルス伝播のリスクとその重要性に対応するものとなると想定される。世界ポリオ根絶認定以降のバイオセーフティ基準を規定する、すべてのポリオウイルスを対象とするGlobal Action Plan第3版は、OPV接種停止のための戦略策定と平行する形で、準備および刊行される予定である。

### 本計画の発行について

一般社会への偶発的なポリオウイルス伝播のリスクに対応した実験施設およびバイオセーフティの実践を確かなものとするための背景、理論的根拠および戦略を本稿で示す。

本稿とは別の WHO 文章<sup>2)</sup>として、野生株ポリオウイルスから製造される IPV の安全な製造と品質管理についてのガイドラインが提供されている。ポリオが次世代にとっての脅威とならないことを確実にするため、すべての関連分野における全面的な協力と関与が重要である。

### 小児麻痺 (ポリオ)

#### 定義

小児麻痺あるいはポリオは、エンテロウイルス属のメンバーであるポリオウイルスにより起きる感染症である。ポリオウイルスには、3種類の血清型1, 2および3型が存在する。感受性ヒト細胞の特異的蛋白質レセプターがウイルス吸着および侵入をつかさどる。ポリオウイルスは、咽頭、扁桃、頸部リンパ節および小腸の細胞に感染する。いったん腸管感染が成立すると、ポリオウイルスは血液脳関門を介した侵入あるいは神経線維を介した伝達により中枢神経系 (CNS) へ侵入する。

免疫を持たないヒトがポリオウイルスに感染した場合、無症状、軽度の症状、無菌性髄膜炎から麻痺を伴うポリオまで、さまざまな症状を呈する。<sup>3)</sup> 感染者の約1%に神経症状が認められる。潜伏期間は4~35日であるが、通常は7~14日の間とされる。初期症状として、発熱、疲労、頭痛、嘔吐、便秘、肩こり、手足の痛み、が含まれる。ポリオウイルスは、運動神経細胞で増殖し細胞を破壊することにより、感染した神経細胞支配下の筋肉の恒久的な麻痺をもたらす。

#### 伝播経路

ポリオウイルスは、感染初期には上気道からの飛沫を介して、より一般的には、衛生状態が良くない環境において、感染性を有する糞便材料を経口摂取することにより、ヒトからヒトへ伝播する。<sup>4)</sup>

#### ポリオウイルスの性質

感染後、ポリオウイルスは、無症状の感染者においても、咽頭に1~2週間、血液中に約1週間、糞便中に1~2ヶ月の期間認められる。死亡した感染者の剖検材料においては、糞便、腸管内容物、リンパ節、脳および脊髄組織から、ポリオウイルスが回収される。

感染者の1%以下が麻痺性ポリオを呈する。流行期のあいだは、臨床的には健康な多くの子供がポリオウイルスを排出している。環境中のポリオウイルスの存在は、ヒト集団における最近のポリオウイルス感染の直接的な結果である。土壌は、住居の近隣におけるヒトの排泄、未処理あるいは不適切な処理を施した下肥や下水による作物への施肥、灌漑のための排水の再利用の結果、ポリオウイルスに汚染されることがある。表層水 (地上の流水) は、未処理ある

いは不適切に処理された下水の流出により、あるいは、汚染された土壌からの溶出により汚染されることがある。

ヒトはポリオウイルスの唯一の自然宿主である。ヒト以外の高等霊長類 (チンパンジーやゴリラ) は、ポリオウイルスに感染・発症しうるが、ヒトへの感染なしにポリオウイルスの伝播を維持するには個体数が少なすぎる。<sup>5)</sup>

#### ポリオウイルスの残存

ポリオウイルスは、一般的な実験室の消毒剤であるアルコールやクレゾールによる不活化に対して耐性である。ポリオウイルスは、50℃以上の温度、オートクレーブあるいは焼却により、速やかに不活化される。<sup>3)</sup> 希釈したホルムアルデヒド溶液、遊離塩素剤 (漂白剤)、紫外線照射、加熱乾燥により、ポリオウイルスは容易に不活化される。付着した有機物の存在により、ポリオウイルス不活化の速度は低下する。ポリオウイルスを取扱っている実験室における消毒には、塩素系漂白剤 (0.5%) が薦められる。

安定した実験室の条件下では、臨床および環境に由来する検体中のポリオウイルスは、凍結保存で数年、冷蔵保存で数ヶ月、室温で数日か数週間残存する。<sup>3)</sup>

自然界におけるポリオウイルス不活化の速度は環境に強く影響される。冬期には20日ごと、夏期には1.5日ごとに、土壌中のポリオウイルスの感染性は90%減少し、常温において、下水では26日ごと、真水では5.5日ごと、海水では2.5日ごとに90%減少する。<sup>5)</sup>

#### ポリオワクチン

ポリオに対する防御免疫は、予防接種あるいはポリオウイルスの自然感染により付与される。免疫は、ポリオウイルスの血清型に特異的である。発症防御効果は、血流中の抗体に依存しており、ウイルスの中枢神経組織への伝達を阻止する。感染防御は、血中抗体および腸管や上気道上の分泌型抗体と関連している。<sup>6)</sup>

弱毒化経口ポリオワクチン (OPV) および注射による不活化ポリオワクチン (IPV) はいずれも、麻痺性ポリオに対する予防効果を有する。<sup>7)</sup> しかし、どちらのワクチンもポリオウイルス感染および再感染を完全に防ぐ効果はない。IPV は、血中の感染防御抗体を誘導し (液性免疫)、それにより、腸管のポリオウイルスが中枢神経組織に侵入・増殖することを防ぐ。北ヨーロッパで使われていた IPV は、効果的に野生株ポリオウイルスの流行をなくすことに成功した。<sup>8, 9)</sup> 腸管で増殖するウイルスを含有する OPV は、加えて、腸管でのウイルス増殖を抑制する粘膜免疫を誘導する。その結果、糞便中への排泄ウイルス量を減少させることになり他人への伝播を抑制する。このことが世界ポリオ根絶計画にとって、OPV の重要な選択要因となっている。ポリオ根絶計画に参画している多くの国々で、OPV の使用により野生株ポリオウイルス流行は効果的に抑えられてきた。<sup>10)</sup>

一方、生ワクチンである OPV は、250 万接種に 1 例程度の割合で起きるワクチン関連麻痺性ポリオ (VAPP) に関与している。<sup>11)</sup> B 細胞欠損を有する免疫不全患者は、より長期間ウイルス排泄し続ける場合があり、排出するポリオウイルスの遺伝子変異の蓄積をもたらす。<sup>12)</sup> これまでに、19 例このような症例が認められている。十分な免疫を持たない集団におけるワクチンポリオウイルスの、より長期間の継続的なヒトからヒトへの伝播は、神経病原性や伝播能が野生株ポリオウイルスと同等となる遺伝子変異をもたらす可能性がある。<sup>13)</sup> このようなウイルスは、自然界に存在するポリオウイルスと同様のリスクをもたらす。

### 野生株ポリオウイルス伝播の停止

ポリオは、1950 年代中頃の予防接種の登場以前には世界中で発生していた。ポリオ患者数を減少させるのに予防接種はきわめて効果的であった。<sup>14)</sup> さらに、ポリオ根絶計画における改良を加えた小児への定期予防接種および戦略的な OPV の使用により、大規模流行地でも患者数は減少した。<sup>15)</sup> 野生株ポリオウイルス伝播を遮断するというコンセプトは、予防接種によりワクチン株で感受性ヒト宿主を奪いつくした時点で、野生株ポリオウイルス伝播は終息するという仮定に基づいている。<sup>16)</sup> 多くの国でポリオ症例は減少し続けており、続々とポリオウイルスの遺伝学的系統が消失してゆくことは、ポリオウイルスのヒトからヒトへの伝播の遮断が達成可能であることを示している。

### 封じ込めの理論的根拠

1977 年に天然痘が根絶されてから 1 年以内に、天然痘実験室に関係した 2 例が英国で起きた。第 1 例は実験室のすぐ上に位置する部屋で働いていた。2 名が亡くなった。第 1 例は感染により、さらに実験室の責任者は事故の責任を負担に自殺した。<sup>17)</sup> ポリオが根絶された場合、同じように野生株ポリオウイルスが、実験室から次第に増加する感受性集団へ伝播することがないよう、あらゆる努力が払われるべきである。

理論的には、ポリオウイルスは実験室外部の人間に感染する可能性がある。すなわち、下水へ流れ込む汚染した実験室廃水、ゴミ埋め立て地へ送られる固形ゴミ、周辺への排気、汚染した作業員の皮膚や衣服、を介してである。しかし、自然感染や予防接種により得られた高いレベルの免疫が維持されている状態では、このような伝播経路を特定することはきわめて困難である。

より容易に確認できるのは、一般社会への伝播の可能性を有する実験室作業員のポリオウイルス感染である。1941 年から 1976 年にかけて、2 例の死亡例を含む 12 例の実験室感染ポリオ症例が記録されている。<sup>18-21)</sup> これらの症例のうち、7 例については公表されていない。ほとんどの症例は、ワクチン導入前、細胞培養の登場以前に起きている。

1941 年に発表された実験室感染の最初の症例は、サルに感染するため用意していた感染組織を洗浄し、すりつぶす作業の結果感染したと考えられるポリオ症例であった。<sup>22)</sup> 1943 年には、マウスへの感染を試みている際、2 名の実験室作業員が標準株である Lansing (Amstrong) 株に感染した。<sup>23)</sup> 他に報告されている実験室作業員のポリオ症例は死亡例であり、1 例は米国<sup>24)</sup>、他は南アフリカの症例であった。<sup>25)</sup>

ワクチンが導入されて以降、実験室感染の報告が少ないという事実は、ワクチンの有効性および実験施設、技術および手技が大幅に改善されたことを示している。<sup>26, 27)</sup> しかし、最近の事例は実験室からのポリオウイルス伝播の可能性が依然として残されていることを示している。1992 年、IPV 製造に用いられた 1 型野生株ワクチンが、製造施設の従業員から、彼の幼い息子へ伝播したことが確認された。<sup>28)</sup> 他の事例では、ある小児が、研究や IPV 製造に一般的に用いられている 3 型標準株に感染していたことが報告されている。この事例の感染源は不明である。

IPV は、疾患を予防することに関しては、きわめて有効であるが、実験室作業員の潜伏感染を防ぐことはできないと考えられている。OPV は効果的なバリアーであるが、それでも潜伏感染が起きる可能性がある。実験室作業員におけるポリオウイルスの不顕性感染の頻度は明らかではない。

腸管感染そして糞便へのウイルス排泄を完全に抑えるワクチンが存在しない以上、実験室作業員のポリオ感染および伝播の予防のため、適切なバイオセーフティ対策が重要となる。完璧な封じ込めを想定することはできない。故意であるか否かに関わらず対策が遵守されない懸念は残る。しかし、効果的な封じ込め、すなわち、一般社会への不用意なポリオウイルス再侵入のリスクを減らすことは現実的な目標である。<sup>29)</sup>

## 定 義

### ポリオウイルス (box 1)

ポリオウイルスは、特異的抗血清を用いた標準的な中和試験により同定される。3 種類の血清型からなるポリオウイルスは、ヒトエンテロウイルスの中で固有の遺伝子群を形成しており、特異的な宿主細胞レセプター (PVR : CD155) への結合により感染が誘導される。他のエンテロウイルスのなかにも急性弛緩性麻痺に関与するものがあるが、PVR には結合しない。

野生株ポリオウイルスは、感受性ヒト集団において持続的に伝播する。分子生物学的研究により、野生株ポリオウイルスのカプシド配列の系統はウイルス伝播経路に従い保持されるが、非カプシドおよび非翻訳領域の配列は、伝播過程で他のエンテロウイルスとの組換えより交換される可能性がある。結果として、カプシド以外の塩基配列による「ポリオウイルス」の同定は、妥当性を欠く可能性がある。

### Box 1 : ポリオウイルスの定義

ポリオウイルス：明確に同定可能な3種の血清型からなるヒトエンテロウイルスで、特異的レセプターであるPVR：CD155を介して細胞に感染する。

野生株ポリオウイルス：一般社会で持続的に伝播していたことが知られている、あるいは、伝播していたと考えられているポリオウイルス分離株、あるいはそれらの分離株に由来する参照株。

経口ポリオウイルスワクチン（OPV）株：国家検定機関により経口ワクチンとしての使用が認可された弱毒化ポリオウイルス。未認定株は野生株とみなす。

OPV-like ポリオウイルス：限られた期間のウイルス排泄、あるいは、限られた期間のヒトからヒトへの伝播に由来するポリオウイルス分離株。通常、親株であるOPVからのVP1全領域の変異率が1%以下であることにより同定される。塩基配列は決定されていないが、WHOの推奨する2種類の型内鑑別試験によりOPV様ウイルスであることが示された分離株を含む。

ワクチン由来ポリオウイルス（VDPV）：通常より長期間のウイルス排出、あるいは、通常より長期間の地域社会でのウイルス伝播に由来するポリオウイルス分離株。通常、親株であるOPVからのVP1全領域の変異率が1-15%であることにより示される。VDPVは、ポリオ根絶および封じ込めの目的の上では、野生株として分類される。

すべての伝播過程のポリオウイルスにおいて、遺伝子変異が起きる。VP1領域の変異は、野生株ポリオウイルス分離株の遺伝子型と系統を識別するための基本となる。遺伝子変異によりOPV由来分離株を分類することが可能である。VP1全領域の塩基配列の相同性が親株であるOPV株から0-1%の範囲の変異であれば、一般的なウイルスの排出が限定的なヒトからヒトへの伝播を意味する。変異の範囲が1-15%であれば、OPV由来ポリオウイルス（VDPV）流行に関与する分離株として位置づけられ、長期間の伝播および麻痺性疾患発症に関与している。<sup>13)</sup>

封じ込め目的には、その時点で国家検定機関によりOPVとしての使用が承認されている株以外のすべてのポリオウイルスは野生株とみなされる。広く解釈すれば最近ワクチン接種を受けた人の臨床材料中にごく普通に含まれるOPV類似ウイルスも「野生株ではない」と考えられる。「野生株ではない」ポリオウイルスを用いて作業しようとする実験室は、信頼できる認可済みのOPV保存株を用いるべきである。

世界中ほとんどの地域では、認可済みのOPV株は、弱毒化Sabin由来(SO)株1型(LiおよびSchaefer), LS-c, 2ab/KP3; 2型(FoxおよびGelfand) P712, CH, 2ab/KP2; 3型(KesselおよびStimpert) Leon 12a,b/KP4である。<sup>7)</sup>中国では、認可されている2型および3型のOPV株は、それぞれ、Zhong IIおよびZhong IIIである。

文献上弱毒化されていると記載されている他の株もある。そのうち、いくつかの株については広範な臨床試験が行われた。しかし、現行の認可済みのOPV株のみが長年の経験によりヒト集団における弱毒化に関する数多くの証拠を

有している。

現在不活化ポリオワクチン(IPV)の製造のために用いられているポリオウイルス株は、1型Mahoney(スウェーデンではBrunenders), 2型(MEF1)および3型(Saukett)である。3株とも野生型である。弱毒化Sabin株から製造されるIPVは、現在開発中である。

材料は、さらに、野生株ポリオウイルス感染性材料および、野生株ポリオウイルス感染の可能性のある材料に区分される。これら両方のカテゴリーに含まれるのは、臨床および環境に由来する材料およびこれらの材料に由来する実験室産物である。

#### 野生株ポリオウイルス感染性材料 (box 2)

野生株ポリオウイルス(VDPVを含む)は、非麻痺性のあるいは麻痺性の感染において様々な臨床材料、一般的には糞便や咽頭に由来する検体、まれに血液中、ごくまれに髄液中に存在する可能性がある。致死的な感染の場合、野生株ポリオウイルスは、糞便、腸管内容物、リンパ節、脳組織、脊髄組織に存在する可能性がある。<sup>29)</sup>ポリオウイルスは、感染後中和抗体が現れる前に1週間程度血中に存在している。しかし中枢神経障害の臨床症状が発現してからは、血中に見いだされることはまれである。急性のポリオを発症した患者に由来する上記臨床材料はすべて、ウイルスの存在が確認されていなくとも、感染性を有するものとみなされる。

下水や上水等、環境中の検体に含まれる野生株ポリオウイルスは、ヒト集団におけるポリオウイルスの存在に対応