

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

水痘帯状疱疹ウイルス感染症及び水痘ワクチンの臨床的研究

分担研究者 浅野喜造 藤田保健衛生大学小児科教授

研究要旨 水痘ワクチンは我が国で開発された、安全且つ優れた弱毒生ワクチンである。米国では既に universal immunization がスタートしているにもかかわらず、我が国では未だ定期接種に組み込まれておらずその接種率は低迷している。本ワクチンの定期接種化を目指し、重症水痘症例や水痘の重篤な合併症についての全国規模の調査研究が必須と考えられる。今年度はこれまでの研究成果を踏まえ、平成 16 年一年間に愛知県下の内科、小児科へ水痘あるいはムンプスにより入院した症例について後方視的に調査した。また、免疫不全宿主の水痘罹患は重症化する場合が多く問題にされているが、本年度は横紋筋肉腫の小児が水痘感染にともない、chronic verrucous varicella zoster virus skin lesions という非典型的な臨床経過を示したのでその臨床的な問題点に焦点を当て報告する。

A. 研究目的

米国では 1995 年に水痘ワクチンの universal immunization がスタートし、接種率の向上に伴い水痘罹患例と入院例の減少が報告されている。一方、我が国では未だその接種率は 25%程度と低迷しており、毎年冬から春にかけ水痘の流行が認められている。近年の医療の進歩により、ステロイドを始めとした免疫抑制剤の投与を受けている後天性の免疫不全患者の数は増加の一步をたどっている。このような患者が水痘に罹患すると重症化し、ときに致死経過をとることが知られている。我々の施設でも昨年潰瘍性大腸炎にてステロイド内服中に水痘に罹患、死亡した症例を経験した。ウイルス学的な迅速診断に基づき素早くアシクロビル投与を開始することで予後が改善しているとは言え、免疫不全宿主での重症水痘の恐ろしさを痛感した。よって、このような不幸なケースをなくすためには、米国同様我が国でも早急に水痘ワクチンの universal immunization を開始する必要がある

と考えられる。本研究の初年度に平成 6 年～10 年度に愛知県で実施された、ワクチンによる予防可能疾患の入院症例に関する調査結果を再度水痘に焦点を当て解析したが、水痘は麻疹、ムンプスに次いで第 3 番目の頻度であり、1 日当たりにかかる医療費も結核、百日咳に次いで高額であった。さらに、昨年度の研究でアシクロビルが導入された最近 5～10 年間の動向解析した結果、水痘入院症例の減少は認められず、小児だけでなく成人症例もかなりあることが明らかにされた。それらの研究成績を踏まえ、今年度は平成 16 年の一年間に愛知県下の内科と小児科に水痘、ムンプスで入院した症例の把握を試みた。

B. 研究方法

1) 水痘、ムンプス入院症例についてのアンケート調査

対象は愛知県内の内科・小児科を標榜している入院設備のある 284 病院で、方法はアンケート

用紙を郵送することによる後方視的研究である。観察期間は平成16年1月1日から12月31日の一年間。調査項目は、はじめに水痘、ムンプスあるいはそれらのワクチン接種による副反応で入院した症例の有無ならびに症例数について尋ねた。さらに入院症例があった場合には症例調査票の記入を求め、その中には患者の年齢、性別、入院理由、転帰を記入してもらうこととした。

2)横紋筋肉腫症例における chronic verrucous varicella zoster virus skin lesions  
VZV LAMP法で患児皮疹部拭い液からのVZV DNA迅速検出。リアルタイムPCR法により、患児末梢血単核球からのVZV DNA検出。

### C. 研究結果

#### 1)水痘・ムンプス入院症例についてのアンケート調査

アンケートについては284施設中120施設(42.3%)から結果が返送されてきた。

水痘に伴う入院症例の内訳は、水痘のみが18例(小児:12例、成人6例)、水痘罹患に伴う合併症により入院した症例が5例(小児4例、成人1例)あった。合併症の内訳は、熱性痙攣2例、髄膜炎1例、肺炎1例、皮膚感染症1例だった。また、水痘による基礎疾患の増悪が3例(小児3例)に認められ、その内容はステロイド内服中が1例、ALLが1例、ネフローゼ症候群が1例だった。

一方、ムンプスに伴う入院症例の内訳は、ムンプスのみが13例(小児9例、成人4例)、ムンプスに伴う合併症が34例(小児28例、成人6例)だった。合併症の内訳は、髄膜炎27例、熱性痙攣2例、精巣炎2例、肺炎1例、難聴1例、峰窩織炎1例だった。また、ムンプスによる基礎疾患の増悪が3例(小児2例、成人1例)に認められ、その内容はアレルギー性紫斑病1例、喘息1例、肝細胞癌1例だった。

2)横紋筋肉腫症例における chronic verrucous varicella zoster virus skin lesions  
症例は3歳の男児。水痘の罹患歴、水痘ワクチン

ン接種歴はない。現病歴は、平成16年、11月発症の横紋筋肉腫患児。日本横紋筋肉腫研究グループ(JRSG)のlow Bプロトコールに沿って東京都立清瀬小児病院・血液腫瘍科にて治療中。平成17年8月頃から皮疹出現。経過が長く、典型的な水痘疹とも異なるため、皮膚科にも併診を依頼していたが、伝染性軟属腫、水痘、あるいはその混合と確定診断がつかなかった。10月11日から再度新たな皮疹が出現したため(図1)、確定診断目的にて皮疹部から拭い液を採取しウイルス学的検索を行った。尚、皮疹は充実性の丘疹で、水疱液の採取はできず、病変部を注射針で擦過した後綿棒で拭い滅菌生食に浸したものを使用した。

患児の臨床経過を図2に示す。得られた皮疹部拭い液を、我々が開発したdirect VZV LAMP法により調べたところ、VZV DNAが検出されたため直ちにアシクロビルの投与を開始した。アシクロビルの投与により臨床像は改善し、末梢血単核球中のVZV DNA量も徐々に減少していった。その後アシクロビル投与中止後に再度皮疹が再燃したが、治療終了に伴い典型的な水痘疹を形成痂皮化して治癒した。その際始めて、VZV IgG抗体の陽転化が確認された。

### D. 考察

#### 1)水痘、ムンプス入院症例についてのアンケート調査

- 回収率が50%以下にとどまった。
- 一部の施設は、内科あるいは小児科だけからの回答になっている可能性がある。
- 成人の入院患者が多い。
- 大学病院や規模の大きな基幹病院では、免疫不全患者の水痘罹患例があった。
- 二次調査を実施中。

#### 2)横紋筋肉腫症例における chronic verrucous varicella zoster virus skin lesions

- 横紋筋肉腫の治療中にverrucous VZVを発症した小児例を経験した。
- 迅速診断にVZV LAMP法が有用であった。
- 抗ウイルス剤投与の目安として、リアル

タイム PCR 法による viral load のモニタリングが有用であった。

- 長期間の抗ウイルス療法を必要とした。
- 化学療法を実施する上で問題となる。
- 院内感染制御の上で問題となる。

E. 健康危険情報

過去の調査研究並びに症例報告であり健康危険情報は無い。

F. 研究発表

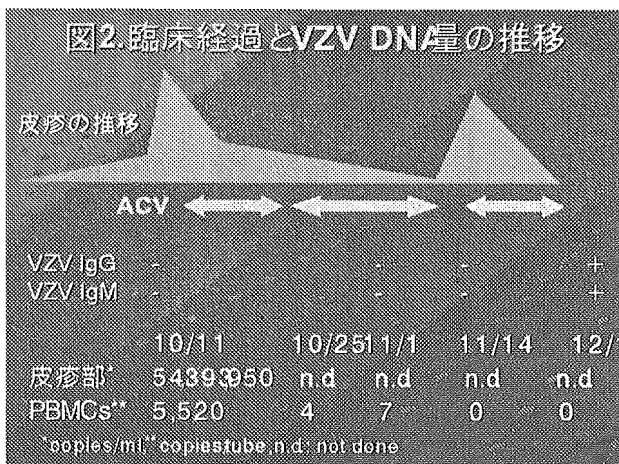
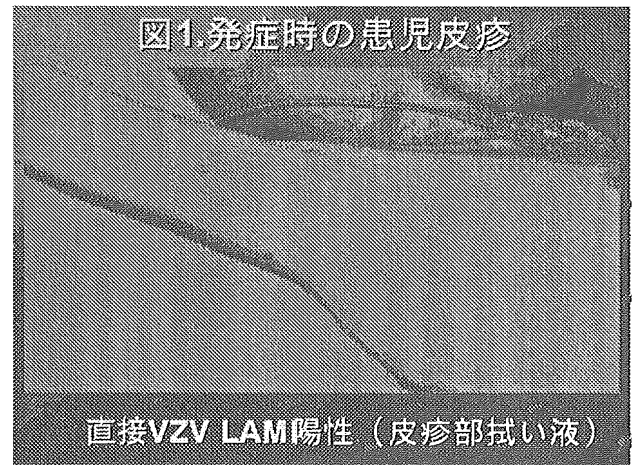
なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

アンケート調査のため知的財産権の出願・登録は行っていない。

H. 共同研究者

吉川哲史（藤田保健衛生大学医学部小児科）



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

肺炎球菌感染症における薬剤耐性化の現況と肺炎球菌ワクチンによる予防のための基礎研究

分担研究者 生方 公子 北里大学北里生命科学研究所 感染情報学研究室 教授

研究要旨 平成 15 年度、16 年度においては、肺炎球菌 7 価 conjugate vaccine（ワクチン）の対象となる小児呼吸器感染症のうち、化膿性髄膜炎、肺炎例を対象としたが、平成 17 年度においては、引き続きそれらの症例から分離される肺炎球菌の莢膜血清型を調べるとともに、難治例が増えている小児中耳炎例由来の菌株を収集して、7 価ワクチンのカバー率と薬剤耐性化の状況を検索した。結論としては、肺炎例由来の菌株に対するカバー率とほぼ同等の約 80%であることが明らかにできた。

A. 目的 平成 16 年度においては、肺炎球菌 conjugate vaccine（ワクチン）の対象となる小児における呼吸器感染症のうち、主に肺炎例を対象とし、「ARD 研究会」参加する 10 医療機関の小児科医より検査材料の提供を受け、当該菌を分離してその莢膜血清型を調べた。392 株が対象となったが、ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP)、あるいはペニシリン軽度耐性肺炎球菌 (PISP) の占める割合は、それぞれ 52.3%と 39.3%であり、その割合はほぼプラトーに達したと推察された。このような耐性菌の 89.8%は、7 価ワクチンカバーできることを明らかにした。平成 17 年度においては、「ARD 研究会」参加する 10 医療機関の小児科医より小児由来検査材料の提供を引き続き受け、当該菌を分離してその莢膜血清型と薬剤耐性化状況を調べると同時に、耳鼻咽喉科を受診する小児にも拡大し、急性難治性中耳炎由来の菌の莢膜血清型の検索も行うことを目

的とした。

#### B. 材料と方法

1) 対象症例と使用菌株 対象症例は小児科医によって組織された ARD 研究会（責任者 東京医療センター小児科医長 岩田 敏）、ならびに耳鼻咽喉科の医師（主に診療所）より送付を受けた検査材料より、当北里大学・北里生命科学研究所 感染情報学研究室にて肺炎球菌を分離した。検査材料は上咽頭ぬぐい液、あるいは鼓膜切開液や耳漏である。

2) 血清型別 分離された肺炎球菌に対して、デンマークの Serum Institute より購入した型別用抗血清を用いて型別を実施した。肺炎球菌の莢膜タイプは 90 報告されているが、その大部分を型別できるようにした。判定は、抗血清と菌を反応させ、莢膜の膨化の有無を確認する方法で実施した。

C. 結果

1) 急性中耳炎例から分離された肺炎球菌の莢膜血清型

図-1 には鼓膜切開液ならびに耳漏から検出された菌種の内訳を示す。最も分離率の高かったのは肺炎球菌で、51.9%を占めていた。これらのβ-ラクタム系薬耐性遺伝子をPCRによって検索すると、52%がgPRSPであった。遺伝子変異を有しない真の感性菌(gPSSP)は10%弱

であった。莢膜型は図-2に示したが、Vaccine typeである19F, 6B, 23F, 14型等は78.9%であった。これらの優位なタイプにはPRSPが多いため、7価vaccineによるカバー率は高くなった。一方、成人由来株では23Fが多く、次いでムコイド型の病原性の強い3型, 6B, 19Fなどであった。成人からの分離菌に対する7価vaccineのカバー率は45.3%程度であった。

図-1. 急性中耳炎例由来の起炎菌の内訳

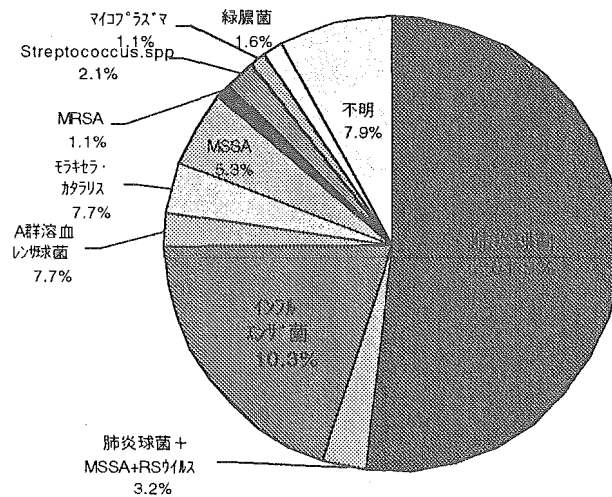
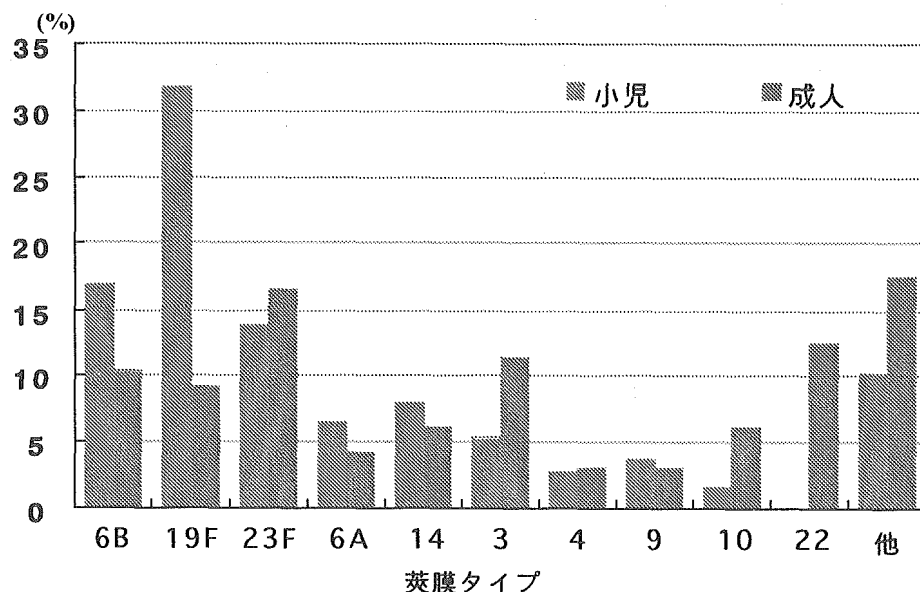


図-2. 急性化膿性中耳炎より分離された肺炎球菌の莢膜タイプ

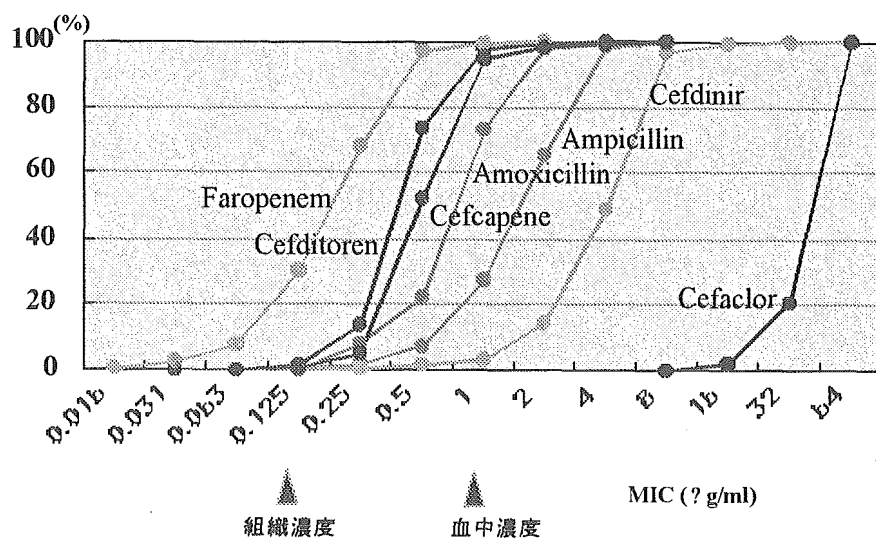


2) 肺炎球菌の経口抗菌薬感受性

分離された肺炎球菌のうち、PRSP に対する主要経口抗菌薬に対する感受性の累積分布を図-3 に示す。図に示したように、経口抗菌薬の中耳等への組織移行濃度は血中濃度の 1/10 程度、すなわち 0.1 から 0.25  $\mu\text{g/ml}$  程度と推

測され、その濃度から換算すると、投与量の多い amoxicillin などが治療薬として優れていると考えられた。我が国で開発された経口セフェム系薬は血中や組織への移行が低く、耐性肺炎球菌に対する効果は amoxicillin に比して劣ると思われた。

図-3. PRSPに対する経口 $\beta$ -lactam系薬の感受性累積分布



#### D. 考 察

急性中耳炎の起炎菌は圧倒的に肺炎球菌が多いが、特に小児由来の株においては耐性菌の PRSP が優位となっている。これらの莢膜タイプは 7 価 conjugate vaccine に含まれる 19F, 6B, 23F, そして 14 型が多いことから, vaccine 導入により相当な医療費コストの削減となるものと考えられた。また, 小児から免疫機能の低下した高齢者への cross infection も防止できるものと考えている。ただし, 将来的には, 急性中耳炎から最も重篤となるムコイドタイプの 3 型感染症が防御できる vaccine に進展することを期待する。

#### E. 平成 17 年度発表業績

##### 1) 論文

・Chiba, N., Kobayashi, R., Iwata, S., and Sunakawa, K. Ubukata, K., Hasegawa, K., : Antibiotic Susceptibility according to genotype of penicillin-binding protein and macrolide resistance genes, and serotype of *Streptococcus pneumoniae* isolates from community-acquired pneumonia in children. Journal Antimicrobial Chemotherapy, 56:756-760, 2005

・砂川 慶介, 野々山 勝人, 大石 智洋, 岩田 敏, 秋田 博伸, 佐藤 吉壮, 生方 公子, 千葉 菜穂子, 長谷川 恵子 : 本邦における化膿性髄膜炎の動向(2003-2004) 感染症誌, 80:27-38, 2006

・生方 公子 : 細菌性化膿性髄膜炎・全国サーベイランス 5 年間のまとめ -インフルエンザ菌と肺炎球菌による発症例につ

いて -CD-ROM 付き冊子作成

・Hasegawa K., Kobayashi R., Nakayama E., Iwata S., and Ubukata K., :High prevalence of type b beta- lactamase-nonproducing ampicillin- resistant *Haemophilus influenzae* in meningitis: Journal Antimicrobial Chemotherapy, 2006 (in press)

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中枢神経病原性遺伝子に関する研究

分担研究者 田代真人（国立感染症研究所・ウイルス第三部・部長）

研究協力者 木所 稔、加藤 篤（国立感染症研究所・ウイルス第三部）

研究要旨 ムンプスウイルスの病原遺伝子、特に中枢神経病原性に関わる遺伝子を特定することはムンプスウイルスの病原性発現機構を解明するためのみならず、おたふくかぜワクチンの品質管理やシードロットシステムの維持管理の上でも重要な意味を持つ。そこで我々は、千葉県血清研究所で野外株 Y7 から分離された中枢神経病原性の異なるウイルス株 Y125 と Y213 のゲノム配列を比較することによって中枢神経病原性遺伝子を同定することを試みた。その結果、NP、V、M、F、L 遺伝子合計 7 カ所にアミノ酸の変異を伴う塩基配列の違いが認められた。一方 SH<sub>1</sub>HN 遺伝子には違いが認められず、中枢神経病原性にこれらの遺伝子が関与しないことが示唆された。

A. 目的

千葉県血清研究所では NK-M46 株という弱毒おたふくかぜワクチン株を開発し製造していたが、他の国産ワクチン同様副反応として無菌性髄膜炎を起こすことが判明し自主的に製造を停止していた。それに併せて、より中枢神経病原性の低いムンプスワクチンの開発を開始し、野外分離株 Y7 株から温度感受性を指標にしてワクチン候補株（Y125、Y213）を分離した。同時に、ムンプスウイルスの神経病原性を評価するための感染動物モデルとして、マーモセットの発症モデル系を確立した。

この系を用いてこれらの候補株を調べたところ Y125 株はマーモセットに全く病原性を示さないのに対し、Y213 株は高い病原性を示すことが判明した。二株の病原性はほ乳ラットの評価系においても同じ傾向を示した。そこで我々はこれらの中枢神経病原性の異なるウイルス株 Y125 株と Y213 株のゲノム配列を比較することによって中枢神経病原性遺伝子を同定することを試みた。ムンプスウイルスの中枢神経病原性に関わる遺伝子を特定することはムンプスウイルスの病原性発現機構を解明する上で重要な情報となりうるのみならず、



おたふくかぜワクチンの品質管理やシードロットシステムの維持管理の上でも重要な意味を持つ。

## B. 材料と方法

### (1) 温度感受性試験

ワクチン候補株 Y125 株、Y213 株の温度感受性を再確認するため、この二株とその親株 Y7 株を Vero 細胞に  $\text{moi}=0.1$  で接種し、 $35^{\circ}\text{C}$  または  $40.8^{\circ}\text{C}$  でそれぞれ 7 日間培養した。接種後それぞれの温度で、3 日、5 日、7 日目に培養上清をサンプリングしてそのウイルス力価を測定した。

### (2) Y125 株と Y213 株のゲノム配列解析

Y125 株と Y213 株のウイルス浮遊液より QIAamp Viral RNA Kit(QIAGEN)を用いてゲノム RNA を抽出精製し、First-Strand cDNA Synthesis Kit (GE Healthcare Bioscience) と pd(N)6 Random Hexamer を用いて cDNA を合成した。この cDNA を鋳型にムンプスウイルスゲノム全領域をカバーするように 1.5Kb から 2.0Kb の長さで 11 の領域に分けて PCR で増幅し (図 1)、ダイレクトシーケンスを行った。シーケンスはジェネティックアナライザー 3130xl(ABI)を用いた。塩基配列の解析には GENETYX-MAC/ATSQ および GENETYX-MAC を用いた。

## C. 結果

Y125 株と Y213 株はいずれも温度感受性クローンとして分離されたが、Vero 細胞における高温増殖性に違いが認められた (図 2)。Y125 株は  $40.8^{\circ}\text{C}$  で全く増殖しないのに対し、Y 213

株では  $35^{\circ}\text{C}$  より 2log ほどウイルス力価が低下するものの、増殖が認められた。Y7 株では  $40.8^{\circ}\text{C}$  においても  $35^{\circ}\text{C}$  と同程度に増殖し、全く温度感受性を示さなかった。

Y125 株と Y213 株の両端 20 塩基を除くほぼ全領域の塩基配列を決定した (図 3, 4)。これら二株のゲノム配列には塩基レベルで、NP 遺伝子内に 2 カ所、P/V 遺伝子内に 1 カ所、M 遺伝子内に 1 カ所、F 遺伝子内に 2 カ所、L 遺伝子内に 2 カ所の合計 8 カ所に違いが見いだされた。これらの変異部位の内、F 遺伝子内の 1 カ所を除く 7 カ所はアミノ酸置換を伴う変異であった (図 3)。特に Y125 株の L 遺伝子後半部位には 1 塩基の挿入による frameshift mutation によって Y125 株の L 遺伝子のアミノ酸配列が挿入部位以降大きく変化しており、加えて L 遺伝子の ORF が 274 アミノ酸だけ短くなっていることが判明した (図 5, 6)。また、シーケンスの波形を詳細に解析した結果、この部位に挿入のないポピュレーションがわずかながら Y125 株に混入していることが示唆された。

## D. 考察

千葉県血清研究所で野外分離株 Y7 株から温度感受性を指標に分離された Y125 株と Y213 株の中枢神経病原性を千葉県血清研究所当時、我々 (木所、齋加他) がマーモセットを用いて評価したところ Y125 株ではほとんど病変を認めないのに対し、Y213 株では強い病原性を示す結果を得た。Y7 株を含めたこれらの株を齋加ら (千葉県衛生研究所) が哺乳ラットの感染モデル系で再評価したところ、Y213 株の病変が最も強く、マーモセットと同様の傾

向を示す結果を得た（本研究班報告書）。そこでこれらの株のゲノム解析をすることでムプスウイルスの中枢神経病原性に関わる遺伝子を同定し、発症の機構を解明することが可能になると考えた。ただし、Y7 株は様々な形状のプラークが混在することからミックスポピュレーションであることが予想されたため解析にはクローン純化された Y125 株と Y213 株を用いる方が解析が容易であると判断した。

そこで Y125 株 と Y213 株のゲノムのほぼ全領域をシーケンスしたところ（図 1）、塩基レベルではわずかに NP、P/V、M、F、L 遺伝子内の 8 カ所の違いしかないことが判明した（図 3, 4）。この内アミノ酸の変異を伴うのは 7 カ所であった（図 3, 4）。特に Y125 株の L 遺伝子後半部位には 1 塩基の挿入による frameshift mutation によって Y125 株の L 遺伝子のアミノ酸配列が挿入部位以降大きく変化しており、加えて L 遺伝子の ORF が 274 アミノ酸だけ短くなっていることが判明した（図 5, 6）。これらの変異の内どれが病原性に関与するかについては温度感受性を失ったリバタントを選択してその変異部位を解析するか、あるいはリバースジェネティクスによってこれら二株のキメラウイルスを作製するなどして解析を進めたいと考えている。

Amexis らは占部株での解析結果から HN 遺伝子が病原性に関与することを示唆しているが（Amexis G., et al, *Virology* 287:234-241, 2001）、我々の結果では HN と SH には変異が認められていない。麻疹ワクチン株の AIK-C 株においてもウイルスの温度感受性や巨細胞形成能に麻疹ウイルスのレセプター結合蛋白質である H 遺伝子は関与していないことが報

告されており（Nakayama T., et al, *J Gen Virol.* 82(Pt9):2143-2150, 2001, Komase K., *Vaccine.* 24(6):826-834, 2006）、病原性の発現にレセプター結合蛋白質が必須ではないこと示唆している。言い換えれば弱毒化の機構は一通りではなく、複数の遺伝子が関連した様々なパターンがあり得ると考えられる。例えば、L 遺伝子内の挿入変異は、その部位がパラミクソウイルスの L 蛋白質において予想されている共通の機能ドメインからは外れているため L 蛋白質の機能そのものは失わないまでも、L 蛋白質の構造や機能に大きな影響をもたらすことが想像される。従って、この変異がウイルスの弱毒化に大きく貢献している可能性は十分に考えられる。一方で、Y125 株にはわずかながらこの部位に挿入のないポピュレーションが混じっていることがシーケンスの波形情報から示唆される。今後は Y125 株を再度プラーク純化して、挿入のないポピュレーションと有るものとに分けて解析を進める必要がある。

今回の解析結果では 2 株の塩基配列の違いが通常のワクチンウイルスの場合に比べて各段に少ないことが 1 つの特徴であった。これはこれらのクローンを選択する際、UV とニトロソグアニジンによる変異原処理によって人為的な mutation を誘発することで弱毒化までの継代歴を大幅に短縮していることによるのかも知れない。同様の方法で作出された弱毒麻疹しんワクチン株 TD97 株においても親株との違いはアミノ酸レベルで 7 カ所と少なかった（未発表データ）。いずれにしても変異箇所が少ない一方で病原性に大きな違いがあることは、病原性の解析にはメリットがある。

今回、確認のため本来温度感受性株として分離された Y125 株と Y213 株の Vero 細胞における温度感受性を調べたところ、両株の高温増殖性 (40.8°C) に違いが認められ、Y125 株は全く増殖しないのに対し、Y213 株では 35°C に比べ 2log ほど低いながらも増殖することが分かった。動物実験の結果と考え合わせると、麻しんワクチンやポリオワクチン、痘瘡ワクチンの場合と同様にこれらのムンプスウイルスにおいても温度感受性と中枢神経病原性との間にはある程度の相関が有る可能性が考えられる。そこで、温度感受性を弱毒化の 1 つの指標にすることで病原遺伝子の絞り込みと分子レベルの機構解析を容易にすることもできるかも知れない。

#### E. 結論

1. Y125 株と Y213 株の Vero 細胞における温度感受性を調べたところ、両株の高温増殖性 (40.8°C) に違いが認められた。
2. Y125 株と Y213 株のゲノムのほぼ全領域をシーケンスしたところ、塩基レベルでは NP、P/V、M、F、L 遺伝子内の 8 カ所に塩基の違いが認められ、その内アミノ酸レベルの変異を伴うのは 7 カ所であった。

#### F. 健康危害情報

無し

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kato, A., K. Kiyotani, M. Tashiro and Y. Nagai Sendai virus strategy to circumvent the self-limiting growth

due to autocrine and paracrine interferons. IUMS, ICV, San Francisco, July 23-28, 2005

2. Kidokoro, M., M. Tashiro, and H. Shida: Novel genetically stable vaccine strain constructed from highly attenuated vaccinia LC16m8. IUMS, ICV, San Francisco, July 23-28, 2005

#### (国内学会)

1. 加藤 篤、清谷克寛、久保田 耐、田代真人、永井美之 センダイウイルス抗インターフェロン能力の感染に及ぼす意味、第 16 回日本生体防御学会学術総会、東京、2005 年 8 月
2. 加藤 篤、清谷克寛、久保田 耐、田代真人、永井美之 センダイウイルス抗インターフェロン能力の感染に及ぼす意味、第 53 回日本ウイルス学会総会、横浜、2005 年 11 月
3. 安井文彦、北畠正大、井上真吾、新井正明、森田公一、村井深、水野喬介、木所稔、志田壽利、松島綱治、小原道法：ワクシニアウイルスを母体とした SARS ワクチンの開発、日本予防医学リスクマネージメント学会第 3 回総会、東京、2005 年 9 月
4. 木所稔、田代真人：遺伝的安定性と免疫原性に優れた弱毒痘瘡ワクチン株の開発と B5R 遺伝子の機能、第 9 回日本ワクチン学会、大阪、2005 年 10 月
5. 木所 稔、齋加志津子、窪谷弘子、加藤 篤、田代真人：ムンプスウイルスの中枢神経病原性に関わる遺伝子の同定と解析、

第53回日本ウイルス学会総会、横浜、2005年11月

6. 安井 文彦、北島 正大、横地祥司、井上 真吾、森田 公一、志田 壽利、木所 稔、村井 深、松島 綱治、小原 道法：SARSコロナウイルスの全構造蛋白質発現型組換えワクシニアウイルスによるワクチン効果の検討、第53回日本ウイルス学会総会、横浜、2005年11月
7. 安井文彦、北島正大、横地祥司、井上真吾、森田公一、志田壽利、木所稔、村井深、松島綱治、小原道法：SARSコロナウイルスの全構造蛋白質発現型組換えワクシニアウイルスによるワクチン効果の検討、日本分子生物学会・第28回年会、福岡、2005年12月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

無し

##### 2. 実用新案登録

無し

##### 3. その他

無し

図1 PCRによる増幅領域

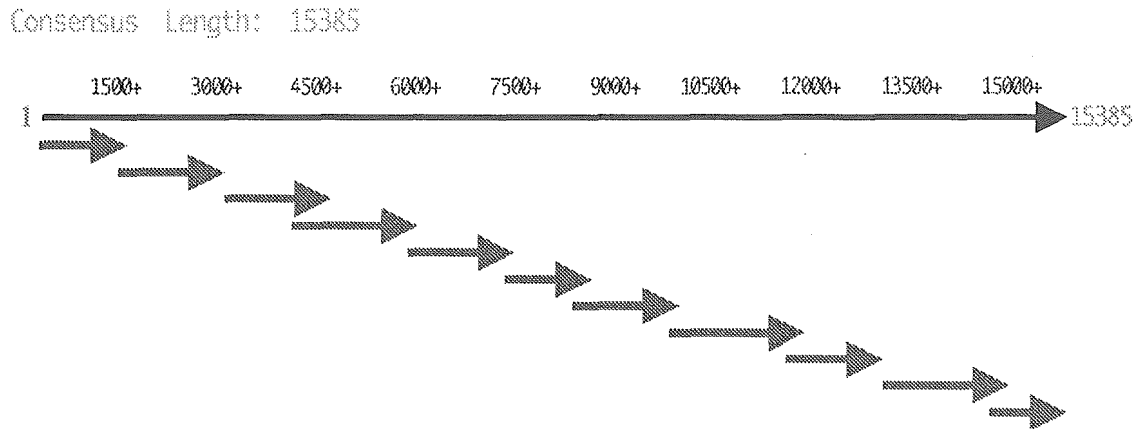


図2 Y125, Y213 株の温度感受性

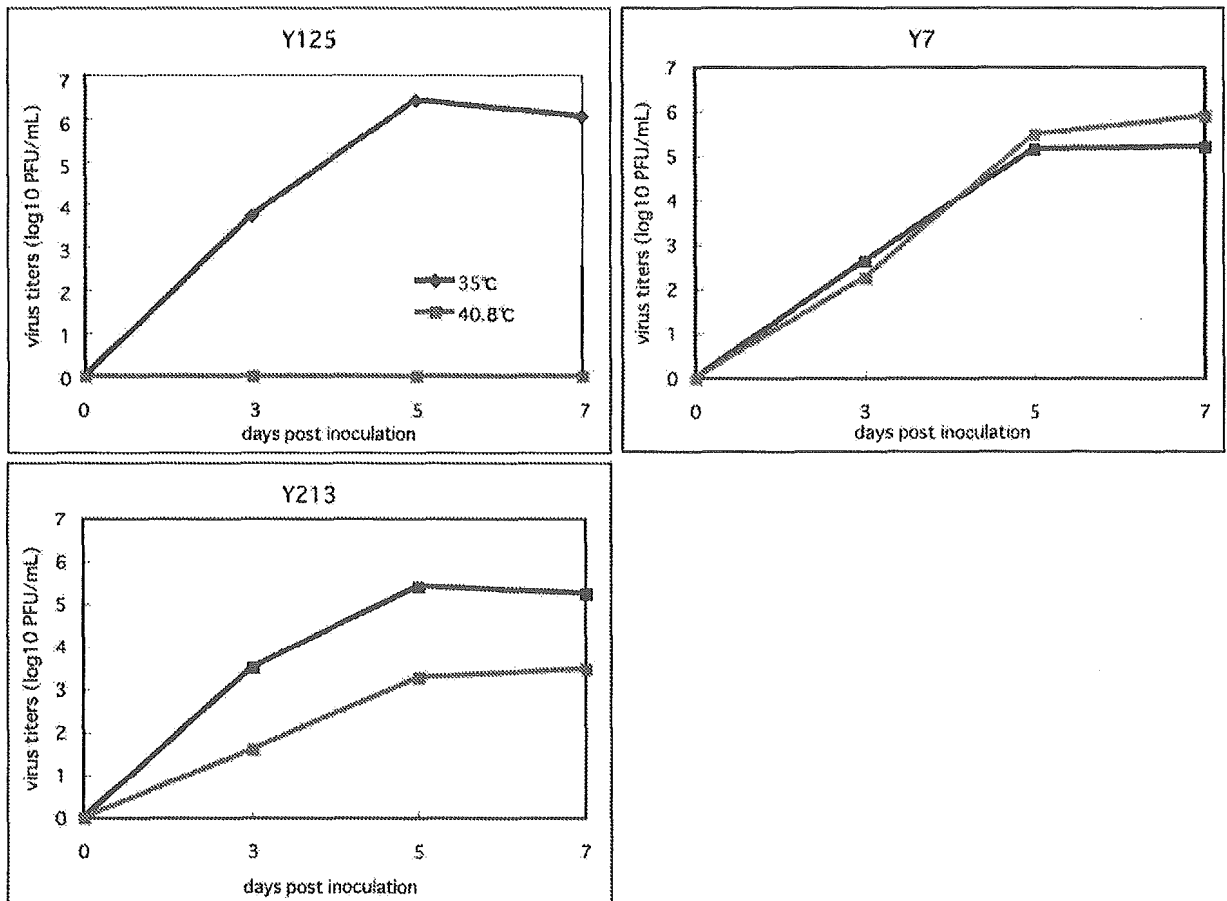


図3 Y125 と Y213 の塩基配列の比較

Position	Gene	Y213	Y125	aa substitution
232	NP	G	T	E → D
830	NP	G	A	V → I
2,032	P/V	A	G	I → M
4,060	M	C	A	T → N
4,573	F	G	A	G → S
5,997	F	A	G	silent
13,482	L	T	C	L → P
14,320	L	-	T	frameshift

図4 変異部位のゲノム上の分布

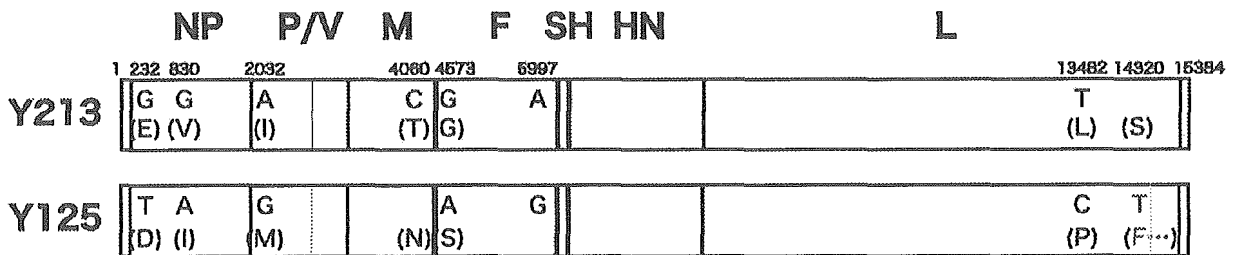


図5 Y123 株の L gene 内 1 塩基挿入による frameshift mutation (塩基レベル)

Y125 株と Y213 株の L 遺伝子内の一部の塩基配列を示す。矢印が挿入部位を示す。・は塩基配列が上の配列と同一であることを示す。両端の数字はゲノム上の塩基の番号を示す。

[Multiple Alignment]

```

Y213.nuc 14281 CTTACTAATCTTGAAAGCTTCATGGGAACCTTTTAATCGATTTT-CCTTTTTACTCACAA 14339
Y125.nuc 14281 .....T..... 14340
*****

Y213.nuc 14340 TACTCTGGCAATTCTTTTCAACAATAAGGATCCTTCGATCTTCATACTCCGACCCGAATA 14399
Y125.nuc 14341 ..... 14400
*****

```

図 6 Y123 株の L gene 内 1 塩基挿入による frameshift mutation (アミノ酸レベル)

両端の数字はアミノ酸残基の番号を示す。矢印は塩基の挿入部位を示す。

↓

Y213 1921  
 KVGADTCALVHVDLEGVPGSMNSMLERAQVHALLITVTVLKPGLLILKASWEPFNRFSS 1980  
 Y125 1921 .....FL 1980

Y213 1981 LLTILWQFFSTIRILRSSYSDPNNHEVYIATLAVDPTTSSFTALNRARTLNEQGFSLI  
 2040  
 Y125 1981 FTIHTLAILFNNKDPSIFILR.E\* 2003

Y213 2041  
 PPELVSEYWRRRVEQGQIIQDCIDKWISECVRDQYLADNNILQAGGTPSTRKWLDLPDY 2100  
 Y125 2003

Y213 2101 PSFNELQSEMARLITIHLEKEVIEILKGQSSDHD TLLFTSYNVGPLGKINTILRLIVERIL  
 2160  
 Y125 2003

Y213 2161  
 MYTVRNWCILPTQTRLTLRQSIELGEFRLRDVITPMEILKLSPNRKYLKSALNQSTFNHL 2220  
 Y125 2003

Y213 2221 MGETSDILLNRSYQKRIWKAIGCVIYCFGLLTPDVEDSERIDIDNDIPDYDIHGDII  
 2277  
 Y125 2003

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

2005年の北海道内24施設における水痘、帯状疱疹、ムンプス、肺炎球菌感染症などによる入院例の検討

分担研究者 堤 裕幸（札幌医科大学医学部小児科教授）

研究要旨 道北地区を除く、ほぼ全道にまたがる小児の入院施設を有する24医療機関における水痘、帯状疱疹、ムンプス、肺炎球菌感染症などによる入院症例数について調査した。今回は、平成16年度に引き続いた調査であるが、帯状疱疹による入院の調査を加えた。水痘による入院は16機関から報告され全27症例、帯状疱疹による入院は4機関から報告され合計8症例、ムンプスによる入院は14機関から報告され合計38症例であった。肺炎球菌感染症については10施設から140例の報告があったが、化膿性髄膜炎は3例、敗血症2例、急性中耳炎が16例などが含まれた。以上より、vaccine-preventable diseaseである水痘、ムンプス、肺炎球菌感染症の一般小児における重要性が明らかとなった。

A. 研究目的

一昨年度は札幌市内の複数の総合病院小児科、昨年は、道北地区を除く、ほぼ全道にまたがる24医療機関の病院小児科における、水痘、ムンプス、肺炎球菌感染症など、vaccine-preventable diseaseによる、入院症例の実数に付いて調査した。その結果、都市部、地方の両方において、これらの疾患が重症化し、少ないながらも入院する症例のあることを確認できた。しかし、単年度の調査で、全道の状況を把握するのは難しいので、昨年度に引き続き平成17年度も全道におけるアンケート調査を実施した。今回は、小児科病棟における入院に限って調査したが、上記3疾患に帯状疱疹による入院も加えた。

B. 研究方法

表1に示す札幌医科大学付属病院小児科と、その関連病院である小児の入院設備を有する道

内23医療機関に、アンケート調査を依頼した。

内容は2005年1年間の水痘、帯状疱疹、ムンプス、肺炎球菌感染症による入院とその内容である。各施設小児病棟における1年間の総入院数についても答えていただいた。検索は入院台帳、あるいは退院台帳を用い、個々の例については、必要であれば入院カルテの検索を依頼した。

C. 研究結果

依頼した全医療機関から回答が寄せられた（回答率100%）。各医療機関の上記疾患による入院数、および総入院数について表1にまとめて示す。小児科の総入院数に付いては、病院の規模、その性格によりかなりの開きがあり、1年間の入院数が31名から1,355名に及んだが、合計では16,953名であった。小児科入院については21機関から上記の疾患のうち何らかによる入院例有りとの回答があったが、水痘、帯状疱疹、ムンプスについては、1～13名までの少ない入院数で



あった。水痘の入院数の合計は 27 名で、総入院数の 0.16%、帯状疱疹の入院数は合計で 8 名で、総入院数の 0.05%、ムンプスの入院は合計 38 名で総入院数の 0.22%であった。

肺炎球菌感染症による入院は 9 機関より合計 140 名が報告されたが、施設ごとの報告数は 1～39 名と幅が大きかった。化膿性髄膜炎の起因菌として同定されたのは 3 例、敗血症が 2 例あり、他に、急性中耳炎 16 例、肺炎 68 例などが含まれた。常在菌と判定されたのが 20 例あった（表 2）。

次に、水痘、帯状疱疹による入院の直接の入院理由に付いて検討した（表 3）。小児科における水痘入院患児 27 名のうち重症のためが 6 名と最多であり、続いて肺炎や急性胃腸炎の合併のためが続いた。他疾患にて入院中の発症が 5 例みられた。帯状疱疹による入院の 8 名中 6 例が重症化のためであるが、札幌医大病院における 4 名の入院は、血液腫瘍疾患や血液幹細胞移植後などの基礎疾患を有する児に発生したものであった。Ramsay Hunt 症候群の合併による入院が 2 例確認された。

ムンプスによる小児科入院 38 名の入院理由を表 4 に示す。やはり無菌性髄膜炎が 19 名と最も多く半数を占めた。次に重症化のためが 7 名であった。睾丸炎の併発が 1 名にみられた。

#### D. 考察

今回は昨年度（平成 16 年度）に引き続き、道北地区を除く、北海道のほぼ全域に存在する札幌医科大学小児科の関連病院にアンケート用紙を配布した。回答率 100%で、総入院数は 16,953 名と、昨年の 16,698 名と同様であり、昨年とほぼ同規模の調査となった。

水痘による入院は 27 症例と昨年の 32 症例とほぼ同等であった。今回新たに調査に加えた帯状疱疹による入院は 8 名と少なく、更にその過半数の 4 名は大学病院における悪性の基礎疾患を有した児におけるものであり、一般小児科に

おける重要度はそれ程高くなかった。ムンプスによる入院は 38 症例と昨年の 24 症例を大きく上回ったが、その内容は無菌性髄膜炎が半数と同様であった。睾丸炎の合併は 1 例のみであったが、難聴の合併もみられず、これらの症例は泌尿器科や耳鼻科にて加療されている可能性がある。

肺炎球菌感染症については 140 例の報告があり、化膿性髄膜炎 3 例、敗血症 2 例を確認できた。報告数に付いては 14 施設からは入院無しとのことであり、10 施設からの報告も 1 例から 39 症例と幅があり、5 施設が二桁以上の入院数であった。この入院数の多寡は総入院数とは相関しておらず、呼吸器感染症に対して気道材料からの細菌培養がほぼルーチンに行われている施設から多くの入院例が報告された可能性がある。よって肺炎 68 例、咽頭扁桃炎 17 例、気管支炎 11 例の報告があるものの、その起因菌としての評価には十分に注意を要すると考えられた。

今回の調査の入院施設は道内の小児の全入院施設のほぼ 3 分の 1 に相当すると考えられ、小児科以外の入院も考慮すると、北海道全体におけるこれら疾患の入院数はこの数倍と概算できる。つまり、水痘による入院は年間 140 名前後、ムンプスによるものは 200 名前後、肺炎球菌による髄膜炎、敗血症は 20 名前後と予測される。これらに、成人の重症水痘や、年長児や成人男性におけるムンプス睾丸炎の併発も考慮すると、定期ワクチンによりこれら疾患の集団防衛を図ることは重要と考えられる。

#### E. 結論

平成 16 年に続き、北海道内における平成 17 年の小児における水痘、帯状疱疹、ムンプス、肺炎球菌による感染症による入院数をアンケート調査により調べた。ほぼ平成 16 年と同様な結果であり、これら疾患の重要性について再確認することができた。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

第9回日本ワクチン学会（2005.10.15-16）

田中香織、堤 裕幸。2004年北海道内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

G. 知的財産権の出願・登録状況

特に無し。

---

表1 北海道内24施設における水痘、带状疱疹、ムンプス、肺炎球菌感染症による入院（2005年）

病院名	水痘	带状疱疹	ムンプス	肺炎球菌感染症	総入院数
札幌医大病院	1	5			576
NTT 東日本札幌	4		1	28	1,091
国立西札幌病院			1	1	705
札幌社会保険総合	4		5		1,077
斗南病院	2		1	39	537
道立小児センター				3	447
小樽協会病院	1	1	1		825
余市協会病院	1				160
市立函館病院	3	1		30	912
町立松前病院	1				77
道立江差病院					393
八雲総合病院	1		2	11	407
市立室蘭総合病院				5	1,073
苫小牧市立病院	2		13		1,355
浦河赤十字病院	1		2		661
岩見沢市立病院			4	1	957
町立南幌病院	1				31
砂川市立病院					959
滝川市立病院	2	1	1		884
旭川赤十字病院	1		2		947
留萌市立病院			3		934
公立芽室病院	1		1	21	294
市立釧路病院	1		1	1	1,250
町立別海病院					401
合計	27 (0.16%)	8 (0.05%)	38 (0.22%)	140 (0.53%)	16,953

表2 肺炎球菌感染症の疾患名

肺炎球菌感染症：140名	
化膿性髄膜炎：	3
敗血症：	2
肺炎：	68
咽頭扁桃炎：	17
急性中耳炎：	16
気管支炎：	11
心外膜炎：	1
副鼻腔炎：	1
外耳道炎：	1
常在菌：	20

表3 水痘、帯状疱疹による小児科入院の直接の理由

水痘：27名		帯状疱疹：8名	
重症：	6	重症化：	6
合併症：肺炎	3	合併症：	
急性胃腸炎	2	Ramsay Hunt 症候群	2
乳児肝炎	1		
アセトン血性嘔吐症	1		
髄膜炎	1		
蜂窩織炎	1		
水痘による基礎疾患の増悪：	3		
他疾患にて入院中に発症：	5		
その他：	4		

表4 ムンプスによる小児科入院の直接の理由

ムンプス：38名	
重症：	7
合併症：無菌性髄膜炎	19
睾丸炎	1
脱水症	5
その他	5
ムンプスによる基礎疾患の増悪	1