

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神経病原性試験

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 斎加志津子¹⁾、木所稔²⁾ 永田典代³⁾、一戸貞人¹⁾

(¹⁾ 千葉県衛生研究所感染症学研究室、²⁾ 国立感染症研究所ウイルス
3部、³⁾ 国立感染症研究所感染病理部)

研究要旨

ムンプスウイルス株の神経病原性をラットおよびマーモセットを用いて試験した。その結果、マーモセット脊髄内接種試験及びラット脳内接種試験において、JL株と他の2つのワクチン株(NK-M46株、占部株)の神経病原性を区別することができた。また、ラット脳内のウイルスの増殖経過及びサイトカインの発現経過は、ウイルス株によって異なっており、ウイルス株の神経病原性の違いを反映している可能性が考えられた。

A. 研究目的

ムンプスウイルス株の神経病原性をラットおよびマーモセットを用いて評価する。

B. 研究方法

1) 哺乳ラット接種試験

生後24時間以内のラット(LEW/seaとLEW/Ssn Slc)に $10^{4.0}$ PFU/mlのウイルス液または対照としてイーグルMEM(E-MEM)を0.01ml脳内に接種した。接種25日後に解剖し、頭部を10%ホルマリン緩衝液で固定後正中から2分割した頭部標本をスキャナーでパソコンに取り込み、画像解析ソフトWin Roof(Mitani corporation)で解析し脳の総面積(小脳を除く)に対する脳室面積の割合を求めラットNVTスコアとした。

また、脳中のウイルス量とサイトカインmRNAを経時的に測定した。脳を採取し、E-MEM培地に2%牛胎児血清を加えたもので10%乳剤にし、その遠心上清(2000rpm10分)を

ウイルス測定に用いた。また、細胞溶解液RLT(Qiagen, Germany)で20%乳剤としたものをサイトカインmRNA測定に用いた。

2) マーモセット接種試験

1歳前後のマーモセットを用いた。 $10^{3.0}$ PFU/mlのウイルス液を脊髄内に0.1ml接種した。対照としてE-MEMを同様に接種した。2週後に深麻酔下で解剖し、定法に従いHE病理標本を作成し、中枢神経系の病理組織学的変化を、4段階で数値化し(なし; 0、軽度; 1、中程度; 2、重度; 3)、これらの平均値をマーモセットNVTスコアとした。

3) 統計解析

マーモセットおよびラットNVTスコアはDunnettの方法を用いてJL株との多重比較を行った。有意水準は5%とした。

4) サイトカイン測定

RNeasy Mini kit(Qiagen, Germany)で総RNAを抽出した。IFN γ 、IL-6、IL-10のプ

ライマーペアー (BioSource International, Inc., USA) と TAKARA RNA PCR Kit (タカラバイオ株式会社) を用いて、得られた RNA から IFN γ 、IL-6、IL-10 それぞれの mRNA の検出を行った。

5) ウイルス量の測定

Vero細胞を用いて、ブラック法でウイルス感染価を求めた。

(倫理面への配慮)

動物実験を行うに当たっては、動物委員会の承認を得た上で、できるかぎり動物に苦痛を与えないように配慮した。

C. 研究結果

2箇所のファームから入手したルイスラット (LEW/sea と LEW/Ssn S1c) で脳内接種試験を行ったところ、LEW/Ssn S1c ラットよりも LEW/sea ラットを用いた方が高い NVT スコアが得られた。以降の試験では LEW/sea を用いた。

ラット脳内接種試験において JL 株では脳室拡張は認められなかった。一方、NK-M46 株と占部株ではともに脳室拡張を認め、それぞれの NTV スコアは 6.1、0.8 で、JL 株と有意差が認められた。

マーモセット脊髄内接種試験における NVT スコアは、JL 株は 0.04、NK-M46 株は 1.63、占部株は 1.11 であった。

ラット脳内ウイルス量は、大館株、占部株を接種されたラットでは、ともに接種 3 日後にピークを示した。一方、JL 株接種ラットではウイルスは検出されなかった。

ラット脳中の IFN γ 、IL-6、IL-10 の mRNA の発現は、大館株、占部株を接種されたラットでは IFN γ 、IL-6、IL-10 の 3 種類のサイトカインが接種後 3~5 日に発現され 7 日以降減少する傾向がみられた。一方、JL 株を接種されたラットでは、IFN γ は大館株、占部株接種ラットと同様の発現経過を示したが、IL-6、IL-10 は 5~7 日後以降に発現が認められた。なお、培

養液を接種されたラットでは IFN γ の発現は認められなかったが、IL-6、IL-10 は JL 株接種ラットと同様に 5~7 日後から発現を認めた。

D. 考察

JL 株、NK-M46 株、占部株についてラット脳内接種試験及びマーモセット脊髄内接種試験で神経病原性を比較したところ、どちらの動物モデル系においても、JL 株の NVT スコアは NK-M46 株、占部株よりも低い値であり、ヒトにおける無菌性髄膜炎発生頻度を反映していた。

大館株、占部株、JL 株それぞれをラット脳内に接種後の脳中のウイルス量の推移及び IFN γ 、IL-6、IL-10 の発現経過はウイルス株によって異なっており、ウイルス株の神経病原性の違いを反映している可能性が考えられた。

E. 結論

マーモセット脊髄内接種試験及びラット脳内接種試験において、JL 株と他の 2 つのワクチン株 (NK-M46 株、占部株) の神経病原性を区別することができた。また、ラット試験において、脳内のウイルスの増殖経過及びサイトカインの発現経過は、ウイルス株によって異なっており、ウイルス株の神経病原性の違いを反映している可能性が考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
投稿中

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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、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

研究要旨

我々は水痘、ムンプス、肺炎球菌によるワクチンによる感染症対策を担当し 3 年間にわたり、共同研究者と分担して 3 つの疾患について感染症対策を検討した。水痘ワクチンは我が国で開発されて以来 30 年、日本で 1987 年に発売されて以来 19 年を超えているが全国平均の接種率は約 30% である。そのため我が国の水痘疫学には全くワクチンの影響が現れていない。必要性、その理由等について調査研究をした。ムンプスワクチンも 1981 年に発売後 25 年になるがいまだに流行がある。我々はその後の成績等に付き多角的に調査し必要性、有効性、安全性等について検討した。小学校における流行時の調査では、発症予防にはこのワクチンは有効で、しかも発症したとしても水痘同様軽症化することが判明した。共に定期接種でないことが低接種率に関係している可能性がある。その結果生じている問題を検討するため、2005 年度に某大学医学部 5 年生の抗体保有状況を調査し抗体陰性者が存在することを示した。将来患者さんに感染させるかもしれない立場にある人達への追加接種とその有効性についても示した。肺炎球菌ワクチンは成人中心のワクチンであるが、2 歳以上から成人までの方が接種できる。乳幼児に有効なワクチンは現在我が国でも治験中である。現状での肺炎球菌感染症の小児における疾病負担を検討しワクチンを含めた今後の対応策を検討した。

研究協力者：

国立病院機構三重病院長 庵原俊昭
同臨床研究部国際保健医療研究室長 中野貴司、
同臨床研究部研究員 木下麻衣子
三重県科学技術振興センター保健環境研究部
大熊和行、松村義晴、中山 治

治験レベルで臨床使用が出来ない小児用肺炎球菌については、小児の疾病負担状況を調査し、必要性について検討することを目的とした。これらワクチンの導入が医療の経済効果に与える影響についても、積極的に検討される必要がある。

A. 研究目的

これらの 3 疾患はまだ我が国でも積極的なワクチンによる感染管理は十分にはされていない。そこでワクチンによる感染予防対策の効果を検討するため、ワクチンの使用状況、有効性安全性について臨床現場から検討を加える事を目的とした。また、まだワクチンが

B. 研究方法

1. 水痘について

往復葉書によるアンケート調査で、平成 7 年に作成した接種者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も

行った。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、1,077名(45.7%)あり、送付した1,279名(54.3%)のうち回収出来た数は704名(55.0%)未回収は575名(45.0%)であった。この調査は平成16年度で終了とし平成17年度は別の観点から調査を行った。

国の実施要綱および三重県感染症発生動向調査事業実施要綱に基づき、三重県下の指定定点から毎週又は月ごとに保健所宛にFAXで届けられた法定届出事項に加えて、自由記載の医療情報項目を届け個々に記載を御願いし、集計に際し取り出して別途集計した。またそのうち定点によってはその月の全水痘患数が集計できたので、来院水痘患者数に対するワクチン接種例の占める割合についても検討した。

2.ムンプスについて

ムンプスワクチンとして、本邦では星野株、鳥居株、宮原株の三株が市販されている。欧米では広くJeryl-Lynn (JL)株が使用されており、JL株の有効率は70~90%である。今回、本邦ムンプスワクチンの有効性を文献的に考察するとともに、株ごとの有効性を明らかにした。また、本邦で使用されているムンプスワクチンは、三株とも遺伝子型Bであり、一方、現在本邦で流行している遺伝子型はGとKである。現行ムンプスワクチンの有効性を明らかにするために、遺伝子型の違いによる抗原性の変異についても検討を行なった。

株ごとの有効率の検討は某小学校でムンプス流行後に、児童380人の家族にアンケートを配布し、流行前の既往歴、ワクチン歴および流行期間中のムンプス発症について調査を行った。また、発症者については学校を休んだ期間についても調査を行った。

遺伝子型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は12人の成人から採取した血清を用いて、星野ワクチン株、遺伝子型B野生株(金津株)、遺伝子

型K野生株(白井株)、遺伝子型G野生株(相馬株)に対する中和抗体価を測定し、平均抗体価、抗体価の相関についてまた、星野株を基準に中和抗体価の相関をみると、金津株、白井株、相馬株に対するそれぞれの相関関数は、0.939、0.881、0.949であり、有意の相関を認めた($P<0.001$)。

追加研究として将来医療従事者になる某大学医学部学生(5年生)について、血清抗体検査に同意した112名から採血しSRLに依頼してムンプス(EIA法)、水痘(IAHA法)、風疹(HI法)を用いて血清抗体価を測定した。

3.肺炎球菌について

初年度は国立療養所三重病院臨床検査科において2003年1-12月に分離された菌について解析し、肺炎球菌の分離頻度、陽性検体・受診科、分離菌の耐性度について検討した。菌の同定と感受性検査には、VITEK Two(日本ビオメリュー社)を用いた。また肺炎球菌の耐性化に伴い難治例が増加しているといわれる中耳炎については、2001年2月-2003年1月に三重病院で診療した5歳未満の急性化膿性中耳炎患児のうち、中耳貯留液または耳漏、あるいは鼻咽頭から肺炎球菌が分離された56例を対象に臨床細菌学的検討を行った。これらの患者から分離された肺炎球菌については、βラクタム系薬剤およびマクロライド系薬剤に対する耐性遺伝子の有無をPCR法(生方らによる)で検討した。そのほか三重病院でこれまでに診療した肺炎球菌感染症患児の中で、特に重症であった児の病像についてもまとめた。

平成17年度は三重病院の小児入院患者における肺炎球菌感染症の臨床的、細菌学的事項を解析した。

これらの検討に際して患者の臨床情報については、各個人が特定されないように取り扱いには十分配慮した。また採血等同意が必要な事項に関しては、あらかじめ同意を取って実施した。

C. 研究成果

1.水痘について

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。

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いるので、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と思われる。

17年度の別調査では2000年第1週から2005年第48週の約5年間に報告された医療情報合計は4,926件で、その内ワクチン接種済み者の罹患状況は487件であった。その中で水痘ワクチン接種済み者は256人で、これは水痘患者報告数25,055件の1.02%にあたる。ワクチン接種例の水痘罹患時の症状は極軽症が16例(6.3%)、軽症は114例(44.5%)、普通11例(4.3%)、不明115例(44.9%)でワクチンによって軽症化したと判断された症例は不明例を除いて計算すると92%であった。これらについては不明を除く症例につき属性(性、罹患時年齢、ワクチン接種時年齢)別に見ていずれにおいても有意差

(χ^2 検定)はなかった。ロット別の症例数は全体に分散していた。水痘ワクチン接種から罹患までの期間であるが、6ヶ月未満が24例、6ヶ月以上3年未満は196例、3年以後11年未満は54例で約1/3は3年以内に罹患していた。

水痘ワクチン接種済み256症例のうち156例については、そのクリニックに来院した水痘患者の全数が把握されておりどの程度の率で罹患しているかについて検討できた。来院患者683例中158例(23.1%)がワクチン接種した症例でも何らかの症状が出ることがわかった。先の調査報告と大差はないことが確認できた。報告時に自由記載の医療情報項目を届け個々に記載を御願ひし、集計に際し取り出して別途集計した。またそのうち定点によってはその月の全水痘患者数が集計できたので、来院水痘患者数に対するワクチン接種例の占める割合についても検討した。来院患者683例中158例(23.1%)がワクチン接種した症例でも何らかの症状が出ることがわかった。

2.ムンプスについて

(1)ムンプスワクチンの有効率の検討

保育園流行時のムンプスワクチン有効率は、K保育園90.0%、S保育園79.1%であり、両園を併せると84.3%であった。また、小学校での流行時の調査では、有効率は83.0%であった。家族内接触での有効率に関しては3調査があり、それぞれの有効率は、78.1%、76.3%、92.3%であり、3調査を併せた有効率は81.9%であった。

(2)株ごとの有効率の検討

小学校流行時のムンプスワクチン全体の有効率は83.0%($P<0.001$)であった。接種株が確認できた例を対象に、株ごとに発症率をみると、星野株132人中11人(8.3%)、鳥居株23人中2人(8.7%)、宮原株8人中1人(12.5%)であり、各株の有効率は、星野株82.2%、鳥居株81.4%、宮原株73.3%であり、各株間の有効率には有意な差は認められなかった。休日期間を比べると、ワクチン歴なし群(73人)7.65±2.49日であった

のに対して、ワクチン歴あり群(14人) 5.15 ± 2.64 日と有意に短期間であった ($P=0.003$)。

(3) 遺伝子型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

星野株、金津株、白井株、相馬株に対する平均中和抗体価 (2^n) は、それぞれ 2.67 ± 1.50 、 3.08 ± 1.83 、 2.58 ± 1.68 、 3.17 ± 1.64 と有意な差を認めなかった ($P=0.775$)。また、星野株を基準に中和抗体価の相関をみると、金津株、白井株、相馬株に対するそれぞれの相関関数は、0.939、0.881、0.949 であり、有意の相関を認めた ($P<0.001$)。

某大学医学生者の血清抗体価測定の結果は 112 名中ムンプス抗体価陰性者 5 名、境界領域 11 名をあわせて 16 名 (14.3%) が十分な抗体価がなく、水痘は陰性者 0 名、判定不能者 3 名 (2.6%)、風疹陰性者は 14.3% であった。抗体価陰性者における過去の予防接種歴は全員確認することは出来ず特に母子手帳がなく確認できない人が目立った。

3.肺炎球菌について

①三重病院で 2003 年 1 年間に分離された細菌は 2028 株であり、うち 24 株 (12.0%) が肺炎球菌であった。菌種別では、黄色ブドウ球菌に次いで 2 番目に多かった。本院の特徴としては外来、入院とも小児患者が多いのであるが、中耳炎を含む小児急性呼吸器感染症患者が肺炎球菌分離陽性例総数の 70% 以上を占めた。次いで重症心身障害者 (児) 病棟からの分離が多かった (全体の 18%)。分離部位別では、咽頭 (鼻咽頭を含む)、耳分泌物、鼻腔、気管内挿管チューブ、喀痰など呼吸器系からの検体が 90% 近くを占めた。薬剤感受性試験の結果は、PRSP: 46%、PISP: 35%、PSSP: 19% であった。

②小児急性化膿性中耳炎の患者から分離された肺炎球菌の耐性獲得を PCR 法で検討した結果、 β ラクタム系薬剤に対する耐性株については PRSP: 64.1%、PISP: 32.8%、PSSP: 3.1% であり、95% 以上が耐性株であった。*Pbp2x* の変異を有する株が最も多かった。マクロライド耐性

遺伝子については、*mefE*: 56.3%、*ermAM*: 31.3% であり、90% 近くが耐性株であった。臨床疫学的事項については、およそ 3/4 が 6-23 ヶ月児であり、12-17 ヶ月時が最も多く全体の半数を占めた。中耳炎患児には保育園通園児など集団保育されている児の占める割合が 41 例 (73.2%) と高率であった。当院受診前に抗菌剤による前治療歴を有する者が 41 例 (73.2%) を占めた。我々が経験した肺炎球菌感染症の小児例の中に、特徴的な経過を辿った重症例が存在した。発症後症状が急速に進行し死亡した 10 ヶ月女児は、化膿性髄膜炎劇症型であった。嘔吐で発症し、明らかな発熱に気付かれないまま半日後に痙攣を来し、その後意識障害は持続し、循環不全、ショックへと急激に進行した。このほか胸水を伴う重症肺炎の 3 歳女児が、さらに合併症を併発した例も経験した。血小板減少 ($1,000/\text{mm}^3$)、貧血 (4.9g/dl)、黄疸 (総ビリルビン値 23.9mg/dl)、肝腫大が急速に進行し、トロンボモジュリン、PAI-1 の上昇、ATIII、Protein C 活性の低下を認め、血管内皮細胞障害、肝障害、凝固異常などの関与が示唆された。

1996 年から 2005 年まで 10 年間の小児急性疾患患者の入院理由となった診断病名では、呼吸器感染症 (肺炎、気管支炎、中耳炎、咽喉頭炎など) が全体の 1/4~1/3 を占めた。呼吸器感染症で入院した患者のうち、1/4~1/3 は肺炎であった。呼吸器感染症で入院した患者のうち、中耳炎が主診断名であった児は 10% 程度であったが、肺炎や気管支炎に中耳炎を合併している場合も多く、実際の中耳炎患者はもっと多かった。

2003 年 7 月から 2004 年 6 月までの 1 年間に、中耳炎で入院した患者についてみると、2 歳未満の小児が大多数を占め、平均入院期間は 6-7 日であった。

中耳貯留液の培養では、肺炎球菌が 13% と最も高頻度に分離され、70-80% が PRSP と PISP であった。

1996 年から 2005 年まで 10 年間に入院治療を行った化膿性髄膜炎の児は 25 例であった。起

因菌としては Hib が最も多かった（17 例）が、それに次いで肺炎球菌（3 例）であった。肺炎球菌による化膿性髄膜炎は、Hib よりも年長小児でも認められた。肺炎球菌による化膿性髄膜炎は、他の起因菌に比べて予後が不良な傾向（死亡 2 例）があった。

骨・関節感染症では 2006 年 1 月には、肺炎球菌による左膝関節炎の 1 歳 4 ヶ月女児を経験した。痛みの局在部位は左膝と考えられた。WBC 27,500, CRP 8.7。左膝関節穿刺により淡灰褐色の膿様関節液を採取し、塗沫グラム染色にて双球菌を確認、培養結果は肺炎球菌であった。血液培養でも肺炎球菌が分離された。莢膜血清型は 14 型、PISP (*pbp2x* 遺伝子単独変異株) であった（北里大学、生方公子教授にご検討いただいた）。PAPM で治療を行い、症状軽快し退院した。

D. 考察

水痘ワクチンの効果についてはすでに評価は一定してきており、接種時の抗体価上昇率は 95%以上であるが、その後ブースターがかかると 6~10 年で低下する症例が約 20%に存在する症例があることが、多くの先生方のデータからはほぼ一定した成績が出ている。しかし再罹患しても我々の臨床例での成績からもわかるように非常に軽症で経過する事もほぼ定着した意見となってきた。我々の 10 年間の経過観察はそれを証明する上で貴重な観察となった。米国では 10 年前にこのワクチンを導入し、昨年はその総括検討会がニューヨークで行われたが、水痘の疫学が明らかに変化し、また罹患数の減少と共に重症例、死亡例の減少が明らかになってきている。それに比較して我国の水痘の流行は国立感染症研究所のデータを見ても 30 年間全く変化はない。我国で開発し臨床的評価も十分されたワクチンが外国に先を越されているような状況は文明国として恥ずかしい事態である。関係の方々の熟慮を望むと共に、

1 日も早い定期接種への採用を期待している。

ムンプスウイルスを含むワクチン（mumps virus containing vaccine, MCV）は欧米では広く使用されており、MCV を 1 回定期接種している国では、ムンプスの発症者数が 90%減少し、MCV を 2 回定期接種している国では、発症者数が 99%減少している。ワクチン株は欧米では JL 株が広く使用されており、その他に Urabe 株、Rubini 株、Leningradh III 株、Leningradh-Zagreb が使用されている。一方、本邦では星野株、鳥居株、宮原株の三株が使用されている。JL 株の有効率は Urabe 株よりもおとるものの、70~90%である。一方、本邦のムンプスワクチン全体の有効率は、保育園や小学校などの集団生活の場での有効率は、79.1%~90.0%であり、家族内接触時の有効率は 76.3%~92.3%であった。この結果から、本邦で使用されているムンプスワクチンは、欧米で使用されている JL 株や Urabe 株と同等の効果を示すと推定された。

有効性であるがムンプスワクチンを受けていても、一部の児はムンプスを発症する（ワクチン不全、VF）。以前から VF 児の耳下腺腫脹期間は自然感染児に比べて短期間であると言われている。今回の検討では、急性耳下腺腫脹を認めた児童の欠席日数を比較したが、ムンプスワクチン歴のある児童では、休日日数が有意に短く、1.5 日短縮されていた。この結果は、ムンプスワクチンを受けていると、発症したとしても軽症化することを示しており、以前からの報告と一致する結果であった。

次に小学校でのムンプス流行時に株ごとの有効率を比較した。各株の有効率は、星野株 82.2%、鳥居株 81.4%、宮原株 73.3%であり、三株の間には有意な差を認めなかった。しかし、この調査での星野株接種者は 132 人であったが、鳥居株接種者 23 人、宮原株接種者 8 人と少数であり、鳥居株および宮原株に関しては、今後症例をまして検討する必要があると思われた。

本邦で使用されているムンプスワクチンは三株とも遺伝子型 B であり、JL 株および Rubini

株は遺伝子型 A である。一方本邦で流行している野生株は、遺伝子型 G および K である。成人血清を用いて、星野株および遺伝子型 B、G、K 野生株 3 株に対する中和抗体価を測定したところ、平均中和抗体価には有意な差はなく、また、株間の中和抗体価には高い相関を認めた。この結果から、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遺伝子型の異なる野生株の流行に対して有効に作用すると推測された。

某大学医学生の抗体陰性者 12 例にワクチンを接種したところ 3 例 (25%) が抗体価は陽転せず、9 例中 4 例が低値であった。これら 7 名に再接種を行ったところ全例 16 倍以上に上昇した。ムンプスについては 16 名に接種し全例陽転した。この中でムンプスワクチン既往歴ありが 4 例あったが、再接種前の EIA 価は陰性 3 例、境界領域 1 例であった。水痘は特に追加接種はしなかった。再接種分の接種及び抗体価測定については阪大微生物研究会の協力を得た。成人領域特に医療従事者に追加接種する場合には接種後の抗体価もチェックする必要があることを述べておきたい。

肺炎球菌で日本で許可されているワクチンは 2 歳以上に使用可能な 23 価莢膜ワクチンであるこのワクチンは細胞性免疫の弱い 2 歳以下の人には無効であるため、現在 2 歳以下にも有効は conjugate vaccine の導入に向けて治験が行われている。我々はこのワクチンの導入によってどのような利点があるかを検証するため、経験している症例について検討した。

三重病院は地域における小児二次救急医療を担当する施設であり、前医による抗菌剤前治療歴の頻度が高いことも一因であるかもしれないが、分離された肺炎球菌の中で PRSP/PSSP が占める割合は極めて高かった。VITEK Two により分析した総臨床検体の 8 割以上、中耳炎症例から分離された肺炎球菌の PCR 法による解析結果の 9 割以上が PRSP/PSSP であり、診療現

場における耐性肺炎球菌の増加は由々しき問題であることが再認識された。

母親の就業率増加に伴い、低年齢からの集団保育児は増えている。狭い空間で多くの子どもたちが集団で生活する環境は、菌定着が伝播しやすい。彼らの間で耐性肺炎球菌が伝播し中耳炎が流行すれば、児は通院や入院をしなければならない。一般によく見られる頻度の高い疾患であるがゆえ余計に、母が休業しなければならないなど社会経済的な損失も大きいと考えられた。

摘脾例など免疫不全宿主における肺炎球菌感染症では、すでに多くの例で血小板減少、血管内皮細胞障害、凝固異常などが報告されている。しかし私たちが経験した合併症例は、それまで全く健康であった 3 歳女児であった。健常児においても、重症化や合併症を来す例が存在することを忘れてはならない。急速に進行する劇症型は、成人でも報告がある。

肺炎球菌は肺炎、中耳炎など頻度が高い疾患の起原菌であること、化膿性髄膜炎や骨・関節感染症など予後不良な疾患の起原菌であること、薬剤耐性菌が多く、治療に難渋する場合がある。現在日本で認可されている特異的予防手段は、高齢者や脾機能不全者用の多糖体ワクチンのみであり今後小児において、適切な予防手段が講じられるようワクチン戦略を確立したい。

E. 結論

水痘ワクチンは我国の流行状況から見て、流行阻止に役立つワクチンと思われ、我々の調査においても安全で有効なワクチンと思われた。再罹患例が多いという意見もあるが、諸氏の報告では再罹患率は 20%前後であり、しかもその場合はほとんどの症例が軽症に経過する事から定期接種に組み込んで接種率を 95%以上に持っていけばコントロール可能な疾患と思われた。

流行時の発症予防を指標にしたとき、本邦のムンプスワクチン全体の有効率は、80%~90%であり、欧米で使用されている JL 株や Urabe

株と同等の効果であった。また、株毎に効果を見ると、ムンプスワクチン三株とも同等の効果であった。なお、ムンプスワクチンを受けていると、発症したとしても軽症化することが示された。現在流行しているムンプスウイルス野生株の遺伝子型は、現行ムンプスワクチンの遺伝子型と異なっているが、中和抗原レベルでは大きな変異はなく、ムンプスワクチン接種で誘導された免疫は、野生株の感染防御に有効に働くと推測された。

成人ことに医療従事者等のウイルス感染抗体価陰性者に予防の為ワクチン接種をする場合には、接種後に再度抗体価を測定して必要例には再接種をしておく必要が在りそうである。

肺炎球菌は耐性菌が著増していること、中耳炎など小児にしばしば見られる疾患の起原菌としての頻度が高いこと、重症化例が存在することなどから肺炎球菌感染症は小児においても疾病負担は大きいと考えられた。サーベイランスを充実させ、ワクチンにより予防できる部分を定量化し、ワクチンを導入した場合の社会的利益などについても、今後さらに検討できるよう努めたい小児用肺炎球菌ワクチンはまだ治験中であるが、外国では小児に導入されて耐性菌克服に成果を上げており本ワクチンの必要性は高い。

G.論文発表

I. 書籍

1. 神谷 齊：ヘモフィルスインフルエンザ b 型菌ワクチン。日本ワクチン学会編「ワクチンの辞典」、朝倉書店、212-216,2004
 2. 神谷 齊：インフルエンザ。朝倉書店、259-264,2004
 3. 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
 4. 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
 5. 庵原俊昭：流行性耳下腺炎（おたふくかぜ）山崎修道、他編：感染症予防必携 第2版、(財)日本公衆衛生協会、2005、436-438
 6. 庵原俊昭：ムンプス 寺田喜平編：実践予防接種マニュアル、中外医学社、2005、128-137
- ### II. 雑誌
1. 神谷 齊：ワクチンの開発と今後の方向性。臨床検査、48(4):361-362,2004
 2. Stanley Plotkin、神谷 齊：小児感染症を予防するための混合ワクチン。小児科臨床 67(11)：268-273, 2004
 3. 神谷 齊：我が国の予防接種の現状と問題点。臨床と微生物、32(5):431-435,2005
 4. 神谷 齊：これからの予防接種。小児感染免疫 17(4): 335-340,2005
 5. 神谷 齊：αヘルペスウイルス感染症の治療と予防。日本臨床、64(3):321-325,2006
 6. 庵原俊昭：流行性耳下腺炎。総合臨床 52：890-896, 2003
 7. 落合 仁、庵原俊昭、中野貴司、神谷 齊：ムンプス急性期抗体反応パターンからみたムンプスワクチンフェーラーの検討。小児科臨床 56：839-843, 2003
 8. 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
 9. 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
 10. 庵原俊昭：ムンプスワクチン。小児看護 27：1646-1650, 2004
 11. Okafuji T, Yoshida N, Fujino M, Motegi Y, Ihara

T, Ota Y, Notomi T, Nakayama T: Rapid diagnostic method for detection of mumps virus genome by loop-mediated isothermal amplification. J Clin Microbiol 43: 1625-1631, 2005

12. 庵原俊昭：ワクチンによる免疫療法ーおたふく風邪ワクチン（ムンプスワクチン）。日本臨床 63：s 612- s 616, 2005
13. 庵原俊昭：おたふくかぜワクチン。臨床と微生物 32:481-484,2005
14. 庵原俊昭：ウイルス感染症の診断。小児科診療 68:1992-1999,2005
15. 増田佐和子、中野貴司、神谷 齊、金兼弘和、宮脇利男：ペニシリン耐性肺炎球菌による急性中耳炎で発見された X 連鎖無ガンマグロブリン血症の 1 例。耳鼻咽喉科・頭頸部外科。75(6)365-369,2003
16. 中野貴司：水痘・帯状疱疹ウイルスー母子感染としての水痘・VZV(varicella zoster virus)- (特集：OB/GYN ウイルス感染症-外来診療マニュアル 2003-) 産婦人科の実際。52(7):947-954,2003
17. 増田佐和子、中野貴司、神谷齊：小児急性中耳炎の薬剤耐性肺炎球菌と臨床像。耳鼻臨床、97(1): 15-19,2005
18. 中野貴司：抗菌薬療法の国際標準とわが国の現状。小児内科 37(2):158-163,2005
19. 中野貴司：水痘の母子感染と対策。産婦人科治療。90:600-604,2005
20. 中野貴司：水痘感染における免疫機能低下の評価と対策。小児内科 786-789,2005

H.知的財産権の出願・登録状況

特記することなし

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。初年度はそのための指針作成を目的として、平成 6 年から 10 年にかけて愛知県で実施されたワクチンで予防可能な疾患の入院症例についての調査研究をもとにして、特に水痘による入院症例について再度検討した。それを踏まえ、二年目の研究では最近の水痘入院症例の実態を把握するため、本学付属病院ならびに関連の 2 医療機関における過去 10 年間の水痘入院症例を後方視的に解析、水痘入院症例の数は減少傾向になく、新たに成人例の入院症例が多いことも明らかになった。最終年度は、平成 16 年 1 年間に愛知県下の小児科、内科に入院した水痘、ムンプス症例の調査を行った。

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、ときに致死性的経過をとることが知られている。我々の施設でも最近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。そのために我々は、特に水痘罹患に伴い入院を要したような症例の解析を進め、水痘ワクチン定期接種化の必要性を明らかにすることを目的とした。そのような基本的な戦略に基づき、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な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基礎データを作成。それを踏まえて次年度には、アシクロビルが導入された最近 5～10 年間の動向を明らかにするため、本学付属病院ならびに関連医療機関を対象に調査を行った。最終年度は、平成 16 年一年間の平成 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。また、小児だけでなく成人症例の把握にも努めた。

B. 研究方法

1) 平成6年～10年度の愛知県ウイルス感染対策事業・調査研究の結果解析

愛知県下の医療機関のうち小児科を標榜する病床数100床以上の病院112施設(平成9年度からは111)を対象に、平成6～10年度の5年間、毎年度調査票(表1)を送付し、その年の1月から12月までの間に入院治療を要した15歳までの症例について、その実態を調査した。対象疾患は結核、麻疹(はしか)、風疹、水痘(水ぼうそう)、ムンプス(おたふくかぜ)、百日咳、ジフテリア、日本脳炎、ポリオ(急性灰白髄炎・小児マヒ)、破傷風の10疾患。調査内容は、患者背景、疾患内容、ワクチン接種歴等とし、協議会委員の所属する施設では、入院治療に要した医療点数も調査した。

2) 本学ならびに関連病院における水痘入院症例の解析

対象は藤田保健衛生大学病院(平成6年1月から平成15年12月まで10年間)、昭和病院(平成12年1月から平成15年12月まで4年間)、刈谷総合病院(平成11年1月から平成15年12月まで5年間)の3施設で、小児科ならびに内科、皮膚科に水痘で入院した症例に関してカルテ記載をもとに後方視的に調査を行った。調査項目は、年齢、性別、入院理由、転帰の5項目である。

3) 平成16年一年間の愛知県下の内科・小児科における水痘入院症例の把握

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。

C. 研究結果

1) 平成6年～10年度の愛知県ウイルス感染対策事業・調査研究の結果解析(平成15年度)

(1) 報告数

対象施設中、年度により42～51施設から回答があり、その報告症例の合計はインフルエンザを除き、3,953例であった。疾患としては麻疹が最も多く49%を占め、次いでムンプス24%、水痘は17%(第3位)だった。

(2) 年齢・性

水痘入院例の年齢を見てみると、麻疹同様低年齢の入院例が多く、0歳児で25%と乳児期の入院が百日咳に次いで多かった。前述のように入院数も麻疹、ムンプスに次いで第3位であり、さらに2歳児までの入院が65%を占めることからワクチンの早期接種の必要性が示唆された。性別集計では、特に有意な性差はなかった。

(3) 入院日数

最も平均入院日数の長いものは結核の68日。次いで百日咳が平均11日と長く、水痘はその他の疾患(麻疹、風疹、ムンプス)と同様、一部に長期入院例はあるものの平均では1週間前後の入院期間であった。

(4) 入院理由

水痘入院例の約40%において「合併症有り」が入院理由として挙げられており、その内容を見てみると(表5)、肺炎・気管支炎が27%、熱性痙攣が15%と多くを占めている。さらにその他が10%と他疾患と比較しても高頻度であるが、この中には皮疹部の二次性細菌感染症などが多く含まれていると思われるが、このような症例の内容を解明することが今後の調査の課題であろう。

(6) 予後

水痘の入院例の予後は他疾患に比べ良好であるが後遺症有りの一例は、劇症型溶連菌感染症による下腿切断例である。このような重篤な合併症の全国規模での調査は水痘ワクチンの重要性をアピールする上で必須と考えられる。

2) 本学ならびに関連病院における水痘入院症例の解析 (平成 16 年度)

調査期間は若干異なっているが、調査期間中に 3 施設を総合すると小児 92 症例 (男児 53 例、女児 39 例、平均入院日数 : 6.9 日)、成人 64 症例 (男性 32 例、女性 32 例、平均入院日数 : 8.3 日) が入院していた。各年毎の小児の水痘入院症例数を見ると、若干の増減はあるものの、ワクチン、抗ウイルス剤が使用可能となった後も水痘入院症例の減少は見られず、毎年 5 名前後の入院患者があることがわかる。入院症例の合併症を見てみると、やはり皮膚感染症、肺炎の合併例が多く、さらに中枢神経系合併症も 12 例とかなり多いことがわかった。図からは明らかではないが、長期入院例、死亡例はいずれもステロイドなどの投与を受けている免疫不全状態の患児であった。

我々小児科医は成人水痘症例を診療する機会が少ないが、成人例も小児例とほぼ同様の症例数が毎年各施設に入院していることが明らかとなった。

3) 平成 16 年一年間の愛知県下の内科・小児科における水痘入院症例の把握 (平成 17 年度)

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。

D. 考察

3 年間の研究を総括してみると、アシクロピルの使用が一般化した後も、相変わらず水痘入院症例が多いことが明らかになった。特に我々小児科医があまり把握していなかった、内科、皮膚科での成人例がかなりあることは重要な問題

である。また、各年度の報告書に示したような免疫不全宿主における重症水痘も、患者予後や、かかる医療費の問題を考慮すると極めて重大な問題と思われる。米国の universal immunization による効果についての最近のレポートを見れば、本研究で明らかになった問題点は水痘ワクチンの定期接種化導入にて解決できると思われ、ぜひとも目標を達成したい。今後も以下の点を考慮に入れ、全国規模での調査研究を実施して行く必要があると考えられる。

- ・ 重症水痘の発生数の把握
- ・ 水痘による入院症例の臨床像把握
- ・ 水痘に伴う重篤な合併症の発生頻度、内容把握
- ・ 成人例についての解析
- ・ 米国のデータ解析 : ワクチン導入後の疫学がどのように変化したか
- ・ 医療経済的な側面からの評価

E. 健康危険情報

過去の調査研究の成績再解析のため健康危険情報は無い。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kayoko Suzuki, Tetsushi Yoshikawa, Akiko Tomitaka, Kayoko Matsunaga, Yoshizo Asano: Detection of aerosolized varicella-zoster virus DNA in patients with localized herpes zoster. *J Infect Dis.* 189:1009-12, 2004
2. Souki Okamoto, Tetsushi Yoshikawa, Masaru Ihira, Kayoko Suzuki, Kaoru Shimokata, Yukihiko Nishiyama, Yoshizo Asano: Rapid detection of varicella-zoster virus infection by a loop-mediated isothermal amplification method. *J Med Virol.* 74:677-382, 2004.
3. 吉川哲史、浅野喜造 : 水痘—その病態とワクチン定期接種化に向けて. 病原微生物検出情

報. 24 (12) ; 5-7, 2004

2. 学会発表

平成 16 年、日本ワクチン学会（札幌）において発表。

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）

厚生労働省科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
総合研究報告書

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

肺炎球菌感染症および肺炎球菌用ワクチンの基礎研究

分担研究者 生方 公子 北里大学北里生命科学研究所教授

研究要旨

小児呼吸器感染症研究会ならびに化膿性髄膜炎全国サーベイランス研究班によって収集された肺炎球菌を対象とし、耐性化上京を遺伝子レベルで解析した。また、肺炎球菌感染症を予防する上で、既に欧米で導入されている 7 価 conjugate vaccine のカバー率を、肺炎由来株、化膿性髄膜炎由来株、および敗血症由来株について算出した。肺炎からの分離菌全体に対するは 89.8%であった。化膿性髄膜炎由来株のカバー率は 79.8%, 敗血症由来株では 75.4%であった。重症例は成人に多いが、小児の化膿性髄膜炎でも 25%が後遺症を残していた。

これらの成績は、小児の耐性肺炎球菌感染症の予防として、生後 2 ヶ月程度からの conjugate vaccine の接種が必要であると結論された。また、予防効果を確実にするためには、日本の現状にあった多価 vaccine の開発も急務であると結論された。

A. 目的

肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) は、急性中耳炎、肺炎などの呼吸器感染症の起炎菌として最も重要な細菌である。敗血症や化膿性髄膜炎といった重症感染症を惹起することでも知られる。また、冬季のウイルス流行時には、二次感染菌として重要である。

近年、本菌の β -ラクタム系薬、マクロライド系薬、あるいはニューキノロン系薬に対する薬剤耐性化が世界的に問題となっているが、私達が既に行ったサーベイランスにおいても、耐性肺炎球菌は 49.0%の分離率に達していることが明らかにされている。

一方、欧米においては、このような肺炎球菌感染症を予防するために、conjugate

vaccine が開発され、既に数カ国で 7 価 conjugate vaccine が認可された。そして、vaccine 型の肺炎球菌は減少してきていると報告されている。

日本における肺炎例、化膿性髄膜炎例、敗血症例、あるいは急性中耳炎例から分離された肺炎球菌について、(i) 薬剤感受性、(ii) 耐性遺伝子解析、(iii) 莢膜血清型別を行い、vaccine 導入を考える上での基礎データとなることを目的とした。

以下に、それらの成績について報告する。

B. 材料と方法

1) 収集菌株

収集された肺炎球菌は、以下のワーキング

グループ由来の株である。

①小児科医を中心に組織された「小児呼吸器感染症研究会(ARD 研究会)」の肺炎例由来株は、今までに 1154 株収集された。参加施設は、東京医療センター小児科、東北労災病院小児科、大阪労災病院小児科、なかふかわ小児科、博慈会記念病院小児科、他計 11 医療機関である。収集期間は 2002 年～2005 年 12 月までとした。

②小児と成人の感染症例を対象とした「化膿性髄膜炎全国サーベイランス研究班」由来の化膿性髄膜炎由来が 394 株、敗血症由来が 243 株である。代表は、砂川 慶介(北里大学医学部感染症学講座)、参加医療機関は、285 施設である。

③その他に、急性中耳炎、および副鼻腔炎由来が 128 株である。

2) 莢膜解析 デンマークの Statens Serum Institute から抗血清を購入し、莢膜膨化試験による型別を実施した。ちなみに、7 価 vaccine には 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F の型が含まれている。将来登場する可能性のある 11 価には 7 価の型に 1, 3, 5, 7F が加えられている。

3) 耐性遺伝子解析と薬剤感受性の測定

β-ラクタム系薬の耐性化には細胞壁合成に関わるペプチドグリカン架橋酵素 (penicillin-binding protein) の PBP1A, PBP2X, PBP2B をコードする遺伝子変異が主に関与していることが私どもによって明らかにされ、PCR による耐性遺伝子解析方法が既に

確立されているので、その方法を用いた。

Genotype による解析を行っているので、遺伝子変異のない株を gPSSP, 1～2 遺伝子変異株を gPISP, 3 遺伝子とも変異した株を gPRSP とした。

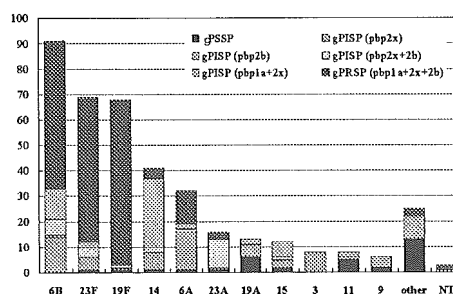
その他に、マクロライド系薬耐性遺伝子の *mefA* と *ermB* 遺伝子も解析した。(倫理面への配慮)

検査材料から分離された細菌が対象であるので、問題はないが、個人情報に配慮し、各先生方より書式に則った菌株分与書の送付を受けた。また、個人の氏名、生年月日など個人を特定できるものの情報は入手しなかった。

C. 研究結果

1) 肺炎

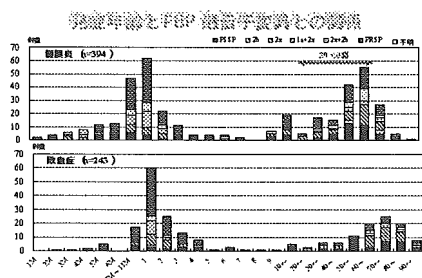
小児肺炎由来の肺炎球菌は、臨床検査材料からの分離と同時に、PCR によって *pbp1a*, *pbp2x*, および *pbp2b* 遺伝子変異を解析し、次の 6 タイプに分類した。すなわち、(i) *pbp* 遺伝子変異を有しない gPSSP (10.2%), (ii) *pbp2x* 単独変異の gPISP (21.7%), (iii) *pbp2b* 単独変異の gPISP (0.5%), (iv) *pbp2x* と *2b* 変異の gPISP (9.8%), (v) *pbp1a* と *2x* 変異の gPISP (11.0%), (vi) *pbp1a*, *2x* と *2b* 変異の gPRSP (46.8%)であった。



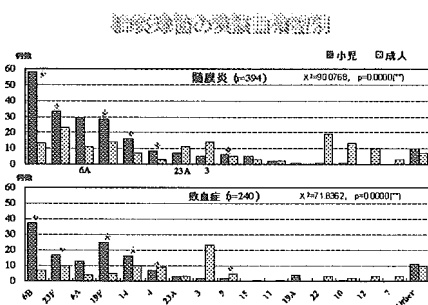
これらの菌株の遺伝子学的にみた耐性と血清型との関係は下図に示す。7 価 conjugate vaccine によるカバー率は 89.8%であった。特に耐性菌耐性肺炎球菌の PRSP や PISP が多い 6B, 19F, 23F をカバーしていた。

2) 化膿性髄膜炎

小児化膿性髄膜炎由来の肺炎球菌 227 株は、(i) *pbp* 遺伝子変異を有しない gPSSP (12.8%), (ii) *pbp2x* 単独変異の gPISP (14.5%), (iii) *pbp2b* 単独変異の gPISP (0.4%), (iv) *pbp2x* と *2b* 変異の gPISP (8.85%), (v) *pbp1a* と *2x* 変異の gPISP (13.7%), (vi) *pbp1a*, *2x* と *2b* 変異の gPRSP (48.0%)であった。小児の敗血症由来株では PRSP は 54.9%と多くを占めた。しかし、成人では化膿性髄膜炎、敗血症ともに PRSP の割合は明らかに低値で、むしろ PISP が多かった。



荚膜血清型の成績は下図に示すように、全体として最も多かった serotype は 6B, 次いで 23F, 6A, 19F, 14 の順であった。



☆印は vaccine type を示す

gPRSP の多くは 6B, 23F, 19F の血清型が多く明らかな偏りが認められた。ちなみに、7 価の conjugate vaccine に含まれる血清型の菌の割合は 80%弱であった。ただし、gPRSP のみに限ると、7 価 conjugate vaccine のカバー率は 88%と高かった。

3) 急性中耳炎

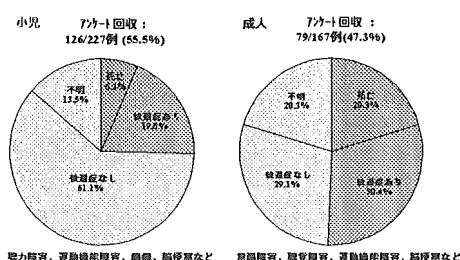
成績は省略したが、小児の急性中耳炎由来株ではさらに耐性菌が多く、その血清型 vaccine に含まれる 19F と 6B が圧倒的に多かった。

4) 重症感染症における後遺症

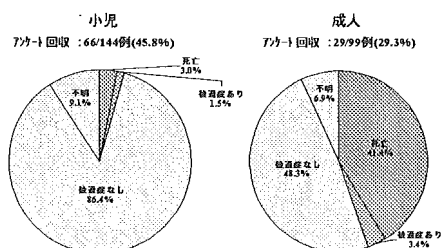
化膿性髄膜炎例および敗血症例における後遺症の残存率について下図に示す。

小児の化膿性髄膜炎では死亡例も含めた後遺症残存率は 25%, 成人では半数例に達していた。敗血症での成人の死亡率はさらに高く、41%を占めていた。

化膿性髄膜炎例における後遺症の消滅について



敗血症例における後遺症



D. 考 察

本邦で分離される肺炎球菌の血清型は、欧米較べるとやや異なっている。欧米に多い 1 型や 7 型, 9 型の割合が少ない。このため, 7 価 vaccine のカバー率が 70~80%台になっている。

ただし, PRSP に対しては 6A 型を除いてカバーできるが, 今後 vaccine が認可されたとしても, カバーできない 6A や 3 型, 10 型, 22 型などの病原性の高い型の肺炎球菌が優位に分離される可能性は残されている。ただし, 結果に示されたように, 重篤な後遺症を残す症例の社会的負担をを考えると, 医療費コストの点でも既に欧米において施行されているように, ポリサッカライドワクチンではない抗体獲得が確かな conjugate vaccine の導入が望まれる。

E. 結 論

呼吸器感染症の起炎菌として関与する割合が最も高い肺炎球菌において, そのほぼ半数が耐性菌株となっている。これらの耐性菌に有効な 7 価 conjugate vaccine の導入によって, 重症感染症は激減させうることが予測でき, 医療コストの面で極めて効果的であると結論された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) N. Chiba, R. Kobayashi, K. Hasegawa, M. Morozumi, E. Nakayama, T. Tajima, S. Iwata,

K. Ubukata: 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 of Antimicrobial Chemotherapy*, 56:756-760, 2005.

2) K. Maeda, T. Ida, Y. Sanbongi, M. Kurazono, M. Yonezawa, K. Ubukata, and M. Inoue: Comparison of activities of beta-lactam antibiotics against *Streptococcus pneumoniae* with recombinant penicillin-binding protein genes from a penicillin-resistant strain. *Journal Infection Chemotherapy*, 11: 107-111, 2005.

3) 生方 公子: 憂慮される耐性菌の増加。小児科診療, 68:2319-2325, 2005.

4) 生方 公子: 薬剤耐性に関する遺伝子解析。日本臨床, 63:413-417, 2005.

5) 砂川 慶介, 野々山 勝人, 生方 公子, 他: 本邦における小児化膿性髄膜炎の動向(2003~2004), 感染症学雑誌, 80: 27-38, 2005.

6) 生方 公子: 呼吸器感染症原因微生物の質的变化による薬剤耐性化。日本化学療法学会雑誌, 54:69-94, 2006.

F. 知的財産の出願・登録状況

該当なし

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

ムンプスウイルスとおたふくかぜ生ワクチンに関する研究

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 加藤 篤、木所 稔、久保田 耐、永田典代¹⁾、岩田奈織子¹⁾、佐多徹太郎¹⁾、
村木優子²⁾（国立感染症研究所・ウイルス第三部、¹⁾同・感染病理部、²⁾
財団法人阪大微生物病研究会）

研究要旨 わが国のおたふくかぜ（流行性耳下腺炎）ワクチンは1981年に初めて出荷され、その後、麻疹、風疹ワクチンと混合した MMR ワクチンとして定期接種された時期があった。しかし、ワクチンの副反応としての無菌性髄膜炎の発生頻度が思いのほか高かったために定期接種が中止され、現在は単味ワクチンとして任意接種されている。ワクチンの副反応としての無菌性髄膜炎の発生頻度は、自然感染した場合の発生頻度に比べれば十分に低いものである。しかしながら、リスク対効果の点で理解が得られず、わが国のおたふくかぜワクチン接種率は先進諸国では最低の部類になっている。そのため、度々全国的なおたふくかぜの流行が起き、今回は 2000 年後半から 2002 年にかけて流行期を迎えた。2005 年から今年にかけて再び流行の兆しをみせている。いまのところ、前回と今回の流行ウイルスの遺伝子型に違いはなく、流行はウイルス学的要因ではなく、偏にワクチン接種率の低さによる集団内の感受性者数増加が要因となっている。副反応の少ないワクチンを開発するには、ヒトでの神経病原性を鋭敏に評価できる実験系の開発が急務である。乳飲みラット及びマーモセットを用いた動物実験系で感度並びに相関性が高い結果が得られた。

A. 目的

流行性耳下腺炎、通称おたふくかぜは、耳下腺の腫脹、発熱や全身倦怠感、食欲不振、頭痛などを特徴とするムンプスウイルスによって引き起こされる主に幼児の感染症である。おたふくかぜを予防する唯一の方法は乾燥弱毒生おたふくかぜワクチンの接種である。わが国のおたふくかぜワクチンは 1981 年に初めて弱毒生ワクチンとして出荷され、一時期麻疹、風疹ワクチンと混合して MMR ワクチンとして定期接種された時期もあった。しかし、ワクチンの副反応

としての無菌性髄膜炎が少なからず発生したために、開始されて間もなく国産 MMR ワクチンの定期接種は中止され、現在は単味ワクチンとして任意接種されている。

おたふくかぜワクチンの接種が病気の予防という点で有効であることは医学的にも立証されている。しかし、社会的または経済的有効性に関する部分の評価が明確でなく、一方で、副反応があまりに明確に現れることから、積極的に予防接種を“受ける”あるいは“受けさせる”という意識形成に至っていない。そのため、わが国

のおたふくかぜワクチン接種率は先進諸国で最低の部類になっており、度々全国的な流行を起こしている。流行発生後、集団内を抵抗力をもった児童が占めるに従って流行は沈静化するが、再び抵抗力を持たない感受性児童が一定割合以上を占めると流行が繰り返されるというサイクルになっている。そのサイクルは、だいたい 3～4 年である。2000 年後半から 2002 年にかけて流行があった。過去の流行に比べてこの時の流行は大規模であったため、ウイルス学的要因の有無を調査した(平成 15 年度研究課題)。

もともと、国産のおたふくかぜワクチンは、ムンプスワクチン研究班が主体となって当時米国で開発されていた Jerry-Lynn 株より乳飲みハムスターの脳内接種実験で病原性が少ない優れた株として選別され、カニクイザルを用いた試験、さらにヒトでの臨床試験で有効性と安全性が確認され上で承認された経緯を持つ製剤である。にもかかわらず、実際に多くのヒトに接種されると Jerry-Lynn 株より神経病原性が高いものであった。これは、用いた動物実験系がヒトでの病原性を反映していないか、あるいは、感度が期待された程ではなかったことを意味する。ヒトでの神経病原性を評価する系として動物実験系が妥当で有るか否かを十分に吟味する必要がある。そこで、現在最も試験方法として妥当性が高いと言われている乳飲みラット及びマーモセット実験系の二つについて検証した(平成 16 年度課題)。

齋加ら(千葉県衛生研究所)は、千葉県血清研究所で分離されたムンプスウイルス野外株(Y7 株)から温度感受性を指標に継代選択された性状の異なる株から、乳飲みラット及びマーモセットで神経病原性評価法を利用してワクチン候補株選択に使えるか否かを検討している(本研究班報告)。その中から神経病原性に大きな差がある 2 株をもらって、ゲノムを比較することで神経病原性を支配するウイルス遺伝子を同定することを試みた(平成 17 年度課題)。

B. 材料と方法

(1) 2000-2002 年の流後期のムンプスウイルス調査

自然感染症例の患者より分離されたムンプスウイルス株を各地の衛生研究所から分与を受けて試験に供した。共通プライマーを用いた RT-PCR により SH 遺伝子部分を増幅して塩基配列を決定し、データベース上の他の株との相同性を比較して A～K の 11 種類の遺伝子型を同定した。ウイルス中和試験は、B 遺伝子型に属するワクチン株を接種したサルの血清を用いて遺伝子型 G の株と遺伝子型 K の株に対して定法に従って行った。

(2) 乳飲みラットを用いた神経毒力試験

SPF LEW/Crj (Lewis) 妊娠メスラットを日本チャールス・リバー株式会社より購入し、生まれて 24 時間以内の乳飲みラットを実験に使用した。100 pfu/匹を左視床に接種した。接種後、30 日目に脳を採取し、固定後の脳断面に於ける水頭症の発生により評価した。髄膜炎の発生頻度が自然感染患者の 10%程を占めたとされる I 遺伝子型の Odate 株(秋田衛生研究所より分与)、2002 年の流行時に分離された髄膜炎発生頻度 2%程の K 遺伝子型の 02-49 株(新潟衛生研究所より分与)、ワクチン株として B 遺伝子型の国産ワクチン A 株と B 株を用いた。

(3) マーモセットを用いた神経毒力試験

8～10 ヶ月齢の雌マーモセットを日本クレア株式会社より購入した。ワクチン株として市販のワクチン株 C を、野外株として Odate 株(秋田県衛生科学研究所より分与)を用いた。10³ TCID₅₀/匹を脊髄内に接種し、2 週間あるいは 4 週間後に病理組織学的、免疫組織学的検索を実施した。

(4) 同一親株から由来する継代歴の異なる二株のゲノムの比較

千葉血清研究所で分離された野外株 Y7 株を親株として温度感受性を指標にして選択された性状の異なる Y125 と Y213 の二株を用いた。温度