

厚生労働科学研究
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

ワクチンの安全性向上のための
品質確保の方策に関する研究

平成17年度研究報告書

平成18年3月

主任研究者：下 田 智 久
(財)予防接種リサーチセンター

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）

ワクチンの安全性向上のための品質確保の方策に関する研究

総括研究報告……………主任研究者 下田智久（（財）予防接種リサーチセンター理事長） ……	3
I. ワクチンの副反応発生機序と安全性のための品質確保に関する基礎的研究	
分担研究報告……………分担研究者 倉田 毅 ……	13
1. 外来性蛋白を発現する組み換え麻しん AIK-C 株の確立 ……	中山哲夫他 …… 21
2. ムンプスウイルスは再感染・顕性発症することがある ……	中山哲夫他 …… 24
3. RT-LAMP 法を用いたムンプスウイルス星野株と野生株との鑑別 ……	中山哲夫他 …… 27
4. ムンプスウイルス、おたふくかぜ生ワクチンの神経病原性評価……………	加藤 篤他 …… 31
5. 風疹ウイルス分離株の多様性について……………	牛島廣治他 …… 35
6. 合成二重鎖 RNA[poly(I:C)] をアジュバンドとして用いた経鼻 インフルエンザワクチンによる感染防御……………	長谷川秀樹他 …… 43
7. 経気道不活化全粒子インフルエンザワクチン被接種成人および 年長児における特異的免疫応答の経時的推移……………	熊谷卓司他 …… 47
8. 沈降精製百日咳ジフテリア破傷風混合ワクチン（DtaP）局所反応 原性評価モデル……………	片岡紀代他 …… 54
9. DTaP 三種混合ワクチン接種後の Th1/Th2 反応 ……	勝田友博他 …… 56
II. ワクチンの安全性と有効性に関する臨床医学的研究	
分担研究報告……………分担研究者 神谷 齊 ……	61
1. 健常人における麻しんウイルス、ムンプスウイルス、風疹ウイルス、水痘・ 帯状ヘルペスウイルスの検査方法別抗体分布および検査結果の比較……………	飯田慶治他 …… 67
2. 移行抗体レベルからみた麻疹、風疹、ムンプス、水痘各種生ワクチン 接種時期の検討……………	庵原俊昭他 …… 72
3. 11～12 歳児への DPT ワクチン接種の有用性と副反応（第 2 報） ……	岡田賢司他 …… 75
4. 予防接種要注意者の現状 －福岡県予防接種センター平成 16・17 年度報告－ ……	岡田賢司他 …… 77
5. 松本市の M 幼稚園に流行した水痘の疫学的調査と ワクチン接種の有効性……………	松岡伊津夫他 …… 79
6. 水痘ワクチン接種後、遠隔罹患の有無による IgG 抗体価（ELISA 法） の変動……………	松岡伊津夫他 …… 83
7. 愛知県下の内科・小児科における水痘入院症例の解析……………	吉川哲史他 …… 89
8. 重症水痘の 2 成人例……………	堤 裕幸他 …… 91
9. 水痘帯状疱疹ウイルスによる中大脳動脈視床線条体枝梗塞を呈した神経線 維腫症 I 型の 2 例：水痘ワクチンは脳梗塞の危険性を軽減するか？ ……	泉 達郎他 …… 93

10. 横紋筋肉腫の化学療法中に verrucous VZV を発症した 1 例	吉川哲史他	96
11. 小児生体肝移植後における生ワクチン接種について (第 3 報)	新庄正宜他	99
12. ワクチン接種後の副反応調査 1994-2005	中山哲夫他	100
13. BCG 接種時に偶発した 1 事故例	横山 宏	103
14. 左脛骨に発症した BCG 骨髄炎の 1 例 - IFN- γ 経路の解析を含めて -	近藤直実他	105
15. BCG 接種後、局所性副反応を来した 2 乳児例	小倉英郎他	108
16. IFN- γ /IL-12 経路障害による免疫不全症の全国アンケート調査結果 -BCG 反応を中心に	高田英俊他	110
17. 日本脳炎ワクチン接種後重度の中枢神経系障害を呈した 1 例	横山 宏他	111
18. インフルエンザワクチンによる副反応を呈した男児例	松原知代他	116
19. タミフル服用前に幻聴に基づく異常行動を呈した A 型 インフルエンザの 1 例	森内浩幸他	119
20. ジフテリア・破傷風 2 種混合トキソイドを 0.25ml 接種した 成人における局所副反応	高山 直秀	120
21. 大学附属病院における定期予防接種の実施状況および副反応に 関する研究 (第 9 報)	荒川浩一他	122
22. 卵アレルギー患者へのインフルエンザワクチン接種の 安全性に関する検討	阿部祥英他	123
23. 細菌結合ワクチンによる化膿性関節炎・骨髄炎予防の可能性について	中野貴司他	130
24. ろ紙血を用いた先天性サイトメガロウイルス (CMV) 感染症 スクリーニングの試み	山岸義晃他	133
25. 重症心身障害児 (者)、てんかん患者のワクチン接種法と 副反応に関する研究	栗屋 豊他	134
26. 乳児期に無熱性けいれんの既往のある児における麻疹ワクチン接種状況	山本 克哉	137
27. West 症候群における ACTH 治療後の免疫機能の推移	大矢崇志他	140
28. West 症候群の ACTH 治療後における免疫学的評価に関する 前方視的検討 (第 2 報)	永井利三郎他	142
29. 保護者の持つ予防接種の神経学的リスクに対する意識調査	武市知巳他	144
30. 神経疾患を持つ小児に対する予防接種の実態調査 (案)	田辺卓也他	146
31. 重症心身障害児者におけるインフルエンザワクチン接種前後の てんかん発作および脳波変化について	小西 徹他	148
32. 重症心身障害児・者の免疫能 - 予防接種の施行に向けて -	栗原まな他	153
33. 重症心身障害児の予防接種率: 福岡の実態	宮崎千明他	156
34. 北海道立小児総合保健センターにおける重症心身障害児の予防接種状況	皆川 公夫	160
35. インフルエンザの発熱とワクチンの関係	鈴木英太郎他	164
36. アメリカにおける百日せきの現状と日本の現状との比較	神谷 元他	171

37. 小児インフルエンザ菌b型 (Hib) 感染症の実態と Hib ワクチン 導入への対応	上原すゝ子	178
Ⅲ. ワクチンの意義と安全性の健康教育と情報伝達に関する研究		
分担研究報告	分担研究者 岡部 信彦	181
1. 2000～2005年の風疹および先天性風疹症候群の発生動向 ー感染症発生動向調査ー	中島一敏他	184
2. ポリオワクチン接種後の副反応に関する検討	岡部信彦他	188
3. AND 調査における各種疾患の疫学的特徴： 報告数の少ない疾患を中心に	宮崎千明他	208
4. AND7 調査における急性散在性脳脊髄炎 (ADEM) の特徴	宮崎千明他	215
5. 東京都府中市の満3歳児における麻疹ならびに風疹ワクチンの接種率	崎山 弘	220
6. 県下5市町村におけるBCG累積接種率	橘田千鶴他	223
7. 麻疹の Elimination を目指して ー未接種児の全数を把握し積極的な勧奨をー	岡藤 輝夫	225
8. 小児期の予防接種モニタリングシステムの構築の試み ー平成17年度アンケートによる接種率・罹患率試行調査のまとめー	馬場宏一他	229
9. 新入職員に対する麻疹、風疹、水痘、ムンプスの院内感染防止対策	西村直子他	243
10. 麻疹、水痘、風疹、ムンプスに対する病院感染対策 ー職員の抗体陰性率とワクチン接種後の獲得率についてー	真砂州宏他	244
11. 2005年、奈良県内における小児急性神経疾患の発生状況調査	西野正人他	249
12. 外来で診るウイルス感染症の分析 (1990年～2005年)	鈴木英太郎他	254
13. 中学生に対する予防接種についての保健講話の試み	岡本奈美他	262
Ⅳ. 高齢者に対するワクチンの意義と安全性に関する研究		
分担研究報告	分担研究者 松本 慶蔵	269
1. 高齢者慢性閉塞性肺疾患の急性増悪予防に対する肺炎球菌ワクチン 投与の有用性に関する研究	山谷陸雄他	273
2. 高齢者 (65歳以上) のインフルエンザ予防接種に関する研究	杉下由行他	274
3. インフルエンザワクチンの有効性	柏木征三郎	277
4. 長崎県島原半島の一地方病院における04年～05年と05年～06年シーズン のインフルエンザ感染患者を比較して (ワクチン接種の点から)	出川 聡他	280
5. 65歳以上の成人における肺炎球菌ワクチンとインフルエンザワクチンの 併用効果に関する研究	川上健司他	291
6. ウガンダの HIV 感染者に対する7価肺炎球菌コンジュゲートワクチンと 23価肺炎球菌ワクチン併用接種の血清免疫学的効果に関する研究	大石和徳他	292

V. ワクチンの安全性と有効性を確保するための情報収集とネットワーク構築に関する研究	
分担研究報告	分担研究者 富樫 武弘 ……295
1. 北海道麻疹ゼロ作戦	富樫 武弘 ……298
2. 福島県須賀川市周辺でみられた麻疹流行に関する検討	細矢光亮他 ……305
3. 乳幼児・就学前児における定期予防接種実施状況	
－追跡調査による各年齢別接種率と就学児健診での接種歴調査－	太神和廣他 ……309
4. 入学児童予防接種状況調査報告（11報）	太田耕造他 ……314
5. 変遷する予防接種体制の中での市町村の対応	平岩 幹男 ……316
6. 麻疹ワクチン接種後の月別変動について	井手 邦彦 ……318
7. 麻疹ワクチン年齢別接種数	井手 邦彦 ……321
8. 国分寺市医師会予防接種センター 25年の利用状況	山本 光興 ……324
9. 習志野市における予防接種実施状況の推移	稲葉美佐子他 ……329
10. 愛知県におけるポリオワクチン調査（2005年）	宮津光伸他 ……331
11. 看護学生の感染症免疫率の推移	宮津 光伸 ……334
12. 海外留学時に必要な予防接種	宮津 光伸 ……337
13. ムンプスワクチン接種率が地域流行に及ぼす効果	庵原俊昭他 ……342
14. 京都市小学校就学前の児童の麻疹及び風疹ワクチンの接種状況	竹内宏一他 ……344
15. 接種年齢の短縮に伴う BCG 接種率の推移	国富 泰二 ……336
16. 乳児 BCG 直接接種の導入に関する全国自治体への緊急実態調査	永井崇雄他 ……349
17. 定期の麻疹・風疹混合ワクチン（MR ワクチン）開始にあたっての問題点	友田隆士他 ……351
18. 個別接種医療機関における直接 BCG 接種後の局所所見の観察	山崎嘉久他 ……353
VI. 班員名簿	……359

総括研究報告書

主任研究者

下 田 智 久

ワクチンの安全性向上のための品質確保の方策に関する研究 総括研究報告書

主任研究者 下田 智久（財団法人予防接種リサーチセンター理事長）

研究要旨

本研究は5課題について分担研究者の下に研究を行い、以下の成績を得た。

（1）ワクチンの副反応発生機序と安全性のための品質確保に関する基礎医学的研究

麻疹ワクチン AIK-C 株を安全なウイルスベクターとして、キメラワクチンへの展開が可能であることを明らかとした。ムンプスウイルスについては、臨床検査法として RT-LAMP 法によりムンプスの野生株とワクチン株の鑑別を可能とし、また、髄膜炎発生病原性を乳飲みラットの脳内接種で水頭症を起こす頻度を検査する方法を見出した。

経鼻型インフルエンザワクチンについてはアジュバントとして合成二重鎖 RNA [poly (1:C)] の有効性を確認した。一方トリインフルエンザ H5 を不活化してテストした研究では唾液 IgA 抗体の誘導を確認できた。また、DTaP ワクチンの局所反応の発現リスクの検索法として、小動物で経日的に皮厚と病理組織学的観察を行う評価モデルを開発した。

（2）ワクチンの安全性と有効性に関する臨床医学的研究

ワクチン接種の必要性の有無を抗体検査で判別するには、IgG-EIA が適当であることを明らかにした。百日咳は乳児への感染源となる成人や年長児患者対策として、11～12歳児へのDPTワクチン接種（0.1ml）が有用である。水痘について保育所等での流行状況調査からワクチンの有効性と、ハイリスク者へのワクチン接種の必要性も改めて報告された。肝移植後患児への生ワクチン接種が有効かつ安全であることを認めた。

昨年度に引き続き、各地から予防接種後の副反応を疑う症例が報告され検討が行われた。また、神経系疾患患児へのワクチン接種基準について検討が続けられ報告された。Hib ワクチンの必要性を示す肺炎、髄膜炎等の症例も報告された。

（3）ワクチンの意義と安全性の健康教育と情報伝達に関する研究

抽出調査等によるワクチン接種率の算定から地域の免疫状態の状況把握を行う実例が報告され、モニタリングシステム構築の試みも実施された。麻疹制圧のためのワクチン接種率向上への働きかけなどの成果が報告され、予防接種後の紛れ込み事故の頻度算定の基礎となる調査報告もなされた。院内感染対策として医療関係者（学生、新勤務者等）へのワクチン接種の必要性と実施状況が報告された。ポリオ生ワクチン接種後の下痢についてはワクチンウイルスと関連があるか、他の因子によるものかについてはさらに検討を要する。

（4）高齢者に対するワクチンの意義と安全性に関する研究

65歳以上の高齢者に対する2005/2006年シーズンのH3N2型インフルエンザワクチンの効果は良好であった。A型では流行株とワクチン株が一致し約70%の有効率であった。肺炎球菌ワクチンは2001年以降接種が進み、施設における効果判定の試行も開始された。

(5) ワクチンの安全性有効性を確保するための情報収集とネットワーク構築に関する研究
小児科医会等と行政の連携による各地の「はしか0作戦」の成果が取りまとめられた。
本年度の突然の予防接種の方法変更の各地域における対応の状況が報告された。BCGを
生後6月迄に行うことは、各地で混乱なく実施されつつある。麻疹、風疹ワクチンを2回
接種方式にする場合の経過措置として、いずれか一方のワクチン接種を受けた者、または
いずれかに罹患した者について、単味ワクチンの使用や接種時期に余裕を持たせて欲しい
との要望が強く論じられた。

分担研究者氏名・所属機関及び所属機関に おける職名

倉田 毅 (国立感染症研究所・所長)
神谷 齋 (国立病院機構三重病院・
名誉院長)
岡部信彦 (国立感染症研究所・
感染症情報センター長)
松本慶蔵 (愛野記念病院・名誉院長)
富樫武弘 (札幌市立病院・院長)

<分担研究項目は、B研究方法に記載>

A. 研究目的

(財) 予防接種リサーチセンターは、その
設立の趣旨に則り、予防接種に関する情
報の収集と提供、研究、健康被害者の支援
・福祉等についての事業を展開している。
その実績を踏まえ、全国的な情報収集とワ
クチン研究のために、基礎医学、臨床医学、
疫学・検査に関わる専門学者、ワクチン学
者、ワクチンメーカー等のネットワークを
構築し、より安全性と有効性の高いワクチ
ンの開発・改良とその品質を確保するこ
とを目的として研究を実施した。

B. 研究方法

本研究は各地の研究者、臨床医の協力を
求めることによって構築した全国的ネット
ワークを通じて臨床的、疫学的、病因分析
的情報の収集と分析を行った。研究は下記
の5課題につき、各分担研究者が研究協力

者と共にワクチンの安全性と有効性の向上
のための改良、開発研究及び必要な情報
の分析方法や地域におけるワクチン接種のあ
り方等について検討した。年度末には研究
班総会において調査・研究成績を検討して
ワクチンの安全性や接種実施方法等につき
要望事項を取りまとめると共に、今後必要
な研究について討議した。

(1) ワクチンの副反応発生機序と安全性
のための品質確保に関する基礎医学
的研究

分担研究者：倉田 毅

(2) ワクチンの安全性と有効性に関する
臨床医学的研究

分担研究者：神谷 齋

(3) ワクチンの意義と安全性の健康教育
と情報伝達に関する研究

分担研究者：岡部信彦

(4) 高齢者に対するワクチンの意義と安
全性に関する研究

分担研究者：松本慶蔵

(5) ワクチンの安全性有効性を確保する
ための情報収集とネットワーク構築
に関する研

分担研究者：富樫武弘

C. 研究成果

本研究は5課題について分担研究者の下
に研究を行い、以下の成績を得た。

(1) ワクチンの副反応発生機序と安全性
のための品質確保に関する基礎医学的研究

①麻疹ワクチン AIK-C 株を安全なウイルスベクターとして、キメラワクチンへの展開が可能であることを明らかとした。今後、新しいワクチン開発への応用が考えられる。

②ムンプスウイルスについては、臨床検査法として RT-LAMP 法によりムンプスの野生株とワクチン株を鑑別できる領域に primers を設定し、効率よくウイルス遺伝子を増幅し鑑別できる方法を確立した。

③ムンプスの再感染が疑われた症例につきウイルス学的検討を行い、ムンプスウイルスの再感染再発症のあることを明らかにした。

④ムンプスウイルスの髄膜炎発生病原性を乳飲みラットの脳内接種で水頭症を起こす頻度を調べ、野生株とワクチン株との間で差を認めた。細部は未分明だが、ムンプスワクチンウイルスの髄膜炎病原性のマーカーとして有望なモデル系である。

⑤風疹ウイルスの5つの遺伝子型の6株において全遺伝子の決定と、8つの遺伝子型を代表する26株のNSプロテアーゼ、SGプロモーターの解析を行った。についても、遺伝子型間の関係を明らかにする解析が行われた。

⑥経鼻型インフルエンザワクチンについてはアジュバントとして合成二重鎖RNA [poly (1:C)] の有効性を確認した。一方インフルエンザビリオンにはアジュバント活性があることから、日本人が感作されたことのないトリインフルエンザH5を不活化してテストしたところ、唾液 IgA 抗体の誘導を確認できた。新型インフルエンザの出現に備え、感染防止力に優れた経鼻型ワクチンの開発を急ぎたい。

⑦DTaP ワクチンの局所反応の発現リスクを検索する方法として、マウス、ウサギを用い、経日的に皮厚と病理組織学的観察を行うことで評価できるモデルを開発し

た。

⑧マウスのDTaP接種群において、DTaP抗原特異的なTh2系サイトカインの(IL-4、IL-5)産生増加を認めた。

(2) ワクチンの安全性と有効性に関する臨床医学的研究

①ワクチン接種の必要性の有無を抗体検査で判別するために、麻疹、風疹、ムンプス、水痘・帯状疱疹につき検査法別に調査し、IgG-EIA が適当であることを明らかにした。

またこれらウイルスの経胎盤抗体の現状を調査し、生後12月では確実に消失しており、ワクチン接種が有効であることが確認された。

②百日咳は世界的に乳児への感染源として成人や年長児患者が問題となっている。このための対策として、11～12歳児へのDPTワクチン接種(0.1ml)を実施したところ、PT抗体価の明らかな上昇を認めた。1cm以下の局所反応を10.7%に認めたが、全身反応はなかった。今後の状況により、2期のDT接種をDPTに変更する必要性を検討する必要がある。

③水痘について保育所等での流行状況とワクチンの有効性を調査した。また水痘の入院例や重症例の調査報告がなされ、ハイリスク者へのワクチン接種の必要性も改めて報告された。

④肝移植後患児の感染予防の必要性から、生ワクチン接種を10例に実施し、有効かつ安全であることを認めたが、抗体の持続性についてはフォローが必要である。

⑤昨年度に引き続き、各地から予防接種後の副反応を疑う症例が報告され検討が行われた。こうした症例の中にはワクチンとの因果関係の否定された例も少なくないので、医学的判断のできる検査資料の確保が必要であることも改めて提言された。

⑥本年度中に日本脳炎ワクチンが積極的勧奨中止となることがあり、その原因となった副反応疑い例も報告されたが、状況から3期の中止は理解できても、1, 2期の勧奨中止については心配との意見が多く出された。

⑦神経系疾患（発達障害、痙攣性疾患、重症心身障害児等）患児へのワクチン接種基準について検討が続けられ報告された。

⑧ Hib ワクチンの必要性を示す肺炎、髄膜炎等の症例が報告された。

（3）ワクチンの意義と安全性の健康教育と情報伝達に関する研究

①抽出調査等によるワクチン接種率の算定から地域の免疫状態の状況把握を行う実例が報告され、モニタリングシステム構築の試みも実施された。

②中学校における健康教育の実例や麻疹制圧のためのワクチン接種率向上への働きかけなどの成果が報告された。

③またいわゆる予防接種後の紛れ込み事故の頻度算定の基礎となる小児神経系疾患の調査が奈良県から報告された。

④院内感染対策として医療関係者（学生、新勤務者等）へのワクチン接種の必要性が論じられ、実施状況が報告された。

⑤ポリオ生ワクチン接種後の下痢について、乳幼児健診後を対照として調査が行われ、発熱、けいれん、嘔吐については差がなかったが、下痢の発現頻度は有意差をもってワクチン接種後が多かった。下痢がワクチンウイルスと関連があるか、他の因子によるものかについてはさらに検討を要する。

（4）高齢者に対するワクチンの意義と安全性に関する研究

① 65 歳以上の高齢者に対するインフルエンザワクチン接種率は向上している。

2005/2006 年シーズンの H 3 N 2 型ワクチンの効果は良好であった。A 型では流行株とワクチン株が一致すれば約 70 % の有効率であった。

②ワクチンの効果や抗インフルエンザ剤の効果判定に日本臨床内科医会の協力が得られることになった。また高齢者へのインフルエンザ感染予防のためには小児へのワクチン接種の必要性が考えられる。

③肺炎球菌ワクチンは 2001 年以降接種が進み、施設における効果判定の試行も開始された。現在 3 市 24 町村において一部費用負担が行われており、自治体の必要性の判断によるものであって、注目されるべき方向性である。インフルエンザワクチンと肺炎球菌ワクチン併用の臨床試験によれば、後者の副反応はすべて局所反応で軽度であった。効果については 2 年後の結果に期待する。

④高齢者慢性閉塞性肺疾患の急速増悪予防について、インフルエンザワクチンと肺炎球菌ワクチンの併用の効果を見ようとする調査を開始したが、肺炎球菌ワクチン接種既往者が 3 % と低いため、さらに調査を継続する。

（5）ワクチンの安全性有効性を確保するための情報収集とネットワーク構築に関する研究

①小児科医会等と行政の連携による北海道をはじめ各地の「はしか 0 作戦」の成果が取りまとめられた。

②本年度は突然の予防接種の方法変更等がいくつかあったが、各地域における対応の状況が報告された。

③ B C G 接種時期の変更による実施率の調査によれば、生後 6 か月までに行うことは、各地で混乱なく実施されつつある。

④就学前の各種予防接種率の実情調査が各地から報告された。任意接種であるおた

ふくかぜワクチンの接種状況とムンプスの流行状況も報告された。

⑤麻疹、風疹ワクチンを2回接種方式にする場合の経過措置として、いずれか一方のワクチン接種を受けた者、またはいずれかに罹患した者について、単味ワクチンの使用や接種時期に余裕を持たせて欲しいとの要望が強く論じられた。

D. 考察・研究により得られた成果の今後の活用・提供について

上述した研究成績の今後の活用の見通しについては次のように考察された。

基礎医学的研究では、AIK-C株麻疹ワクチンウイルスをキメラワクチンベクターとして利用する研究が進んだ。わが国において流行する麻疹、風疹、ムンプス等のウイルス変異によるワクチン効果の低下に備え、短期間に新ワクチンを開発する方法として活用が期待できる。

ムンプスウイルスの髄膜炎病原性を調べる動物モデルとして乳飲みラットへの脳内接種による水頭症発生頻度観察法を開発した。さらに感度が上げられればより安全なおたふくかぜワクチンのスクリーニングが可能になる。また、DaPT ワクチンの局所反応の程度を小動物で検査する方法として、マウス、ウサギへの皮内等への接種と、皮厚や組織検査法を開発した。より局所反応の少ないワクチンの選別への応用が期待できる。

経鼻用インフルエンザ不活化ワクチンの開発は、安全性の高いアジュバントの発見及び日本人が感作を受けていないトリインフルエンザH5ウイルス不活化ワクチンの試行による唾液 IgA 抗体の誘導により前進することができた。

臨床医学的研究では、院内感染防止のための医療関係者への予防接種が求められて

いるため、抗体測定法の検討が行われ、IgG-EIA 法が勧められる。水痘の流行調査や重症水痘例の検討からワクチンの必要性が論じられた。インフルエンザワクチンは小児への接種量と有効性についてなお検討を要する。乳幼児への百日咳予防のために、成人や年長児へのワクチン接種が世界的に論じられており、2期に DPT ワクチンを接種する必要性が検討され、2期に DT の代わりに DPT を 0.1ml 接種することの有効性と安全性が示された。インフルエンザ菌髄膜炎の疫学調査から Hib ワクチンの早期採用が要望された。また、痙攣性疾患児や重症心身障害児、アレルギー性疾患児に対するワクチンの接種基準が取りまとめられた。

ワクチン接種率を能率よく算出するための調査方法が考案され、実用された。

高齢者に対するインフルエンザワクチンの接種率の向上が認められたが、2005/2006 流行での A 型には 70 % 程度の有効性が認められた。肺炎球菌ワクチンの併用も高齢者施設等での調査研究が始められた。

ワクチンの有効性と安全性を確保するための情報の収集と発信のためのネットワークが稼働し、ワクチン接種率の向上のための基礎資料の収集や成功例の分析が行われ、また麻疹風疹混合ワクチンの実用化に際し、暫定措置としての要望事項も取りまとめられた。

E. 結論

ワクチンの安全性向上と品質確保の方策に関する研究を実施した。

研究要旨に記したごとく、基礎的研究においては、ワクチンの安全性を高めるための研究が動物モデルによる局所反応の検査法が開発され、効果にすぐれたインフルエンザ経鼻ワクチンの開発が進行している。

臨床的研究では、本年度中の予防接種の方式変更を踏まえた全国の実施状況と対応状況が報告され、またワクチン副反応が疑われる症例が報告され討議された。BCG 直接接種方式は大きな混乱なく行われており、麻疹風疹の二回接種方式は小児科医に歓迎されているが、その経過措置については多くの要望が寄せられた。日本脳炎ワクチンの実質的中止状況については 18 年度夏の日本脳炎発生状況が懸念されている。ワクチンの安全性と有効性を確保するための情報の収集と発信のためのネットワークは全国的に稼働しており、来年最終年度の調査研究の基盤は確保された。

F. 健康危険情報

本年度においては幸い発生しなかった。

G. 研究発表（論文発表）

- 1) Yagyu F., Okutu S., Tanamoto K., Ushijima H. : Determination of HIV-1 subtypes (A-D, F, G, CRF01 AE) by PCR in the transmembrane region with novel primers, *J Med Virology*, 76:16-23, 2005
- 2) Oka T., Katayama K., Ushijima H. et al : Proteolytic processing of Sapovirus ORF1 polyprotein, *J Virology*, 79 (12), 7283-7290, 2005
- 3) Phan T.G., Yan N.H., Otuka S., Ushijima H. : A novel RT-multiplex PCR for enteroviruses, hepatitis A and E viruses and influenza A virus among infants and children with diarrhea in Vietnam, *Arch. Virology*, 150: 1175-1185, 2005
- 4) Phan T.G., Okame M., Ushijima H., et al : Genetic diversity of sapovirus in faecal specimens from infants and children with acute gastroenteritis in Pakistan, *Arch Virology*, 150: 371-377, 2005
- 5) Li L., Phan T. G., Ushijima H., et al : Molecular epidemiology of Adenovirus infection among pediatric population with diarrhea in Asia, *Microbiol. Immunol.*,49 (2) :121-128, 2005
- 6) Yan H., Abe T., Ushijima H., et al : Outbreak of acute gastroenteritis associated with group A Rotavirus and genogroup 1 Sapovirus among adults in a mental health care facility in Japan, *J Med Virology*, 75: 475-481, 2005
- 7) Phan T.G., Okitu S., Ushijima H., et al : Etiologic agents of acute gastroenteritis among Japanese infants and children: Virus diversity and genetic analysis of sapovirus, *Arch Virol*, 150: 1415-1424, 2005
- 8) Yoshinaga M., Phan T.G., Ushijima H., et al : Changing distribution of group A rotavirus G-types and genetic analysis of G9 circulating in Japan, *Arch Virol*, 151:183-192, 2006
- 9) Akihara S., Phan T.G., Ushijima H., et al : Existence of multiple outbreaks of viral gastroenteritis among infants in a day care center in Japan, *Arch Virol*, 150: 2061-2075, 2005
- 10) Akihara S., Phan T.G., Ushijima H., et al : Identification of sapovirus infection among Japanese infants in a day care center, *J Med Virology*, 77: 595-601, 2005
- 11) Phan T.G., Kuroiwa T., Ushijima H., et al : Viral diarrhea in Japanese children: Results from a one-year epidemiologic study, *Clin. Lab.*,51: 183-191, 2005
- 12) Phan T.G., Kozlov V., Ushijima H., et al : Development of a Novel protocol for RT-multiplex PCR to detect diarrheal viruses among infants and children with acute gastroenteritis in eastern Russia, *Clin. Lab.*,

- 51: 429-435, 2005
- 13) Hasegawa H., Ichinohe T., Kurata T., et al :Protection ageinst influenza virus infection by intranasal administration of hemagglutinin vaccine with chitin microparticles as an adjuvant, J. Med. Virol., 75: 130-136, 2005
- 14) Ichinohe T., Watanabe I., Kurata T., Hasegawa H., et al : Synthetic double-stranded RNA Poly (I:C) combined with mucosal vaccine protects ageinst influenza virus infection, J. Virol., 79: 2910-2919, 2005
- 15) 雉本忠市：結核予防法改正後の小児結核への対処法、愛知県小児科医会会報、82 : 49-53、2005
- 16) 日比野聡、阿部祥英、北村耐、板橋稼頭央：小児におけるチメロサル無添加インフルエンザワクチンの安全性に関する検討、小児感染免疫、18 (2)、印刷中、2006
- 17) 田辺卓也、粟谷豊、松石豊次郎 他：乳児重症ミオクロニーてんかん症例のワクチン接種状況調査、脳と発達、36 : 318-323、2004
- 18) 粟谷豊、山本克哉、他：ワクチン接種・熱性けいれん 1000 例の前方視的研究と麻疹ワクチン前後脳波の検討、脳と発達、37 : S188、2005
- 19) 栗原まな、他：重症心身障害児（者）における麻疹予防接種の検討、日本小児科学会誌、108 : 1372-1378、2004
- 20) 岡田賢司：DPT ワクチン、我が国における現行ワクチンの今後の課題、臨床検査、48 (4)、2004
- 21) 神谷 元、齋藤昭彦：アメリカが直面している新たなる問題点—増加する百日咳—、小児感染免疫、18 (2)、印刷中、2006
- 22) 高山直秀、崎山 弘、宮村達男、他：麻疹ワクチン及びポリオ生ワクチン累積接種率全国調査結果、感染症学雑誌 79 : 7-12、2005
- 23) 高山直秀、崎山 弘：各市区町村における麻疹ワクチン累積接種率調査結果、小児科臨床、58 : 215-220、2005
- 24) 高山直秀、崎山 弘、岡部信彦、平山宗宏：結核予防法改正前の全国 BCG 累積接種率、日本小児科学会誌、110 : 14-16、2006
- 25) 国立感染症研究所感染症情報センター、NPO 法人大阪新興・再興感染症対策協議会：日本医事新報、No.4283、64-69、2006
- 26) 井手邦彦：世田谷区医師会における予防接種実施状況について（第 10 報）及び麻疹について、東京都医師会雑誌、58 (6)、584-593、2005
- 27) 平山宗宏：社会福祉施設等における感染症対策について、高崎健康福祉大学総合福祉研究所紀要、2 (2)、33-38、2005
- 28) 植田浩司：風疹及び先天性風疹症候群の現況とその対策、日本薬剤師会雑誌、58 (3)、71-74、2006
- 29) 平山宗宏：最近の予防接種の動向—改正点のとりまとめと麻疹風疹排除に向けて—、小児感染免疫、18 (1)、47-52、2006
- 30) 永井崇雄、藤岡雅司、宮崎千明、他：乳児 BCG 直接接種の導入に関する全国自治体への緊急実態調査、日本小児科学会誌、109 (12)、1503-1510、2005
- 31) Yasuda H., Yamaya M., Sasaki T. et al : Carbocysteine reduces frequency of common colds and exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease , J Am Geriatr Soc, 54:378-380, 2006

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

ワクチンの副反応発生機序と
安全性のための品質確保に
関する基礎的研究

分担研究者

倉 田 毅

ワクチンの副反応発生機序と 安全性のための品質確保に関する基礎医学的研究 (分担研究報告書)

分担研究者 倉田 毅 (国立感染症研究所)

研究協力者 阪口 雅弘 (理化学研究所)

研究要旨

ワクチンの副反応発生機序と安全性のための品質確保に関する基礎医学的研究において次のような研究成果が得られた。1) AIK-C 株を生ワクチンウイルスベクターとして外来遺伝子を組み込んだ組換え麻疹ウイルスワクチンを作製した。2) ムンプスの既往歴、ワクチン接種歴があつて急性耳下腺炎の症状を呈し再感染が疑われた症例についてウイルス学的検討を行い、ムンプスウイルスの再感染・顕性発症が存在することを明らかにした。3) ムンプスウイルス感染症におけるワクチン株と野生株を鑑別できる領域に RT-LAMP primers を設定し効率よくムンプスウイルス遺伝子を増幅し鑑別できる方法を確立した。4) ムンプスウイルスの人での神経病原性を調べる動物モデルとして乳飲みラット実験系の妥当性を検討したところ、人の神経病原性と相関する結果が得られ、有望なモデル系であることが判った。5) 風疹ウイルスの5つの遺伝子型の6株において全遺伝子の決定と、8つの遺伝子型を代表する26株のNSプロテアーゼ(NSP)、SGプロモーター(SGP)の解析を行った。6) Toll-like receptor (TLR) 3のリガンドとして知られる二重鎖RNAを経鼻インフルエンザワクチンのアジュバントに用いることにより、自然免疫を誘導し粘膜免疫を成立させることが判った。7) 不活化全粒子インフルエンザワクチンの経気道接種を人で行い、抗原特異的な抗体産生およびリンパ球増殖反応が見られた。8) 国産および海外のDTaPワクチンを用いて、ワクチン接種局所における反応原性の比較、評価を行うためのマウスモデルを開発した。9) マウスのDTaP接種群において、DTaP抗原特異的なTh2系サイトカイン(IL-4, IL-5)産生増加を認めた。

A. 研究目的

感染症から国民の健康を守るためには、安全で効果的なワクチンが不可欠である。特にワクチン接種率を増加されるためには、より安全なワクチンが求められている。本研究は、より安全で効果的なワクチンへの改良・開発のために、ワクチンの副反応発生機序と安全性のための品質確保に関する基礎医学的研究を行うことが目的である。具体的な各研究の目的として1) ワクチンが開発されていないウイルス、または現行ワクチンでは有効性・安全性に問題があるウイルスに対して、製造承認され広く使用され安全性の保証されているAIK-C株を生ワクチンウイルスベクターとして外来遺伝子を組み込んだワクチンを作製することを目的とした。2) ムンプスウイルスは、急性耳下腺炎をおこし、自然感染後には終生免疫を獲得し耳下腺炎を繰り返すことは無いと考えられてきた。一方、臨床的には急性耳下腺炎を繰り返す児を経験する事は多く、再発性耳下腺炎として曖昧な診断がなされている。急性耳下腺の原因としてはムンプスウイルス以外にサイトメガロウイルス、パラインフルエンザウイルス等のウイルス感染症

の他にも唾液腺石による閉塞、細菌性感染を鑑別診断すべきである。ムンプス自然感染における無菌性髄膜炎の頻度を調査した際に、ウイルス学的にムンプス感染症と診断された 1075 例におけるムンプス再感染例の有無について検討した。3) ムンプスワクチンは任意接種のワクチンとして使用されているが接種率は低くムンプスは毎年流行を繰り返している。無菌性髄膜炎の頻度は約 3,000-10,000 接種機会に 1 例の頻度であると報告されている。野生株の流行があるなかでワクチン接種を行うことから、ワクチン接種後の副反応症例の中には野生株による反応が紛れ込んでくる可能性がある。ワクチン株と野生株を効率よく簡便に鑑別できる方法が必要である。4) 新しいムンプスワクチンを開発するため、さらに現行ワクチンの安全性確認のためにも、ヒトでの神経病原性を鋭敏に閏知する実験系が必要とされている。本研究ではムンプスウイルスのヒトでの神経病原性を調べる動物モデルとして乳飲みラット実験系の妥当性を検討した。5) 風疹ウイルスの地域、時代による違いを分子疫学的に知るために、これまでに分離された風疹ウイルスの遺伝子型間の関係を明らかにすることを目的とした。本研究では 5 つの遺伝子型の全遺伝子の決定と、8 つの遺伝子型を代表する株の NS プロテアーゼ (NSP)、SG プロモーター (SGP) の解析を行った。6) ワクチンにおいて高い免疫応答を誘導するにはアジュバント併用が不可欠である。これまで、有効なアジュバントとしてコレラトキシンや大腸菌易熱性毒素やその変異体がいわれてきたが、その使用については安全性に疑念がでており、新たな安全性の高いアジュバントが求められている。そこで TLR3 を介して自然免疫を活性化する事が知られている合成二重鎖 RNA, poly(I:C) を経鼻アジュバントとしての効果を検討した。7) 乳幼児に対する有効なインフルエンザワクチン開発は重要な課題の 1 つである。インフルエンザ virion はその構造自体に adjuvant 活性があることが知られ、adjuvant 無添加でも有効な免疫原性を発揮することが期待される。今回は delivery route として咽頭・気管を考え、吸入による接種を試み、それに対する免疫応答について検討した。8) DTaP 接種時の局所反応は米国、カナダ、オーストラリア等の海外でも問題となっている。信頼性の高い局所反応原性評価には動物モデルが必要である。今回、国産の DTaP および海外の DTaP ワクチンを用いて、ワクチンの局所反応原性の比較、評価をマウスモデルを使って検討した。9) 近年、百日咳感染防御には液性免疫のみならず、細胞性免疫の重要性が指摘されている。現在わが国で使用されている acellular pertussis vaccine を含む D T a P 三種混合ワクチン接種後の百日咳に対する免疫応答のメカニズムを T h 1 / T h 2 反応の面からマウスを用いて検討した。

B. 結果と考察

1) 外来性蛋白を発現する組み換え麻疹 AIK-C 株の確立

麻疹ワクチン AIK-C 株は Vero 細胞に small plaque を誘導し、39-40°C の増殖は 33°C の 1 万分の 1 という温度感受性 (temperature sensitivity; ts) を有している。Vero 細胞に small plaque を作り細胞融合能が低いことは F 蛋白 278 位のアミノ酸が Leu であること、ts の性状は P 蛋白 439 位の Pro が AIK-C の生物学的性状を担っていることを報告してきた。製造承認され広く使用され安全性の保証されている AIK-C 株を生ワクチンウイルスベクターとして P/M

junction に外来遺伝子約 3000 塩基 (GFP 遺伝子、 β gal、ムンプスウイルス HN) を組み込んだ組換え麻疹ウイルスワクチンを作製できた。未だ有効なワクチンが開発されていないウイルス感染症に対する応用が考えられる。

2) ムンプスウイルスは再感染・顕性発症することがある

ムンプスウイルスは、急性耳下腺炎をおこし、自然感染後には終生免疫を獲得し耳下腺炎を繰り返すことは無いと考えられてきた。臨床的にはムンプス再感染が強く疑われる症例を経験する事は多く、耳下腺腫脹を認め来院した児で既往歴、ワクチン接種歴を有し再感染が疑われた症例を検討した。血清 Ig G EIA avidity を測定し、再感染と考えられた症例の咽頭拭い液からウイルス分離、遺伝子が検出されることが明らかとなった。既往歴のある再感染例では血清 LAMP 陽性率が低くウイルス血症をおこしにくいと考えられたが、ワクチン接種歴を有する再感染例は初感染と同様ウイルス血症が認められる。ウイルス学的にもムンプスウイルスの再感染による顕性発症が認められる事が明らかとなった。

3) RT-LAMP 法を用いたムンプスウイルス星野株と野生株との鑑別

ムンプス星野ワクチン株と野生株の鑑別は、臨床検体から RNA を抽出し RT-PCR を行い特異的な制限酵素を用いてその切断パターンで判定する RT-PCR RFLP を行ってきた。RT-PCR 法よりも感度の高い RT-LAMP 法を開発し、ワクチン株と野生株を鑑別できる領域に RT-LAMP primers を設定し、検出感度は 0.03TCID₅₀/sample であった。臨床検体からウイルス RNA を抽出し LAMP 反応、Sca I 制限酵素処理、電気泳動と一連の操作は約 2 時間で最終判定できる。ワクチン接種後の副反応例の判定を容易なものとし精度の高い市販後調査を行うことができる。

4) ムンプスウイルス、おたふくかぜ生ワクチンの神経病原性評価

わが国のおたふくかぜワクチンによる無菌性髄膜炎の発生頻度は、自然感染した場合に起こる頻度に比べれば十分に低いものである。しかしながら、海外で用いられているおたふくかぜワクチンの多くに含まれる Jerryl-Lynn 株の副反応発生率は、それよりはるかに低い。国産のおたふくかぜワクチンは、かつてムンプスワクチン研究班が主体となって乳飲みハムスターの脳内接種実験で Jerryl-Lynn 株より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 Jerryl-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。そこで、新たな試験方法導入を目指して米国 FDA の Rubin らによって研究された乳飲みラット実験系の妥当性を検討した。無菌性髄膜炎発症頻度の高い野外株 2 株と低いワクチン株 2 株を乳飲みラットの脳内に接種したところ、確かに野外株では水頭症の発症頻度が 40~75%、ワクチン株である国産 A、B 株と海外 Jerryl-Lynn 株では 0%になり、ヒトの神経病原性と相関する結果が得られ、有望な試験方法であることが判った。

5) 風疹ウイルス分離株の多様性について

風疹ウイルスの遺伝子型間の関係を明らかにするために、5つの遺伝子型の6株において全

遺伝子の決定と、8つの遺伝子型を代表する26株のNSプロテアーゼ(NSP)、SGプロモーター(SGP)の解析をおこなった。既に全遺伝子配列が報告されている2つの遺伝子型の10株とともに、総計7つの遺伝子型の16株において比較した結果、ともに同じ長さの2つのORFと3つの非翻訳領域があった。ただ遺伝子型2Aの2株においてSGP領域において1塩基短かった。塩基配列において遺伝子の最大の変異は9%であった。NSP1, SGP および E1 領域で8遺伝子型の42株で系統樹を調べたところ、全て同じ系統樹が書けた。以前はE1領域のみの報告であったがNSP1, SGP, E1ともに風疹ウイルスの全体、組み換え、進化を理解するのに有用であることがわかった。興味深いことは遺伝子型2Aに加えて、遺伝子型1BにおいてSGP領域に僅かの変異が見られた。したがってSGP領域が遺伝子型を決めるのに有用なことが示唆された。さらにE2領域でClade 1に反応するモノクローナル抗体がClade 2(遺伝子型2A, 2Bおよび2C)のどのウイルスとも反応しないことがわかり、2つのCladeの鑑別がウエスタンブロット法で可能なことがわかった。

6) 合成二重鎖RNA [poly(I:C)] をアジュバントとして用いた経鼻インフルエンザワクチンによる感染防御

インフルエンザワクチンで交叉防御効果が期待される分泌型IgAを粘膜上に誘導する為にはワクチンの粘膜への投与が不可欠であり、またワクチンと同時にアジュバントの併用が必要である。今回我々はToll-like receptor (TLR) 3のリガンドとして知られる二重鎖RNAを経鼻インフルエンザワクチンのアジュバントに用いその分泌型IgA及びIgG抗体誘導能、感染防御能についてマウスのインフルエンザモデルを用いて検討した。Poly(I:C)アジュバントをPR8(H1N1)ワクチンと共にBALB/cマウスに経鼻接種を行うことにより鼻腔洗浄液中にPR8のHA特異的なIgA及び血清中にIgGを誘導することができさらにチャレンジウイルス感染に対し感染を完全に防御することが可能であった。さらにワクチン株とチャレンジ株が異なる場合においても交叉防御能が見られた。合成二重鎖RNAはTLR3を介し自然免疫を誘導し粘膜免疫を誘導できることがわかった。

7) 経気道不活化全粒子インフルエンザワクチン被接種成人および年長児における特異的免疫応答の経時的推移

成人9例、年長児3例を対象として、高度精製フォルマリン不活化influenza virion (R (Duck/Mongolia/54/01 -Duck/Mongolia/47/01) (H5N1)) 500 µg 蛋白をネブライザーを用いて吸入接種し、さらに4週間後に同様の追加接種を行った。接種前に1回目の耳下腺唾液、末梢血検体採取を行い以後2週間毎に検体を継続的に採取し合計5回、2ヶ月間のfollow upを行った。耳下腺唾液はStensen's ductよりLashley cupを用いて採取した。血清HI抗体価が全く誘導されなかったが唾液ELISA IgA, IgGについてはいずれも12例中10例でH5N1抗原に対して陽性反応が検出され、今回の免疫ルートが少なくとも粘膜免疫について一次抗体応答反応を効率的に誘導できる可能性を強く示唆した成績であった。細胞性免疫反応については、H5N1に対しても比較的高い特異的リンパ球活性が検出された。

8) 沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン(DTaP)局所反応原性評価モデル

海外および国産の DTaP をマウス足蹠皮下、ウサギ背部皮内およびマウス大腿筋にそれぞれ 0.05ml、0.1ml または 0.05ml 接種し、経日的に腫脹あるいは炎症を観察した。さらにそれぞれ接種 5 日、21 日あるいは 28 日目に接種局所の病理組織学的検討を行った。その結果、動物種（ウサギ、マウス）、接種量（2.5 ml/kg、0.04 ml/kg）および接種部位（足蹠皮下、背部皮内、大腿筋）によらず、国産ワクチンに比べて海外ワクチンで一貫して強い炎症が観察された。こうした炎症像の差はワクチンの性状の違いを反映しており、人においても同様の違いが認められる可能性が高い。このような詳細な比較、評価は臨床的には不可能である。今回のような違いが観察できる条件下で、既存の最も安全なワクチンとの同等性確認を臨床試験の許可条件とすることで、一旦実現した安全性が以降のワクチンで一貫して保持されることになる。

9) DTaP三種混合ワクチン接種後のTh1/Th2反応

BALB/c マウス（6 週齢）をDTaP接種群とコントロール群（生理食塩水接種）にわけ、大腿内側に4週間隔で計2回0.1mlを筋注した。2回接種4週後、脾臓よりリンパ球を分離し非特異的刺激としてPHA、百日咳特異的刺激としてPT、FHA、及びDTaP自体と共に37℃、5%CO₂にて培養し、72時間後に培養上清を採取しIFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-10をELISA、フローサイトメーターにて測定した。DTaP接種群のDTaP抗原で刺激をしたリンパ球において、Th2系サイトカイン（IL-4、IL-5、IL-10）分泌増加を認めた。今回の実験結果においては、DTaP接種は、液性免疫（Th2反応）を優位に誘導した。

発表論文

1. Okafuji T, Yoshida N, Fujino M, Motegi Y, Ihara T, Ota Y, Notomi T, Nakayama T. Rapid diagnostic methods for detection of mumps virus genome by loop-mediated isothermal amplification. *J Clin Microbiol* 43: 1625-1631, 2005
2. Kuroiwa Y, Nagai K, Okita L, Yui I, Kase T, Nakayama T, Tsutsumi H. A phylogenetic study of human respiratory syncytial viruses group A and B strains isolated in two cities in Japan from 1980-2002. *J Med Virol* 76: 241-247, 2005
3. Fujino M, Yoshida N, Yamaguchi S, Hosaka N, Ota Y, Notomi T, Nakayama T. A simple method for the detection of measles virus genome by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *J Med Virol* 76: 406-413, 2005
4. Jin L, Rima B, Brown D, Orvell C, Teclé T, Afzal M, Uchida K, Nakayama T, Song J-W, Kang C, Rota PA, Xu W, Featherstone D. Proposal for genetic characterisation of wild-type mumps strains: preliminary standardisation of the nomenclature. *Arch Virol* 150: 1903-1909, 2005
5. Ushio M, Yui I, Yoshida N, Fujino M, Yonekawa T, Ota Y, Notomi T, Nakayama T. Detection of respiratory syncytial virus genome by subgroups-A, B specific reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *J Med Virol* 77:

121-127, 2005

6. Komase K, Nakayama T, Iijima M, Miki K, Kawanishi R, Uejima H. The phosphoprotein of attenuated measles AIK-C vaccine strain contributes to its temperature-sensitive phenotype. *Vaccine* 24: 826-834, 2006
7. Uejima H, Nakayama T, Komase K. Passage in Vero cells alters the characteristics of measles AIK-C vaccine strain. *Vaccine* 24: 931-936, 2006
8. Yoneyama M, Kikuchi M, Matsumoto K, Imaizumi T, Miyagishi M, Taira K, Foy E, Loo Y-M, Gale JM, Akira S, Yonehara S, Kato A, Fujita T. Shared and Unique Functions of the DExD/H-Box Helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in Antiviral Innate Immunity. *J Immunol* 175:2851-2858, 2005
9. Sakaguchi T, Kato A, Sugahara F, Shimazu Y, Inoue M, Kiyotani K, Nagai Y, Yoshida T. AIP1/Alix is a binding partner of Sendai virus C protein and facilitates virus budding. *J Virol* 79:8933-8941, 2005
10. Kubota T, Yokosawa N, Yokota S, Fujii N, Tashiro M, Kato A. Mumps virus V protein antagonizes interferon without the complete degradation of STAT1. *J Virol* 79:4451-4459, 2005
11. Ali M, Ushijima H. Perception of men on role of religious leaders in reproductive health issues in rural Pakistan. *J Biosoc Sci* 37: 115-122, 2005.
12. Phan TG, Okame M, Nguyen TA, Nishimura S, Nishimura T, Yamamoto A, Okitsu S, Ushijima H. Genetic diversity of sapovirus in fecal specimens from diarrheal children in Japan during 2002 and 2003. *J Med Virol* 150: 1415-1424. 2005
13. Yagyu F, Ushijima H. Determination of HIV-1 subtypes (A-D, G, CRF01_AE) by PCR with novel designed primers. *J Med Virol* 76:16-23, 2005.
14. Oka T, Katayama K, Ogawa S, Hansman G, Kageyama T, Ushijima H, Miyamura T, Takeda N. Proteolytic processing of sapovirus ORF1 polyprotein. *J Virol* 79: 7283-7290, 2005.
15. Ali M, Hotta M, Kuroiwa C, Ushijima H. Emergency obstetric care in Pakistan: potential for reduced maternal mortality through improved basic EmOC facilities, services, and access. *Int J Gynecol Obstetrics* 91: 105-112, 2005.
16. Phan TG, Nguyen TA, Yan H, Okitsu S, Ushijima H. A novel RT-multiplex PCR for enterovirus, hepatitis A and E viruses and influenza A virus among infants and children with diarrhea in Vietnam. *Arch Virol* 150: 1175-1185, 2005
17. Phan TG, Okame M, Nguyen TA, Nishio O, Okitsu S, Ushijima H. Genetic diversity of sapovirus in fecal specimens from infants and children with acute gastroenteritis in Pakistan. *Arch Virol* 150: 371-377, 2005
18. Hansman GS, Natori K, Oka T, Ogawa S, Tanaka K, Nagata N, Ushijima H, Takeda