

厚生労働省科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

（分担）研究報告書

予防接種で予防可能疾患の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究 『2006 年の北海道、青森県 25 施設における水痘、帯状疱疹、ムンプス、肺炎球菌感染症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、および青森県立中央病院小児科における水痘、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16～17年度に引き続いた調査であるが、道外の青森県立中央病院を加えた。水痘による入院は10機関から報告され全29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16機関から報告され合計69症例であった。肺炎球菌感染症については11施設から162例の報告があったが、化膿性髄膜炎は1例、敗血症1例、急性中耳炎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

平成16～17年度は一昨年度は、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、全道において、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。この調査を継続し、信頼性の高いものとする。

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、および青森県立中央病院小児科に、アンケート調査を依頼した。内容は2006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。参考として、インフルエンザ菌感染症に付いても問うた。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。

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13名から1,375名に及んだが、合計では18,131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、1～9名までの少ない入院数であった。水痘の入院数の合計は30名で、総入院数の0.17%、帯状疱疹の入院数は合計8名で、総入院数の0.04%、ムンプスの入院は合計69名で総入院数の0.38%であった。

続いて水痘、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30名のうち重症のためが15名と最多であり、次に他疾患にて入院中の発症が10例みられた。帯状疱疹による入院の8例中6例が重症化のためであるが、札幌医大病院における5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。

ムンプスによる小児科入院69名の入院理由を表4に示す。やはり無菌性髄膜炎が35名と最も多く過半数を占めた。次に重症化のために18名であった。

肺炎球菌感染症による入院は12機関より合計162名が報告されたが、施設ごとの報告数は1〜44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1例、敗血症が1例あり、他に、急性中耳炎16例が含まれた。(表2)。

D. 考察

今回は一昨年〜昨年度(平成16〜17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。更に、青森県立病院小児科にも依頼した。回答率100%で、総入院数は18,131名と、一昨年〜昨年をやや上回った。

水痘による入院は30症例と昨年の27症例とほぼ同等であった。帯状疱疹による入院は8名と昨年と同数であって少なく、更にその過半数の5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帯状疱疹の重要度はそれ程高くないことが昨年同様に確認できた。

ムンプスによる入院は69症例と、一昨年の24、昨年の38症例を大きく上回ってほぼ倍であり、流行があったことが窺えた。入院の直接の理由では無菌性髄膜炎が過半数であったことは同様であった。入院数が増えたものの睾丸炎や難聴の合併は報告されず、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162例の報告があったが、化膿性髄膜炎は1例、敗血症1例と少なめであった。報告数に付いては施設毎に大きな差が見られており、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、気管支炎など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150名前後、ムンプスによるものは350名前後、肺炎球菌による髄膜炎、敗血症は10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。

後1〜2年同様の調査を続行し、流行の推移を見ることのできる数年間の調査としてまとめ、信頼性の高いものとする。

E. 結論

平成16〜17年に続き、北海道内における平成18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。ムンプスの流行を確認した。他は、ほぼ平成16〜17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。

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表

第10回日本ワクチン学会(2006.10.21-22)
田中香織、堤 裕幸。2005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

H. 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、青森県立病院小児科における水痘、带状疱疹、ムンプス、肺炎球菌感染症による入院（2006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	2	5	1	1	616
NTT東日本札幌	3	1	6	10	1,186
国立西札幌病院	1		4	5	700
札幌社会保険総合 斗南病院	2		6 2	23	1,047 517
道立小児センター				2	512
恵庭第一病院			2		80
小樽協会病院	9	1	6		1,013
市立函館病院				19	1,200
町立松前病院			1		77
道立江差病院			2		384
八雲総合病院			3	44	692
市立室蘭総合病院	1		9	1	745
苫小牧市立病院	4		4		1,375
浦河赤十字病院	1		2		661
岩見沢市立病院					957
町立南幌病院					13
砂川市立病院					895
滝川市立病院	6	1	5	36	890
旭川赤十字病院			5		800
留萌市立病院	1		6	14	590
公立芽室病院				7	257
市立釧路病院				7	1,250
町立別海病院					356
青森県立病院			5		1,318
合計	30 (0.17%)	8 (0.04%)	69 (0.3%)	162 (0.89%)	18,131

表2 水痘、帯状疱疹による小児科入院の直接の理由の主なもの

水痘：30名		帯状疱疹：8名
重症：	15	重症化：6
水痘による基礎疾患の増悪：	3	
他疾患にて入院中に発症：	10	

表3 ムンプスによる小児科入院の直接の理由の主なもの

ムンプス：69名	
重症：	18
合併症：無菌性髄膜炎	35
脱水症	5

表4 肺炎球菌感染症の疾患名の主なもの

肺炎球菌感染症：162名	
化膿性髄膜炎：	1
敗血症：	1
肺炎：	68
咽頭扁桃炎：	17
急性中耳炎：	16
気管支炎：	11
常在菌：	30

予防接種で予防可能疾患の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究

肺炎球菌感染症及び肺炎球菌ワクチンに関する研究

分担研究者 大石和徳、大阪大学微生物病研究所

研究要旨：

1) 84名の慢性肺疾患患者に対して、肺炎球菌ポリサッカライド(PV)を接種し、接種前と接種2年後まで血清を採取し、血清型6B, 14, 19F, 23Fの特異的IgG抗体濃度を第三世代ELISAで測定した。対象者の31%にPV接種に対する低応答者が存在し、これらの患者には初回接種後3年以内のPVの再接種が必要と考えられた。

2) 慢性肺疾患患者を対象に、PVとインフルエンザワクチン(IV)併用群(87名)とIV単独群(81名)にランダムに振り分け、PV接種後2年間における各群の急性増悪、肺炎エピソードについて比較検討した。肺炎未発症頻度には差はなかったが、急性増悪未発症頻度($P=0.0055$)、感染による急性増悪未発症頻度($P=0.0043$)はPV+IV併用群で有意に低かった。また、これらの効果はPV接種1年後に認められた。PV+IV併用接種により慢性肺疾患の急性増悪が予防できることが明らかになった。

今後、PVとIVによる併用接種の効果が高齢者全体において認められれば、高齢者におけるPVの定期接種(二類疾病)への導入が期待できる。

A. 研究目的

肺炎球菌は成人の肺炎や慢性肺疾患患者における急性増悪の主要な原因菌である。しかしながら、肺炎球菌ポリサッカライドワクチン(PV)による肺炎や慢性肺疾患における急性増悪の予防効果に関する一定の見解は未だ得られていない。従って、PV接種による肺炎や急性増悪の発症予防効果、その医療経済的効果を明らかにすることは重要である。

本研究では、慢性肺疾患患者におけるPV接種後の血清中特異IgG抗体産生応答とその維持、とりわけ低応答者について検討し、慢性肺疾患患者における今後のPV再接種の是非を明らかにする。さらに、

本邦における慢性肺疾患患者を対象として、PVとインフルエンザワクチン(IV)の併用効果について明らかにする。

B. 研究方法

1) 慢性肺疾患84症例を対象とし、PV(ニューモボックス[®])の接種前と接種1ヶ月後、6ヶ月後、1年後、2年後に血清を採取した。血清型6B, 14, 19F, 23Fの特異的IgG抗体濃度を第三世代ELISAで測定した。ワクチン接種後少なくとも一つの血清型のIgG濃度が前値の2倍以上である場合を応答者とし、4つの血清型すべてで抗体濃度が2倍以下の上昇にとどまる症例を低応答者と定義した。

2) 慢性肺疾患患者を対象に、PVとIV併

用群 (87 名 : 平均 68 歳) と IV 単独群 (81 名 : 平均 70 歳) にランダムに振り分け、PV 接種 2 年間における各群の慢性肺疾患の急性増悪、感染性急性増悪、肺炎球菌による急性増悪、肺炎、死亡エピソードについて検討した。PV は PV+IV 群において、登録時に接種した。一方、IV は、PV+IV 群および IV 単独群において毎年 11 月に接種した。結果は両群における肺炎、感染性急性増悪、肺炎球菌による急性増悪の発症エピソードおよびそれぞれの未発症率 (%) を比較した。

いずれの臨床研究においても、研究参加者には研究参加による不利益、危険性の排除を説明し、また本人から文書によるインフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

1) 慢性肺疾患患者の 90% 以上の症例の PV 接種前の血清中特異 IgG 濃度はいずれの血清型においても 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であった。PPV 接種 1 ヶ月後には、いずれの血清型においても特異 IgG 濃度は接種前に比較して有意に増加した。84 症例中、26 例 (31%) が低応答者であった。両群間において、年齢、性別、疾患頻度とステロイド使用頻度については差が認められなかった。低応答者では PPV 接種前の特異的 IgG 濃度が応答者より高い傾向が認められた。また、応答者では PPV 接種 1 ヶ月後の特異的 IgG 濃度がいずれの血清型においても有意に増加したのに対し ($P < 0.01$)、低応答者では血清型 14 において血清型特異 IgG 濃度の有意な増加を認めたものの ($P < 0.05$)、血清型 6B、19F、23F において有意な増加は認められなかった。PPV 接種後の特異 IgG 濃度は、PPV 接種 1 ヶ月

後から 6 ヶ月後までに速やかに減少した。特異 IgG 濃度が接種前のレベルに低下するまでの期間は、血清型 6B で 0.5 年、血清型 19F で 0.6 年、血清型 23F で 1.7 年、血清型 14 では 6.9 年であった。

2) PV および IV 接種後から 2 年間における、慢性肺疾患の急性増悪、感染性急性増悪、肺炎球菌による急性増悪、肺炎、死亡エピソードのうち、感染性急性増悪エピソードについては PV+IV 群では IV 群と比較して有意に少なかった ($P = 0.019$)。しかしながら、他の項目については明らかなエピソード数の差は認められなかった。

また、それぞれの未発症頻度について 2 群間で比較したところ、肺炎未発症頻度は $P = 0.207$ で差はなかった。しかしながら、急性増悪未発症頻度は $P = 0.0055$ 、感染による急性増悪未発症頻度は $P = 0.0043$ で有意に PV+IV 併用群でその頻度は低い結果であった。また、PV+IV 併用群における急性増悪発症の有意な低下は PV 接種 1 年後に認められることも明らかになった。

D. 考察

慢性肺疾患患者の血清中の血清型特異的 IgG 濃度は PV 接種 1 ヶ月後に有意に増加し、接種 6 ヶ月後までに急速に減衰した。血清型 14 に比較して、弱ワクチン抗原である血清型 6B、19F、23F では速やかな特異的 IgG の減衰が認められた。本研究の最も重要な所見は、応答者と低応答者における特異 IgG 濃度の動態が明らかに異なる点である。今回の成績は慢性肺疾患患者に対する初回接種後 3 年以内の再接種の必要性を示唆している。

2) 慢性肺疾患患者において、PV と IV 併用接種により、IV 接種群に比較して感染に伴う急性増悪の予防効果があることが明らかになった。しかも、この効果は PV 接種後 1 年間に有意に認められた。肺炎球菌による急性増悪頻度の差は両群間に認められなかったものの、慢性肺疾患患者においては PV+IV 併用接種によりインフルエンザウイルス感染後の肺炎球菌による急性増悪の発症が予防できることが推察される。

E. 結論

1) 慢性肺疾患患者の 31 %に PV 接種に対する低応答者が存在し、これらの対象者には初回接種後の 3 年以内の PV の再接種が必要と考えられた。

2) 慢性肺疾患患者において、PV と IV 併用接種により、IV 単独群に比較して急性増悪発症頻度の有意な減少が認められた。この発症予防効果は PV 接種 1 年後に有意であった。今回の結果から、PV+IV 併用接種により慢性肺疾患の急性増悪が予防できることが明らかになった。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Oishi K, Yoshimine H, Watanabe H, Watanabe K, Tanimura S, Kawakami K, Iwagaki A, Nagai H, Goto H, Kudoh S, Kuriyama T, Fukuchi Y, Matsushima T, Shimada K, Matsumoto K, and Nagatake T. Drug-resistant genes and serotypes of pneumococcal strains of community-acquired pneumonia among adults in Japan. *Respirology*,

11:429-436, 2006

2. Masaki H, Nagatake T, Asoh N, Yoshimine H, Watanabe H, Watanabe H, Oishi K, Rikitomi N, Matsumoto K. Significant reduction of nosocomial pneumonia after introduction of disinfection of upper airways using povidone-iodine in geriatric wards. *Dermatology*. 212(suppl1):98-102, 2006

3. Qin L, Watanabe H, Yoshimine H, Guio H, Watanabe K, Kawakami K, Iwagaki A, Nagai H, Goto H, Kuriyama T, Fukuchi Y, Matsushima T, Kudoh S, Shimada K, Matsumoto K, Nagatake T, Oishi K. Antimicrobial susceptibility and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolated from patients with community-acquired pneumonia and molecular analysis of multidrug-resistant serotype 19F and 23F strains in Japan. *Epidemiol. Infect* 134:1188-1194, 2006

4. Kurita S, Koyama J, Onizuka S, Motomura K, Watanabe H, Watanabe K, Senba M, Michael A, Apicella MA, Murphy TF, Matsushima K, Nagatake T, Oishi K. Dynamics of dendritic cell migration and the subsequent induction of protective immunity in the lung after repeated airway challenges by nontypeable *Haemophilus influenzae* outer membrane protein. *Vaccine* 24: 5896-5903, 2006.

5. Qin L, Watanabe H, Asoh N, Watanabe

- K, Oishi K, Mizota T, and Nagatake T. Antimicrobial susceptibility and genetic characteristics of *Haemophilus influenzae* isolated from patients with respiratory tract infections between 1987 and 2000, including β -lactamase-negative ampicillin-resistant strains. *Epidemiol Infect*, 2006.
6. Chen M, Hisatomi Y, Furumoto A, Kawami K, Masaki H, Nagatake T, Sueyoshi Y, Iwanaga T, Aizawa M, Oishi K. Comparative immune response of patients with chronic pulmonary diseases during the 2-year period after pneumococcal vaccination *Clin. Vac. Immunol* 14:139-145, 2007
7. Koyama J, Ahmed K, Zhao J, Saito M, Onizuka S, Oma K, Watanabe K, Watanabe H, Oishi K. Strain-specific pulmonary defense achieved after repeated airway immunizations with non-typeable *Haemophilus influenzae* in a mouse model. *Tohoku J Exp Med.* 211:63-79, 2007
8. 大石和徳. 急性呼吸器感染症(ARI)の今日的視点. *感染・炎症・免疫* 36(4) 266-273, 2006.
9. 肺炎球菌ワクチンによる肺炎制御戦略 大石和徳. *分子呼吸器病*. 10(6): 443-448, 2006.
10. 内田隆一、大石和徳. 新しいワクチンの開発. *総合臨床*. 55(12):2802-2807, 2006.
11. 川上健司, 大石和徳. 肺炎球菌ワクチン. *クリニカルプラクティス*. 125(3) 188-191, 2006
12. 川上健司, 大石和徳. 特集 ワクチンの今日の問題点:肺炎球菌ワクチン. *化学療法の領域* Vol.22 No.9 65-69. 2006
2. 学会発表
1. 大石和徳: 肺炎球菌ワクチンの現在と未来: 耐性菌克服のための戦略. 第54回日本化学療法学会総会, 京都, 2006年5月18-19日.
2. Oishi K, Chen M, Yoshimine H, Ssali F, Kityo C, Mugenyi P. Pneumococcal conjugate vaccine improves the reduced or impaired serum opsonic activity of HIV-infected adults. US-Japan Cooperative Medical Science Program: Acute Respiratory Infections (ARI) Panel: January 22-23, 2007, Osaka, Japan
3. Furumoto A, Sueyashi T, Aizawa H, Okusa Y, Oishi K. Additive effects of pneumococcal polysaccharide vaccine in combination with influenza vaccine on acute exacerbation in patients with chronic lung diseases. US-Japan Cooperative Medical Science Program: Acute Respiratory Infections (ARI) Panel: January 22-23, 2007, Osaka, Japan
4. Oishi K. Acute respiratory infections in Asian countries. The 1st Thailand-Japan Forum on Infectious Diseases. Jan 29-30, 2007, Bangkok

Thailand

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

人口動態統計と感染症発生動向調査からみた日本脳炎患者・死亡者の発生の動向とワクチンの必要性に関する研究

分担研究者 宮崎千明 福岡市立西部療育センター・センター長

研究要旨

ワクチン導入前の1947年から特別対策がとられた1960年代半ばまでの日本脳炎死亡者は15歳未満に集中していた。それ以後は高齢者の死亡者数が小児のそれを上回り、現在に至っている。従ってワクチン未接種世代が小児で蓄積され、かつ年齢が上がれば、かつての流行パターンに戻り、発症率が上昇することが危惧される。

一方、患者発生動向調査から、1982年～2006年までの日本脳炎患者の発生状況を地域別に検討すると、1982年～91年の10年間に比べて1992年～2001年は患者が減少したが、2002年～06年は年間平均発生数がやや増加しており、中四国の減少率が低い傾向が見られた。

A. 研究目的

日本脳炎ワクチンの小児に対する積極的勧奨の差し控えがなされて2シーズンが過ぎた。改めて日本脳炎ワクチンの必要性を明らかにし、ワクチンによる副反応頻度との比較検討が必要である。そのため、以下の3点を目的とした。

- (1)日本脳炎患者の過去の発生動向と死亡統計を年代別、地域別、年齢別に分析し、患者数激減に果たしたワクチンの効果を明らかにする。
- (2)ワクチン以外の減少要因について考察し、今後の後の日本脳炎患者の発生を地域別に予測する。
- (3)患者発生率と日本脳炎ワクチンの副反応の発生率と比較し、予防接種の意義を明らかにする。

B. 研究方法

厚生労働省の人口動態統計から、1947年～1991年までの日本脳炎による年齢別死亡者数の推移より、ワクチン未接種状況における罹患の実態と、ワクチン導入後の変化を検討した。

同じく厚生労働省の感染症サーベイランスや感染症発生動向調査より、1982年～2006年の日本脳炎患者の地域別発生数の動向を検討した。

(倫理面への配慮)

厚生労働省が既に公表したデータを利用した。

C. 研究結果

- (1)人口動態統計の原因別死亡者数統計から、戦後の日本脳炎による死亡者数の推移には3～4回の不連続な減少が見られた。
- (2)1947年～1963年は15歳未満の小児を主体とする流行パターンであった(図1)。1954年から勧奨接種が始まり、その後特別対策がとられ、1963年から1969年の間に死亡年齢層の劇的な変化が見られた(図2)。小児患者の減少に反して、一時、中高年の患者数や割合が増加し(図3)、1970年代以降は現在に至るまで中高年の疾病に変化した(図4)。
- (3)最近の日本脳炎患者動向を1982年から経年的にみると、二桁台の患者発生数であったが、1992年以降1桁台の発生に減少した(感染症発生動向調査)。1982～91年までの10年間(1期)をベースにして、その後の15年間、すなわち1992～2001年(2期)、2002～06年(3期)の患者減少を見ると、年齢差と地域差が見られる(図5)。地域差では、中国・四国地域の減少が他の地域に比べて緩やかであり、九州、中四国が最もリスクが高い。2005年と06年の患者発生報告県を表3に示した。また3期は2期に比較して若干増加に転じている可能性があるの

で注意が必要である。患者の年齢層も、1992年以降(2期・3期)は1期(1982-91年)に比べて小児の減少が顕著で、より中高年中心化している(図6)。

D. 考察

(1)日本脳炎ワクチンの積極的勧奨が差し控えられて2シーズンが過ぎた。心配された小児(3歳)患者が発生し(図6)、今後の日本脳炎対策が改めて検討される重要な時期にある。

(2)厚生労働省の文書に記載された日本脳炎ワクチンの副反応としてのADEM(急性散在性脳脊髄炎)の発生頻度には70万接種に1例～400万接種以上に1例まで、いくつかの数値が整理されないまま並列的に列挙されている。

(3)国は現在、現行のマウス脳を用いた不活化ワクチンの積極的勧奨を一時差し控えているが、定期接種としては残しており、希望者には接種ができるよう配慮を求める通知も平成18年8月末に出されている。しかし、実際には接種数は限られており、出荷数等から判断すると数万接種程度ではないかと思われる。

(4)このまま未接種、未感染症が蓄積されていけば、かつての前ワクチン時代のように小児に日本脳炎が増加してくる危険性が年々高まってくる。2年間の積極的勧奨中止で1例の幼児例が出たが、従前であれば予防接種を行い、発症を防ぎ得た可能性がある。表5にまとめを示した。

(5)既に報告しているが、ワクチン治験の成績から3歳以下の小児の年間感染率は0.07%、脳炎の顕性発症率を0.1%と仮定すれば、発症率は100万人あたり0.7人と推測された。

(6)日本脳炎患者発生が激減する中で、今後、組織培養ワクチンの早期開発とともに、日本脳炎の地域別、年齢別患者発生予測(感染リスク評価)と、予防接種による副反応の発生予測を比較し、日本脳炎ワクチン接種の意義と効果を明らかにできれば、日本脳炎施策に寄与できると思われる。

E. 結論

日本脳炎患者数は年間10例未満と激減し

たが、最近5年間は若干増加する傾向にある。地域差が顕著である。ワクチンの積極的勧奨の差し控えの影響が出始めている可能性があり、差し控えが長びけば、年々発症リスクは上昇する。

F. 研究発表(日本脳炎関連分)

1. 論文発表

(①総説)

- 1) 宮崎千明：日本脳炎とワクチン．小児科臨床59:539-543, 2006
- 2) 宮崎千明：日本脳炎のわが国における現状．小児科47:311-318, 2006
- 3) 宮崎千明：日本脳炎ワクチン．日本医師会雑誌135:2179-2183, 2006

(②著書(分担執筆))

- 1) 宮崎千明：日本脳炎ワクチン接種後の副反応とその対策．改訂予防接種マニュアル．加藤達夫ら編著、2006年p105-112
- 2) 宮崎千明：日本脳炎と日本脳炎ワクチンの今後．予防接種2006．2006年p13-19
- 3) 宮崎千明：日本脳炎ワクチン．予防接種のすべて2006．加藤達夫監修、2006年p78-81
- 4) 宮崎千明：培養型日本脳炎ワクチン．予防接種のすべて2006．加藤達夫監修、2006年p140-142
- 5) 宮崎千明：日本脳炎．日常診療に役立つ小児感染症マニュアル2007．2006年p331-336

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1)人口動態統計による日本脳炎死亡者数の年次推移



図2)昭和30年代における年齢群別日本脳炎死亡者数の変化



図4) 日本脳炎患者の年齢分布
1982-1991年と1992-2006年の比較

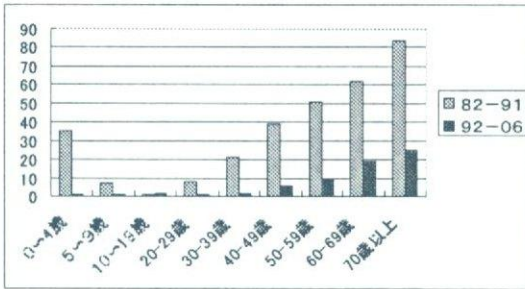


図3) 年齢群別日本脳炎死亡者の年次推移

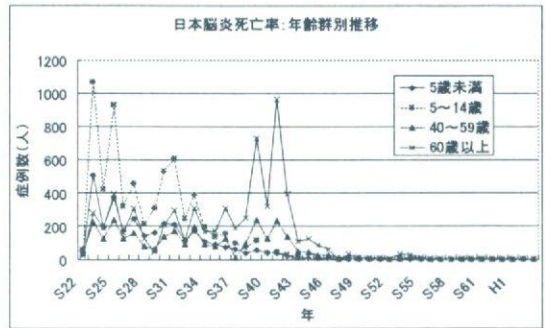


図4) 人口動態統計から見た年齢群別日本脳炎死亡者数の変化

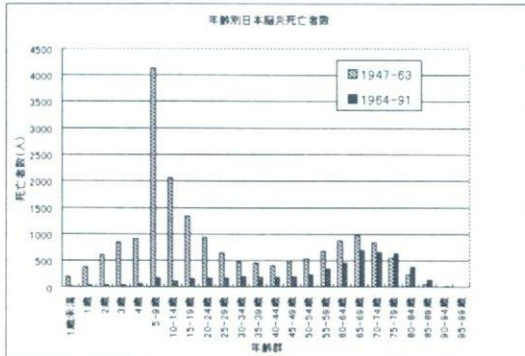


表1) 日本脳炎患者報告数: 地域別・年次別

期間	総数	関東 甲信越	東海・ 北陸	近畿	中国・ 四国	九州・ 沖縄
1982-1991	308	26	21	59	58	144
1992-2001	39	1	3	3	15	17
2002-2006	29	4	2	3	13	11
合計	376	31	26	65	86	172

表2) 日本脳炎患者数:地域別年次にみた減少率

期		全国	関東 甲信越	東海 北陸	近 畿	中国・ 四国	九州・ 沖縄
① 1982- 1991		100%	100%	100%	100%	100%	100%
② 1992- 2001	②/①	12.7%	3.8%	14.3%	5.1%	25.9%	11.8%
③ 2002- 2006	③×2/①	18.8%	30.8%	19.0%	10.2%	44.8%	15.3%

注1:1982-91年(1期)を100としたときの減少率を百分率(%)で表示した。
注2:2002-06年は計5年間なので、他の期(10年間)に合わせるため、患者数を2倍にして除した。

図5) 日本脳炎患者の地域別割合の推移

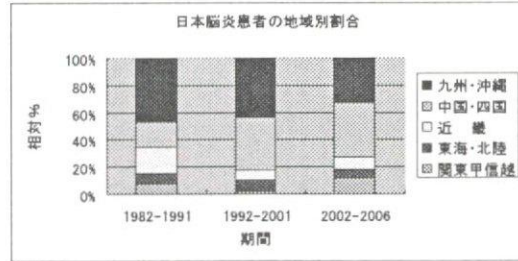


図6) 2006年9月に発症した3歳の日本脳炎患者を
報!ス新聞

山鹿市の男児
日本脳炎発病
今年2人目
濃徳保育園で遊んだ六日、山鹿市の三歳男児が日本脳炎を発病したと発表された。県内の発病者は今年二人目。全国でも三
人目。
同様にやると、男児は九月十日に頭痛や発熱の症状が出て、十一日に山鹿市の医療機関を受診。同日十三日、けいれんが出たため熊本市の医療機関に入院し、血液検査を
検査した結果、日本脳炎と診断された。

男児は入院中で、一時重症だったが、回復に向かっているとのこと。同病は県内で数に達され日本脳炎ウイルスに感染したとみている。

2006年10月7日 熊本日日新聞掲載

表3) 2005-06年の日本脳炎患者報告県

発生地	2005年	年齢・性別	発生地(県)	2006年	年齢・性別
三重県	8月1日	68歳男性	高知	8月14日	46歳・男性
佐賀県	8月18日	65歳女性	熊本	9月 2日	65歳・女性
静岡県	9月15日	32歳男性	熊本	9月 9日	48歳・女性
熊本県	9月19日	72歳男性	熊本	9月10日	3歳・男児
島根県	9月24日	71歳男性	福岡	9月13日	68歳・男性
岡山県	9月12日	58歳男性	福岡	9月 9日	58歳・男性
岡山県	9月23日	77歳女性	島根	9月25日	53歳・女性

表4) 日本脳炎ワクチン接種後ADEM頻度:国の表現

厚労省の文書	記載内容
H17年5月30日付け文書 ・予防接種副反応報告 ・健康被害認定(申請主義)	年間報告数 2003年 6例 2004年 3例 1991年~2005年(H17年4月) 13例(うち重症例4例) 14例目は5例目の重症例
H18年8月31日付け文書 ・予防接種副反応報告 ・健康被害救済(申請主義)	・70万~200万回に1回 (H8-H16 23例) ・平成元年~17年5月まで 17年間で14名(死亡例4例)

※ 1例/400万回より少ない

表5) まとめ 日本脳炎2007

- ・日本脳炎の患者数や死亡者数統計を解析した
- ・1960s、70s、80s、90sと、変化点がある
- ・1970sの減少はワクチン接種が寄与している
- ・1960sまでは5-14歳が頂点、その後中高年主体
- ・最近の減少には地域差がある
- ・1990sに比べて最近の5年間は報告数がやや増
- ・九州、中国・四国は特に要注意である
- ・初期免疫の事実上の中止が継続されれば、感染・発症のリスクは徐々に上昇し、5年を越えると非常に上昇する危険がある

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

水痘ワクチン株の分子学的性状解析

分担研究者 森 康子

医薬基盤研究所・感染制御プロジェクト・チーフプロジェクトリーダー

研究協力者 吉井洋紀

医薬基盤研究所・感染制御プロジェクト

研究要旨 水痘ワクチン株は、mixed populationであることが判明したが、その弱毒化に関しては不明である。ワクチン株弱毒化の機構を解明するため、我々は水痘ワクチンウイルスの単クローンでの分離を試みた。方法は、水痘ワクチンゲノムをbacterial artificial chromosome(BAC)に挿入し、大腸菌内で単クローンを得るという方法により行った。結果、2種類の単クローンを得られ、各々のクローンから再構築されたウイルスは、ワクチン親株と比較し、低いウイルス増殖を示した。

A. 研究目的

水痘ワクチン株 (v-0ka) は、数種のクローンからなるmixed populationであることが、我々の研究により判明した。そこで、各々の独立したクローンを得、更なる解析をすすめるため、v-0ka全ゲノムをBacterial artificial chromosome (BAC) にクローニングし、得られたクローンを用いて、ワクチン株の分子学的性状解析を施行することを目的とした。

B. 研究方法

v0kaゲノムクローニング用BACベクターをMRC-5細胞に遺伝子導入し、その後v0kaウイルスを接種することにより、組換えウイルスを得た。組換えウイルスは感染細胞の物理的選択と薬剤選択により濃縮された。組換えウイルスが混在した細胞からcell free virusを回収した。本ウイルスを

新たなMRC-5細胞に感染させ、再度物理的選択と薬剤選択を行い、組換えウイルスが

より濃縮された感染細胞を得た。本感染細胞より環状v0kaゲノムDNAを回収し、その後大腸菌に形質転換することにより、BACに保持された単クローンのv0kaゲノムDNAを得た。

C. 研究結果

独立して得られたクローン (v-0ka) について水痘ワクチン親株 (p-0ka)、v0ka間でアミノ酸変異を伴う塩基置換が存在する20箇所の配列についてシーケンスを行った。結果、クローン間での変異はORF62にのみ認められ、この相違よりクローンは2つのグループに分けられた。

得られた2グループのクローン (2クローン) について細胞培養系での増殖性を比較するため再構築したウイルス感染細胞からcell free virusを得た。これらのウイルスにおいてInfectious center assayを行いウイルス増殖およびplaque sizeの比較を行った。その結果、両クローンともp0ka

と比較してウイルス増殖性の低下が認められ、plaque sizeも親株と比較して小さかった。

D. 考察

v0kaは少なくとも9種類の異なるクローンのmixtureであるが、本研究で得られたBACクローンはシーケンスの相違から2グループに分類された。

本研究で得られたクローンは制限酵素切断パターンの比較及び感染性ウイルス粒子再構築の結果より、VZVゲノムの全長を含む事が示唆された。これにより本システムは、水痘ワクチン株弱毒化のより詳細な解析

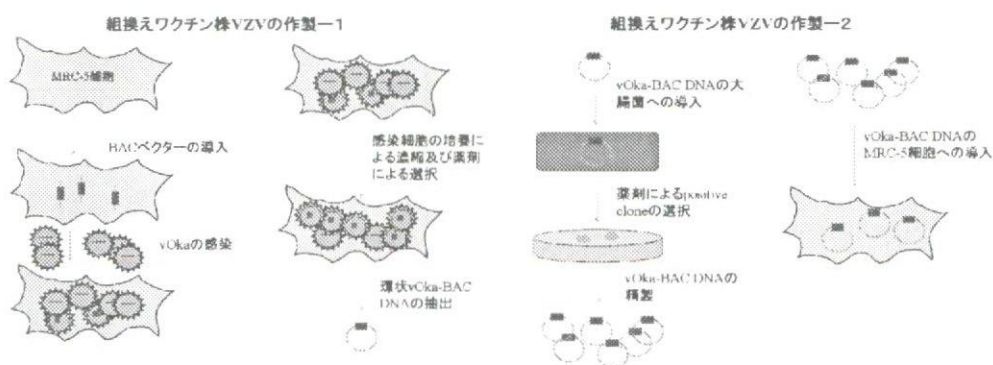
(単独のクローンによる増殖性の比較や変異導入による増殖性減衰の検討)が容易となり、水痘ワクチン株の弱毒化機構の解明に非常に有用であると考えられる。

E 結論

v0kaゲノムをBACにクローニングすることを試み、2グループのv0kaクローンを得た。これらのクローンはORF62においてアミノ酸置換を伴う塩基配列の相違がみられた。これら2クローンより再構築された感染性ウイルス粒子の増殖性は、plaque size、Infectious center assayの結果共にp0kaより低下していた。

F 健康危機情報

特に健康状態に問題はない。



厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

予防接種で予防可能疾患の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究

成人層から分離された百日咳菌の細菌学的解析

分担研究者 蒲地 一成 国立感染症研究所 細菌第二部

研究要旨 近年欧米では百日咳の再興が認められ、その原因は成人層での罹患者数増加とされている。本研究では成人層に罹患する百日咳菌の特性について考察を行うことを目的に、成人層から分離された百日咳菌について主要病原遺伝子 (*ptxS1*, *prn*, *fhaB*, *fim2/3*, *tcf*) ならびに遺伝子型解析を実施した。PFGE による遺伝子型解析の結果、1) 成人分離株は特定の遺伝子型を持たない、2) 成人分離株の遺伝子型は乳幼児分離株のものと等しい、ことが明らかとなった。また、シーケンス解析により、成人分離株の主要病原遺伝子は乳幼児分離株のものと等しいことが判明した。本研究により、成人分離株は乳幼児分離株と同様な遺伝的背景を持つことが指摘され、成人層の患者増加に主要病原因子は関与していないものと考察された。

研究協力者

韓 賢子 (国立感染症研究所 細菌第二部)
豊泉裕美 (国立感染症研究所 細菌第二部)
岡田賢司 (国立病院機構 福岡病院)

A. 研究目的

百日咳は百日咳菌 (*Bordetella pertussis*) の感染によって引き起こされる小児の呼吸器感染症であり、ワクチンの普及とともに世界の百日咳患者数は激減した。しかし、近年欧米では百日咳の再興が認められ、その原因は成人層での罹患者数増加とされている。2004年の米国の報告によると、米国で発生した百日咳患者の27%が成人患者であった。欧米における百日咳再興の詳細は不明であるが、2005年に米国では新たな百日咳対策として成人用百日咳ワクチン (Tdap) の使用を認可した。

百日咳菌は多様な病原因子を持つことが知られており、流行株の主要病原因子 (百日咳毒素、Ptx; パータクチン、Prn; 繊維状赤血球凝集素、Fha; tracheal colonization factor、Tcf; 凝集原、Fim2/Fim3) には遺伝子レベルでの変異が報告されている。欧米では1990年以降ワクチン株と異なる病原遺伝子を持つ百日咳菌 (抗原変異型) が流行株となり、この流行株の入れ替わりが百日咳再興と何らかの関係を持つものと考察されている。この現象は抗原シフトと呼ばれ、患者数の増加が認められていない日本でも欧米と同様に進行中である。

世界的に抗原シフトと百日咳再興時期が一致することから、抗原変異型が成人層に対する新たな感染能力を獲得した可能性が強く示唆される。しかし、いままでに成人層と乳幼児に罹患する百日咳菌の遺伝子的

差異は報告されていない。そこで本研究では成人層に罹患する百日咳菌の特性について考察を行うことを目的に、成人から分離された百日咳菌について主要病原遺伝子ならびに遺伝子型解析を実施した。

B. 研究方法

菌株：わが国の成人患者から分離された百日咳臨床分離株（5株）を解析に供試した（Table 1）。比較対象には、1991-2006年に乳幼児から分離された百日咳臨床分離株（50株）を供試した。

パルスフィールド・ゲル電気泳動：常法に従ってプラグを作製した後、DNAを制限酵素 *Xba*I により切断し、1%アガロースゲルにより分離した。

系統樹解析：PFGEの泳動像をもとに Diversity Database software (PDI)を用いて UPGMA法により行った。

シーケンス解析：百日咳菌の主要病原遺伝子である *ptxS1*, *prn*, *fhaB*, *fim2*, *fim3*, *tcfA* について解析を行った。PCRによる遺伝子増幅後、dye-terminator法により塩基配列を決定した。

（倫理面への配慮）

本研究は分離菌株についての解析であり、ヒト由来の臨床材料を使用しないため、倫理上特段の問題点は発生しない。

C. 結果

わが国の成人層から分離された百日咳菌5株の遺伝子型を解析した結果、これら菌株は異なるPFGEパターンを示し、系統樹解析により菌株間の遺伝的相同性は63-92%と算出された（Fig. 1）。また、乳幼児から分離された百日咳菌（50株）とその遺伝子型を比較したところ、成人分離株に

特異的な遺伝子型は認められなかった。

主要病原遺伝子のシーケンス解析により、成人分離株は5株中4株が *ptxS1B/prn1/fhaB-1/fim2-1/fim3-1/tcfA2*、1株が *ptxS1A/prn2/fhaB-1/fim2-1/fim3-1/tcfA2* の multilocus sequence type (MLST)を持つことが示された（Table 2）。このMLSTを乳幼児分離株のものと比較したところ、成人分離株と乳幼児分離株の間に差は認められなかった（Table 3）。なお、成人分離株の *ptxS1* と *prn* はそれぞれ2種類の allele type を示したが、いずれも乳幼児分離株のものと同じであった（*ptxS1A*, *ptxS1B*; *prn1*, *prn2*）。また、その他の病原遺伝子は成人ならびに乳幼児分離株ともに1種類の allele type（*fhaB-1/fim2-1/fim3-1/tcfA2*）のみを示した。

D. 考察

本研究では、成人層に罹患する百日咳菌の特性について考察することを目的に、わが国の成人から分離された百日咳菌について遺伝子解析を実施した。その結果、成人分離株は乳幼児分離株と同様な遺伝子型と主要病原遺伝子を持つことが明らかとなった。欧米における百日咳流行株はワクチン株と異なる抗原遺伝子（*ptxS1A/prn2*）を持つことが知られており、欧米では抗原変異株が成人層に罹患するものと考えられている。しかし、本研究では5株中4株の成人分離株がワクチン型（*ptxS1B/prn1*）であったことから、ワクチン型も抗原変異型と同様に成人層に罹患すること明らかとなった。また、成人分離株の主要病原遺伝子に新たな遺伝子変異は認められず、その遺伝子タイプは乳幼児分離株のものと同様であった。このことから、欧米で認められている成人患者増加に百日咳菌の主要病原因子（Ptx, Prn, Fha, Fim2/3, Tcf）は関与していないもの

と考察された。

今回解析を行った病原因子は百日咳菌の主要病原因子であるとともに、Ptx、Fha、Prn は重要なワクチン抗原でもある。欧米では百日咳再興とともに流行株の抗原遺伝子に変異が認められるようになり、ワクチン有効性と抗原変異の関係についても研究が進められている。本研究では成人分離株の抗原遺伝子に新たな変異は認められなかったことから、現行のワクチン抗原で成人層への感染は防御可能と考えられる。しかし、本研究では主要病原因子に限定したものであり、他の病原因子の関与は不明のままである。近年の流行株が新たな病原因子を獲得している可能性は否定できないため、今後は病原因子全体を解析することが必要となる。現在、新たな遺伝子変異を検索するため、プロテオミクスによる網羅的発現解析を進めている。

E. 結論

成人層から分離された百日咳菌は乳幼児分離株と同じ遺伝的背景を持つことが指摘され、欧米での成人患者増加に百日咳菌の主要病原因子は関与していないものと考察された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 蒲地一成, 遠藤美代子, 小宮貴子, 豊泉裕美, 八柳潤, 齊藤志保子, 内村眞佐子, 杉山明, 村上光一, 堀川和美, 柳川義勢, 堀内善信, 荒川宜親, 諸角聖, 高橋元秀. わが国の小児科担当医療従事者における百日咳・ジフテリア菌の感染リスク評

価. 感染症学雑誌, 第81巻2号(2007, 印刷中).

- 2) Kamachi K, Arakawa Y. Development of safer pertussis DNA vaccine expressing nontoxic C180 polypeptide of pertussis toxin S1 subunit. *Vaccine* 25:1000-6 (2007).
- 3) Kamachi K, Sota M, Tamai Y, Nagata N, Konda T, Inoue T, Top EM, Arakawa Y. Plasmid pBP136 from *Bordetella pertussis* represents an ancestral form of IncP-1 β plasmids without accessory mobile elements. *Microbiology* 152:3477-84 (2006).
- 4) Kamachi K, Toyozumi-Ajisaka H, Toda K, Soeung SC, Sarath S, Nareth Y, Horiuchi Y, Kojima K, Takahashi M, Arakawa Y. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid diagnosis of *Bordetella pertussis* infection. *J Clin Microbiol* 44:1899-902 (2006).

2. 学会発表

- 韓賢子, 蒲地一成, 豊泉裕美, 荒川宜親. 成人層から分離された百日咳菌の遺伝子解析. 第80回日本細菌学会総会, 平成19年3月, 大阪(発表予定)

H. 知的所有権の出願・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

Table 1. わが国の成人層から分離された百日咳臨床分離株

NIH number	分離年月	患者年齢(歳)	性別	分離場所(県)	備考
BP173	1991.8.4	32	女	福岡	ワクチン歴なし、家族内感染
BP183	1991.10.3	不明(大人)	男	福岡	家族内感染
BP239	2004.5.10	38	女	三重	外来
BP241	2003.10.11	27	男	千葉	
BP245	2004.4.24	73	女	茨城	

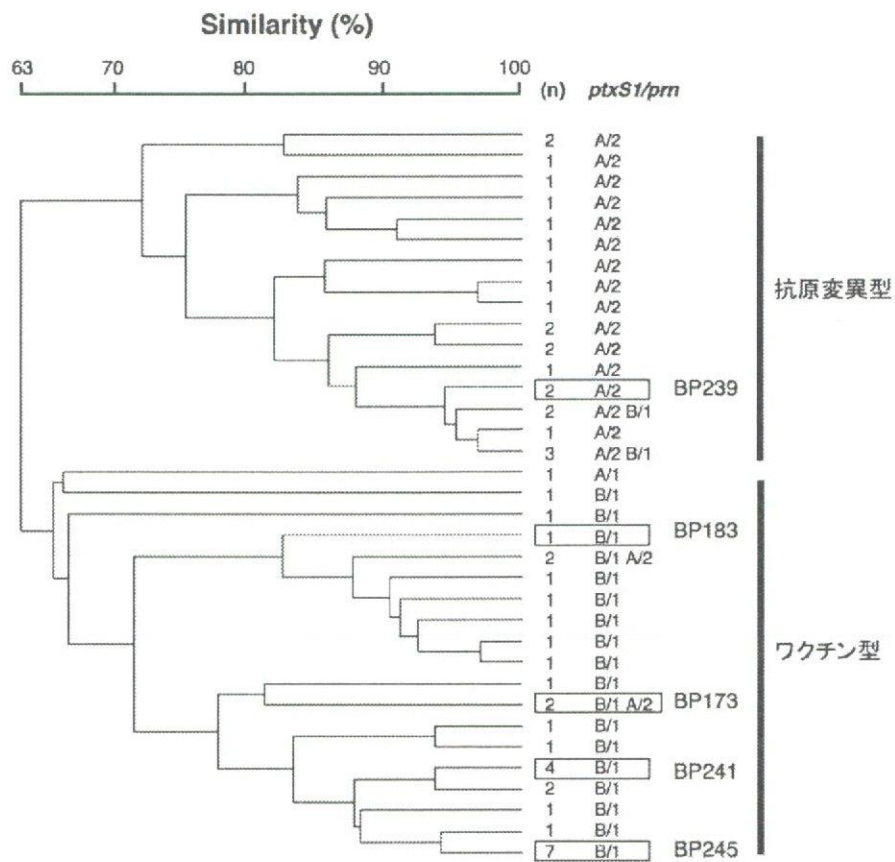


Fig. 1 成人層から分離された百日咳菌の遺伝子型 (PFGE 解析)

成人分離株 (BP173, BP183, BP239, BP241, BP245) の遺伝子型を 50 株の乳幼児分離株と比較した。

Table 2. 成人分離株の遺伝子型と主要病原遺伝子 (Allele type)

NIH number	PFGE type	Allele type					
		<i>ptxS1</i>	<i>prn</i>	<i>fhaB</i>	<i>fim2</i>	<i>fim3</i>	<i>tcfA</i>
BP173	vaccine	B	1	1	1	1	2
BP183	vaccine	B	1	1	1	1	2
BP239	non-vaccine	A	2	1	1	1	2
BP241	vaccine	B	1	1	1	1	2
BP245	vaccine	B	1	1	1	1	2

Table 3. 成人分離株と乳幼児分離株における主要病原遺伝子の比較 (Allele type)

Gene	Allele	% Frequency (n)	
		Adult's strain	Infant's strain
<i>ptxS1</i>	<i>ptxS1A</i>	20 (1)	44 (22)
	<i>ptxS1B</i>	80 (4)	56 (28)
<i>prn</i>	<i>prn1</i>	80 (4)	58 (29)
	<i>prn2</i>	20 (1)	42 (21)
<i>fhaB</i>	<i>fhaB-1</i>	100 (5)	100 (28)
	<i>fhaB-2</i>	0	0
<i>fim2</i>	<i>fim2-1</i>	100 (5)	100 (28)
	<i>fim2-2</i>	0	0
<i>fim3</i>	<i>fim3-1</i>	100 (5)	100 (28)
	<i>fim3-2</i>	0	0
<i>tcfA</i>	<i>tcfA1</i>	0	0
	<i>tcfA2</i>	100 (5)	100 (28)
	<i>tcfA3</i>	0	0
	<i>tcfA4</i>	0	0
	<i>tcfA5</i>	0	0

ptxS1, pertussis toxin S1 subunit

prn, pertactin

fha, filamentous hemaagglutinine

fim, fimbrie

tcf, tracheal colonization factor