

した。追跡期間中、発熱者の流行ピークを2峰性に認め、それぞれの流行には、RSウイルス、インフルエンザウイルスが起因していると考えられた。RSウイルスの流行が疑われる期間では、発熱およびILIに対してワクチン有効性は検出されなかった。インフルエンザの流行が疑われる期間では、ワクチン接種が発熱およびILIに対するオッズ比を低下させており、「ILIb:呼吸器症状(鼻汁、咳、咽頭痛のうち2症状以上)

を伴う発熱」に対するワクチン有効性は統計学的な有意性を示した。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

表 1. 特性比較

特性	接種群 <sup>1)</sup> (N=45)	非接種群 <sup>1)</sup> (N=56)	P値 <sup>2)</sup>
性(男)	29(64)	28(50)	0.111
月齢	54.9±18.3	55.8±18.2	0.813
体重(kg)	17.3±3.3	17.2±3.6	0.942
既往歴	18(40)	15(27)	0.159
喘息	13(29)	4(7)	0.004
アレルギー疾患	13(29)	11(20)	0.278
入院歴	30(67)	37(66)	0.950
過去6ヶ月間の風邪による受診	12(27)	15(27)	0.989
昨シーズンのワクチン接種	35(78)	7(13)	<.0001
今シーズンの家族のワクチン接種	36(80)	21(38)	<.0001
睡眠時間(時)	9.7±0.8	9.3±0.8	0.012
家族数(本人含む)	4.2±1.0	4.6±1.1	0.076
兄弟数(本人含む)	1.9±0.8	2.1±0.7	0.339
住居の広さ(m <sup>2</sup> )	102±61	86±49	0.110
家庭内の喫煙者	34(76)	31(55)	0.035

1) 表中の数値はn(%)もしくは、mean±SD

2)  $\chi^2$ 検定、t検定もしくは、Wilcoxon順位和検定

図 1. 発病調査結果

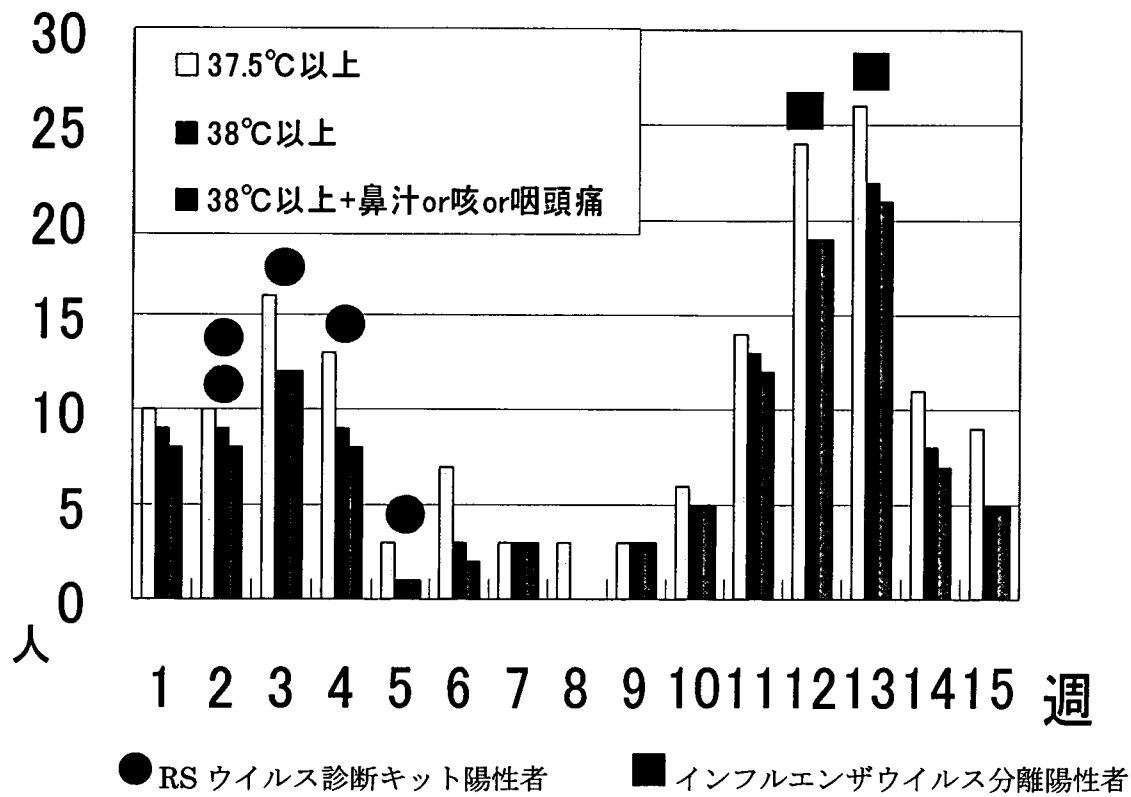


表 2. 38°C以上の発熱者の受診行動とインフルエンザ迅速診断結果

	1~15 週	第 1 週~第 6 週	第 10 週~第 15 週
	No (%)	No (%)	No (%)
38°C以上の発熱者	121 (100)	43 (100)	72 (100)
受診者	96 (80)	36 (84)	59 (82)
迅速診断実施	52 (43)	4 (9)	46 (63)
迅速診断陽性	34 (28)	0 (0)	34 (47)

表 3. アウトカムの発生状況

	接種群 <sup>1)</sup> (N=45)	非接種群 <sup>1)</sup> (N=56)	P 値 <sup>2)</sup>
RS ウイルス流行期間 [第 1 週～第 6 週]			
≥38.0 °C	12 (27)	18 (32)	0.549
IL1a <sup>3)</sup>	10 (22)	16 (29)	0.468
IL1b <sup>4)</sup>	10 (22)	13 (23)	0.906
インフルエンザ流行期間 [第 10 週～第 15 週]			
≥38.0 °C	14 (31)	31 (55)	0.015
IL1a <sup>3)</sup>	13 (29)	30 (54)	0.013
IL1b <sup>4)</sup>	11 (24)	26 (46)	0.023

1) 表中の数値は n (%)を示す。 2)  $\chi^2$  検定。

3) IL1a:呼吸器症状(鼻汁、咳、咽頭痛のうち 1 症状以上)を伴う発熱(≥38.0 °C)

4) IL1b:呼吸器症状(鼻汁、咳、咽頭痛のうち 2 症状以上)を伴う発熱(≥38.0 °C)

表 4. 各アウトカムに対する有効性

	crude-OR (95%CI)	adjusted-OR <sup>1)</sup> (95%CI)
RS ウイルス流行期間 [第 1 週～第 6 週]		
≥38.0 °C	0.77 (0.32 - 1.83)	1.03 (0.24 - 4.36)
IL1a <sup>2)</sup>	0.71 (0.29 - 1.78)	0.59 (0.13 - 2.63)
IL1b <sup>3)</sup>	0.95 (0.37 - 2.41)	1.09 (0.24 - 5.03)
インフルエンザ流行期間 [第 10 週～第 15 週]		
≥38.0 °C	0.36 (0.16 - 0.83)	0.44 (0.12 - 1.65)
IL1a <sup>2)</sup>	0.35 (0.15 - 0.81)	0.27 (0.07 - 1.07)
IL1b <sup>3)</sup>	0.37 (0.16 - 0.88)	0.24 (0.06 - 0.97)

1) 年齢、喘息、昨シーズンの接種の有無、家族のワクチン接種の有無、睡眠時間、家族数、家庭内の喫煙者の有無で調整

2) IL1a:呼吸器症状(鼻汁、咳、咽頭痛のうち 1 症状以上)を伴う発熱(≥38.0 °C)

3) IL1b:呼吸器症状(鼻汁、咳、咽頭痛のうち 2 症状以上)を伴う発熱(≥38.0 °C)

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

成人におけるインフルエンザワクチンの効果についての血清抗体価からの検討

研究協力者 池松 秀之 原土井病院 臨床研究部

研究要旨

病院職員を対象として、インフルエンザワクチンの効果を抗体価を指標として検討を行った。ワクチン株は、2006/2007 年期中において 2005/2006 年期中の H3/ニューヨークから H3/広島に変更された。H3 に関して、ワクチン接種後の抗体価が 4 倍以上上昇した割合は、H3/広島に対して 17.4%、H3/ニューヨークに対して 21.0%であり、前年度の株に対する反応の方が高かった。B 型に関しては、ワクチン株が B/上海より B/マレーシアに変更された。接種後の抗体価が 4 倍以上上昇した割合は、B/マレーシアに対しては 23.6%で、B/上海に対しては 9.7%であり、ワクチン株に対する反応の方が高かった。

以上の成績より、ワクチン効果において前年度接種に用いられた株と、ワクチン株の組み合わせによっては、ワクチン株に対する反応性が低いこともあることが示され、今後ワクチン株と前年度のワクチン株との関連についても検討して行くことにより、よりよいワクチン株を選定するための有用な知見が得られる可能性が示唆された。

A. 研究目的

インフルエンザの予防において、ワクチンは中心的な役割を果たすものと考えられる。しかし、ワクチンの効果に関しては、ワクチン株の変更を含めたワクチン自体の変化もあり、経年的な検討が必要と思われる。

今回、ワクチン株と前年度のワクチン株との関連についての知見を得るために、インフルエンザワクチンの効果を抗体価を指標として検討を行ない、前年度のワクチン株への抗体価の上昇についても検討した。

B. 研究方法

2006/2007 年インフルエンザ流行期中において、流行前にワクチンを接種し、接種前後の抗体価

を測定した。

対象は、病院職員で接種前後のペア血清が得られた 195 名であった。年齢は 19 才より 71 才で、平均年齢は 39.1 才であり、男性 40 名、女性 155 名であった。この中で、前年度接種が確認されたのは 107 名であった。

接種に用いられたワクチンは不活化インフルエンザ HA ワクチン（ビケン HA）で、接種は 1 回につき 0.5ml を皮下接種した。ワクチンに使用された株は A/ニューカレドニア/20/99(H1)、A/広島/52/2005(H3)、B/マレーシア/2506/2004 であった。採血は、接種前及び接種後 2 週から 6 週の間に実施した。血清抗体価は標準的な赤血球凝集阻止反応にて、HI 抗体価を測定した。抗原としてはワクチン株である A/ニューカレ

ドニア(H1)、A/広島(H3)、B/マレーシアに加え、前年度のワクチン株である H3/ニューヨーク、B/上海を用いた。協力者に対しては、事前に説明を行い、文書における同意が得られた者より採血を行い、その血清を測定に用いた。

### C. 結果

ワクチン接種前後の HI 抗体価の分布を図 1 (A/H1N1)、図 2 (A/H3N2)、図 3 (B) に示す。

前年度と同一のワクチン株が使用された A/H1N1 型では、接種前 HI 抗体価が 40 倍以上である率は 86.7 %、接種後 HI 抗体価が 40 倍以上である率は 98.9 %であり、接種後の HI 抗体価が接種前に比較して 4 倍以上上昇した率は 17.9 %であった。A/H3N2 型では、ワクチン株である H3/広島に対する接種前 HI 抗体価が 40 倍以上である率は 83.1 %、接種後 HI 抗体価が 40 倍以上である率は 96.4 %であり、接種後の HI 抗体価が接種前に比較して 4 倍以上上昇した率は 17.4 %であった。前年度のワクチン株である H3/ニューヨークに対する接種前 HI 抗体価が 40 倍以上である率は 85.1 %、接種後 HI 抗体価が 40 倍以上である率は 97.4 %であり、接種後の HI 抗体価が接種前に比較して 4 倍以上上昇した率は 21.0 %であった。B 型では、ワクチン株である B/マレーシアに対する接種前 HI 抗体価が 40 倍以上である率は 74.4 %、接種後 HI 抗体価が 40 倍以上である率は 94.9 %、接種後の HI 抗体価が接種前に比較して 4 倍以上上昇した率は 23.6 %であった。前年度のワクチン株である B/上海に対する接種前 HI 抗体価が 40 倍以上である率は 85.1 %、接種後 HI 抗体価が 40 倍以上である率は 94.4 %であり、接種後の HI 抗体価が接種前に比較して 4 倍以上上昇した率は 21.0 %であった。

### D. 考察

インフルエンザワクチンにおいては、臨床分離株の経時的な抗原性の変化に基づきワクチン株の選定が行われている。しかし、それぞれのワクチン株の免疫原性や、それ以前のワクチン株との関連性については十分に検討がなされてはいない。

今回の検討では、A/H3 型においてはワクチン接種による抗体価の上昇が、用いられたワクチン株より前年度のワクチン株に対しての方が高かった。一方、B 型では前年度のワクチン株に対してよりワクチン株に対する抗体価の上昇が高かった。

B 型で得られた結果が一般的に予想される結果であると思われるが、A/H3 においてワクチン株に対する抗体価の上昇が悪かった原因は不明である。接種回数 1 回と 2 回では抗体価の上昇に有意の差は見られていないので、接種回数が原因とは考えられない。前年度に同じ病院職員を対象として行った抗体価の測定では、H3/ニューヨークに対して、抗体価が 4 倍以上に上昇した割合は 65.9%であり、今回の H3/広島に対する 4 倍以上の上昇率 17.4%は低いと思われた。今回のワクチン株である H3/広島はそれ自体が免疫原性の低いウイルスであった可能性がある。

今回観察されたワクチン株に対しての抗体価上昇が、前年度のワクチン株に対するものより弱かった理由として、ワクチン株として用いられた H3/広島が免疫原性の低いウイルスであったことが関連しているのか、対象となったのが成人であり、過去の感染率やワクチン歴が原因であったのかは不明である。初感染と考えられる小児の抗体価に関するデータが得られれば、この点についてさらに検討できると思われる。成人において、ワクチン株によっては、ワクチン株に対する抗体価の上昇よりも、抗原性が若干異なると考えられるウイルス株への抗体価の上昇の方が高く見られるという成績は、ワクチ

ンの効果に、ワクチン株の流行株との抗原性の関連だけではなく、過去のワクチン株との抗原性の関連やワクチン株自体の免疫原性も関与している可能性が示唆される。今後これらの点についても考慮したワクチン株選択が可能となれば、ワクチンの有効率の向上に寄与できると思われる。

#### E. 結論

ワクチン株が変更された場合に、ワクチン株によっては、ワクチン株に対しての抗体価上昇が、前年度のワクチン株に対するものより低いことがある。ワクチンの効果に、ワクチン株の流行株との抗原性の関連だけではなく、過去のワクチン株との抗原性の関連やワクチン株自体の免疫原性も関与している可能性が示唆される。

F. 健康危険情報：なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表：なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

図1 A/H1N1型におけるワクチン接種前後のHI抗体価  
 使用抗原: H1/ニューカトニ7

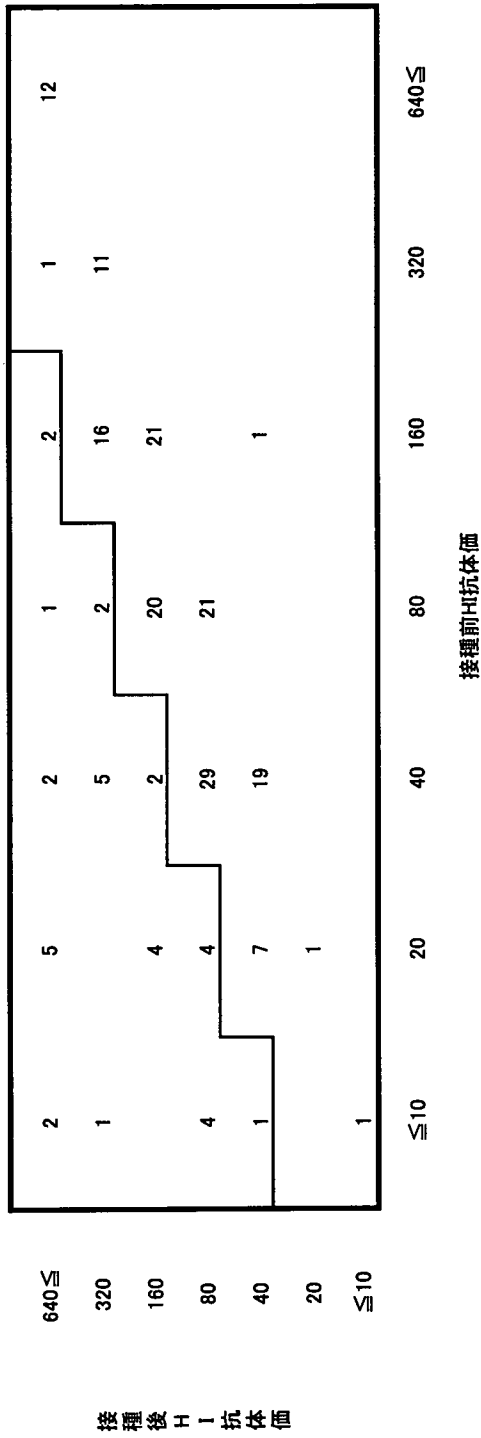


図2 A/H3N2型におけるワクチン接種前後のHI抗体価

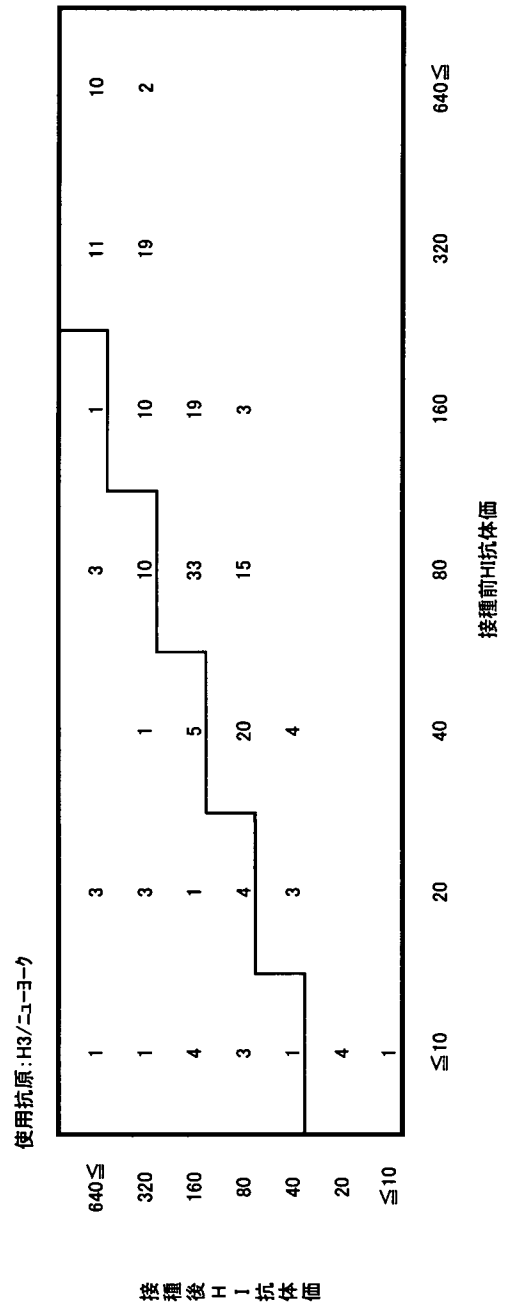
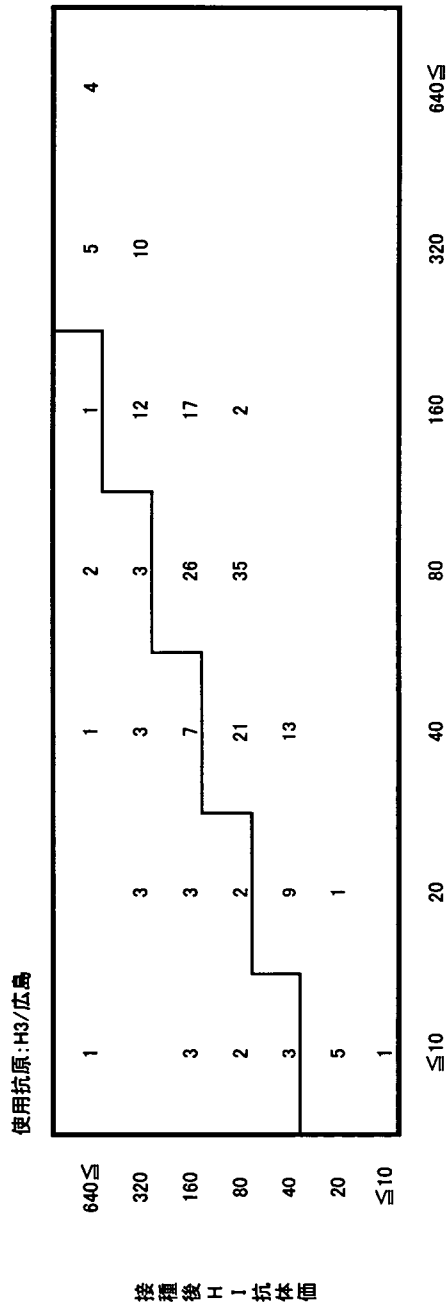
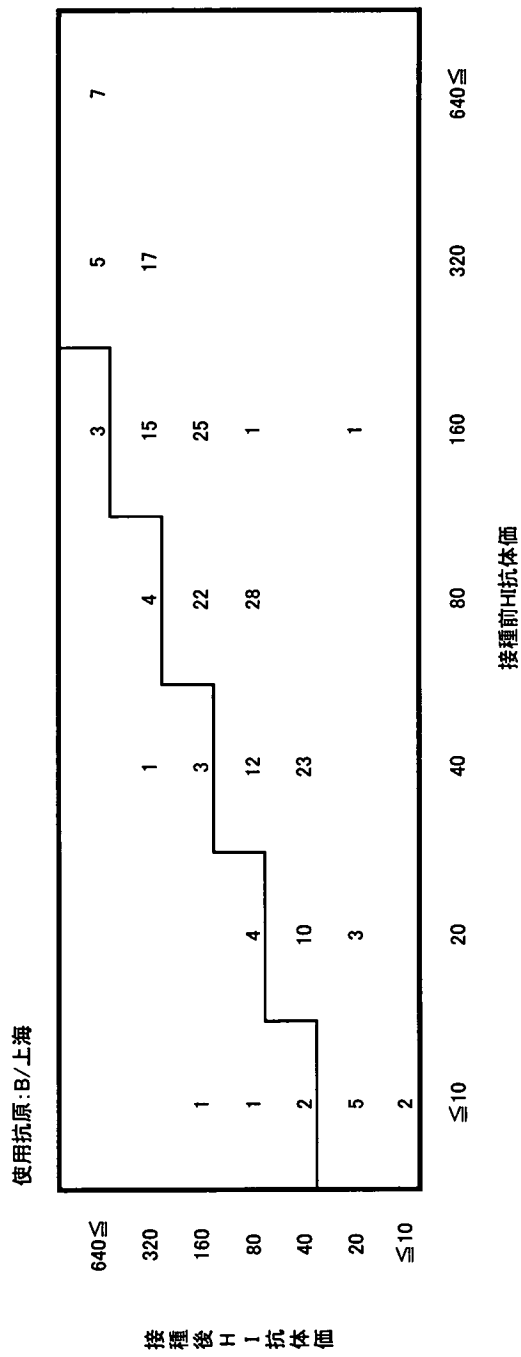
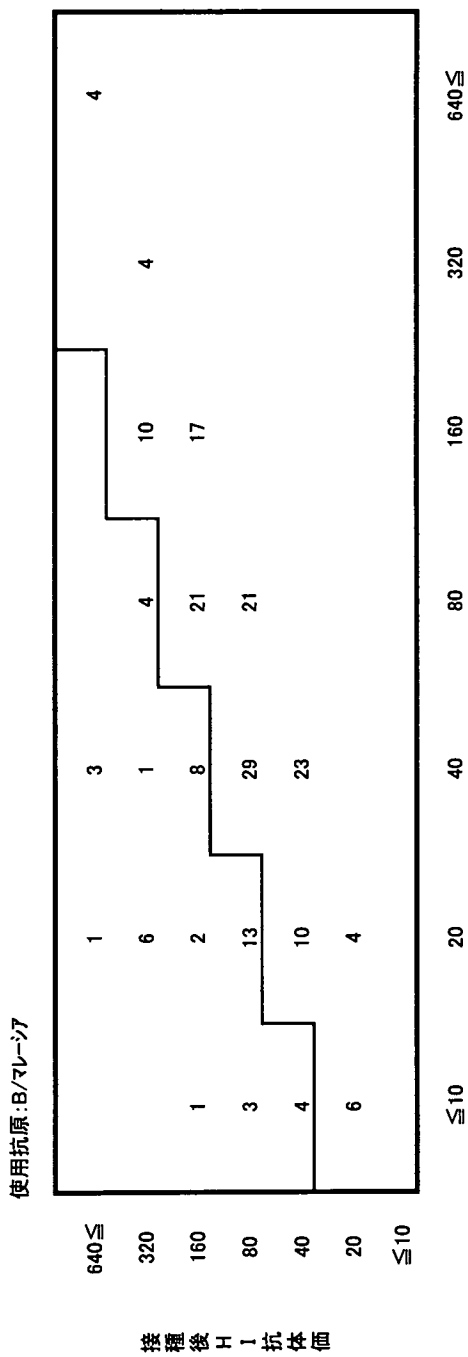




図3 B型におけるワクチン接種前後のHI抗体価



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

2006/07、07/08 シーズンに流行したインフルエンザウイルスに関する研究

分担研究者 加瀬 哲男 大阪府立公衆衛生研究所  
林 嘉光 名古屋市厚生院  
吉田 英樹 大阪市保健所感染症対策課  
原 めぐみ 佐賀大学医学部社会医学講座予防医学  
研究協力者 宮川 浩一 名古屋市厚生院  
森川佐依子 大阪府立公衆衛生研究所  
廣井 聡 大阪府立公衆衛生研究所  
前田 章子 大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学  
大藤さとし 大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学  
三木 仁志 大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学  
園田さより 上毛町保健福祉課健康増進係  
共同研究者 畑山 英明 大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学

研究要旨

本研究は、観察地域の診療所や各施設等において、患者発生時に咽頭拭い液あるいは鼻腔拭い液を採取し、ウイルス分離することによって、インフルエンザウイルスによる流行を確認し、分離ウイルスの抗原性を解析することを目的としている。06/07 シーズンは全国的に、流行のピークが3月になり、通年のインフルエンザとはかなり流行時期が異なっていた。全国的に流行したウイルスの主な血清型はいわゆるA香港型（AH3N2亜型）とB型（Victoria系統）であった。

このシーズン中に4施設でウイルス検索を行い、3施設から4株のAH3N2亜型のインフルエンザウイルスを分離した。このうち3株は当シーズンのワクチン株であるA/Hiroshima/52/2005(H3N2)と類似していたが、1株はワクチン株と異なった抗原性を示した。

2007/08 シーズンは全国的にいわれるAソ連型（AH1N1亜型）が分離されている。大阪で分離されているAソ連型ウイルスの抗原性は当シーズンのワクチン株であるA/Solomon Islands/3/2006(H1N1)と類似したものとかかなり抗原性が変異したものの2群に分類できた。

A. 研究目的

インフルエンザは毎年冬季に流行する急性熱

性呼吸器疾患である。その予防にはワクチン接種が最も効果的であると考えられているが、そ

の efficacy に関しては、本研究班で検証中である。ワクチンの効果判定においては、その地域や施設においてインフルエンザウイルスの侵襲が認められるかどうか、および流行したウイルスとワクチン株の抗原性が合致するかどうか重要な要因となる。

そこで本研究は、観察地域の診療所や各施設等において、患者発生時に咽頭拭い液あるいは鼻腔拭い液を採取し、ウイルス分離同定することによって、インフルエンザウイルスによる流行を確認し、分離ウイルスの抗原性を解析することを目的としている。また、急性期と回復期の対血清が得られた場合は、血清学的にウイルス感染を確認する。

2007/08 シーズンはまだ本格的なインフルエンザの流行を迎えていない。そこで各分担研究者による検体採取とウイルス分離の結果は本報告書には記載できない。そのため 07/08 シーズンに関しては現時点での大阪府におけるウイルスの分離状況と抗原解析の結果をもって、本年度の成果とする。

## B. 研究方法

2006/07 シーズンは 4 施設 (A,B,C,D) 内においてインフルエンザ様疾患が発生した場合に、咽頭あるいは鼻腔拭い液を採取し、ハンクス液に保存して、低温にて大阪府立公衆衛生研究所に輸送した (一部は $-20^{\circ}\text{C}$ 以下で保存した)。遠心分離されたハンクス液上清を、MDCK 細胞に接種し、細胞変性効果 (CPE) を観察した。初代培養でウイルス分離陰性の場合には盲継代した。CPE が陽性になった場合は、抗インフルエンザウイルス抗血清 (デンカ生研) を用いた赤血球凝集抑制 (HI) 試験によって同定した。抗原性解析のためには、フェレット感染血清 (国立感染症研究所より分与) を用いた HI 試験を行った。

また、施設 A では、急性期と回復期の血清を

採取し、血清学的な検査も実施した。

2007/08 シーズンに関しては、大阪府の感染症発生動向調査事業の中で報告された症例および検体についてウイルス学的検索を行った。

## C. 研究結果

2006/07 シーズンは 4 施設についてウイルス分離を行った。表 1 に示すように 130 検体からウイルス分離を試み、4 株の A 香港型インフルエンザウイルスを分離した。全国的には、06/07 シーズンの流行は A 香港型と B 型の混合流行であったが、試験した施設では B 型ウイルスは分離されなかった。

分離された A 香港型ウイルス 4 株の抗原性を 06/07 シーズンのワクチン株である A/Hiroshima/52/2005(H3N2) と比較すると、施設 A 及び B で分離された 3 株は HI 試験で 1 管差を示し、ワクチン株と同様の抗原性を示した。施設 C で分離された 1 株はワクチン株とは異なる抗原性を示した (表 2)。

施設 A では 23 名の患者から対血清をえた。その中でウイルス分離陰性であった 1 名に A/Hiroshima/52/2005(H3N2) に対して優位な抗体上昇を認めた。

07/08 シーズンは大阪府内では 20 株の A ソ連型ウイルスが分離されている。その抗原性は本シーズンワクチン株である A/Solomon Islands/3/2006(H1N1) と比較すると半数はワクチン類似株であるが、半数は抗原性が変異している。

## D. 考察

2006/07 シーズンのインフルエンザは流行のそのピークが 3 月までずれ込み、かなり例年とは違う流行パターンを示した。全国的には A 香港型と B 型ウイルスの混合流行であったが、試験した施設 A、施設 B、施設 C では A 香港型インフルエンザウイルスのみが分離された。また

施設 A では A 香港型インフルエンザウイルスに対して有意な抗体上昇を示す患者 1 名を認めた。試験した 4 施設のうち 3 施設では A 香港型インフルエンザウイルスの侵襲が認められた。分離されたウイルスの抗原性は、4 株中 3 株はワクチン株と類似していた。施設 C で分離された 1 株はワクチン株と異なる抗原性を示した。全国的にみると 2006/07 シーズンの A 香港型ウイルスの半数以上はワクチン株と異なる抗原性を示している。流行株の抗原性は限局的な地域特異性があることを示しているのかもしれない。

ワクチンの効果判定では、血清型によって efficacy が異なる可能性があるので、個々の施設に侵入するウイルスを分離し、抗原性を調べることはインフルエンザワクチンの効果判定を考慮するときにかかすことができないものと思われる

2007/08 シーズンは全国的にいわれる A ソ連型 (AH1N1 亜型) が分離されている。大阪で分離されている A ソ連型ウイルスの抗原性は当シーズンのワクチン株である A/Solomon Islands/3/2006(H1N1) と類似したものとかかなり抗原性が変異したものの 2 群に分類でき、地域特異性は認められない。抗原性が異なるウイ

ルスが同時に流行することは、インフルエンザワクチンの効果判定をより困難にするかもしれない。

#### E. 結論

2006/07 シーズンに分離された 4 株の A 香港型インフルエンザウイルスのうち、3 株はワクチン株に類似した。しかし、1 株はワクチン株と異なった抗原性を示した。このシーズンは全国的には A 香港型と B 型ウイルスの混合流行であったが、試験した施設では B 型ウイルスは分離されなかった。

#### F. 健康危険情報

特記すべき情報は得られなかった。

#### G. 研究結果発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表：なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

表1 2006/07 シーズン、ウイルス検索施設

施設	所在地	検体数	分離数
A	大阪市	46	1
B	福岡県	40	2
C	名古屋市	3	1
D	北海道	41	0

表2 分離ウイルスの抗原性

抗原 ワクチン株	抗血清			
	A/New Caledonia	A/Hiroshima	B/Malaysia	B/Shanghai/
A/New Caledonia/20/99(H1N1)	1280	-	-	-
A/Hiroshima/52/2005(H3N2)	-	640	-	-
B/Malaysia/2506/2004	-	-	2560	-
B/Shanghai/361/2002	-	-	-	2560
分離株				
2007-207(施設 A)	<10	320	<10	<10
15030(施設 B)	<10	320	<10	<10
15033(施設 B)	<10	320	<10	<10
34D085(施設 C)	<10	40	<10	<10

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

2006/07 シーズン、インフルエンザ抗体価測定上の問題点について

研究協力者	前田章子	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学
分担研究者	加瀬哲男	大阪府立公衆衛生研究所
研究協力者	森川佐依子	大阪府立公衆衛生研究所
	廣井 聡	大阪府立公衆衛生研究所
分担研究者	廣田良夫	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学

研究要旨

インフルエンザワクチン接種後の免疫応答は、主に HI 抗体価の測定を中心に展開されている。1) 測定に際し、手技上、インフルエンザウイルス（測定抗原）に対する非特異的凝集抑制物質（non-specific inhibitor：以下インヒビターと略）の除去が必要であり、定法として RDE（receptor destroying enzyme）処理が用いられている。2) 3) インフルエンザウイルスは、時としてインヒビターに対する感受性に変異が生じることがあり、その場合 HI 抗体測定の前処理、即ち、インヒビター除去法について再検討が必要となる。1) 今シーズン、インフルエンザワクチン接種試験の結果解析に際し、ワクチン株 A/広島/52/2005(H3N2)抗原のインヒビターに対する感受性に変異している可能性が示唆された。本研究においては、より正確に測定された価により疫学解析を進めるために、改めて、抗体測定上の精度管理について必要性を提起するものである。

A. 研究目的

研究班（入江班：4 歳未満児における不活化インフルエンザワクチンに対する免疫応答に関する研究）により採取、測定された被検血清について HI 抗体価の結果を解析中、A/広島/52/2005(H3N2)抗原に対する結果において、ワクチン接種前の 1 歳未満児において感染防御抗体レベル（ $\geq 1:40$ ）の保有率が高く（13%）、従って、幾何平均値も高く示された。一般に 1 歳未満児における抗体保有の原因として、主に母体に由来する移行抗体の残存が考えられるが、6 ヶ月以上持続することは稀であり、今回の対象年齢を考慮すると、この測定系に何らかの間

題があると考えた。一般に、HI 抗体測定にこのような影響を与える因子として、被検血清中のインヒビター除去が充分でないことが考えられる。インフルエンザウイルスの血清反応、特に HI 反応について、教科書では、被検血清の前処理（インヒビター除去）として、RDE 処理が定法として記載されている。3) しかし、インヒビターは表 1 に示すように、成分、生物学的性状により  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  型に区分され、3) ウイルスも時としてインヒビターに対する感受性に変異を生ずることがある。1) 従って、インヒビターに対する感受性に変異が生じた抗原を用いて HI 抗体を測定する場合、その除去法も異なってく

る。3) 本研究では、2006/07 シーズン、ワクチン株 A/広島/52/2005(H3N2)抗原のインヒビターに対する感受性に検討を加え、血清中のインヒビター除去法が測定結果に与える影響を明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

1. 測定材料：2006/07 シーズン、当研究班によるインフルエンザワクチン接種試験により採取された保存血清を用いた。

2. HI 抗体測定前の被検血清中インヒビター除去処理法：1) RDE (デンカ生研)、トリプシン-過ヨード酸、および トリプシン、過ヨード酸 単独処理を行った。手技、容量は表 2 に詳細記述した。3)

3. HA、HI 反応： 測定用 HA 抗原はワクチン株である A/広島/52/2005(H3N2)型診断抗原 (デンカ生研) を用い、反応にはヒト O 型赤血球、測定は定法に従った。2)

## 倫理的配慮

本研究に使用した検体は、倫理的配慮のもと、研究班により採取された被検血清についての再測定である。

## C. 結果

1. ワクチン接種前に採取された被検血清について、定法に従い RDE 処理後に測定された結果、1 歳未満児で A/広島/52/2005(H3N2)抗原にたいして抗体が検出された例を選び、トリプシン-過ヨード酸処理によりインヒビター除去し、再度、測定した結果を並列して図 1 に示した。RDE 処理後の測定で検出された抗体は、1 例を除き、トリプシン-過ヨード酸処理により、全て検出限界以下 (1 : 10) となった。従って、A/広島/52/2005(H3N2)抗原に対する抗体測定には、RDE 処理 (定法) によるインヒビター除去では、充分でないことが示唆された。同時に実施された接種群 (入江班) の検体については、

全て再測定した。その結果は別に報告される。

2. さらに、インヒビター除去処理法による測定結果への影響を検討するため、他の接種試験の検体 (5-15 歳) 51 例について HI 抗体価を測定した。まず、接種前の被検血清について、RDE、トリプシン-過ヨード酸両処理を同時に行い、測定した結果の抗体分布を図 2 に示した。両処理法により測定された抗体分布の相関係数を求めると  $r=0.60$  ( $p < .0001$ ) と有意な相関は認められるが、相関の程度が低いことが示唆された。この相関の影響程度を検討するため、RDE 処理により測定された抗体価を層別化し、それぞれトリプシン-過ヨード酸処理により測定された抗体価との分布について相関係数を求めた。全検体 ( $n=51$ ) では、図 2 に示すように  $r=0.60$  であり、 $\geq 1 : 40$  抗体価群 ( $n=39$ ) では、 $r=0.92$  ( $p < .0001$ )、 $\geq 1 : 80$  抗体価群 ( $n=19$ ) では  $r=0.92$  ( $p < .0001$ ) となり、RDE 処理により比較的強く検出される抗体価群にインヒビター除去処理が強く影響している事を示唆するものであった。

3. 両処理後に測定した免疫応答を比較すると、RDE 処理による A/広島/52/2005(H3N2)株への免疫応答率は 3/51 (6%) であり、トリプシン-過ヨード酸処理での免疫応答率は 18/51 (35%) であった。

4. 他の型についてのインヒビター感受性の変異を検討するために、前述の両処理被検血清を、同じくワクチン株に含有される A (H1N1) 型の A/New Caledonia/20/99 (H1N1) 抗原について抗体価を測定した。RDE 処理、トリプシン-過ヨード酸処理後の測定抗体価分布について両者の相関係数を求めたところ  $r=0.87$  ( $p < .0001$ ) と、相関が高く、定法の RDE 処理でインヒビターが除去され、A/New Caledonia/20/99 (H1N1) 抗原についてはインヒビターに対する感受性に特に変異が生じていないことが示唆された。

5. A/広島/52/2005(H3N2)ウイルス抗原のイン

ヒビターに対する感受性について、前述の結果から、感受性が変異していることが示唆された。そこで、どのような型のインヒビターに感受性を有するのかを検討した。接種前被検血清 30 例について、前述の 2 種類の処理法に加え、トリプシン、過ヨード酸単独処理を行い、抗体価を測定した。その抗体価分布を表 3 に示した。RDE 処理抗体価との分布において、トリプシン-過ヨード酸処理、トリプシン単独処理は同じ傾向を示し、教科書の分類 (表 1) より A/広島/52/2005(H3N2) ウイルス抗原は  $\beta$  型インヒビターに対する感受性に変異している可能性が示唆された。

#### D. 考察

インフルエンザウイルスの血清反応、特に HI 抗体測定については、インヒビター除去のため前処理が必要であり、RDE 処理が定法として、使用されている。しかし、インフルエンザウイルスは、時として、インヒビターに対する感受性に変異が生じることがあり、対応が求められる。従って、日常の測定に際しても、使用ウイルス抗原を含め、測定手技について精度管理が必要と考えられる。

#### E. 結論

2006/07 シーズンのワクチン株に含まれる広島/52/2005(H3N2)抗原は、その非特異的凝集抑制物質 (non-specific inhibitor) にたいする感受性に変異が認められた。従って、HI 抗体測定上、定法である RDE (receptor destroying enzyme) 処理による被検血清の処理では、充分インヒビターが除去されていない事が示唆され、HI 抗体価測定に際し、用事に応じ、精度管理の必要性が示唆された。

#### 文献

1. 前田章子、加瀬哲男「インフルエンザ抗体価の判定」総合臨床 54 (2)、305-310、2005
2. 井上 栄、水谷裕迪：ウイルスの赤血球凝集反応、ウイルス学実験学総論、改訂二版、国立予防衛生研究所学友会、p 214、丸善、東京、1981
3. 根路銘国昭、杉浦 昭、植田昌弘：オルソミクソウイルス、ウイルス学実験学各論、改訂二版、国立予防衛生研究所学友会、p 287、丸善、東京、1982

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
前田章子 加瀬哲男 大藤さとし 伊藤一弥 入江 伸 菅野恒治 廣田良夫  
抗インフルエンザ HI 抗体価測定上の問題点 - A/広島/52/2005(H3N2)型抗原のインヒビター感受性に関する検討 - 第 11 回日本ワクチン学会 2007.12 横浜

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし



表1 インフルエンザウイルスに対する非特異的凝集抑制物質

	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
耐熱性	+	-	+
中和能	-	+	+
存在	血清 (ほとんど全て) 卵白、ムコイド	血清 (ウシ、マウス ウサギ、フェレット)	血清 (ウマ、モルモット ヒト、ブタ、ウサギ フェレット)
除去処理	RDE 過ヨード酸	トリプシン 粗製 RDE	過ヨード酸 粗製 RDE

表2 HI 抗体価測定のための血清処理

RDE		トリプシン-過ヨード酸	
血清	1 容	血清	1 容
RDE	3 容	0.8%トリプシン (1:250)	1 容
37°C	一夜	56°C	45~60 分
56°C	1 時間	1/90M KIO4	1 容
PBS	6 容	室温	45~60 分
		1%Glycerol	3 容
		PBS	2 容

図1 被検血清の処理別 HI 抗体価分布 :

接種前1歳未満児において RDE 処理により HI 抗体価を示した被検血清について  
トリプシン-過ヨード酸処理後の抗体価

(RDE / トリプシン-過ヨード酸)

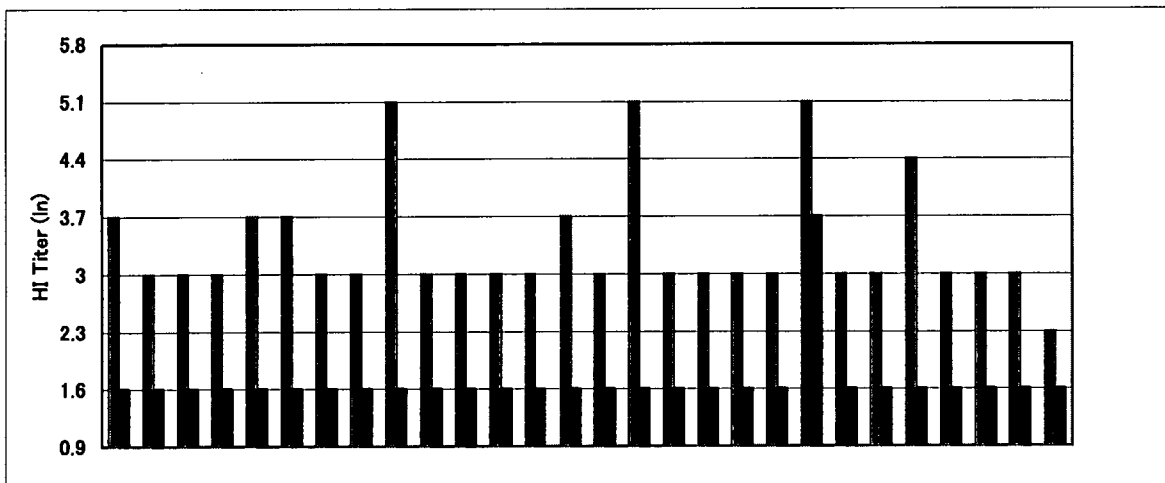


图2 A/広島/52/2005(H3N2)处理別 HI 抗体価分布

$r = 0.60$  ( $p < .0001$ )

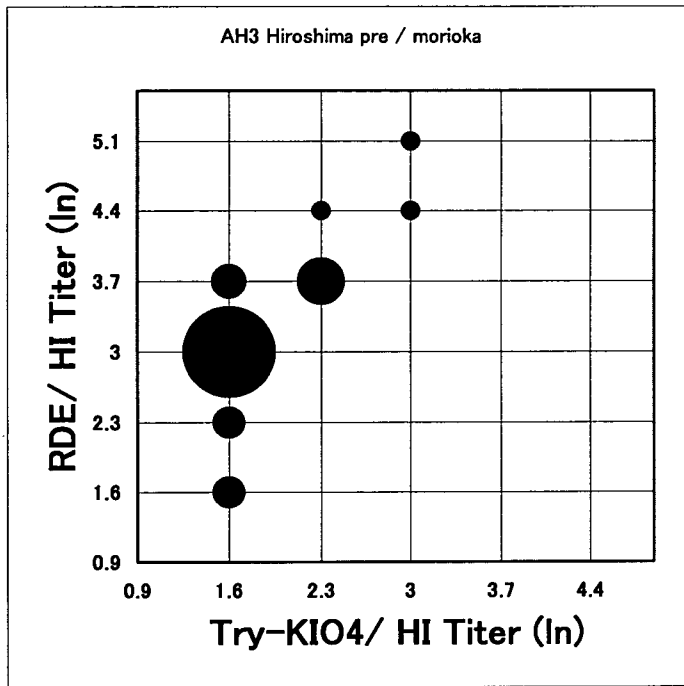


表3 处理別 HI 抗体価分布 HI Titer(ln)

RDE	Try.- KIO4				Try.				KIO4						
	1.6	2.3	3.0	3.7	1.6	2.3	3.0	3.7	1.6	2.3	3.0	3.7	4.4	5.1	
1.6	1				1				1						
2.3															
3	4				4					4					
3.7	13				13						10	3			
4.4	4	5			7	2						6	3		
5.1		1	1	1		2	1						1	2	

## 応用調査分野（第2分野）

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

2007年版「インフルエンザの予防と対策」の刊行

分担研究者	小笹 晃太郎	京都府立医科大学大学院医学研究科地域保健医療疫学	准教授
	鷺尾 昌一	聖マリア学院大学	教授
	原 めぐみ	佐賀大学医学部社会医学講座予防医学	助教
	吉田 英樹	大阪市保健所	保健主幹
	加瀬 哲男	大阪府立公衆衛生研究所	課長（アドバイザー）
	鈴木 幹三	名古屋市緑保健所	所長（アドバイザー）
研究協力者	伊藤 一弥	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学	大学院生
	岩田 康一	名古屋市港保健所	生活環境課技師
	大浦 麻絵	札幌医科大学医学部公衆衛生学講座	大学院生
	大藤 さとこ	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学	助教
	河野 正孝	京都府立医科大学大学院医学研究科免疫内科学	助教
	近藤 亨子	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学	技術職員
	佐藤 康仁	東京女子医科大学衛生学公衆衛生学第2講座	助教
	竹村 重輝	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学	大学院生
	津村 直幹	久留米大学医学部小児科学	講師
	中島 夏樹	聖マリアンナ医科大学医学部	非常勤講師
	坂野 英男	名古屋市生活衛生センター	感染症調査係長
	福島 若葉	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学	助教
	星 淑玲	筑波大学大学院博士課程人間総合科学研究科保健医療政策グループ	大学院生
	三木 仁志	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学	研究員
	宮川 浩一	名古屋市厚生院第二診療科	第二診療科部長
	葛西 健	WHO 西太平洋地域事務局	感染症対策統括官（監修）
	前田 章子	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学	研究員（アドバイザー）
共同研究者	落合 裕隆	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学	大学院生
	勝田 友博	聖マリアンナ医科大学小児科学教室	助教
	勝田 早希	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学	大学院生
	斎藤 朋子	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学	大学院生
	阪口 元伸	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学	大学院生
	佐々木 八千代	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学	大学院生
	畑山 英明	大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学	大学院生