

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業：政策創薬総合研究事業）
平成 20 年度分担研究年度終了報告書
「新型インフルエンザ用ワクチンの有効性・安全性確保に関する研究」

研究分担者：長谷川秀樹（国立感染症研究所、感染病理部）
協力研究者：相内章、田村慎一（同所、感染病理部）

研究要旨

新型インフルエンザに対するワクチンのより効果の高い接種方法として経鼻粘膜投与方法がある。経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンには粘膜での免疫誘導を高める粘膜アジュバントが必要である。本研究では天然由来のキノコ抽出物をアジュバントに用い新型インフルエンザの発生が危惧されている高病原性鳥インフルエンザ H5N1 ウイルスに対する防御効果を調べた。高病原性鳥インフルエンザウイルス A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)由来の NIBRG14 全粒子ワクチンを用い *Phellinus linteus* (PL) 由来菌糸体抽出物と共に経鼻接種する事により clade の異なる A/Indonesia/6/2005 ウイルス感染に対し防御効果が示された。天然物由来のキノコ菌糸体抽出物が安全なアジュバント候補になりうる事が示された。

A. 研究目的

新型インフルエンザはどのウイルス株により発生するのか予測が不可能である。よって新型インフルエンザに対するワクチン開発においては株を超えて防御効果が認められるような交叉防御能の高いワクチン開発を目指す必要がある。交叉防御能を高める接種方法として粘膜投与型のワクチンが考えられる。不活化ワクチンにより効率よく粘膜免疫を誘導する為には安全で効果的な粘膜アジュバントが必要である。安全でより効率のよい粘膜免疫誘導方法を調べる目的で免疫修飾物質として天然物由来のキノコ菌糸体抽出物のアジュバント作用について検討を行った。キノコ類には多くの Glucan が含まれ真菌を用い高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N1) に対するワクチンの感染防御効果と clade の異なるウイルスに対する交叉防御効果を調べる事を目的とした。

B. 研究方法

材料と方法：

ウイルス株及びワクチン株
インフルエンザウイルス株
A/VN/1194/2004 (H5N1), A/Hong Kong/483/97 (H5N1), A/Indonesia/6/05 (H5N1) を用いてマウス感染実験を行った。H5N1 のワクチン株としてはリバーズジェネティクス法により A/VN/1194/2004 (H5N1) の HA 遺伝子を弱毒型に改変し鳥由来のウイルスに導入した遺伝子組換えワクチン (NIBRG14) 株のホルマリン不活化全粒子ワクチンを使用した。

ウイルス感染

A/VN/1194/2004 (H5N1), A/Hong Kong/483/97 (H5N1), A/Indonesia/6/05 (H5N1) 株ウイルスを 1,000pfu を鼻腔内に接種した。感染実験は、全て国立感染症研究所 BSL3 動物実験施設でおこなった。

アジュバントの調整

経鼻粘膜ワクチンのアジュバントとして以下4種のきのこの熱性抽出物を用いた。*Phellinus linteus*, *Macrolepiota gracilentata*, *Grifola frondosa*, *Lentinula edodes*, (応用きのこ研究所、山梨県韮崎市) 陽性対照として合成二本鎖RNAである poly(I:C) (東レ株式会社) をもちいた。

マウス

免疫実験及び感染実験に用いたマウスは6週齢のBALB/cマウス(メス)を用いた。

免疫方法

6~8週齢のBALB/cマウス(雌)を用いた。1群5匹のマウスにエーテル麻酔下で1 μ gのワクチンを10 μ gのきのこの熱性抽出物アジュバント、と共に経鼻投与した。4週後に、初回免疫と同じ材料の追加免疫をおこない、その2週後に5匹/群から血清、鼻腔洗浄液、鼻腔関連リンパ組織(NALT)および脾臓を回収し抗体応答と抗体産生細胞数の測定をおこなった。すべての動物実験は国立感染症研究所の動物実験ガイドラインに従っておこなった。

ELISA アッセイ

遺伝子を改変したH5HA及びH1HAに対するIgAおよびIgG抗体価の測定は、ELISAにておこなった。免疫に用いたワクチン抗原をELISAプレートにコートし、血清サンプルまたは鼻腔洗浄液を加えて培養後、ビオチン化ヤギ抗マウスIgA(α 鎖)またはIgG(γ 鎖)を反応させた。アルカリホスファターゼーストレプトアビジンを加えて培養した後、基質を加えて発色させ吸光度を測定した。あらかじめ精製したH5-HA, H1-HA反応性のIgAとIgGを任意の単

位(160U)のスタンダードとして用い、2段階希釈の標準曲線を作成して抗体価を表現した。

結果

1. PLアジュバント併用 H5N1 ワクチンの経鼻接種による高病原性鳥インフルエンザの感染防御

数種類のキノコ熱性抽出物のうち最も粘膜アジュバント効果の高かった *Phellinus linteus* (PL) の熱性抽出物を用いBalb/cマウスにベトナム株由来の全粒子不活化ワクチンNIBRG 14 ワクチンを経鼻接種しその後相同株である

A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) 及び非相同株であるA/Hong Kong/483/97 (H5N1)、

A/Indonesia/6/2005(H5N1)インフルエンザウイルスで攻撃感染を行った。(図1) 1 μ gのホルマリ不活化全粒子H5N1ワクチンをPL抽出液と共に経鼻接種し最終免疫の2週間後に1,000 PFUのH5N1 インフルエンザウイルスで攻撃感染を行った。NIBRG14に対する鼻腔洗浄液中のIgA抗体や血清中のIgG抗体価はPLアジュバントを用いない群や非免疫群と比較して有意に高かった。(図1A)。

また相同ウイルス株

(A/Vietnam/1194/2004)での攻撃感染に対し、PLアジュバント併用ワクチン接種群では対照群と比較し有意にウイルス価を減少させた(図1A)。PLアジュバントワクチンを経鼻接種した群では攻撃感染後観察期間である14日間 全て生存した。一方でアジュバント無しで免疫した群や非免疫群のマウスは11日又は14日めまでに全て死亡した。(図1B)。非相同ウイルスであるA/Hong Kong/483/97株で攻撃感染したマウスにおいてアジュバント無し群や非免疫群の感染3日目のウイルス価は $10^{5.0}$ PFU/mlでどのマウスも13日以上は生存しなかった。一方でPLアジュバントワクチンを接種した

群では対照群と比較してウイルス価の減少がみとめられ20%のマウスが14日以上生存した。(図1A、C)。もう一つの非相同ウイルス株による感染である

A/Indonesia/6/2005株ウイルスの攻撃感染マウスでは有意なウイルス価の減少が認められ全てのマウスが14日以上生存した。

(図1A、D)一方アジュバント無しの群や非免疫群では1匹も14日以上生存しなかった。これらの結果からH5N1ワクチンをPL抽出アジュバントと併用する事により高病原性鳥インフルエンザウイルスの相同ウイルス株だけでなく非相同ウイルス株に対しても感染防御効果および病原性の低減が認められることが明らかとなった。

2. キノコ熱性抽出物をアジュバントに用いたHAワクチンの経鼻接種によるT細胞応答

インフルエンザワクチンを経鼻投与した時にワクチンに対するT細胞応答が誘導されるかどうかを調べる目的でキノコ熱性抽出物(PL, MGR, GF, LE)及び陽性対照に合成二本鎖RNApoly(I:C)をアジュバントとして用いたA/PR8のHAワクチンと共にマウスに経鼻接種し免疫したマウスの脾臓由来のT細胞をの抗原依存的なインターフェロングamma(IFN-gamma)産生能を調べた。最終免疫から7日目のマウスの脾臓からT細胞を回収し放射線照射した抗原提示細胞にA/PR8株のHAワクチンを0.1, 1.0, 10 µg/ml 添加して培養上清中のインターフェロングammaをELISA法で測定した。PLアジュバントと共に経鼻免疫したマウスの脾臓のT細胞に弱いながらも抗原量依存的なインターフェロングammaの産生が認められた。その他のキノコ(MGR, GF, LE)由来の熱性抽出物アジュバントを用いた群ではインターフェロングamma産生が見られなかった。これらの結果からキノコ熱性抽出物アジュバントを用いたインフルエンザワクチンの経鼻接種では特異的T細胞

応答は比較的低いものと考えられる。

なお、いずれの感染実験も国立感染症研究所戸山庁舎高度安全実験施設においてバイオセーフティーレベル3病原体取り扱い規定および動物実験委員会規定に従い実施した。

D. 考察

新型インフルエンザに対応したワクチン接種方法では粘膜免疫を誘導する経鼻粘膜投与が有効である。今回H5N1インフルエンザウイルスのベトナム株より得られたNIBRG14全粒子不活化ワクチンとキノコ熱性抽出物のうち*Phellinus linteus*(PL)を用いて高病原性鳥インフルエンザウイルスの感染防御が可能であった。またこのワクチン接種方法によりcladeの異なるインドネシア株のH5N1インフルエンザウイルスに対しても100%の生存率が認められ交叉防御効果の高い接種方法として有効である事が示された。キノコにはβ-Glucanが豊富に含まれており真菌感染の信号としてdectin-1に認識される事が知られている。インフルエンザワクチンと抽出液を経鼻接種する事でこれらの病原体認識機構が働き粘膜免疫誘導がなされた事が考えられる。このキノコ由来の抽出物を用いると致死的な感染に対しても完全感染防御がみられた。今後、いままで見いだされた粘膜アジュバント等との併用等により安全で効果の高い経鼻ワクチンができるものと期待される。

E. 結論

キノコ由来熱性抽出物のうち*Phellinus linteus*(PL)を用いて高病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1に対する全粒子不活化ワクチンを経鼻接種する事により高病原性鳥インフルエンザによる致死的なウイルス感染を防御する事が可能であった。ここで誘導される粘膜免疫には強

い交叉防御効果があり clade の異なる非相同のウイルス株に対しても防御効果が認められた。株の型の子測が不可能な新型インフルエンザ対策への応用が考えられる。今後はヒトへの応用を考えた研究につなげていく予定である。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Fukushi S, Harashima A, Sato Y, Saijo M, Taguchi F, Morikawa S, Sata T. Mouse-passaged severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus leads to lethal pulmonary edema and diffuse alveolar damage in adult but not young mice. **Am J Pathol.** 2008 Jun;172(6):1625-37.
2. Kamijuku H, Nagata Y, Jiang X, Ichinohe T, Tashiro T, Mori K, Taniguchi M, Hase K, Ohno H, Shimaoka T, Yonehara S, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Hasegawa H*, Seino KI. Mechanism of NKT cell activation by intranasal coadministration of alpha-galactosylceramide, which can induce cross-protection against influenza viruses. **Mucosal Immunol.** 2008 May;1(3):208-18. Epub 2008 Mar 5. *corresponding author
3. Ichinohe T, Iwasaki A, Hasegawa H. Innate sensors of influenza virus: clues to developing better intranasal vaccines. **Expert Rev Vaccines.** 2008 Nov;7(9):1435-45.
4. Hasegawa H, Ichinohe T, Aina A, Tamura S, Kurata T. Development of an inactivated mucosal vaccine for H5N1

influenza virus. **Therapeutic and Clinical Risk Management** 2009, in press.

5. Takahashi Y, Hasegawa H, Hara Y, Ato M, Ninomiya A, Takagi H, Odagiri T, Sata T, Tashiro M, Kobayashi K. Protective immunity afforded by H5N1 (NIBRG-14)-inactivated vaccine requires both antibodies against hemagglutinin and neuraminidase in mice. **J Infect Dis.** in press.

2. 学会発表

1. 長谷川秀樹、一戸猛志、相内 章、田村慎一、小田切孝人、田代真人、倉田 毅、佐多徹太郎：キノコ類菌糸体抽出物を用いた経鼻粘膜ワクチンによる粘膜免疫増強作用とインフルエンザウイルスの感染防御。第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月
2. 相内 章、一戸猛志、田村慎一、倉田 毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹：経鼻ワクチンにおける Dectin-1 リガンドによるアジュバント効果の亢進。第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月
3. 永田典代、岩田奈緒子、長谷川秀樹、福士秀悦、西條政幸、森川 茂、佐藤由子、佐多徹太郎：SARS-CoV 感染動物モデルを用いた SARS 発症機序の解明と治療法の検討。第 56 回日本ウイルス学会総会（岡山）2008 年 10 月
4. 長谷川秀樹、一戸猛志、網 康至、永田典代、田村慎一、小田切孝人、田代真人、倉田 毅、佐多徹太郎：経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンのカニクイザルを用いた効果検討。第 12 回日本ワクチン学会学術集会（熊本）2008 年 11 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

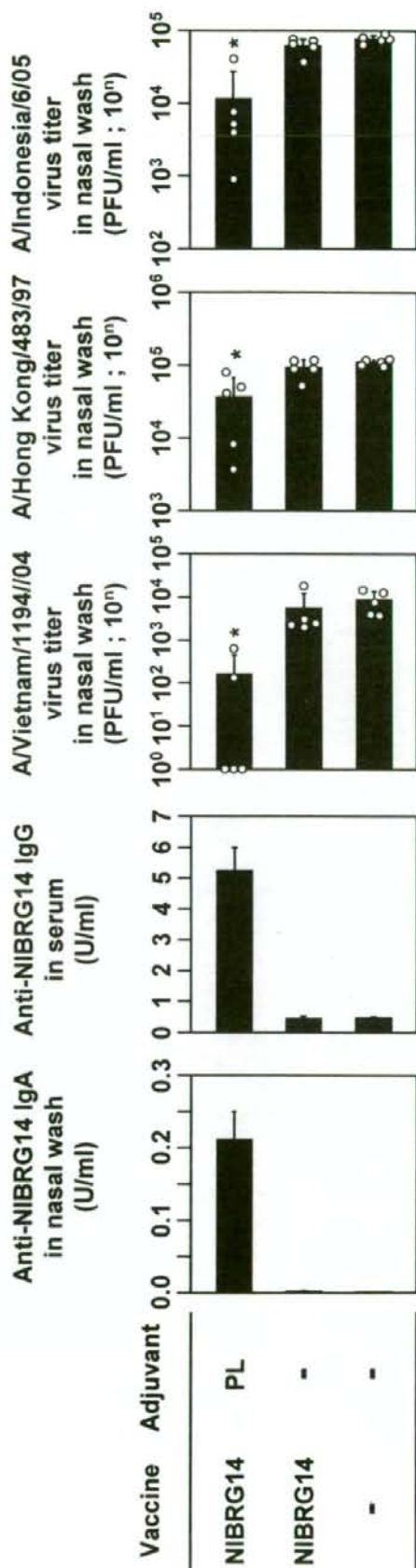
なし

1. 特許取得（出願）

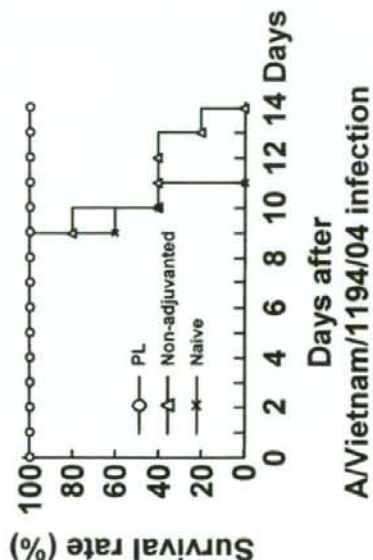
なし

2. 実用新案登録

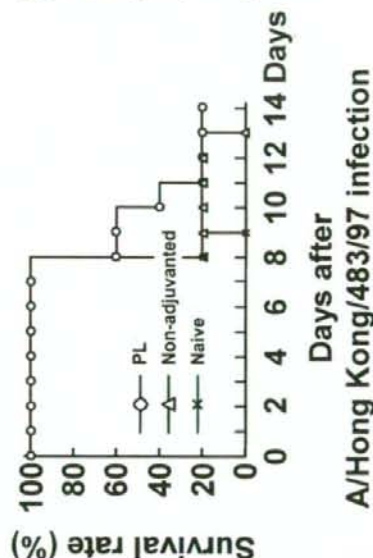
A



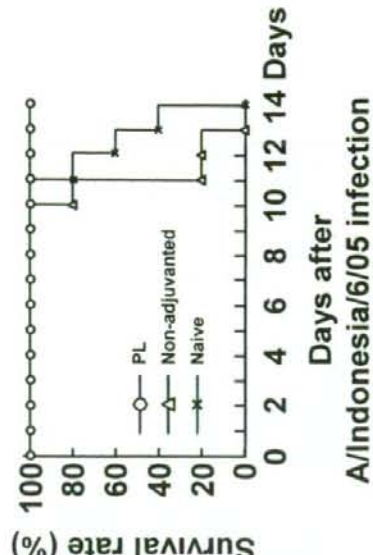
B

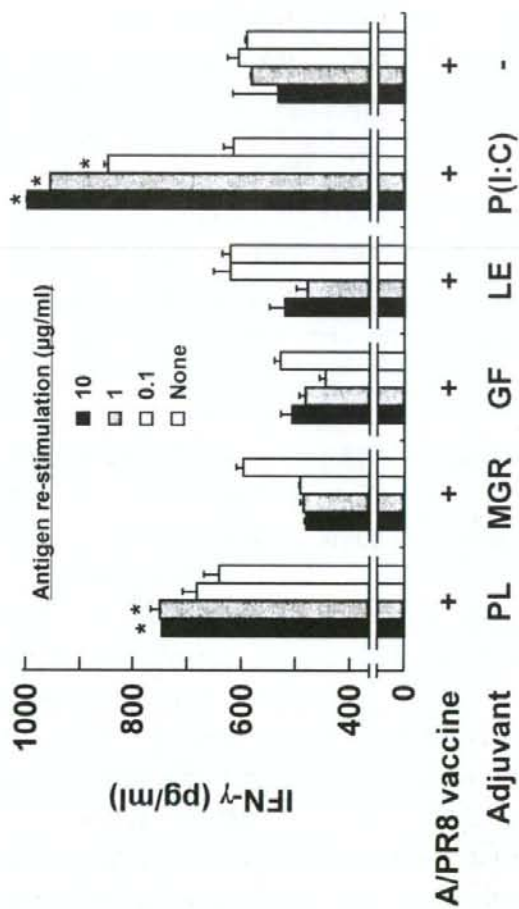


C



D





「新型インフルエンザ用の有効性・安全性確保に関する研究」

研究分担者 神谷 齊（国立病院機構三重病院 名誉院長）

研究要旨

新プレバデミックワクチンは 20 歳以上 65 歳未満の成人については、治験が実施され本年国産 2 社のワクチンが認可されたが、小児についてはまだ経験がない。平成 20 年度の治験が開始される予定になっているが、その投与量についても、まだ確定した意見はない。我々は現在使用中のインフルエンザワクチンも小児には任意接種であり、万一新型インフルエンザによるパンデミックが起こった場合には、重症化するであろう小児についての投与量を考える必要がある。今年度はまだ小児用プレバデミックワクチンは使用できないので、現行のインフルエンザワクチン（日本のフルービック HA とサノフィバスター VAXIGRIP の両者）の接種量を 3 歳未満 0.25mL、3 歳以上 0.5mL にて接種しその効果を検討した。まだ、研究が終了していないので、中間報告となるが実施した概要を報告した。

研究協力者

中野貴司、庵原俊昭、木下麻衣子（国立病院機構三重病院）

高橋裕明、矢野拓也、大熊和行（三重県保健環境研究所）

松田 正（まつだ小児科クリニック）

鳥越貞義（アクエアメディカルステーション）

二井立恵、伊佐地真知子（白子クリニック）

渡辺正博（すずかこどもクリニック）

落合 仁（落合小児科医院）

梅本正和（うめもとこどもクリニック）

安田尚樹（安田小児科内科）

酒徳浩之（さかとく小児科）

羽根靖之（はね小児科医院）

加藤 孝（かとう小児科）

現行のシーゾナルインフルエンザワクチンの接種量と効果の検討をすることにより、プレバデミックワクチンの小児への投与量を定める参考データを得ることを目的とした。日本で使用するインフルエンザワクチンと外国のワクチンとの接種量を同一にして、効果について検討した。その背景は、現行の trivalent split HA ワクチンは、現行の投与方法と接種量で実施する限りにおいては、罹患については疫学的効果ははっきりせず、また軽症化についてもコントロールがないため、臨床現場では満足出来る状態ではない。我国ではインフルエンザワクチンは任意接種で 6 カ月から使用は出来ることになっているが、特に 1 歳未満は有意差が証明出来ないという小児科学会の見解もあり、現在では 1 歳未満への接種は推奨していない。

A. 研究の目的と背景

私たちはパンデミックの発生を予想した準備のための研究班（小田切班）のなかで、2007年冬季から2008年にかけて現行インフルエンザワクチンでの接種量を外国と同量にして（3歳未満0.25ml、3歳以上0.5ml）その効果を検討した。昨年度に接種し今年度にかけて最終採血、有害事象等を集計したまとめを報告する。

B.研究方法

昨年度の報告書に記載してあるので、詳しくはご参照いただきたい。

研究期間 2007年10月1日～2009年3月31日の2年間

1) 方法の概略

a) インフルエンザワクチン:日本製は定評のある阪大微生物病研究会製フルービックHA（チメロサル抜き）。外国製はサノフィパスツール製「VAXIGRIP」（ヨーロッパ、カナダ使用）（シリンジ型、チメロサル抜き）。

使用量: 6カ月～3歳未満は0.25mL、3歳以上～13歳未満まで0.5mL

b) 抗体価の評価

ワクチン接種前と2回目接種後に各3ml採血して、血中HA抗体価測定を測定した。

c) 臨床症状の評価

効果を臨床症状で確認するため接種者に症状を記入するハガキをわたし、週毎に罹患の有無の報告を受けた。患児がインフルエンザ様症状で受診した時には症状の確認と、インフルエンザ罹患をキットで確認した。

2) 研究対象者:健康な小児（原則として基礎疾患のない人）

3歳未満（0.25mL）

フルービック HA 127名

VAXIGRIP 125名 合計:251名

3歳以上13歳未満（0.5mL）

フルービック HA 155名

VAXIGRIP 144名 合計299名

上腕皮下に接種する

3) 採血と処理は各施設で採血後、各回共血清分離をしセラムチューブ2本に分注する。分注後は-20℃に保管し、事務局（三重病院臨床研究部）へ集荷後凍結保存する。

4) アンケート等

・各施設でワクチン接種時に保護者が基本を記入する。

・医師記入欄は接種医師が記入する。

・アンケートは各患者さんに渡し記入後順次各施設へ郵送にて回収。

・各施設はアンケート回収が終了した時点で参加者一覧表・ハガキ調査票を事務局へ送付する。

・事務局は国立病院機構三重病院臨床研究部へ置き、責任者は分担研究者。連絡、質問等は三重病院名誉院長室木下へ連絡。

5) 研究の利益と危険度

・研究参加者はワクチン代は無料である。ワクチンの接種量がフルービックHAは添付文書と異なる。またVAXIGRIPは添付文書通りだが欧州で使用許可のものなので、日本は研究者の個人輸入使用とする。現在使用中のもので安全だが接種量と国内許可がないため、万一の副反応等を考慮し保険に入る。・研究成果は参加施設共同で発表する、発表にあたり患者さんの個人情報（氏名等の公表）はしない。

6) 倫理委員会

本研究は平成19年10月16日に国立病院機構三重病院倫理委員会に置いて承認を得た。（受付番号19-22題名「小児にお

けるインフルエンザワクチンの接種量と効果に関する研究)

C.研究結果

(1) 対象者の属性

三重県内 11ヶ所の共同研究医療機関の協力を得て、0歳から12歳(13歳1名を含む)まで合計560名の参加が得られた。参加者の性別内訳は男309名、女251名であった(表1)。

(2) ワクチン接種

1回目0.25mL接種者は「阪大微生物病研究会製」127名、「サノフィバツール製」126名であったが、そのうち各々1名が2回目は0.50mL接種となった。

1回目0.50mL接種者は「阪大微生物病研究会製」158名、「サノフィバツール製」149名であったが、そのうち「阪大微生物病研究会製」3名は2回目に0.25mL接種、「サノフィバツール製」1名は2回目に0.25mL接種、1名は2回目未接種であった。1回目、2回目とも同量のワクチンを接種したのは0.25mL接種者は「阪大微生物病研究会製」126名、「サノフィバツール製」125名、0.50mL接種者は「阪大微生物研究会製」155名、「サノフィバツール製」147名、合計553名であった(表2)。

(3) ワクチン接種時期

1回目の接種時期は、平成19年42週(10/15~21)から48週(11/26~12/2)であった。2回目は、平成19年46週(11/12~18)から平成20年4週(1/21~27)であり、臨床症状調査が開始された平成19年51週(12/17~23)までに接種が完了したのは500名であった(表4, 5)。

(4) 調査からの脱落

入院等の理由で、調査からの脱落者が3名あった。すべて調査機関08安田小児科内科の症例で、脱落理由は1回目の発熱のためであった。

(5) ワクチン接種後の副反応

① 1回接種後

37℃以上の発熱は、0.25mL接種者では「阪大微生物研究会製」4名、「サノフィバツール製」11名、0.50mL接種者では「阪大微生物病研究会製」3名、「サノフィバツール製」9名と、やや「サノフィバツール製」が多かったが、その多くは37℃台の軽微な発熱であった(表6)。

発疹は0.25mL接種者では「阪大微生物病研究会製」8名、「サノフィバツール製」1名、0.50mL接種者では「阪大微生物病研究会製」2名、「サノフィバツール製」0名と、であった。発赤、腫脹、硬結、疼痛等の局所反応は、いずれかが一つ以上あった者は、0.25mL接種者では「阪大微生物病研究会製」18名(14.2%)、「サノフィバツール製」11名(8.9%)、0.50mL接種者では「阪大微生物病研究会製」50名(31.6%)、「サノフィバツール製」58名(38.9%)であった(表7)。

② 2回接種後

37℃以上の発熱は、0.25mL接種者では「阪大微生物病研究会製」10名で、38℃以上の発熱が6名あった。「サノフィバツール製」14名で、38.5℃以上は1名であった。0.50mL接種者では「阪大微生物病研究会製」5名、「サノフィバツール製」3名であった。ともに38.5℃以上の発熱はなかった。(表8)。

発疹は0.25mL接種者では「阪大微生物病研究会製」5名、「サノフィバツール製」

2名、0.50mL接種者では「阪大微生物病研究会製」2名、「サノフィバスター製」1名であった。局所反応である発赤、腫脹、硬結、疼痛のいずれかが一つ以上あった者は、0.25mL接種者では「阪大微生物病研究会製」11名(8.7%)、「サノフィバスター製」14名(11.2%)、0.50mL接種者では「阪大微生物研究会製」46名(29.7%)、「サノフィバスター製」52名(35.9%)であった(表9)。

③多重ロジスティックモデルによる副反応関連因子分析

分析に投入した説明変数は、ワクチン種別、ワクチン接種量、性別、過去3年間の予防接種歴の有無、昨シーズンA型インフルエンザ罹患の有無、昨シーズンB型インフルエンザ罹患の有無、アレルギー(喘息又はアトピー)の有無等、下記の事項に関連が想定される項目である。

i) 目的変数：1回目ワクチン接種後の37℃以上の発熱

有意となったのは「ワクチン種別」のみであり、「サノフィバスター製」(オッズ比3.7)のリスクが高かった(表10)。

ii) 目的変数：1回目ワクチン接種後の37.5℃以上の発熱については有意となった項目はなかった。

iii) 目的変数：2回目ワクチン接種後の37℃以上の発熱

有意となったのは、「昨シーズンA型インフルエンザに罹患したこと」(オッズ比3.9)、「1回接種後に38℃以上の発熱か発疹があったこと」(オッズ比4.4)であった。

iv) 目的変数：2回目ワクチン接種後の37.5℃以上の発熱

有意となったのは、「昨シーズンA型インフ

ルエンザに罹患したこと」(オッズ比のみ)であった。

v) 目的変数：1回目ワクチン接種後の局所反応(発赤、腫脹、硬結、疼痛)

有意となったのは、「過去3年間に予防接種歴があること」(オッズ比2.8)、「0.50mLを接種すること」(オッズ比3.0)、「同時に発疹があること」(オッズ比6.2)であった(表11)。

vi) 目的変数：2回目ワクチン接種後の局所反応(発赤、腫脹、硬結、疼痛)

有意となったのは、「0.50mLを接種すること」(オッズ比2.0)、「アレルギーがあること」(オッズ比2.0)、「1回接種後に局所反応があったこと」(オッズ比10.8)であった(表12)。

(6) 調査期間中のインフルエンザ罹患

①三重県における流行状況(調査の背景)
2007/2008 シーズンに県内で分離されたのは、全国と同様、ほとんどがAH1亜型であった。前年である2006/2007シーズンはAH3亜型にB型が混在して流行し、後半にAH1亜型の小流行が認められた。

②調査対象者のインフルエンザ罹患
調査対象者560名中47名にインフルエンザ罹患が認められた。このうち46名は迅速診断キットでA陽性が確認され、1名は迅速診断キット陰性であったが、周囲の状況、本人の症状からインフルエンザと診断された(表13)。患者は2008年4週、5週、6週で多数が報告されており、三重県のサーベイランス結果と同様の傾向であった(図1)。

③接種量別・ワクチン種別インフルエンザ罹患状況

接種量別・ワクチン種別集計では、インフル

エンザ罹患状況に大きな差は認められなかった。罹患時の最高発熱、鼻汁、咽頭痛、咳についても、同様に、大きな差は認められなかった(表 14,15,16)。

④多重ロジスティックモデルによるインフルエンザ罹患関連因子分析

分析に投入した説明変数は、ワクチン種別、ワクチン接種量、性別、過去3年間の予防接種歴の有無、昨シーズンA型インフルエンザ罹患の有無、昨シーズンB型インフルエンザ罹患の有無、アレルギー(喘息又はアトピー)の有無、通園状況、兄弟・姉妹の有無、ワクチン2回接種後のAH1・AH3・Bに対する40倍以上の抗体価の有無等、下記の事項に関連が想定される項目である。

i)目的変数：インフルエンザ罹患-1

有意となったのは「ワクチン2回接種後のAH1に対する抗体価が40倍未満」(オッズ比 4.1)であり、40倍以上の抗体価獲得群に比較しリスクが高かった(表 17)。

ii)目的変数：インフルエンザ罹患-2 (ワクチン接種前の抗体価10倍以下で制限)

有意となったのは「ワクチン2回接種後のAH1に対する抗体価が40倍未満」(オッズ比 3.1)、「昨シーズンB型インフルエンザに罹患したこと」(オッズ比 3.9)であった(表 18)。

iii)目的変数：インフルエンザ罹患時の38.5℃以上の発熱-1

有意となったのは「ワクチン2回接種後のAH1に対する抗体価が40倍未満」(オッズ比 3.1)であった(表 19)。

iv)目的変数：インフルエンザ罹患時の38.5℃以上の発熱-2 (ワクチン接種前の抗体価10倍以下で制限)

有意となったのは「ワクチン2回接種後のAH1に対する抗体価が40倍未満」(オッズ比 2.5)、「昨シーズンB型インフルエンザに罹患したこと」(オッズ比 4.0)であった(表 21)。

(7) ワクチン接種と抗体価の獲得

接種前と2回接種後の抗体価(今回のデータはまだ各会社で独自に測定したデータとの整合性がしていないため、参考値であることを了解していただきたい。)

①AH1 (流行の影響を避けるため、平成19年50週までにワクチン接種終了者で制限)「阪大微生物病研究会製」、「サノフィバツール製」とも良好な上昇傾向が認められたが、0.25mL接種者でみると、2回目接種後の平均抗体価は阪大微生物病研究会製では40.8倍、「サノフィバツール製」では82.0倍であった。「0.50mL接種」グループでは有意差はなかった。(表 22, 23)。2歳児と3歳児に制限した集計でも同様の傾向であった。

②AH3は「サノフィバツール製」が良好な上昇傾向を示したのに比較し、「阪大微生物研究会製」はノンレスポンス者の割合が多く、ワクチン間で差がある結果となった(表 24, 25)。

③Bでは「阪大微生物病研究会製」、「サノフィバツール製」とも良好な上昇傾向は認められず、接種量でも大きな差は認められなかった(表 26, 27)。

④幾何平均、40倍以上獲得者の比較
幾何平均の変化、40倍以上獲得者の比較でも①～③の傾向は同様であった。(表 28, 29)

⑤多重ロジスティックモデルによる抗体価関連因子分析

分析に投入した説明変数は、ワクチン種別、ワクチン接種量、性別、過去3年間の予防接種歴の有無、昨シーズンA型インフルエンザ罹患の有無、昨シーズンB型インフルエンザ罹患の有無、アレルギー（喘息又はアトピー）の有無等、下記の事項に関連が想定される項目である。

⑥目的変数：2回接種後のAH1に係る40倍以上の抗体獲得

獲得を助長する因子として有意となったのは「サノフィバツール製ワクチン接種」

（オッズ比 1.7）、「昨シーズンA型インフルエンザに罹患したこと」（オッズ比 2.1）、「0.50mL接種」（オッズ比 2.1）であり、阻害する因子として有意となったのは「過去3年間の予防接種歴」（オッズ比 0.25）、「アレルギーがあること」（オッズ比 0.44）であった（表30）。

⑦目的変数：2回接種後のAH3に係る40倍以上の抗体獲得

有意となったのは「サノフィバツール製ワクチン接種」（オッズ比 10.1）であった。

⑧目的変数：2回接種後のBに係る40倍以上の抗体獲得

有意となったのは「昨シーズンB型インフルエンザに罹患したこと」（オッズ比 3.8）のみであった。

（8）ワクチン2回接種後の抗体価とインフルエンザ罹患

インフルエンザ罹患患者で、平成19年50週以前に2回のワクチン接種が完了している者40名のうち18名が、AH1に対する40倍以上の抗体価を保有していたにもかかわらず、38.5℃以上の発熱を来した。

D. 考察

今回は日本製ワクチンの接種量を外国製ワクチンと同量の接種をした時の抗体価の変化副反応の違いについて検討した。本来全く同時期に日本式の接種量で接種をし比較しないと正確なことはわからない。現行のワクチンの有効率は我国では22～25%、高々30%という結果であるが、米国やヨーロッパでは60%前後のデータが報告されている。その原因の一つには接種量の不足が指摘されている。その実際を検討するため今回の検討をしたが、同時に摂取量を変えて比較の検討をすると被験者に明らかに予防接種としては不利な結果が予想されることを強いることになるのでの治験としてはなじまない。したがって以前のデータとの比較することになるが、今回の仕事と直結しないので、機会を改めて検討したい。

本年の結果からワクチン接種後の副反応については、ワクチン接種量が3歳未満0.25mL、3～13歳未満までは0.50mLと現行のように3歳未満は1歳未満が0.1mL、2～6歳未満0.2mL、6～13歳0.3mLと接種していることと比較すれば多いことから、局所反応はもっと多くなると考えていたが、示したとおり大きな差はなかった。また発熱については発熱者が少数であった。

調査期間中のインフルエンザ罹患については、調査期間のインフルエンザ流行がAH1のみとシンプルであったこと、患者診断が原則として迅速診断キットの検査結果を踏まえた正確なものであったことなどから、患者数が少数であったにもかかわらず、極めてクリアな解析が可能となった。

解析の結果、AH1については40倍以上の抗体価を有することが罹患時の症状軽減に繋がることを確認できたと思われる。しかし今回の期間中のインフルエンザ非罹患群には、罹患したが症状が軽微であったため医師の診察を受けなかった者が含まれることが推察され、確認できたのは、感染防御効果ではなくあくまでも症状軽減効果であるとかんがえている。しかしこの量の接種を実施しても40倍以上の抗体価を保有しているにもかかわらず、38.5℃以上の発熱を来す患者の存在もあり、スプリットワクチンを注射で接種する効果の限界であると思われた。

ワクチン接種と抗体価の獲得であるが、この量の接種をおこなってもBに対する効果の弱さは従来から報告されているとおりであり、ワクチン接種量を0.50mLに増量しても大きな効果は得られなかったことは、現行のインフルエンザワクチンについて、しっかりした検討する必要があると思われる。

さらにAH3に対する効果は、「阪大微生物病研究会製」と「サノフィバストール製」では、抗体価の上昇に対して大きな差が認められたことから、この原因の追及と国内のメーカー間でも差が生じているかどうかについても、測定の方法も含めて今後の検討課題と考える。

E. 結論

3年間にわたって新型インフルエンザによるパンデミックワクチン対策として、側面から本研究に取り組み、現行のインフルエンザワクチンを含めて示唆に富む結果が得られた。今後はプレパンデミックワクチ

ンが全粒子ワクチンで検討されているので、使用できるようになれば、今回の結果を参考にしながらアジュヴァントを入れないワクチンの検討がしてみたい。もし可能であれば現行ワクチンと混合して、新しいプレパンデミックワクチンへの応用も可能かもしれない。

F. 参考文献

- 1) 神谷 齊：我が国の予防接種の仕組みと問題点. *NEUROINFECTION 神経感染症*. Vol.12(1)12:23-27, 2007
- 2) 神谷 齊：予防接種率向上の努力. *小児感染免疫*. Vol.19(2)145-146, 2007
- 3) 大熊和行、神谷 齊、他：腎疾患患者に対するインフルエンザHAワクチン接種によるHI抗体産生と副反応. *小児感染免疫*. Vol.19(2)147-155, 2007
- 4) 神谷 齊：臨床の立場からみたワクチンの重要性. *ファルマシア*. vol.44(7), 2008
- 5) 神谷 齊：新型インフルエンザについて. *母子保健*. 11月号 P8, 2008
- 6) 神谷 齊、岩田 敏、石和田 稔彦、山中 昇、杉田麟也：小児用7価肺炎球菌結合型ワクチンの医療経済効果. *小児科臨床*. vol61(11):2233(123)-2241(131), 2008
- 7) 大熊和行、神谷 齊、他：同一株のインフルエンザHAワクチンを2シーズン以上連続接種した乳幼児におけるHI抗体価の変動. *小児感染免疫*. Vol.19(4)375-387, 2007
- 8) 大熊和行、神谷 齊、他：2002/2003年の三重県における乳幼児に対するインフルエンザワクチンHAワクチンの有効性と安全性. *小児感染免疫*. 17(1):3-16,2005
- 9) 大熊和行、神谷 齊、他：

1999/2000-2002/2003年の三重県における
幼児に対するインフルエンザワクチンHA
ワクチンによるHI抗体産生と副反応. 小
児感染免疫. 18(3):239-254,2006

10) 中野貴司. 「発熱」に対する薬物療法⑩
“乳幼児におけるインフルエンザワクチン
の有効性について教えてください。またワ
クチン接種時の発熱に対する投薬で考慮す
べきことはありますか?” (特集; こどもの
発熱-薬物療法とホームケア). 薬局. 第58
巻、第1号. P61-64、2007年1月. 南山
堂.

11) 中野貴司. インフルエンザワクチンの
有用性—わが国の不活化インフルエンザワ
クチンは、どの程度の予防効果が期待でき
るのか? 医学のあゆみ. 第220巻、第10
号. P857-858、2007年3月10日. 医歯薬
出版(株).

12) 中野貴司. 診療研究「今冬のインフル
エンザ治療の留意点」. 月刊保団連. 第950
号(2007年10月号). P47-50、2007年10
月1日. 全国保険医団体連合会.

13) 中野貴司. インフルエンザワクチンの
効果 (特集: 冬のウイルス感染症). 小児科
診療. 第70巻、12号. P2207-2212、2007
年12月1日. 診断と治療社.

14) 中野貴司. インフルエンザの疫学-日本
と世界のインフルエンザ (特集: 小児看護
に必要なインフルエンザの知識とケア). 小
児看護. 第31巻、1号. P21-27、2008年
1月15日. へるす出版.

15) 中野貴司. インフルエンザワクチンの
有効性 (今月の主題: インフルエンザ診療
のブレイクスルー). 臨床検査. 第52巻、1
号. P53-56、2008年1月15日. 医学書院.

表1. 調査対象者内訳

| 機関名 | 性別 | 接 種 時 年 齢 | | | | | | | | | | | | | 総計 | | | | |
|-------------------|----|-----------|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|----|-----|---|---|-----|
| | | 0歳 | 1歳 | 2歳 | 3歳 | 4歳 | 5歳 | 6歳 | 7歳 | 8歳 | 9歳 | 10歳 | 11歳 | 12歳 | | 13歳 | | | |
| まつだ小児科クリニック | 男 | 2 | 11 | 4 | 4 | 5 | 3 | 3 | 3 | | | | | | 2 | | | | 37 |
| | 女 | 2 | 6 | 2 | | 4 | 3 | 3 | | 2 | | 1 | | | | | | | 23 |
| すずかこどもクリニック | 男 | | 5 | 5 | | 4 | 1 | | 2 | 1 | | | | | | 1 | | | 20 |
| | 女 | | 5 | 5 | 2 | 1 | 1 | 2 | | 2 | | 1 | 1 | | | | | | 20 |
| 白子クリニック | 男 | | 6 | 5 | 1 | 1 | 3 | 2 | 2 | 1 | | | | | | 1 | | | 22 |
| | 女 | | 14 | 5 | 5 | 7 | | 5 | | 1 | | | | | 1 | | | | 38 |
| 落合小児科医院 | 男 | 2 | 11 | 5 | 4 | 6 | 1 | 3 | 1 | 2 | | | | | 2 | | | | 37 |
| | 女 | | 7 | 5 | 2 | 3 | 1 | | 2 | | 2 | 1 | 1 | | | | | | 24 |
| 国立三重病院 | 男 | 2 | 1 | 3 | 4 | 4 | 3 | 3 | 1 | 1 | | | | | 1 | 2 | 1 | 1 | 27 |
| | 女 | 2 | 3 | | 3 | 3 | 3 | | | | | | | | 1 | 2 | | | 14 |
| うめもとこどもクリニック | 男 | 1 | 9 | 7 | 6 | 4 | 5 | | 4 | 1 | 1 | | | | 1 | | | | 39 |
| | 女 | 5 | 4 | 4 | 1 | 3 | | 2 | 1 | 1 | | | | | | | | | 21 |
| 安田小児科内科 | 男 | 2 | 5 | 8 | | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | | | | | 3 | 3 | 1 | | 32 |
| | 女 | 1 | 1 | 5 | 1 | 4 | 1 | 1 | | 1 | 5 | 3 | | | | | | | 23 |
| さかどく小児科 | 男 | 1 | 5 | 1 | 1 | 2 | 4 | 3 | 1 | 2 | 1 | 2 | | | | | | | 23 |
| | 女 | 2 | 2 | 4 | 2 | 3 | 2 | 1 | 5 | 1 | | | | | | | | | 20 |
| はね小児科医院 | 男 | 3 | 5 | 3 | 3 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | | | 1 | | | | 23 |
| | 女 | 7 | 5 | 2 | 2 | 1 | 1 | | | | | | | | | | | | 17 |
| かとう小児科 | 男 | 1 | 4 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | | 1 | | 1 | | 17 |
| | 女 | 3 | 6 | 4 | 1 | 1 | 2 | 4 | | | | | | | 1 | 1 | 2 | | 23 |
| アクエア・メディカル・ステーション | 男 | 1 | 8 | 8 | | 3 | 3 | 4 | 1 | 3 | 1 | | | | 1 | | | | 32 |
| | 女 | 1 | 6 | 6 | 2 | 2 | 2 | 4 | 1 | 3 | 1 | 1 | | | | | | | 28 |
| 男計 | | 12 | 68 | 53 | 25 | 36 | 31 | 23 | 18 | 15 | 7 | 11 | 4 | 5 | 1 | | | | 309 |
| | 女計 | 14 | 61 | 45 | 19 | 29 | 13 | 21 | 8 | 11 | 14 | 9 | 5 | 2 | | | | | 251 |
| 総計 | | 26 | 129 | 98 | 44 | 65 | 44 | 44 | 26 | 26 | 21 | 20 | 9 | 7 | 1 | | | | 560 |

表2. ワクチン接種量別調査対象者数

| 機関名 | ワクチン | 3歳未満 | | 3歳以上 | | 総計 |
|-------------------|-------|---------------|-------|-------------|-------|-----|
| | | 1回目接種量:0.25mL | | 1回目接種量0.5mL | | |
| | | 0.25mL | 0.5mL | 0.25mL | 0.5mL | |
| まつだ小児科クリニック | ビケン | 11 | | 1 | 18 | 30 |
| | サノファイ | 15 | | | 15 | 30 |
| すずかこどもクリニック | ビケン | 10 | | | 10 | 20 |
| | サノファイ | 10 | | | 10 | 20 |
| 白子クリニック | ビケン | 15 | | | 15 | 30 |
| | サノファイ | 15 | | | 15 | 30 |
| 落合小児科医院 | ビケン | 15 | | | 16 | 31 |
| | サノファイ | 14 | 1 | | 15 | 30 |
| 国立三重病院 | ビケン | 7 | | | 15 | 22 |
| | サノファイ | 5 | | | 14 | 19 |
| うめもとこどもクリニック | ビケン | 15 | | | 15 | 30 |
| | サノファイ | 15 | | | 15 | 30 |
| 安田小児科内科 | ビケン | 12 | | 2 | 16 | 30 |
| | サノファイ | 10 | | | 15 | 25 |
| さかとく小児科 | ビケン | 6 | | | 15 | 21 |
| | サノファイ | 7 | | | 15 | 22 |
| はね小児科医院 | ビケン | 10 | | | 10 | 20 |
| | サノファイ | 10 | | | 10 | 20 |
| かとう小児科 | ビケン | 10 | | | 10 | 20 |
| | サノファイ | 10 | | | 10 | 20 |
| アクエア・メディカル・ステーション | ビケン | 15 | 1 | | 15 | 31 |
| | サノファイ | 14 | | 1 | 13 | 29 |
| 阪大計 | | 126 | 1 | 3 | 155 | 285 |
| パスツール計 | | 125 | 1 | 1 | 147 | 275 |
| 総計 | | 251 | 2 | 4 | 302 | 560 |

* 1回目と2回目の接種量が異なる対象者は、分析対象から除く

表3. 1回目ワクチン接種時期

| 接種量 | ワクチン種別 | 1回目ワクチン接種時期 | | | | | | | | 総計 |
|------------------|--------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|----|
| | | 19y-42w (~10/21) | 19y-43w (~10/28) | 19y-44w (~11/04) | 19y-45w (~11/11) | 19y-46w (~11/18) | 19y-47w (~11/25) | 19y-48w (~12/02) | | |
| 0.25mL (3歳未満) | ビケン | 5 | 24 | 23 | 28 | 32 | 13 | 2 | 127 | |
| | (%) | (3.9) | (18.9) | (18.1) | (22.0) | (25.2) | (10.2) | (1.6) | (100) | |
| | サノファイ | 13 | 18 | 16 | 31 | 34 | 7 | 7 | 126 | |
| | (%) | (10.3) | (14.3) | (12.7) | (24.6) | (27.0) | (5.6) | (5.6) | (100) | |
| 計 | 18 | 42 | 39 | 59 | 66 | 20 | 9 | 253 | | |
| (%) | (7.1) | (16.6) | (15.4) | (23.3) | (26.1) | (7.9) | (3.6) | (100) | | |
| 0.50mL (3歳以上) | ビケン | 11 | 37 | 21 | 39 | 38 | 8 | 4 | 158 | |
| | (%) | (7.0) | (23.4) | (13.3) | (24.7) | (24.1) | (5.1) | (2.5) | (100) | |
| | サノファイ | 15 | 29 | 26 | 42 | 25 | 12 | 12 | 149 | |
| | (%) | (10.1) | (19.5) | (17.4) | (28.2) | (16.8) | (8.1) | (8.1) | (100) | |
| 計 | 26 | 66 | 47 | 81 | 63 | 20 | 4 | 307 | | |
| (%) | (8.5) | (21.5) | (15.3) | (26.4) | (20.5) | (6.5) | (1.3) | (100) | | |
| 総計 | 44 | 108 | 86 | 140 | 129 | 40 | 13 | 560 | | |
| (%) | (7.9) | (19.3) | (15.4) | (25.0) | (23.0) | (7.1) | (2.3) | (100) | | |

表4. 2回目ワクチン接種時期

| 接種量 | ワクチン種別 | 2回目ワクチン接種時期 | | | | | | | | | | 総計 | |
|------------------|--------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|-------|-------|
| | | 19y-46w (~11/18) | 19y-47w (~11/25) | 19y-48w (~12/02) | 19y-49w (~12/09) | 19y-50w (~12/16) | 19y-51w (~12/23) | 19y-52w (~12/30) | 20y-01w (~01/06) | 20y-04w (~01/27) | | | |
| 0.25mL (3歳未満) | ビケン | 4 | 21 | 27 | 27 | 31 | 17 | 2 | | | | | 129 |
| | (%) | (3.1) | (16.3) | (20.9) | (20.9) | (24.0) | (13.2) | (1.6) | | | | | (100) |
| | サノファイ | 11 | 17 | 16 | 36 | 32 | 9 | 4 | 1 | | | | 126 |
| (%) | (8.7) | (13.5) | (12.7) | (28.6) | (25.4) | (7.1) | (3.2) | (0.8) | | | | (100) | |
| 計 | (%) | 15 | 38 | 43 | 63 | 63 | 26 | 6 | 1 | 0 | | 255 | |
| | (%) | (5.9) | (14.9) | (16.9) | (24.7) | (24.7) | (10.2) | (2.4) | (0.4) | (0.0) | | (100) | |
| 0.50mL (3歳以上) | ビケン | 9 | 31 | 25 | 39 | 37 | 11 | 4 | | | | 156 | |
| | (%) | (5.8) | (19.9) | (16.0) | (25.0) | (23.7) | (7.1) | (2.6) | | | | (100) | |
| | サノファイ | 12 | 29 | 29 | 39 | 28 | 8 | 1 | 2 | | | 148 | |
| (%) | (8.1) | (19.6) | (19.6) | (26.4) | (18.9) | (5.4) | (0.7) | (1.4) | | | (100) | | |
| 計 | (%) | 21 | 60 | 54 | 78 | 65 | 19 | 5 | 0 | 2 | 304 | | |
| | (%) | (6.9) | (19.7) | (17.8) | (25.7) | (21.4) | (6.3) | (1.6) | (0.0) | (0.7) | (100) | | |
| 総計 | (%) | 36 | 98 | 97 | 141 | 128 | 45 | 11 | 1 | 2 | 559 | | |
| | (%) | (6.4) | (17.5) | (17.4) | (25.2) | (22.9) | (8.1) | (2.0) | (0.2) | (0.4) | (100) | | |

無回答、不明は除く

* 平成19年50週までに2回目のワクチン接種が終了している者500名をワクチン効果解析対象とする

表5. ワクチン接種時期の状況

| 1回目ワクチン接種時期 | 2回目ワクチン接種時期 | | | | | | | | | | 総計 |
|-----------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--|-----|
| | 19y-46w (~11/18) | 19y-47w (~11/25) | 19y-48w (~12/02) | 19y-49w (~12/09) | 19y-50w (~12/16) | 19y-51w (~12/23) | 19y-52w (~12/30) | 20y-01w (~01/06) | 20y-04w (~01/27) | | |
| 19y-42w(~10/21) | 35 | 8 | | | 1 | | | | | | 44 |
| 19y-43w(~10/28) | 1 | 89 | 16 | 1 | | | | | | | 107 |
| 19y-44w(~11/04) | | 1 | 79 | 5 | 1 | | | | | | 86 |
| 19y-45w(~11/11) | | | 2 | 132 | 5 | 1 | | | | | 140 |
| 19y-46w(~11/18) | | | | 2 | 120 | 6 | 1 | | | | 129 |
| 19y-47w(~11/25) | | | | 1 | 1 | 35 | 1 | 2 | | | 40 |
| 19y-48w(~12/02) | | | | | | 3 | 9 | 1 | | | 13 |
| 総計 | 36 | 98 | 97 | 141 | 128 | 45 | 11 | 1 | 2 | | 559 |