

表1 “咳エチケット”の啓発

1. 咳、くしゃみをする際には、ティッシュなどで口と鼻を押さえ、他の人から顔をそむけ、1m以上離れる。
2. 呼吸器系分泌物（鼻汁や痰）を含んだティッシュを、すぐに蓋付きの廃棄物箱に捨てられる環境を整える。
3. 咳をしている人にマスクの着用を促す。
4. マスクの装着は、説明書をよく読んで正しく着用する。
5. 院内でサージカルマスクなどが入手できるようにする（例えば、売店で販売）。
6. 鼻汁や痰など分泌物に触れたときは、手洗いを行う。
7. 上記行動の意義を、患者、家族、付き添いや面会者、全医療従事者にしっかりと伝え、実践する。

（厚生労働省、「平成19年度：今冬のインフルエンザ総合対策について」より引用改変）

で、汚染した手指やドアノブなどを介しての接触感染も発生する。また、狭い空間で多人数が長時間一緒に過ごすなど特殊な環境下では、空気感染に似た伝播様式も起こり得る。換気などへの気配りが大切である。

感染源対策

患者

時に起こり得る空気感染のことを考えれば、陰圧空調あるいは他の部屋とは別個の空調を有する部屋にインフルエンザ患者を収容することが理想であるが、わが国の医療機関の実状からそのような対応は困難である。個室入院あるいはインフルエンザ患者同士で同室入院させる、というのが現実的な対処策であろう。

また小児では、発症直前や発症後インフルエンザと診断されるまでにすでに周囲の者に濃厚に接触している場合も多く、診断確定時点で直ちに隔離しても、すでに2次感染が始まっていることも多い。そのような際でも、できる限り伝播を最小限に食い止めることを心掛けたい。

面会者

インフルエンザの院内感染に際して、外部からの病原体持込が原因となることはしばしばある。入院患者が外部者と接触することは必要最

小限にとどめたい。

また、米国疾病管理予防センター（CDC）も推奨する²⁾“咳エチケット”を励行することが、院内感染予防に有効である（表1）。

医療従事者

流行シーズン前にインフルエンザワクチンを接種しておくことが大切である。ワクチンの有効率は、高齢者や小児より働き盛りの健康成人でもっとも高く（後述）、自らの罹患予防と同時に、職場で接触する患者たちへの感染伝播の防止にも役立つ。

医療従事者への抗インフルエンザ薬予防投与は、新型インフルエンザ出現など特殊な場合を除いては一般的には勧められない。

罹患してしまった場合は、速やかに勤務を停止する。解熱後2日間を経過するまでは、自宅で療養する。勤務再開後、咳や鼻汁が認められる場合はマスク着用などにより周囲への伝播を防ぐ。

感染経路対策

感染経路の遮断

飛沫感染を防ぐために、近距離での濃厚接触を避ける。患者の気道分泌物への曝露が起らないようにすることがもっとも大切である。す

で述べたように環境が汚染され接触感染する
場合があるので、その経路を遮断する手洗いは
有効な予防手段である。マスクなどの防御具の
利用やうがい励行も効果がある。“咳エチケット”
啓発の重要性はすでに述べた(表1)。

環境の整備

一般的な感染予防対策でもあるが、環境を清
潔な状態に保つことは大切である。病院では、
ベッド欄、ドアノブ、処置台、医療機器なども
頻りに清拭を心掛けたい。

感受性者対策

予防接種

インフルエンザに対しては、不活化ワクチン
という特異的な予防手段がある。その効果につ
いてはさまざまな議論があるが、これまでに実
施されたわが国や米国の多施設共同研究では、
罹患予防に関して表2に示すような有効率が報
告されている^{3)~5)}。麻疹やポリオのワクチンと
比べると罹患予防効果が低く、より有効なワク
チンの開発が待たれることは事実である。しか
し、副反応の程度や頻度は高くなく、接種群で
は統計学的有意差をもって予防効果があり、イン
フルエンザを予防すべき対象にはワクチン接
種を心掛けたい。

表2をみればわかるように、乳幼児や高齢者
と比べて、働き盛りの健常者ではワクチンの有
効率が高い。院内感染対策におけるワクチンの
有効な活用法として、インフルエンザ流行シー
ズンが始まる前に医療従事者は予防接種を済ま
せ、自らが患者への感染源となることをできる
限り防ぐことが大切である。

インフルエンザの潜伏期は平均2日と短い
ので、曝露後のワクチン接種による予防は期待で

表2 不活化インフルエンザワクチン接種による罹患予
防効果

対象年齢	国	有効率*
6歳未満小児	日本	22~25%
65歳未満健康成人	米国	70~90%
高齢者	日本 米国	34~55% 30~40%

*: 文献^{3)~5)}より

きない。

薬剤予防投与

●投与対象と使用薬剤

抗インフルエンザ薬の予防投与は、ワクチン
による予防にとって替わるものではないが、
ワクチンを補完する目的で上手に使用すれば有
用である。主にインフルエンザが重症化するハ
イリスク群や彼らとの濃厚接触者が対象となる。
曝露後予防として薬剤を用いる場合、できるだ
け早い時期に投与を開始することが望ましく2
日以内が目安である。

米国食品医薬品局(US Food and Drug Admin-
istration: FDA)は、小児に対するインフルエン
ザ予防薬として4種の薬剤を承認している(表
3)。ただしわが国では、予防投与ができる対象
小児はごく限られており、薬剤の種類も少ない。

また、米国で2005/06シーズンに分離された
A型インフルエンザウイルス(H3N2)の大半は
アマンタジン耐性であったため、CDCはアマン
タジンを治療や予防に用いないよう勧告してい
る¹⁾。

●オセルタミビル

米国では1歳以上の小児に予防投与が認めら
れているが、わが国ではカプセル剤にのみ適応
があり、13歳以上のインフルエンザ罹患による
重症化ハイリスク群が対象である。また、健康
保険適用の対象とはならない(表3)。

13歳以上の者に対して、75mgカプセルを1
日1回、7~10日間程度使用する。投与期間に

表3 抗インフルエンザ薬と予防投与の適応対象

薬剤名	商品名	投与経路	ウイルス型	予防投与の適応対象	
				米 国	日本（保険外）
アマンタジン リマンタジン	シンメトレル®など （国内未認可薬）	経口 経口	A 型 A 型	1 歳以上 1 歳以上	適応未認可 （国内未認可薬）
オセルタミビル ザナミビル	タミフル® リレンザ®	経口 吸入	A 型と B 型 A 型と B 型	1 歳以上 5 歳以上	13 歳以上（カプセル剤のみ適応）* 5 歳以上*

*：わが国における予防投与適応は「原則としてインフルエンザ患者の同居家族または共同生活者で、慢性呼吸器疾患、慢性心疾患、糖尿病など代謝性疾患、腎機能障害を有する者」である。また、健康保険適用の対象とはならない。

関して海外では、高齢者に対して 6 週間長期投与された報告（投与群 276 例，対照群 272 例）があるが，予防効果は良好であり，問題となる副作用の発現もなかった⁶⁾。

小児への投与量は，海外に準じるのであれば 2 mg/kg/日を 1 日 1 回投与である。わが国でも，2002/03 シーズンに小児病棟でのインフルエンザ患者院内発症に際してオセルタミビルを使用した報告がある⁷⁾。発端児 3 例との病棟内濃厚接触児延べ 29 例を対象とした調査研究である。予防内服（2 mg/kg/日，1 日 1 回，7～10 日間投与）を行った 13 例から発症例はなく副作用も認められなかったが，予防内服を行わなかった 16 例中 11 例（69%）はインフルエンザを発症した。

ただしオセルタミビルの使用については，特に 10 歳代において異常言動発現への注意勧告が厚生労働省からなされており（2007 年 3 月発令，2008 年 2 月現在継続中），小児に予防目的で使用するには十分なインフォームドコンセントが必要となる。

●ザナミビル

5 歳以上の者に対して，10 mg/日を 1 日 1 回吸入する。オセルタミビルと同様に，健康保険

適用の対象とはならない（表 3）。わが国で定められた投与期間は 10 日間である。長期間投与の例としては，海外で 18～69 歳の健常成人に対して 4 週間吸入を継続し，特に問題となる副作用は認められず，予防効果も良好であった⁸⁾。

家族内でのインフルエンザ患者発生に際して，5 歳以上の家族全員をザナミビル投与群あるいはプラセボ群に割り付け，予防投薬の効果を検討した研究がある⁹⁾。その結果では，ザナミビル投与群では有意にインフルエンザの家族内 2 次感染が抑制されていた。

インフルエンザ罹患時の異常言動の原因について最終結論ははまだ出ていない（2008 年 2 月末現在）ので，本薬剤使用時にも説明を付け加えたい。その他本剤吸入による副作用としては，まれではあるが気管支攣縮の報告がある。

おわりに

インフルエンザの院内感染対策について概説した。感染症全般に共通する標準的予防策と疾患特異的な対策をうまく組み合わせ，感染制御に心掛けたい。

文 献

- 1) American Academy of Pediatrics : Influenza. In ; Pickering LK et al (eds), Red Book : 2006 Report of the Committee on Infectious

- Diseases. 27th ed, Elk Grove Village, IL, American Academy of Pediatrics, pp401-411, 2006
- 2) CDC : Guideline for isolation precautions ; preventing transmission of infectious agents in healthcare settings 2007. Atlanta, CDC, 2007
 - 3) 平成 9-11 年度厚生科学研究 (新興, 再興感染症研究事業) 報告書 : 「インフルエンザワクチンの効果に関する研究」 (主任研究者 : 神谷 齊)
 - 4) CDC : Chapter16 ; Influenza. In ; National Immunization Program Pink Book 9th ed, Atlanta, CDC, pp233-253, 2006
 - 5) 平成 12-14 年度厚生労働科学研究 (新興, 再興感染症研究事業) 報告書 : 「乳幼児に対するインフルエンザワクチンの効果に関する研究」 (主任研究者 : 神谷 齊, 加地正郎)
 - 6) Peters PH et al : Long-term use of oseltamivir for the prophylaxis of influenza in a vaccinated frail older population. *J Am Geriatr Soc* 49 : 1025-1031, 2001
 - 7) 新庄正宜ほか : 小児病棟におけるインフルエンザ接触者へのオセルタミビル予防内服効果. *感染症誌* 78 : 262-269, 2004
 - 8) Monto AS et al : Zanamivir in the prevention of influenza among healthy adults. *JAMA* 282 : 31-35, 1999
 - 9) Monto AS et al : Zanamivir prophylaxis ; An effective strategy for the prevention of influenza types A and B within households. *J Infect Dis* 186 : 1582-1588, 2002

新型インフルエンザの予防 —パンデミック対策としてのワクチン



●独立行政法人国立病院機構三重病院臨床研究部 国際保健医療研究室長
中野 貴司 なかの たかし

1983年信州大学医学部卒業。ガーナ・中国派遣などを経て1995年より三重病院勤務。日本小児科学会専門医、日本感染症学会専門医・指導医、日本国際保健医療学会理事、日本小児感染症学会評議員、国際小児保健研究会副代表。最近の著書に「予防接種のすべて2006」「日常診療に役立つ小児感染症マニュアル2007」「図説呼吸器系細菌感染症」

- 新型インフルエンザパンデミックが起こる脅威は、私たち人類に着実に近づきつつあるといわれる。
- WHO や日本政府はその備えを進めており、ワクチンによる予防はパンデミック対策の中で大きな柱の1つに位置付けられる。
- パンデミック段階のフェーズごとに具体的にとるべき行動が示されているが、本稿では、厚生労働省による「新型インフルエンザワクチン接種に関するガイドライン」に示された内容に基づいて概説する。

パンデミック対策としてのワクチン

1997年香港で、H5N1型鳥インフルエンザウイルスによるヒトへの感染事例が初めて報告され、2003年以降は同ウイルスによる重症患者の発生が世界各地で続いている(表1)。また、ヨーロッパでは同じく高病原性鳥インフルエンザであるH7N7ウイルスの患者も報告された。幸いまだこれらウイルスは、ヒトからヒトへ広く伝播するものには変異していないが、新型インフルエンザウイルスが出現し世界流行が起こる脅威は、私たち人類に着実に近づいている印象がある。

このような状況の中でWHO(世界保健機

関)は、新型インフルエンザのパンデミックに対処するための各種プランを事前に準備している。わが国においてもWHOの方針に基づいた対策の策定が進められ、2005年11月には、国としての行動計画である「新型インフルエンザ対策行動計画」が発表された¹⁾。

この計画によれば、関係各省庁は政府レベルで連携し、対策に当たることとされており、厚生労働省は具体的な作業として、①抗インフルエンザ薬の備蓄②ワクチン開発支援と供給体制の確保③サーベイランスと検疫の強化④医療体制の整備⑤情報提供と共有の推進などを進めている。そしてワクチンによる予防は、パンデミック対策の中で大きな柱の1つ

表1. WHO に報告されたヒトの高病原性鳥インフルエンザ A (H5N1) 感染確定症例数

(2008年6月19日現在)

	2003年		2004年		2005年		2006年		2007年		2008年		合計	
	確定数	死亡数	確定数	死亡数	確定数	死亡数	確定数	死亡数	確定数	死亡数	確定数	死亡数	確定数	死亡数
アゼルバイジャン	0	0	0	0	0	0	8	5	0	0	0	0	8	5
バングラデシュ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
カンボジア	0	0	0	0	4	4	2	2	1	1	0	0	7	7
中国	1	1	0	0	8	5	13	8	5	3	3	3	30	20
ジブチ	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
エジプト	0	0	0	0	0	0	18	10	25	9	7	3	50	22
インドネシア	0	0	0	0	20	13	55	45	42	37	18	15	135	110
イラク	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	3	2
ラオス	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2
ミャンマー	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
ナイジェリア	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
パキスタン	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	3	1
タイ	0	0	17	12	5	2	3	3	0	0	0	0	25	17
トルコ	0	0	0	0	0	0	12	4	0	0	0	0	12	4
ベトナム	3	3	29	20	61	19	0	0	8	5	5	5	106	52
合計	4	4	46	32	98	43	115	79	88	59	34	26	385	243

(確定症例数は死亡例数も含む。数値は検査により H5N1 感染が確定された患者のみ)

(WHO 資料 http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2008_06_19/en/index.htm より引用して作成)

表2. インフルエンザパンデミックの各段階におけるワクチンに関する対策

に位置付けられている。

パンデミック各段階とワクチン対策

WHO は、パンデミックが起こる以前からピークを迎えるまでを、段階的に6つのフェーズに分類している¹⁾。そして現在は、フェーズ3「ヒトへの新しい亜型インフルエンザウ

イルスの感染が確認されているが、ヒトからヒトへの伝播は基本的には起こらない段階」である。またわが国の「新型インフルエンザ対策行動計画」では、フェーズごとに「A: 国内患者非発生」と「B: 国内患者発生」に細

段階	状況	ワクチンに関する対策
フェーズ3A (現状)	新しい亜型インフルエンザウイルスのヒトへの感染が確認されているが、ヒトからヒトへの伝播は基本的には起こらない。また、日本国内で患者は発生していない	1. プレパンデミックワクチンを開発し、治験を実施し、原液を製造貯留する 2. パンデミックワクチン製造用鶏卵確保など生産計画への対応を準備する
フェーズ4	(4A) ヒトからヒトへ伝播する新型インフルエンザウイルスが確認されているが、感染集団は小さく限られており、かつ国内での患者発生はまだ見られていない (4B) ヒトからヒトへ新型インフルエンザウイルスが感染し、感染集団は小さく限られているが、国内でも患者発生が見られる	1. 新型インフルエンザウイルス株を特定し、パンデミックワクチンの製造を開始する 2. 通常のシーズンインフルエンザワクチン生産時期であっても、パンデミックワクチン生産を優先する 3. プレパンデミックワクチンを、医療従事者や社会機能維持者など対象に、接種を開始する 4. パンデミックワクチンが製造され次第、接種を開始する

分化して行動計画が記載されており、現在のわが国の状況は「フェーズ3A」に相当する。

このパンデミック各フェーズにおいて、講じべき主な事項が「新型インフルエンザ対策行動計画」に示されている。それらの中で、ワ

クチンに関するものを抜粋して表2に示した。

(1) フェーズ3A

現状フェーズ3Aの段階では、緊急的なワクチン接種が近未来に必要となることを想定し、プロトタイプワクチン原液を製造貯留する。“プロトタイプワクチン”とは、“対象とするウイルス株が特定されていない段階で、モデルウイルスを用いて作成されたワクチンであり、治験などの薬事承認を得るための申請データ作成にも用いるワクチン”である。

実際に現在、世界で患者が多発するH5N1型鳥インフルエンザウイルス(表1)をモデルウイルスとして、各国でワクチンが開発されている。プロトタイプワクチンは、パンデミックワクチンの供給がなされるまでの間や、パンデミックワクチンの製造量に一定の限界がある場合にも用いることが想定されており、“プレパンデミックワクチン”とも呼称される。

またこのフェーズにおいては、フェーズ4を想定して、パンデミックワクチン製造用の鶏卵確保等生産にかかる対応計画も検討する。

(2) フェーズ4

フェーズ4は、ヒトからヒトへ伝播する新しい亜型のインフルエンザウイルスが確認されているが、感染集団は小さく限られている段階である。通常ヒトからヒトへ感染することが確認されれば、その亜型ウイルスはすでに新型インフルエンザウイルスと特定される。その新型インフルエンザウイルス株を用いて、パンデミックワクチンの製造を開始する。

通常期インフルエンザワクチン生産時期と一致していたとしても、製造ラインを直ちに中断して新型ウイルス用に切り替えることを

含め、適切に対応する。

新型インフルエンザウイルスが確認された時点では、国内患者発生はまだ見られない段階、すなわちフェーズ4Aであったとしても、かつてのSARSの例をみれば明らかのように、流行は瞬く間に世界各地へ伝播するであろう。

国内での患者発生が見られるフェーズ4Bに備えるためには、ワクチンを接種する集団を早期に大きく拡大する必要がある。貯留されているプレパンデミックワクチンを、緊急的に医療従事者および社会機能維持者などを対象に、状況に応じて接種を開始する。

新型インフルエンザウイルス株を用いたパンデミックワクチンは、製造され次第、国民に対して接種を開始するが、一定期間に生産されるワクチン量は限られており、接種対象者に優先順位をつける必要が生じる。

ワクチン接種の実際

前述したように、フェーズ4が宣言された時点で、プレパンデミックワクチンやパンデミックワクチンの接種準備にとりかかることになる。2007年3月26日に、新型インフルエンザ専門家会議策定の「新型インフルエンザ対策ガイドライン(フェーズ4以降)」が厚生労働省より発表され、その中の「新型インフルエンザワクチン接種に関するガイドライン」²⁾の項に、具体的事項が記載されている。

(1) 接種実施計画の概要

ガイドライン²⁾に示された実施計画の概要を表3に示した。国内患者はいなくとも、海外でヒト-ヒト感染が発生し、WHOがフェーズ4宣言をした時点で、厚生労働省は、備

表3. 新型インフルエンザワクチン接種計画の概要
(文献²⁾ から引用一部改変)

	プレパンデミックワクチン	パンデミックワクチン
接種対象者	医療従事者、社会機能維持者など	国民を対象、ただし製造量に一定の限界がある場合は優先順位をつける必要あり
供給と接種体制	各都道府県からの実施計画を受け、厚生労働省は接種対象者と順位を決定（フェーズ4宣言後に正式決定）	厚生労働省は、パンデミックワクチン製造中に新型インフルエンザウイルスの性質に基づき、接種対象者と順位を決定する
実施主体	都道府県	市町村（医療従事者、社会機能維持者などに対しては都道府県）
接種方法	集団接種	
接種場所	保健所や保健センター（ただし、医療従事者は自らの医療機関で接種可。社会機能維持者において、当該事業所内に診察が可能な施設を有する場合は当該事業所内での接種可）	

蓄されているプレパンデミックワクチンの接種を、医療従事者および社会機能維持者に限定して開始することの是非、および接種対象者の範囲、ならびに優先順位等について専門家会議の意見を聴いた上で判断し、接種可能なワクチンの量、接種対象者の範囲ならびに優先順位を考慮し、接種を開始する。

その際、備蓄してあるプレパンデミックワクチンの原液を接種可能な状態にするまで1～2カ月を要するため、すでに国内発生が見られるフェーズ4Bから接種を開始するのは対応が遅れるおそれがあることに注意すべきである」と記載されている。

(2) プレパンデミックワクチンの接種対象者

パンデミックワクチンの供給体制が整うまでの間、限られた資材の中で国民の生命や生活を守るために、緊急的に医療従事者および社会機能維持者等に対して接種する。接種に当たっては、対象者が実際に従事する業務内容、地域等を踏まえ、新型インフルエンザに感染する危険性が高いと考えられる者から順

に、本人の同意を得た上で接種を行う。新型インフルエンザは人類がまだ経験したことの無い感染症であり、プレパンデミックワクチンの有効性、安全性については不確実な要素もあることに留意する必要があることも、ガイドライン²⁾には述べられている。

(3) 「医療従事者、社会機能維持者等」とは具体的にどんな対象者を意味するか

新型インフルエンザが発生した場合、流行の波は複数回あると考えられており、1つの波の流行期間は約2カ月間続くとされる。その2カ月間機能停止することで、国民生活や社会機能が破綻するおそれがある者を接種対象とする。具体的には下記のように分類されている。

① 医療従事者

機能低下を来した場合、国民の生命の維持に支障を来す者であり、医療従事者、救急隊員、医薬品製造販売業者などが含まれる。そして、それら職員のうち、業務を継続するために最低限必要な人員が対象となる。

また、感染症指定医療機関の職員、発熱外来の職員、救急隊員など新型インフルエンザ患者に早期に直接接触する可能性のある者は、感染の危険性が高く、優先して接種の対象となる。

② 社会機能維持者

当該職種が機能低下を来した場合、最低限の国民生活や社会秩序が維持できない者が対象となり、各職種の業務を継続するために最低限必要な人員に接種する。具体的な実例を

表 4. 社会機能維持者の分類と具体的職種²⁾

維持されるべき社会機能	従事する者の職種
治安維持	消防士、警察官、自衛隊員、海上保安官、矯正職員
ライフライン関連	電気事業者、水道事業者、ガス事業者、石油事業者、食料販売関係
国または地方公共団体の危機管理	国会議員、地方議会議員、都道府県知事、市町村長、国家公務員・地方公務員のうち危機管理に携わる者
国民の最低限の生活維持のための情報提供	報道機関、重要なネットワーク事業・管理を行う通信事業者
ライフラインを維持するために必要な物資を輸送	鉄道業者、道路旅客・貨物運送業者、航空運輸業者、水運業者

表 4 に示した。

国または地方公共団体の危機管理に携わる者のうち、検疫所職員、入国管理局職員、税関職員、保健所など公衆衛生従事者は、新型コロナウイルス患者に早期に直接接触する可能性が高く、感染の危険性が高いため、優先して接種の対象となる。

(4) パンデミックワクチンの接種対象者

新型コロナウイルスが確定され、その株を用いたワクチンの供給体制が整えば、接種対象は全国民である。しかし、パンデミックワクチンの製造量に一定の限界がある段階においては、まずは医療従事者および社会機能維持者に対して、新型コロナウイルスに感染するおそれが高いと考えられる者から順に、本人の同意の上で接種を行う。

なお、ヒト-ヒト感染を起こすウイルスの感染予防にプレパンデミックワクチンが有効であり、パンデミックワクチンの追加接種の必要性がないことが期待される場合には、すでにプレパンデミックワクチンを接種している医療従事者・社会機能維持者は、パンデミックワクチンの対象から外れる場合もある。

医療従事者と社会機能維持者以外の対象者

表 5. パンデミックワクチン接種対象者の優先順位を考える上での分類 (医療従事者と社会機能維持者以外)²⁾

医学的ハイリスク者	呼吸器疾患や心臓血管系疾患を有する者など、新型コロナウイルスを発生した場合に重症化するリスクが高いと考えられる者
小児	わが国の将来を担う世代である
成人	社会機能を維持するために重要な世代である (本稿前出の「医療従事者及び社会機能維持者など」を除く一般の成人である)
高齢者	インフルエンザウイルスに感染により重症化するリスクが高いと予想される世代である

については、表 5 に示す 4 つの群に分類される。彼らについては、「新型コロナウイルスによる死亡者数を最小限にする」という考え方を原則として接種対象者の優先順位を決めるが、わが国の将来を守ることに重点を置き、小児の優先度を高くするという考え方もある。

そしてさらに、新型コロナウイルスによるインフルエンザがどの世代に最も重症者が多く出るタイプであるのかも、接種の優先順位を決定することに影響する。成人に重症者が多いタイプであれば成人の、高齢者に重症者が多いタイプであれば高齢者の、接種対象者としての優先順位が高くなる。

参考までに、1918 年に流行したスペイン風邪では、成人・若年者での重篤例が多くみられ、現状のベトナムやインドネシアにおける H5N1 型インフルエンザウイルスのヒト感染例でも、成人・若年者での重篤例が多く報告されている。

パンデミックワクチン接種対象者の優先順位に関しては、いろいろ議論のあるところであり、現在も検討が続けられ、今後さらに改訂される可能性もあるが、現行のガイドライン²⁾における概要を表 6 にまとめた。

表6. パンデミックワクチンの確保量に限界がある場合、接種対象者の優先順位（フェーズ4以降）²⁾

	死亡者を最小限にすることを重視する考え方の場合	わが国の将来を守ることを重視する考え方の場合
新型ウイルスが成人に重症者が多いタイプの場合*	①医療従事者・社会機能維持者 ②医学的ハイリスク者 ③成人 ④小児 ⑤高齢者	①医療従事者・社会機能維持者 ②小児 ③医学的ハイリスク者 ④成人 ⑤高齢者
新型ウイルスが高齢者に重症者が多いタイプの場合**	①医療従事者・社会機能維持者 ②医学的ハイリスク者 ③高齢者 ④小児 ⑤成人	①医療従事者・社会機能維持者 ②小児 ③医学的ハイリスク者 ④高齢者 ⑤成人

* 新型ウイルスが成人に重症者が多いタイプの場合、成人よりも医学的ハイリスク者の方が、小児よりも成人の方が重症化しやすいと仮定

** 新型ウイルスが高齢者に重症者が多いタイプの場合、高齢者よりも医学的ハイリスク者の方が、成人よりも小児の方が重症化しやすいと仮定

ワクチン開発の現状

すでに日本を含むいくつかの国で、パンデミックに備えるためのプレパンデミックワクチン開発がH5N1型ウイルスを用いて行われている。新型インフルエンザがH5型と確定したわけではなく、H7型や他のウイルスとなる可能性はもちろんあり得る。しかし現状では、ヒトへの感染が各地で発生しているH5N1型的を絞って備えることは、現実的な対応といえよう。また、H5N1型ウイルスによりパンデミックが起こった際にも、現在のウイルスから抗原性が変化している可能性は高く、ワクチン株自体は変更されるかもしれないが、製造手法は応用が可能である。さらに交差免疫性が期待できれば、現在のプレパンデミックワクチンはより有用なものとなる。

わが国では、DPTワクチンなどにも用いられる水酸化アルミニウムをアジュバントとして添加したベトナム株H5N1型ウイルスから作成した全粒子型不活化ワクチンを、3週間間隔で2回接種するという成人に対するⅡ/Ⅲ相試験がすでに実施された。観察された主な有害事象は軽度の局所反応で、重篤な副反応は認めず、有意な中和抗体獲得率が約7～8割であった。本ワクチンは2007年10月に認

表7. 認可済あるいは開発中のインフルエンザプレパンデミックワクチン（H5N1）

	主成分	1ドーズの抗原量	アジュバント
A社(海外)	スプリット抗原	3.8 μg	ASO3
B社(海外)	サブユニット抗原	7.5 μg	MF59
C社(海外)	スプリット抗原	30 μg	アルミニウム
D社(海外)	全粒子	3.75-7.5 μg	アルミニウム
日本製	全粒子	15 μg	アルミニウム

可された。

今後、小児など接種対象年齢の拡大、ベトナム株以外のH5N1型ウイルスを用いたワクチン、より多数例に対する安全性や有効性の検討などの治験や臨床研究が計画されている。現在、世界で認可済あるいは開発中のH5型プレパンデミックワクチンの例を一覧にして表7に示した。

参考文献

- 厚生労働省：新型インフルエンザ対策行動計画（平成19年10月改訂）。
<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou04/13.html>
- 新型インフルエンザ専門家会議：新型インフルエンザワクチン接種に関するガイドライン（平成19年3月26日）。
<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou04/pdf/09-09.pdf>

特集

高齢者の冬季感染症の現状と対策

KEY WORD

●インフルエンザワクチン ●高齢者
●二類疾病 ●有効率 ●副反応4. 高齢者におけるインフルエンザ
ワクチンの有効性

SUMMARY

■高齢者に対するインフルエンザワクチンは、わが国の予防接種法により二類疾病と規定されている。主な目的は個人予防であるが、高齢者はインフルエンザ罹患に伴う合併症の頻度や程度が高く、接種が推奨される。全国多施設共同研究の結果では、ワクチンの有効率は死亡回避 80%以上、罹患予防 30~50%台であり、米国での研究結果とほぼ一致する。副反応はおおむね軽微であり、インフルエンザ特異的な予防手段として有効に活用したい。周囲の健康成人がしっかりワクチンを接種して、高齢者への感染源とならないように心がけることも大切である。

中野 貴司

はじめに

各種疾病に対して予防のためのワクチンが存在するが、有効性に関する議論が頻繁に行われてきた代表格がインフルエンザワクチンである。

わが国において高齢者は、インフルエンザワクチンの接種が法律(予防接種法)で規定された唯一の対象者である。すなわち、高齢者に対しては、予防効果を期待して接種が広く行われている。その根拠となった研究結果や海外の状況も併せて概説する。

法律上の位置づけ

1. 予防接種法における二類疾病

2001年の予防接種法改正により、高齢者へのインフルエンザワクチンは二類疾病に分類された。65歳以上の者、60歳以上で一定の基礎疾患を有する者に対して、市区町村が法律に基づいて毎年度1回の接種を実施することが規定され、公費負担制も導入された(表1)。

予防接種法における“二類疾病”とは、接種の目的として“個人予防”に比重を置いた疾病である。個人の発病・重症化防止の積み重ねとしての間接的な集団予防は期待されるが、主な目的は個人予防であり、接種を希望する対象者

表1 法律で定められたインフルエンザワクチンの接種対象者

1. 65歳以上の者
2. 60歳以上65歳未満の者であって、心臓、腎臓または呼吸器の機能に自己の身の日常生活行動が極度に制限される程度の障害を有する者およびヒト免疫不全ウイルスにより免疫の機能に日常生活がほとんど不可能な程度の障害を有する者

(予防接種法で規定された“二類疾病”)

に対して行うことが規定されている。

これに対して“一類疾病”には、小児期の定期接種であるDPT(ジフテリア・百日咳・破傷風混合)、ポリオ、MR(麻疹・風疹混合)ワクチンなどが分類される。一類疾病においては、“接種対象となるものは予防接種を受けるように努めなければならない”という努力義務が課せられる。

「インフルエンザワクチンは二類疾病だから、接種はしてもしなくてもよい」という意味ではもちろんない。高齢者に対する接種が法律に規定されている理由は、インフルエンザに罹ったとき、最も重症化しやすいのが高齢者だからである。予防を心がけるならば、そしてそのワクチンが安全で有効であるならば、当然接種が推奨される。

表2 米国で不活化インフルエンザワクチン接種が推奨される対象

1. 50歳以上の成人および高齢者
2. 6カ月以上5歳未満の小児
(2009~2010シーズンには「6カ月以上19歳未満の小児」へ拡大される)
3. 慢性疾患を有する6カ月以上の小児と成人
4. 介護施設入所者
5. 妊婦
6. 6カ月以上19歳未満のアスピリン常用内服者
7. 医療関係者、介護従事者、保育施設勤務者、5歳未満小児の家族

2. 任意接種の対象者

それに対して小児や成人の接種は、予防接種法には規定されておらず、いわゆる“任意接種”の扱いである。しかし、インフルエンザは通常のカゼよりもはるかに重い病気で合併症も多い。それを被る機会を少しでも減らしたいのならば、接種を心がけるべきである。

さらに忘れてならないことは、体力のある健康成人自らは軽症で治療しても、周囲の高齢者への感染源となることがある。医療従事者はもちろんのこと、家庭やいろんな場所において、自らがウイルスを排出して高齢者へ感染させてしまう機会が多い。

表2は、米国で不活化インフルエンザワクチンの接種が推奨されている対象である^{1,2)}。わが国の予防接種法による規定と少し意味合いは異なるが、米国はわが国に比べて「インフルエンザはワクチンで予防しよう」という積極的な姿勢が強く感じられる。50歳以上成人はすべて接種推奨の対象である。介護施設入所者や業務従事者、医療関係者に対しても接種を推奨している。

インフルエンザワクチンの有効性

1. わが国の高齢者における研究結果

高齢者に対するインフルエンザワクチン接種が法制化(2001年11月)される根拠となった厚生科学研究の結果³⁾を紹介する。全国の老人保健施設・病院などに入所・入院している65歳以上の高齢者で、インフルエンザワクチン接種群(接種希望者に対して流行シーズン前に1回接種)と非接種群(接種を希望しなかった者)を

表3 高齢者に対する不活化インフルエンザワクチンの有効率~日米の比較

	日本	米国
死亡回避	80%以上	80%
入院回避	解析せず	50~60%
罹患予防	34~55%	30~40%

対象として、インフルエンザ流行期の罹患状況調査を多施設共同研究として実施した。比較的大きなインフルエンザ流行があった1998/1999シーズンを解析した結果、65歳以上の施設入所者では、予防接種を受けることにより、死亡のリスクが0.2以下(有効率80%以上)、発病のリスクが0.45~0.66(有効率34~55%)に減少していた(表3)。

2. 海外での成績

米国における高齢者に対する不活化インフルエンザワクチンの有効率は、わが国とほぼ同様の成績である。65歳以上高齢者における罹患予防効果は30~40%、死亡回避は80%とされる⁴⁾。入院回避についても解析がなされ、50~60%の有効率である(表3)。

3. そのほかの研究結果

最近米国において、免疫学的に正常な65歳以上の高齢者を対象とした症例対照研究の結果が報告された⁵⁾。本研究では、外来通院と入院双方を含めた市中肺炎について3シーズンにわたって検討した結果、インフルエンザワクチン接種はインフルエンザ流行期における肺炎罹患を減少させてはいなかった。

表4 インフルエンザワクチン接種後に観察された有害事象

調査年	調査対象者数	全身性の反応		接種局所の変化		
		37.5℃以上の発熱	発疹	発赤	疼痛	腫脹
1997～1998	983	1.3%	0%	12.4%	1.3%	2.8%
1998～1999	1,086	0.5%	0%	8.8%	2.3%	3.5%
1999～2000	1,312	0.8%	0.6%	17.6%	3.0%	6.6%
3年間合計	3,381	0.8%	0.2%	13.3%	2.3%	4.5%

その一方で、インフルエンザワクチンは肺炎の予防に有効であるという報告も、これまでに数多く発表されている⁴。このように、今後も本ワクチンの効果については活発な議論が展開されるであろう。

インフルエンザワクチンの安全性

わが国の厚生科学研究⁵では、接種後48時間以内の副反応について調査が行われた。その結果、37.5℃以上の発熱0.5～1.3%、発疹0～0.6%、接種局所の発赤8.8～17.6%、疼痛1.3～3.0%、腫脹2.8～6.6%などが観察されたが、頻度や程度とも軽微であり重篤な副反応は認められなかった(表4)。不活化インフルエンザワクチンは、高齢者においてもおおむね安全に接種できるワクチンと考えられる。

おわりに

インフルエンザは誰もが罹るポピュラーな疾患であるとともに、流行期の冬季はほかにも発熱性呼吸器感染症が多くみられる時期であり、研究デザインや解析手法、さらには研究実施時のインフルエンザ流行の度合いにより、ワクチ

ンの有効率に関して様々な異なる結果が導かれるのかもしれない。しかし現在広く用いられている不活化ワクチンは、多くの研究によりその有効性が確認されているインフルエンザ特異的な防御手段である。うまく活用して、高齢者の健康保持に役立てたい。

文 献

- 1) CDC: Influenza. Pink Book, updated 10th ed, pp235-256. CDC, Atlanta, March 2008. <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/flu.pdf>
- 2) CDC: 2008 Prevention and Control of Influenza; Recommendations of the ACIP, Updates and Changes. <http://www.cdc.gov/vaccines/recs/acip/downloads/mtg-slides-feb08/07-6-influenza.pdf>
- 3) 平成9-11年度厚生科学研究(新興、再興感染症研究事業)報告書、「インフルエンザワクチンの効果に関する研究」(主任研究者: 神谷 齊)
- 4) Jackson ML et al: Influenza vaccination and risk of community-acquired pneumonia in immunocompetent elderly people: a population-based, nested case-control study. *Lancet* 372: 398-405, 2008.
- 5) Foster DA et al: Influenza vaccine effectiveness in preventing hospitalization for pneumonia in the elderly. *Am J Epidemiol* 136: 296-307, 1992.

特集／新型インフルエンザと季節性インフルエンザ

季節性インフルエンザ

インフルエンザワクチンの有効性の正しい評価

中 野 貴 司

はじめに

現在わが国で使用されている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、その議論は日本における本ワクチンの位置付けの推移が示すように、様々に変遷してきた。

インフルエンザワクチンをめぐる世論、関連法規や制度、有効性の評価法、これまでの研究結果、海外との比較などについて概説する。

I. インフルエンザワクチンに対する世論や制度の変遷 (表1)

1. 学童集団接種と予防接種法

不活化インフルエンザワクチンの開発は1940年代にさかのぼるが、1957年アジアかぜ (H2N2)、1968年香港かぜ (H3N2) の大流行により、わが国でもインフルエンザ予防策の必要性が論議された。そして1960～70年代は「学校はインフルエンザ感染増幅の場」という考え方に基づいて、小中学生を対象とした集団接種が行われた。1962年から勧奨接種、1976年以降は予防接種法に定められ実施された¹⁾²⁾。

しかしその後、学校での集団接種を行っても地域の流行防止には役立たない、ワクチン接種者からも発病者が多いなどの問題が提起され、1987年当時の厚生省は「接種の判断は個人(保護者)の意志に委ねる」旨の通知を出した。この時点でも、学童に対するインフルエンザワクチンは予防接種法に基づいたものであったが、集団防衛の考え方は改められた。

2. 小児は任意接種へ、高齢者への接種は法制化規定の学童集団接種を行っても流行が制御され

国立病院機構三重病院臨床研究部国際保健医療研究室長

なかったことに対する世論の批判もあり、1987年の厚生省通知以降接種率は低迷した。その後1994年の予防接種法改正により、学童へのインフルエンザワクチンは予防接種法から外れ、任意接種のワクチンとなった。

その頃欧米では、高齢者や基礎疾患を有するハイリスク者に対しては、個人防衛の観点から接種が推奨されるようになった。また小児への接種に対する考え方も日本とは異なり、インフルエンザによる入院や合併症の頻度が高い年齢層であり、接種推奨対象と考えられるようになった³⁾。

わが国でも、高齢者を対象とした大規模な施設共同研究が数年間にわたって実施された⁴⁾。その結果、65歳以上の施設入所者はワクチンを接種することによりインフルエンザによる死亡や罹患を有意に減少させることができるという結果が得られた。高齢者に対する接種は、個人防衛に主眼を置く二類定期接種として2001年11月に予防接種法の中で法制化された。本稿でも後述するが、高齢者でのワクチン有効率に関する研究結果は、わが国と米国で非常によく一致している。

3. 小児とインフルエンザワクチン

インフルエンザの合併症である脳症は、わが国の小児で特に報告が多く、1990年代後半からはメディアでも頻繁に取り上げられるようになった。急激に進行し死亡や後遺症に繋がるインフルエンザ脳症を、ワクチンにより予防できるかどうかは大きな関心事となった。

また、小中学校でかつて行われていた集団接種を再評価する報告⁵⁾も成された。しかしその一方で、インフルエンザワクチンの有用性は低いとする声も依然存在する。医療現場や一般国民の間では、様々な意見が混沌としているのが現状である。

表 1 不活化インフルエンザワクチンに関連した制度の推移

	日 本	海 外
1940年代	不活化インフルエンザワクチン開発	
1957年	アジアかぜ (H2N2) 流行	
1962年	学童へのワクチン接種を勧奨	
1968年	香港かぜ (H3N2) 流行	
1976年	学童集団接種が、予防接種法に規定される	
1987年	「接種の判断は個人(保護者)の意志に委ねる」 (学童集団接種に関する厚生省通知)	(1980年代前後から、欧米諸国では高齢者や基礎疾患を有するハイリスク者へのワクチン接種が推奨されるようになる)
1994年	予防接種法改正⇒インフルエンザワクチンは定期接種から外れ、任意接種のワクチンに	
1990年代後半	(インフルエンザによる高齢者の死亡や、小児におけるインフルエンザ脳症がメディアでしばしば取り上げられる)	
2000年	米国では、50歳以上の者に対して不活化ワクチンの接種を推奨(それまでの接種推奨対象年齢は65歳以上であった)	
2001年	65歳以上高齢者と基礎疾患を有する60歳以上ハイリスク者への不活化インフルエンザワクチン接種が、予防接種法に規定される(二類定期接種)。	
2004年	生後6ヵ月以上2歳未満の小児に対して不活化ワクチンの接種を推奨(米国)	
2006年	小児に対する不活化ワクチンの接種推奨対象を6ヵ月以上5歳未満にまで拡大(米国)	
2009年(予定)	小児に対する不活化ワクチンの接種推奨対象を6ヵ月以上19歳未満にまで拡大予定(米国)	

II. ワクチンの有効率とは¹⁾⁶⁾⁷⁾

ワクチンの罹患予防効果(有効率)は、非接種群における罹患率 $[p_0]$ と接種群における罹患率 $[p_1]$ から、表2に示す四分表を用いて計算される⁷⁾。ワクチン有効率を算出する計算式 $[(p_0 - p_1) / p_0]$ は $[1 - p_1 / p_0]$ と変形することが出来、 $[p_1 / p_0]$ は相対危険(RR, relative risk)と呼ばれる。すなわち、1から相対危険を差し引いた値がワクチン有効率である。

この計算式からわかるように、“有効率が80%である”ということは、“100人に接種すれば80人は罹患しない”という意味ではなく、“ワクチンを接種せずに罹患した人の80%は、接種をしていれば罹患を回避できた”(図1)ということである⁷⁾。

接種したワクチンが統計学的有意差をもって有効かどうかを論じる際には、さらに検定・区間推定・95%信頼区間の計算などが必要である。これ

表 2 インフルエンザワクチンの有効率(罹患予防効果)

		インフルエンザワクチン接種		計
		有り	無し	
インフルエンザ罹患	有り	a	b	m_1
	無し	c	d	m_0
計		n_1	n_0	N

ワクチン非接種群における罹患率： $p_0 = b / n_0$

ワクチン接種群における罹患率： $p_1 = a / n_1$

ワクチン有効率： $(p_0 - p_1) / p_0 = 1 - p_1 / p_0$

相対危険： p_1 / p_0

ら詳細については、文献⁷⁾や統計学に関するテキストを参照いただきたい。

III. 接種対象者と有効率

1. 高 齢 者

施設入所中の65歳以上高齢者を、インフルエンザワクチン接種群(接種希望者に対して流行シ-

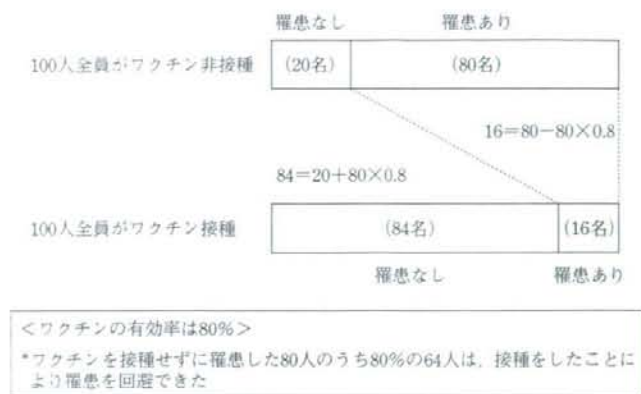


図 1 「ワクチンによる罹患予防効果80%」の意味は？

ズン前に1回接種)と非接種群(接種を希望しなかった者)に登録し、インフルエンザ流行期の罹患状況調査が全国多施設共同研究として実施された⁴⁾。比較的大きなインフルエンザ流行があった1998/99シーズンを解析した結果、65歳以上の施設入所者では、予防接種を受けることにより、死亡のリスクが0.2以下、罹患のリスクが0.45~0.66に減少していた(表3)。これを有効率として表現すると、死亡回避効果80%以上、罹患予防効果34~55%となる。本研究結果を受けて、2001年11月にわが国で高齢者に対するインフルエンザワクチン接種が法制化された。

米国でも、高齢者ではほぼ同様の成績が得られている³⁾。65歳以上での罹患予防効果30~40%、死亡回避80%で、わが国の結果と一致する。入院回避については50~60%の有効率としている(表3)。米国では50歳以上を対象として不活化インフルエンザワクチンの接種が推奨されている。

2. 小児

厚生労働科学研究により全国多施設共同研究が実施された⁵⁾。流行シーズン前に6歳未満児をワクチン接種群(接種希望者)と非接種群(接種者1名毎に、以降の連続した受診患児)にエントリーし、接種群には規定量のワクチンを原則4週間間隔で2回接種した。インフルエンザ流行期を通じて、児の症状(発熱、鼻汁、咳など)を調査書式ハガキ返送により毎週調査し、平成12年度2,337例、13年度2,612例、14年度2,913例を解析した。

インフルエンザワクチンによる罹患予防効果を、多変量解析でオッズ比を計算した結果、ワクチン

表 3 接種対象者とインフルエンザワクチンの有効率~日米の研究結果³⁾⁴⁾⁵⁾

対象者	国名	指標	有効率
高齢者	日本	死亡回避 罹患予防	80%以上 34~55%
	米国	死亡回避 入院回避 罹患予防	80% 50~60% 30~40%
65歳未満健康常成人	米国	罹患予防	70~90%
6歳未満小児	日本	罹患予防	22~25%

接種によりインフルエンザ流行期における発熱リスクは0.7台(調整オッズ比0.75~0.78)に減少し、各年度とも統計学的有意差があった。すなわち、ワクチンの有効率は22~25%という結果であった(表3)。

IV. 有効率に関する考察

1. 過小評価の可能性

上記の研究⁴⁾⁵⁾においては、罹患予防効果を解析する結果指標として、インフルエンザ流行期の発熱を用いている。その理由は、すべての調査対象者の発熱機会にウイルス分離や迅速診断を漏れなく実施することは現実的には不可能だからである。インフルエンザは季節・地域流行する傾向が著しい疾患であるから、流行期における発熱者を「インフルエンザ」と定義し解析したわけである。

しかし、インフルエンザが流行する冬季は、RSウイルスなど他のウイルス感染症の患者も多い。そうすると、評価に用いた「インフルエンザ

様疾患」には「冬季の非インフルエンザ性発熱疾患」が相当数含まれているであろう。すなわち、本調査で得られた結果はワクチンの有効率を過小評価している可能性があり、不活化インフルエンザワクチンの罹患予防効果はもっと高いのかもしれない。

2. 現行ワクチンの弱点

現在わが国では、ウイルスの赤血球凝集素(Hemagglutinin, HA)蛋白を主成分とする注射用不活化ワクチンが使用されている。流行するウイルス株の抗原性がワクチン株と合致しない場合は効果が乏しい、注射製剤であるため気道粘膜免疫の誘導が不十分である、などワクチン自体にある程度効果の限界が存在することは以前から指摘されている。

さらに、過去にインフルエンザ罹患歴が無く、免疫機構が未成熟な年少児において、現行のワクチンで十分な防御免疫を誘導できるのかもしれないと議論される。小児を対象とした厚生労働科学研究⁹⁾において、年齢階級別に解析した結果では「2歳以上の小児ではワクチン有効率が33%であったのに対して、1歳未満児や1歳児ではワクチン接種による有効性が検出されなかった」との報告⁹⁾もあり、低年齢児での罹患予防効果については、今後さらに検証が必要であろう。

3. 今後の研究

低年齢児に対する有効性、健常成人を含めた各年齢層や基礎疾患の有無による有効率の差異など今後の研究課題は数多くある。本分野における研究がさらに発展することを期待するが、実施に際しては適切に計画された疫学研究の手法を用いることが大切である。その詳細については文献¹⁰⁾を

参照していただきたい。

おわりに

不活化インフルエンザワクチンは、高齢者に対して死亡回避80%以上、罹患予防30~50%台の有効率であり、米国のデータとほぼ一致する。小児に対しても統計学的に有意に罹患予防効果があるが、わが国の全国多施設共同研究では有効率20%台であった。今後さらに有効なワクチンの開発は待たれるが、現状で入手可能なインフルエンザ特異的予防手段として有効に活用したい。

参考文献

- 1) 中野貴司: インフルエンザワクチンの効果, 小児科診療, 70: 2207-2212, 2007.
- 2) 木村三生夫, 平山宗宏, 堺春美: インフルエンザ, 予防接種の手びき 第9版, 近代出版, 東京, pp215-233, 2003.
- 3) CDC: Influenza. National Immunization Program Pink Book 10th ed., CDC, Atlanta, pp235-256, 2007.
- 4) 平成9~11年度厚生労働科学研究(新興, 再興感染症研究事業) 報告書: 「インフルエンザワクチンの効果に関する研究」(主任研究者: 神谷齊)
- 5) Reichert, T. A., Sugaya, N., Fedson, D. S. et al.: N Engl J Med, 344: 889-896, 2001.
- 6) 中野貴司: インフルエンザワクチンの有用性, 臨床検査, 52: 53-56, 2008.
- 7) 廣田良夫: インフルエンザワクチンの有効性—点推定と区間推定—, 小児感染免疫, 18: 283-291, 2006.
- 8) 平成12~14年度厚生労働科学研究(新興, 再興感染症研究事業) 報告書: 「乳幼児に対するインフルエンザワクチンの効果に関する研究」(主任研究者: 神谷齊, 加地正郎).
- 9) Fujieda, M., Maeda, A., Kondo, K. et al.: Inactivated influenza vaccine effectiveness in children under 6 years of age during the 2002-2003 season. Vaccine, 24: 957-963, 2006.
- 10) Hirota, Y., Fukushima, W., Fujieda, M. et al.: Essential tools for assessing influenza vaccine efficacy in improperly conducted studies: A Japanese perspective. Vaccine(2008), doi: 10.1016/j.vaccine. 2008. 06. 041.

Protease activated receptor 1 activation of platelet is associated with an increase in protein kinase CK2 activity

K. NAKANISHI,*† Y. KOMADA,† T. HAYASHI,‡ K. SUZUKI‡ and M. IDO*§

*Department of Pediatrics, Mie Chuo Medical Center, Tsu-City, Mie; †Departments of Pediatrics and Developmental Science; ‡Molecular Pathobiology; and §Neonatology, Mie University Graduate School of Medicine, Tsu-City, Mie, Japan

To cite this article: Nakanishi K, Komada Y, Hayashi T, Suzuki K, Ido M. Protease activated receptor 1 activation of platelet is associated with an increase in protein kinase CK2 activity. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 1046–8.

See also Tripodi A. More on: criteria to define the antiphospholipid syndrome. This issue, pp 1049–50; Galli M, Reber C, de Moerloose P, de Groot PG. Invitation to a debate on the serological criteria that define the antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 399–401.

Protein kinase CK2 (formerly known as casein kinase II) is a highly conserved, pleiotropic, protein serine/threonine kinase, which can be isolated in an active form from the cytoplasm, nuclei, and mitochondria [1]. CK2 has been implicated in diverse physiological processes such as gene expression, protein synthesis, cell cycle, and proliferation, as well as pathological states including carcinogenesis and viral tumorigenesis [2]. CK2 is usually found as a tetramer, with $\alpha\alpha\beta\beta$, $\alpha\alpha'\beta\beta$, or $\alpha\alpha'\beta\beta$ forms. The α and α' subunits possess catalytic activity, while the β subunit exerts a regulatory function. Unlike the majority of other protein kinases, CK2 utilizes both ATP and GTP as phosphate donors and is inhibited by heparin [1]. In addition, there is increasing evidence that CK2 is involved in the maintenance of cell morphology and cell polarity, and in the regulation of the actin and microtubule assembly [3].

CK2 is expressed in platelets [4], and the role in platelets is still unclear. The aim of this study was to investigate the possible role of CK2 in the platelet activation process, particularly in the protease activated receptor 1 (PAR1)-dependent signal transduction pathway. First of all, we examined whether PAR1 stimulation of platelets affects the activity of CK2. No kinase except CK2 uses GTP instead of ATP as a phosphate donor; thus, we measured CK2 activity using casein and [γ - 32 P]GTP essentially as described [5,6]. Platelet extracts prepared from resting, thrombin-, and PAR1-activating peptide (AP)-stimulated platelets were incubated with [γ - 32 P]GTP and casein in the presence or absence of various concentrations of CK2 inhibitors for 4 min at 30 °C. Then, radioactive phosphate incorporated into casein

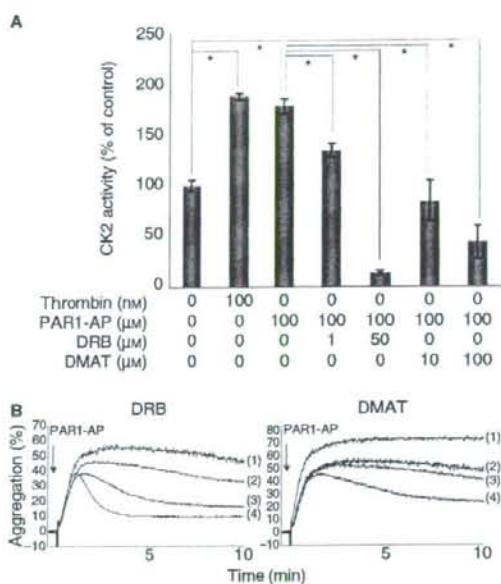


Fig. 1. (A) CK2 holoenzyme activity in resting, thrombin-, and protease activated receptor 1 (PAR1)-activating peptide (AP)-stimulated platelets and the effect of 5, 6-dichloro-1-(β -D-ribofuranosyl) benzimidazole (DRB) and 2-dimethylamino-4,5,6,7-tetrahydro-benzimidazole (DMAT). Washed platelets were unstimulated or stimulated with 10 nmol L⁻¹ thrombin or 100 μ M L⁻¹ PAR1-AP for 1 min, then centrifuged. The pellets were resuspended in extraction buffer (20 mmol L⁻¹ Tris-HCl, pH 7.5, 5 mmol L⁻¹ EGTA, 50 mmol L⁻¹ β -glycerophosphate, 6 mmol L⁻¹ DTT, 0.1 mmol L⁻¹ NaF, 1 mmol L⁻¹ Na₃VO₄, 2 mmol L⁻¹ PMSF, 0.01% leupeptin and 0.5% Triton-X 100) (1.0×10^9 cells mL⁻¹ extraction buffer) on ice for 60 min. Cell lysate was centrifuged (8000 \times g) for 10 min. The supernatant was used for CK2 activity assay. The CK2 assay was based on the transfer activity of 32 P from [γ - 32 P]GTP to casein and it was essentially performed as described [5,6]. Ten microliters of platelet extract was added to the assay mixture (final 50 μ L) (40 μ g of casein, 4 μ M L⁻¹ of [γ - 32 P]GTP in 40 mmol L⁻¹ Tris-HCl pH 8.0, 50 mmol L⁻¹ NaCl, 20 mmol L⁻¹ KCl, 10 mmol L⁻¹ MgCl₂, 0.1 mmol L⁻¹ EGTA, 2 mmol L⁻¹ DTT, various concentrations of CK2 inhibitors). The reaction mixture was incubated at 30 °C for 4 min, and then the reaction was terminated by adding 200 μ L of 15% (w/v) trichloroacetic acid and 50 μ L

Correspondence: Masaru Ido, Department of Pediatrics, Mie Chuo Medical Center, 2158-5 Myojincho Hisai, Tsu-City, Mie 514-1101, Japan.

Tel.: +81 59 259 1211; fax: +81 59 256 2651.

E-mail: ido@ztv.ne.jp

DOI: 10.1111/j.1538-7836.2008.02955.x

Received 1 October 2007, accepted 3 March 2008

of 0.16% (w/v) bovine serum albumin as a carrier protein. The mixture was centrifuged ($8000 \times g$) for 10 min, washed with 10% (w/v) trichloroacetic acid three times, and then dried. The radioactivity of protein was measured with Cherenkov radiation. The activity in the control, treated with the solvent DMSO, was normalized to 100%. Mean \pm SD of the triplicate determinations are from a representative experiment. Two more experiments showed the same results. Stars denote the statistical significant difference and bars indicate standard deviation (F -test, $P < 0.005$). (B) Effect of CK2 inhibitors on PAR1-AP-induced aggregation of platelets. Platelet-rich plasma was preincubated with 0 (1), 1 (2), 5 (3), and 50 (4) $\mu\text{mol L}^{-1}$ of DRB, and 0 (1), 1 (2), 10 (3), and 100 (4) $\mu\text{mol L}^{-1}$ of DMAT for 15 min, and then stimulated with 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ PAR1-AP. Platelet aggregation was measured with light transmittance. Representative data are from three independent experiments.

was measured. CK2 activity existed in the resting platelet (basal activity). Stimulation of platelets with thrombin or PAR1-AP induced about a 2-fold increase in CK2 activity

(inducible activity; Fig. 1A). These results were almost identical with those obtained by immunoprecipitation using anti-CK2 α antibody and *in vitro* kinase assay (data not shown). The basal (data not shown) and the PAR1-AP-induced CK2 activities (Fig. 1A) were dose-dependently inhibited by the CK2 inhibitors, 5, 6-dichloro-1- β -D-ribofuranosyl benzimidazole (DRB) [7] and 2-dimethylamino-4,5,6,7-tetrabromo-benzimidazole (DMAT) [8].

Next, we examined the effects of these CK2 inhibitors on PAR1-AP-induced aggregation of platelets. Platelet-rich plasma was preincubated with or without various concentrations of CK2 inhibitors for 15 min, and stimulated with 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of PAR1-AP. Then, the aggregation of platelets was examined with a light transmitter. These compounds dose-dependently inhibited PAR1-AP-induced aggregation of platelets (Fig. 1B). DRB was reported to inhibit CK2 and casein kinase 1 (CK1) and to have no inhibitory capacity toward several protein kinases, such as protein kinase C, cAMP-dependent protein kinase, and tyrosine kinases [7]. However, DMAT is a more selective inhibitor of CK2 and does not inhibit CK1 [8]. Other CK2 inhibitors, apigenin and 4,5,6,7-tetrabromobenzotriazole (TBB), also inhibited the aggregation of platelets by PAR1-AP (data not shown). Although not completely specific, CK2 is one of the few targets that are blocked by these chemically unrelated inhibitors.

It has previously been reported that CK2 is present in platelets, that it is constitutively active, and that it is not further activated by thrombin [4]. However, in the present study, we found that stimulation of platelets with thrombin or PAR1-AP resulted in about a 2-fold increase in CK2 activity. A Lineweaver-Burk plot (data not shown) reveals that the main reason of increased CK2 activity in thrombin- or PAR1-AP-stimulated platelets may be because of an increased affinity of CK2 to the substrate. We used casein, and in the previous report CK2 peptide RRRDDDDSSDD was used as a substrate [4]. CK2 peptide may be too small to detect the change in the affinity of CK2. Although the mechanism of CK2 activation remains poorly understood, the modification of CK2 α and α' is

unlikely; using an in-gel-renaturation assay (data not shown), we did not detect a difference in CK2 α and α' activities between the extracts prepared from resting and thrombin-stimulated platelets. Therefore, the increase in CK2 activity after PAR1 stimulation may be a result of the modification of CK2 β or other factors.

Taken together, the present study demonstrates, for the first time, that thrombin and PAR1-AP stimulation of platelets results in about a 2-fold increase in CK2 activity, which may play an important role in the mechanism of platelet aggregation.

Acknowledgements

This study was supported in part by a Grant-in-aid (2007) from the Mic University Research Foundation. We are grateful to E. C. Gabazza for his helpful comments.

Disclosure of Conflict of Interests

The authors state that they have no conflict of interest.

References

- 1 Tuazon PT, Traugh JA. Casein kinase I and II – multipotential serine protein kinases: structure, function, and regulation. *Adv Second Messenger Phosphoprotein Res* 1991; 23: 123–64.
- 2 Guerra B, Issinger OG. Protein kinase CK2 and its role in cellular proliferation, development and pathology. *Electrophoresis* 1999; 20: 391–408.
- 3 Canton DA, Litchfield DW. The shape of things to come: an emerging role for protein kinase CK2 in the regulation of cell morphology and the cytoskeleton. *Cell Signal* 2006; 18: 267–75.
- 4 Hoyt CH, Oh CJ, Beekman JB, Litchfield DW, Lerea KM. Identifying and characterizing casein kinase II in human platelets. *Blood* 1994; 83: 3517–23.
- 5 Zandomeni R, Weinmann R. Inhibitory effect of 5,6-dichloro-1- β -D-ribofuranosylbenzimidazole on a protein kinase. *J Biol Chem* 1984; 259: 14804–11.
- 6 Zandomeni R, Zandomeni MC, Shugar D, Weinmann R. Casein kinase type II is involved in the inhibition by 5,6-dichloro-1- β -D-ribofuranosylbenzimidazole of specific RNA polymerase II transcription. *J Biol Chem* 1986; 261: 3414–9.
- 7 Meggio F, Shugar D, Pinna LA. Ribofuranosyl-benzimidazole derivatives as inhibitors of casein kinase-2 and casein kinase-1. *Eur J Biochem* 1990; 187: 89–94.
- 8 Pagano MA, Meggio F, Ruzzene M, Andrzejewska M, Kazimierczuk Z, Pinna LA. 2-Dimethylamino-4,5,6,7-tetrabromo-1H-benzimidazole: a novel powerful and selective inhibitor of protein kinase CK2. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 321: 1040–4.

ORIGINAL ARTICLE

Regulatory mechanisms of C4b-binding protein (C4BP) α and β expression in rat hepatocytes by lipopolysaccharide and interleukin-6

M. KISHIWADA,*† T. HAYASHI,* H. YUASA,*† K. FUJII,*† J. NISHIOKA,* N. AKITA,* H. TANAKA,* M. IDO,* T. OKAMOTO,* E. C. GABAZZA,‡ S. ISAJI† and K. SUZUKI*

*Department of Molecular Pathobiology; †Department of Hepatobiliary Pancreatic Surgery and Breast Surgery; and ‡Department of Immunology, Mie University Graduate School of Medicine, Tsu-city, Mie, Japan

To cite this article: Kishiwada M, Hayashi T, Yuasa H, Fujii K, Nishioka J, Akita N, Tanaka H, Ido M, Okamoto T, Gabazza EC, Isaji S, Suzuki K. Regulatory mechanisms of C4b-binding protein (C4BP) α and β expression in rat hepatocytes by lipopolysaccharide and interleukin-6. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 1858–67.

Summary. *Background:* C4b-binding protein (C4BP), a multimeric protein structurally composed of α chains (C4BP α) and a β chain (C4BP β), regulates the anticoagulant activity of protein S (PS). Patients with sepsis have increased levels of plasma C4BP, which appears to be induced by interleukin (IL)-6. However, it is not fully understood how lipopolysaccharide (LPS) and IL-6 affect the plasma C4BP antigen level and C4BP α and C4BP β expression in hepatocytes. *Objectives:* To assess the effect of LPS and IL-6 on plasma C4BP, PS–C4BP complex levels, PS activity, and C4BP expression by rat liver *in vivo* and on C4BP expression by isolated rat hepatocytes *in vitro*. *Results:* Plasma C4BP antigen level transiently decreased from 2 to 12 h after LPS (2 mg kg⁻¹) injection, and then it abruptly increased up to 24 h after LPS injection. Plasma C4BP antigen level increased until 8 h after IL-6 (10 μ g kg⁻¹) injection, and then gradually decreased up to 24 h after IL-6 injection. LPS significantly decreased the protein and mRNA expression of both C4BP α and C4BP β in rat hepatocytes, and this effect was inhibited by NF κ B and MEK/ERK inhibitors. IL-6 mediated increase in C4BP β expression in rat hepatocytes, which leads to increased plasma PS–C4BP complex level and to decreased plasma PS activity, was inhibited by inhibition of STAT-3. *Conclusion:* LPS decreases both C4BP α and C4BP β expression via the NF κ B and MEK/ERK pathways, whereas IL-6 specifically increases C4BP β expression via the STAT-3 pathway, causing an increase in plasma PS–C4BP complex, and thus decreasing the anticoagulant activity of PS.

Correspondence: Koji Suzuki, Department of Molecular Pathobiology, Mie University School of Medicine, Tsu-city, Mie 514-8507, Japan.
Tel.: +81 59 231 5036; fax: +81 59 231 5209.
E-mail: suzuki@doc.medic.mie-u.ac.jp

Received 11 February 2008, accepted 28 July 2008

Keywords: C4b-binding protein, CD14, interleukin-6, lipopolysaccharide, MAP kinase, NF κ B, STAT-3, toll-like receptor-4.

Introduction

Plasma C4b-binding protein (C4BP), mainly synthesized in hepatocytes, acts as a cofactor of the serine protease factor (F) I for the degradation of C4b in the classic complement pathway [1,2]; C4b degradation inhibits the formation of the C4b2a complex (C3 convertase), which plays a critical role in the inflammatory response following activation of the complement system. C4BP circulates in human plasma in several forms because of different combinations of its α (Mr 70 000) and β (Mr 45 000) chains [2]. C4BP contains either six or seven α chains (C4BP α) and either one or no β chain (C4BP β) [2]. C4BP α and C4BP β bind to C4b and to the anticoagulant protein S (PS), respectively. PS is a vitamin K-dependent plasma glycoprotein (Mr 75 000) that functions as a cofactor of the anticoagulant protease, activated protein C (APC). APC inactivates the blood coagulation factors FVa and FVIIIa [3,4]. PS also binds to FVa and FXa and by this mechanism it may directly inhibit the prothrombinase complex [5,6]. In human plasma, approximately 60% of total PS circulates in complex with C4BP, whereas approximately 40% of total PS circulates in free form [7,8]; only the free form of PS has cofactor activity for APC [9,10]. PS is a physiologically important anticoagulation factor, because patients with hereditary PS deficiency suffer from severe thrombotic diseases [11,12]. Decreased levels of free PS may lead to a thrombotic tendency, suggesting that increased levels of plasma C4BP are a risk factor for thrombosis. Because increased plasma levels of C4BP induced by interleukin (IL)-6 have been described during the inflammatory response, C4BP is also considered as an acute phase reactant [2].

We have recently reported that the expression of PS is decreased in hepatocytes and sinusoidal endothelial cells from rats with endotoxemia, and that this decrease is mediated by the