

20093/044A

厚生労働科学研究費補助金  
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

# 成人感染が問題となりつつある 小児感染症への対応に関する研究

(H21-新興-一般-011)

平成21年度 総括・分担・協力研究報告書

研究代表者	加藤達夫	国立成育医療センター
分担研究者	浅野喜造	藤田保健衛生大学
	荒川宜親	国立感染症研究所
	庵原俊昭	国立病院機構 三重病院
	岡田賢司	国立病院機構 福岡病院

平成22年(2010)年3月

厚生労働科学研究費補助金  
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

# 成人感染が問題となりつつある 小児感染症への対応に関する研究

(H21-新興-一般-011)

平成21年度 総括・分担・協力研究報告書

研究代表者	加藤 達夫	国立成育医療センター
分担研究者	浅野 喜造	藤田保健衛生大学
	荒川 宜親	国立感染症研究所
	庵原 俊昭	国立病院機構 三重病院
	岡田 賢司	国立病院機構 福岡病院

平成22年(2010)年3月

## 【研究協力者】

- 中島夏樹 中島医院
- 新庄正宜 慶應義塾大学医学部小児科  
慶應義塾大学病院感染対策室
- 高山直秀 東京都立駒込病院小児科
- 崎山 弘 崎山小児科
- 山口晃史 国立成育医療センター母性内科
- 齋藤昭彦 国立成育医療センター膠原病・感染症科
- 勝田友博 国立成育医療センター膠原病・感染症科
- 吉川哲史 藤田保健衛生大学医学部小児科
- 森 康子 神戸大学大学院医学研究科臨床ウイルス学分野、  
医薬基盤研究所、感染制御プロジェクト
- 中村幸嗣 国立感染症研究所細菌第二部
- 大塚菜緒 国立感染症研究所細菌第二部
- 鯨坂裕美 国立感染症研究所細菌第二部
- 齋藤良一 国立感染症研究所細菌第二部
- 蒲地一成 国立感染症研究所細菌第二部
- 中野貴司 国立病院機構三重病院臨床研究部
- 菅 秀 国立病院機構三重病院小児科
- 二井立恵 白子クリニック小児科
- 伊佐地真知子 白子クリニック小児科
- 加藤 孝 かとう小児科
- 落合 仁 落合小児科
- 渡辺正博 すずかこどもクリニック

## 目 次

### I. 総括・分担・協力研究報告書

..... 1

### II. 研究成果の刊行に関する一覧表

..... 67

### III. 研究成果の刊行物・別刷

..... 71

# I. 総括・分担・協力研究報告書

厚生労働科学研究費補助金  
(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)  
平成 21 年度 総括・分担・協力研究報告書

成人感染が問題となりつつある小児感染症への対応に関する研究

研究代表者 加藤 達夫 国立成育医療センター総長

研究要旨：成人感染が問題となりつつある小児感染症への対応として予防接種を中心に研究した。  
対象は水痘、百日咳、麻疹・風疹とした。

1) 水痘は本来小児に多発する感染症であるが成人期後には帯状疱疹として発症し、極めて強い疼痛を伴う。彼らは水痘罹患患者である。水痘はその発症阻止手段としてのワクチンが定期接種化されていないところから、その接種率は低く約30%～40%といわれる。その為に、年間数十万人の小児が水痘に罹患し、多くは治癒するものの、一度流行すると保育園などに広まり、患児は自宅療養せざるを得ず、働く保護者は休暇をとり自宅で看護することとなり、勤務は出来ない為その社会に与える影響は少ないとはいえない。一方、小児科病院内で水痘が発生すると空気感染である為院内感染症となり免疫を持たない小児、特に免疫不全状態にある病児にとって水痘発症は致命的となる為、一時入院制限をする必要性に迫られる。この院内感染が二次、三次と広がることが多い為、殆ど入院施設では入院中止の処置を長期にわたりとらざるを得なくなり、病院は入院を必要とする患児の対処に困窮する。又病院経営にとっても問題を残す。

帯状疱疹発症の防止は、水痘罹患を防御することにつながる。本研究において考えさせられたことは、水痘はワクチンによってその発生を減少させるべきであることであった。本年は、小児水痘発生は社会的影響がいかにか大きいことであるかを検証した。

2) 百日咳は本来、乳幼児に発症する疾患であるが、近時、成人にもその発症が多発する傾向にある。この原因は百日咳発症を防止する為の DaPT ワクチンが生後 90 カ月迄に 4 回を第 1 期接種に行なうものの第 2 期接種には百日咳ワクチンを含有しない DT ワクチンが小学校卒業前に 1 回接種されるのみであるところから百日咳菌に対する免疫が成人期に低下している為と考えられる。百日咳菌に対する免疫を保つ為に第 2 期にも DaPT ワクチンを接種すべきとの観点から本年は研究を開始した。更に成人百日咳と乳幼児百日咳との相異については、成人百日咳と小児百日咳との百日咳の基礎医学的相異に関して検索した。又今後、小児・成人の百日咳患者より検体を集積し分析する為のプロトコールを作成した。

3) 麻疹・風疹は平成 18 年よりその蔓延を防止すること、2012 年迄に麻疹を根絶することを目的として 3 期、4 期接種を 5 年に限り次期をもうけて行ってきた。この効果につき検証すると共に、1) の水痘発症を軽減することを目的として MR ワクチン接種時に水痘ワクチンを同時接種することを研究テーマとし、検証した。

又、妊婦に MR ワクチンを接種し、その安全性・有効性につき検証した。更に、3 期、4 期の接種率についてもプロトコールを作成し研究に着手した。麻疹のみならず先天性風疹症候群発生を鑑み、風疹に関しても調査した。

# 水痘

**1** 研究代表者：加藤達夫、研究協力者：勝田友博、齋藤昭彦らは、「大規模小児医療施設における院内水痘発生状況調査」を行った。

## 研究要旨

水痘は、ワクチン接種により予防が可能な Vaccine Preventable Diseases に含まれるが、本邦における水痘ワクチン接種率は40%に留まっており、重症水痘の risk となる免疫抑制者などが多数入院している小児病棟における院内水痘発生が問題となっている。今回我々は、院内水痘発生予防策を検討するために、本邦の大規模小児医療施設（71施設）における過去3年間の院内水痘発生状況、発生時対応、事前予防策等をアンケート調査した。

その結果、事前予防策として入院時の水痘既往歴、ワクチン接種歴聴取のほか、医療従事者や予定入院患者に対する水痘抗体調査などの対応がなされていたにも関わらず、3年間の調査期間中、対象施設の51%において計108例の院内水痘発生が確認された。発症者の89%は水痘ワクチン未接種児であり、発生時対応としてはグロブリン製剤、抗ウイルス薬、緊急ワクチン接種などが余儀なくされていた。

調査対象施設の多くは不特定の緊急入院患者を受け入れる三次救急施設であり個別の水痘対策には限界がある。院内水痘発生予防には、定期接種化などによる国内水痘ワクチン接種率の向上などの抜本的な対策が必要である。

## 研究目的

水痘罹患時に重症化が懸念される免疫抑制患者などが多数入院している本邦の大規模小児医療機関における院内水痘発生状況は正確に把握されておらず、また発生時対応も各施設により統一されていない。本研究は本邦の主要小児科施設における水痘発生状況等を詳細に解析することにより、水痘ワクチン定期化

など水痘感染対策を検討する際の参考とすることを目的としている。

## 研究方法

平成21年7月～10月の4ヶ月間、本邦における大規模小児医療施設（71施設）を調査対象とし、過去3年間の院内水痘発生状況、発生時対応、事前予防策等を郵送によるアンケートにて調査した。

## 研究結果

調査対象71施設より、過去3年間の院内水痘発生状況、発生時対応、事前予防策等に関して以下の結果を得た。対象施設の概要を表1に示す。

調査期間中、対象施設の51%において計108例の院内水痘発生が確認され、発症者の89%は水痘ワクチン未接種児であった。（図1及び図2）年齢及び免疫機能別の院内水痘発生時個別対応を図3～図5に示す。

1歳未満の免疫正常患者に対しては、主に Acyclovir の内服による対応がなされていた。1歳以上の免疫正常患者への対応は Acyclovir 内服のほかにワクチン未接種の場合緊急接種、既接種の場合は経過観察が多くを占め、年齢に関わらず免疫抑制患者に対してはグロブリン製剤と Acyclovir 静注が多用されていた。

多くの調査対象施設において、入院時の水痘既往歴、ワクチン接種歴聴取のほか、医療従事者や予定入院患者に対する水痘抗体調査など最大限の院内水痘予防策がなされていた。（図6）

## 考察

調査対象施設は、不特定の緊急入院患者と水痘の重症化が懸念される免疫不全患者が同一施設に入院しており、個別の水痘感染対策で院内発生をコントロールすることは非常に困難である。本調査において院内水痘発症患者の9割が水痘ワクチン未接種であったことから、国内における水痘ワクチン接種率の向上など、より抜本的な対策が必要である可能性が示唆された。

## 結論

院内水痘発生患者の多くは水痘ワクチン未接種児であり、水痘ワクチン定期接種化の導入などによる接

種率の向上が院内水痘発生予防に寄与する可能性が示唆された。

#### 健康危険情報

#### 研究発表

論文発表 日本小児科学会雑誌投稿準備中

学会発表 なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



表1. 対象71施設の概要	
<b>年間入院数</b>	<b>施設数 (%)</b>
～500人未満	9 (13)
500人以上～1000人未満	28 (39)
1000人以上～1500人未満	18 (25)
1500人以上～2000人未満	6 (8)
2000人以上～2500人未満	2 (3)
2500人以上	8 (11)
<b>小児科病床数</b>	<b>施設数 (%)</b>
～50床未満	40 (56)
50床以上～100床未満	15 (21)
100床以上～200床未満	7 (10)
200床以上～300床未満	2 (3)
300床以上～400床未満	2 (3)
400床以上	5 (7)
<b>小児科病棟数 (NICUを除く)</b>	<b>施設数 (%)</b>
1病棟	43 (61)
2病棟	9 (13)
3病棟	9 (13)
4病棟	3 (4)
5病棟	3 (4)
8病棟	1 (1)
9病棟	2 (3)
不明	1 (1)
<b>陰圧個室</b>	<b>施設数 (%)</b>
ある	39 (55)
ない	32 (45)
<b>免疫抑制患者/全入院患者</b>	<b>施設数 (%)</b>
～1割未満	26 (36)
1割以上～2割未満	10 (14)
2割以上～3割未満	15 (21)
3割以上～4割未満	9 (13)
4割以上～5割未満	4 (6)
5割以上	7 (10)

予定入院患者/全入院患者	施設数 (%)
～1割未満	16 (23)
1割以上～2割未満	12 (17)
2割以上～3割未満	9 (13)
3割以上～4割未満	8 (11)
4割以上～5割未満	8 (11)
5割以上	18 (25)

図 1. 過去 3 年間の病棟内水痘患者発生

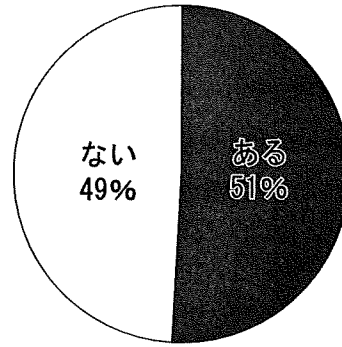


図 2. 病棟内水痘発症者の事前ワクチン接種歴

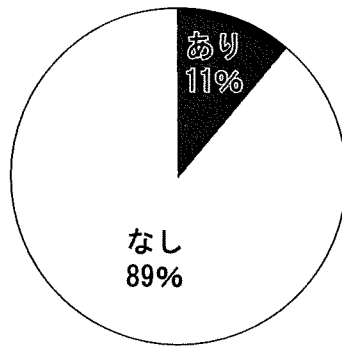


図 3. 接触者への対応 1 歳未満 Vaccine 接種歴なし

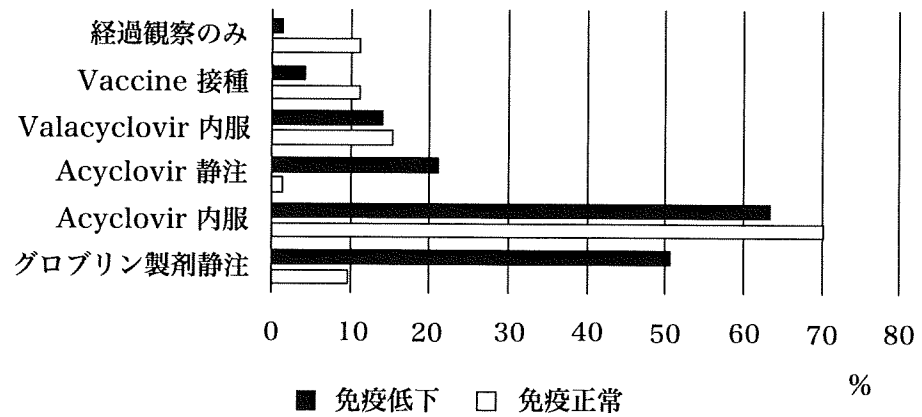


図4. 接触者への対応 1歳以上 Vaccine 接種歴なし

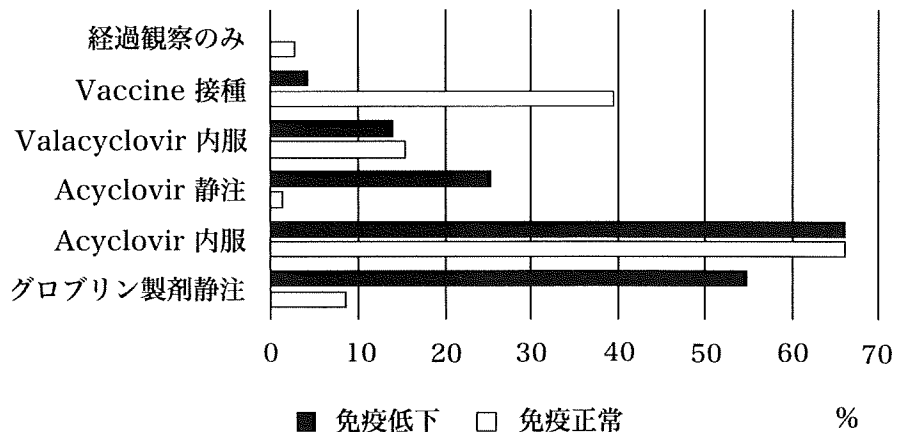


図5. 接触者への対応 1歳以上 ワクチン接種歴あり

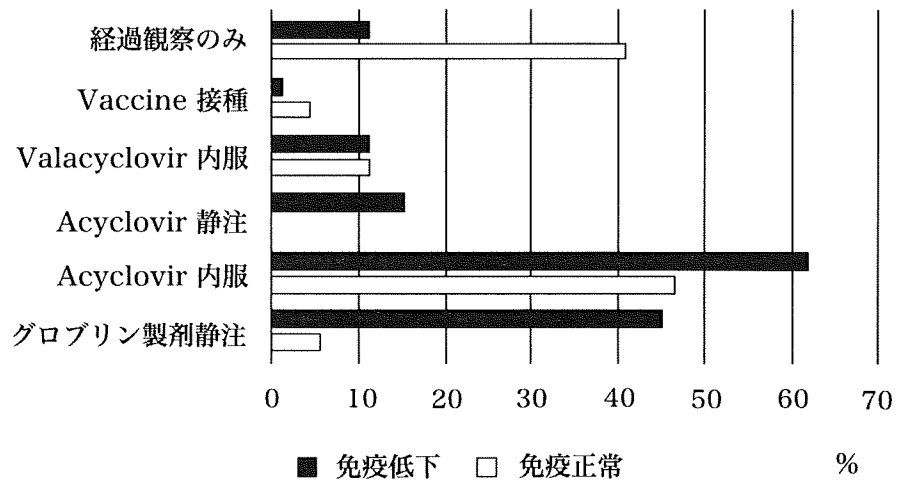
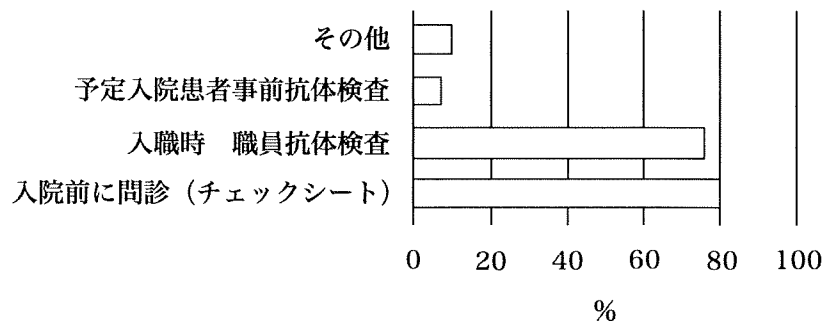


図6. 院内発生予防に対する取り組み



**2** 研究代表者：加藤達夫、研究協力者：中島夏樹

は、

「保育園の水痘、および水痘ワクチンに対する意識調査に関する研究」を行った。

#### 研究要旨

全国保育園の園長、保育士、看護師の水痘および水痘ワクチンに対する意識調査を行った。

#### A. 研究目的

水痘は、有効なワクチンが開発された現在でも、わが国では接種率が低く、乳幼児が集団生活を送る保育施設などでは毎年のように流行をくり返している。そこで保育現場での水痘流行の実態、水痘および水痘ワクチンに対する意識を調査し、水痘流行の実態および水痘ワクチン接種率低迷の原因を調査する。

#### B. 研究方法

全国の保育園に対し、

- 1) 水痘の発生数
- 2) 流行状況
- 3) 集団発生の有無
- 4) 水痘に対する意識
- 5) 水痘ワクチンに対する意識
- 6) 水痘ワクチン定期接種化に対する意見
- 7) 医療情報の入手法
- 8) 水痘発生時の対応

についてアンケート調査を行った。

#### C. 研究結果

全国 643 施設から回答を得た。その結果、

- 1) 保育園における水痘患者の約 8 割が 3 歳以下だった。
- 2) 保育者の 41% が、水痘は子供のうちに自然罹患しておくべきと考えている。
- 3) ワクチン低接種率の原因は費用である。
- 4) 70% の保育園で 5 年以内に水痘の集団発生を経験している。
- 5) ワクチンの必要性にはある程度理解があるが、定期接種化を求める意見は 42% に留まっている。

#### D. 考察

全国の保育園において、水痘は毎年流行をくり返し、患児のみならず、保育者、保護者の大きな負担となっている。水痘ワクチンの接種率が低迷している原因は任意接種のため接種費用が大きな負担となっているためと思われ、一刻も早く水痘ワクチンの定期接種化が必要と思われるが、保育者の中にさえ、水痘を自然罹患すべきとの意見があり、啓発が必要と思われた。

**3** 研究分担者：浅野喜造、研究協力者：吉川哲史、

森康子らは、

「水痘ワクチンとその他のワクチンの同時接種、更に帯状疱疹発症の抑制効果に関する研究」を行った。

#### 研究要旨

MR ワクチンと水痘ワクチン同時接種の有効性、安全性を評価することを目的として、本学予防接種外来を受診した 5 名の被験者に、1 期 MR ワクチン接種時に同時に水痘ワクチンを接種した。全例で麻疹、風疹抗体価の有意上昇が確認されたが、水痘は 1 名で抗体価上昇が認められなかった。特に問題となる副反応はなかった。水痘特異的細胞性免疫能の評価は、保存リンパ球の状態が悪く解析不可能であった。

#### A. 研究目的

我が国の小児予防接種を欧米先進国レベルに引き上げるため、現行の定期接種ワクチンに加え任意接種ワクチンを定期接種化し、より多くの接種可能なワクチンを効率的に投与してゆく必要がある。そのような状況下では、複数ワクチンの同時接種は極めて有用な手段である。欧米ではワクチン同時接種が一般的に実施されているが、我が国ではなじみが薄く、その効果、安全性に関する基礎的なデータが求められている。そこで本研究では、現時点で最も実現の可能性が高く、かつ臨床現場でのニーズが高いと考えられる MR ワクチンと水痘ワクチンの同時接種について、その効果、安全性を評価することを目的とした。MR ワクチン水痘ワクチン同時接種群と水痘ワクチン単独接種群間で、抗体反応、副反

応について比較する予定。さらに、水痘带状疱疹ウイルス (VZV) 感染制御に重要な役割を果たすと考えられている、VZV 特異的細胞性免疫反応を評価するため、被検児の末梢血単核球 (PBMCs) を用いて ELISPOT アッセイを実施した。

## B. 研究方法

### 1. 対象

大学病院小児科へ MR ワクチン接種を希望して来院した患児の中で、水痘ワクチン同時接種に同意した 5 名。接種前、接種後 (1 か月後) にヘパリン加血 5ml と血清 1ml を採取。副反応については、記録用紙を保護者へ渡し 1 ヶ月間記録。

### 2. 方法

- ① 血清中 VZV 抗体価測定
- ② 血清中麻疹ウイルス、風疹ウイルス抗体価測定
- ③ 末梢血単核球 (PBMCs) を用いて ELISPOT アッセイ実施 (医薬基盤研)

\*PBMCs は採取後セルバンカーに浮遊し液体窒素保存。まとめてドライアイス詰めて、医薬基盤研へ輸送。コントロール用の健康成人 PBMC も同様に採取し同時発送。

- ④ 副反応調査：記録用紙を保護者へ渡し、接種後 1 か月間観察。ポスト採血時に回収。調査項目：体温測定、発疹の有無など。

(倫理面の配慮)

以下のような対策を講じ、本学倫理審査委員会で本研究計画は承認された (No.09-070)。

- ① プライバシー保護：登録された患者の個人情報は、名前が特定される形では公表されない。連結可能匿名化により個人情報を保護する。対照表は暗号化した上で、パスワードにて管理されたエクセルファイルにて管理する (分担研究者 吉川哲史准教授室内で施錠管理されたコンピューター：管理責任者：吉川哲史准教授)。検体輸送に際し、検体ラベルにはコード番号のみを記載し、別に保管した対照表を基に主任研究者のみ連結化が可能となるような形をとる。
- ② 予想される利益と不利益：被験患児に対する利益としては、VZV に対する免疫の付与がある。不

利益及び危険性：MR ワクチン、水痘ワクチンとも実際に臨床現場で使用されているものであり、危険性はない。また、欧米では両ワクチン同時接種の実績もあるため、これらワクチンの同時接種についても危険性はないと予測される。不利益としては、接種前後に抗体反応、細胞性免疫能評価のため採血されることが挙げられる。

- ③ 利益相反：本研究において利益相反はない。使用する水痘ワクチンは研究費で購入し被験者へ無償供与される。研究費は厚生労働科学研究費を使用する。
- ④ 説明と同意：本研究の実施に際しては、別紙のような保護者への説明文書に従い説明を行い、自由意志に基づく同意が得られた上で行なう。
- ⑤ 検体の再利用：本研究以外に検体の使用はしない。研究終了後廃棄する。

## C. 研究結果

5 名の被験者に、1 期 MR ワクチン接種時に同時に水痘ワクチンを接種した。全例で麻疹、風疹抗体価の有意上昇が確認されたが、水痘は 1 名で抗体価上昇が認められなかった。特に問題となる副反応はなかった。

### 1. 麻疹・風疹抗体価

N o.	検体 名	採血 日	水痘			
			IAHA 法	判 定	ELISA 法	判 定
1	3199	8/28	<2	-	<50	-
2	3320	9/25	8	+	130	+
3	3200	8/28	<2	-	<50	-
4	3321	9/25	8	+	122	+
5	3257	9/11	<2	-	<50	-
6	3368	10/9	32	+	329	+
7	3367	10/9	<2	-	<50	-
8	3515	11/5	<2	-	<50	-
9	3322	9/25	<2	-	<50	-
10	3430	10/23	64	+	691	+

## 2. 水痘抗体価

No.	検体名	採血日	水痘			
			IAHA法	判定	ELISA法	判定
1	3199	8/28	<2	-	<50	-
2	3320	9/25	8	+	130	+
3	3200	8/28	<2	-	<50	-
4	3321	9/25	8	+	122	+
5	3257	9/11	<2	-	<50	-
6	3368	10/9	32	+	329	+
7	3367	10/9	<2	-	<50	-
8	3515	11/5	<2	-	<50	-
9	3322	9/25	<2	-	<50	-
10	3430	10/23	64	+	691	+

## 3. 水痘 ELISPOT アッセイ

保存 PBMCs のコンディション不良のため解析できず。

### D. 考察

5名の被験者に、1期MRワクチン接種時に同時に水痘ワクチンを接種した。全例で麻疹、風疹抗体価の有意上昇が確認されたが、水痘は1名で抗体価上昇が認められなかった。また、特に問題となる副反応はなかった。以上から、MRワクチンと水痘ワクチンの同時接種は、安全かつ有効なことが示唆された。しかしながら、研究対象数が少なく、より正確な結果を得るためには症例数を増す必要がある。本学予防接種外来では、豊明市在住の小児のみMRワクチンの予防接種券が使用可能であるため数に限りがある。よって、来年度は関連病院の研究参加を促し対象数を増す努力が必要である。

水痘の感染防御には水痘特異的細胞性免疫能が重要であるが、今回その点を評価するために医薬基盤研究所が開発したELISPOTアッセイでの評価を目指した。我々はその基礎検討のために、既に本学で採取した様々な患者PBMCsを医薬基盤研究所へ送り興味ある知見を報告している(Sadaoka K, et al. J Infect Dis. 2008 ;198:1327-33.)。しかしながら、今回の検討ではこれまで同様の検体採取、保存法を用いたものの、輸送の段階での温度管理に不備があったためリンパ球の状態が悪く解析ができなかった。今後は輸送時の温度管理を徹底し、この

ようなことがないように注意したい。

### E. 結論

MRワクチンと水痘ワクチン脳同時接種は、安全に実施可能で、かつ十分な抗体反応が得られることが示唆された。しかしながら対象数が少なく、今後症例の蓄積が必要と思われた。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

Characterization of neutralizing epitopes of varicella-zoster virus glycoprotein H. Akahori Y, Suzuki K, Daikoku T, Iwai M, Yoshida Y, Asano Y, Kurosawa Y, Shiraki K. J Virol. 2009 ;83:2020-4.

#### 2. 学会発表

該当せず

### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当せず

#### 研究協力者

藤田保健衛生大学医学部小児科

吉川哲史

神戸大学大学院医学研究科臨床ウイルス学分野、  
医薬基盤研究所、感染制御プロジェクト

森 康子

# 百日咳

1 研究分担者：岡田賢司は、

「高学年者・成人の百日咳感染の実態と DPT 第 2 期接種の必要性の検討」を行った。

## 研究要旨

DT2 期接種対象の児に、百日咳に対する追加免疫を賦与するために、薬事法で承認を受けている現行の DTP ワクチン接種を行った。百日咳に対する免疫原性は DT 接種より優れ、0.2ml 接種でも 0.5ml 接種でも同等な効果が認められた。ジフテリアおよび破傷風に関しては、規定の DT0.1ml と比較して抗体反応は DTP0.2ml および 0.5ml 接種は同等であった。安全性の観点からは、局所反応発生率は 3 群間で差はなかったが、発赤、腫脹などの程度は DTP0.5ml 接種群が大きかった。

## A. 研究の目的

わが国で開発され国際的に高い評価を受けている DTaP ワクチンを工夫して、増加している思春期・成人の百日咳対策に活用する。

## B. 研究方法

対象：平成 21 年度 DT2 期接種対象児

方法

### 1. 安全性の確認（接種後健康調査）

保護者に同意書で同意を得たうえで、無作為に DT0.1ml 接種群(5 例)、DTP0.2ml 接種群(10 例)、DTP0.5ml 接種群(10 例)に分け接種。接種後健康状況調査票の記載を依頼し、終了後回収する。

### 2. 有効性の確認

接種前後で採血を行い、血清抗体価（百日咳は PT-IgG, FHA-IgG, 凝集素価、ジフテリア抗毒素抗体、破傷風抗毒素抗体）を測定する。

（倫理面への配慮）

採血を行なう場合は、分担者が倫理委員会での議を経ること。分担研究者への調査票回収時は接種児の氏名などを特定できないように研究協力者が配慮した。

## C. 研究結果

### 1. 免疫原性

DTaP 0.2ml 接種群および 0.5ml 接種群は DT0.1ml 群と比較して、百日咳抗体 (PT/FHA) 価は優位に上昇した。DTaP 0.2ml 接種群と 0.5ml 接種群間では上昇した抗体価に差はなかった。ジフテリア抗毒素抗体価および破傷風抗毒素抗体価は、DTP0.2ml 群および DTP0.5ml 群は、2 期として規定の DT0.1ml 群と比較して同等の抗体反応が認められた。

### 2. 安全性

症例数は少ないが、局所反応（発赤・腫脹）出現率は 3 群間で相違は認められなかった。ただ、局所反応の程度は DTaP 0.5ml 群が最も大きかった。

## D. 考察

DT2 期接種に際して、百日咳に対する追加免疫を賦与するために、薬事法で承認を受けている現行の DTP ワクチン接種を行った。百日咳に対する免疫原性は DT 接種より優れ、接種量は 0.2ml 接種でも 0.5ml 接種でも同等な効果が認められた。ジフテリアおよび破傷風に関しては、規定 DT と比較して抗体反応は DTP0.2ml および 0.5ml 接種は同等であった。安全性の観点からは、局所反応発生率は 3 群間で差はなかったが、発赤、腫脹などの程度は 0.5ml 接種群が大きかった。

## E. 結論

症例数は少ないが、免疫原性および安全性から評価して、11～12 歳児に DT に替わり、現行 DTP ワクチン 0.2ml 接種は有用と考えられた。今後例数を更に増やし、更なる検討を行うこととする。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

1) Okada K, Ohashi Y, Matsuo F, et al: Effectiveness of an acellular pertussis vaccine in Japanese children during a non-epidemic period: a matched case-control study. *Epidemiology and Infection* 137: 124-130, 2009

2) 岡田賢司: (総説) 主な予防接種対象疾患～活用と問

題点～ 日本呼吸器学会誌 20(1):31-36, 2009

3) 予防接種ガイドライン: 予防接種ガイドライン等検討委員会(加藤達夫委員長) 2009年3月 pp1-76

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

**2** 研究代表者: 加藤達夫、研究協力者: 中島夏樹

らは、

「MR麻しん風しん混合ワクチン第3期、第4期接種の安全性に関する研究」を行った。

#### 研究要旨

MRワクチン第3期、4期接種後28日間の有害事象を健康調査票にて調査した。

#### A. 研究目的

2006年6月より、MRワクチンの2回接種が開始され、さらに2008年4月より中学1年(第3期)および高校3年(第4期)への接種が開始された。これらに対する安全性のデータを得ることを目的とする。

#### B. 研究方法

東京都および神奈川県内の6つの小児科診療所にMRワクチン第3期、4期接種に訪れた接種者、保護者に、健康調査票を渡し、接種後28日間の有害事象を記載してもらい、郵送にて回収した。

#### C. 研究結果

昨年9月より開始し、現在6枚の調査票が回収されたが、1人に接種後4日、9日、11日、28日に37℃台の微熱が、1人に接種当日の腹痛が認められたが、いずれも軽微な副反応と思われた。

#### D. 考察

接種後1人に微熱、1人に腹痛が認められたが、ワクチン接種との明らかな因果関係は認められなかった。今後症例数を増やし検討する予定である。

#### E. 結論

現在までのところ、MRワクチン接種後28日間で重篤な副反応を呈した例は認められなかった。

**3** 研究分担者: 荒川宜親、岡田賢司、

研究協力者: 中村幸嗣、大塚菜緒、鯉坂裕美、齋藤良一、蒲地一成らは、

「成人と小児における百日咳保菌量の解析」を行った。

#### 研究要旨

成人と小児における百日咳感染の実態を明らかにすることを目的に、IS481 real-time PCR法を用いて成人と小児患者における百日咳保菌量を解析した。その結果、患者鼻腔から採取される百日咳菌量は、乳児で平均 $1.1 \times 10^6$ 個(95% CI,  $1.2 \times 10^5 \sim 8.9 \times 10^6$ )、小児で $2.1 \times 10^4$ 個( $5.3 \times 10^3 \sim 8.3 \times 10^4$ )、成人で320個(120～910)と算出され、成人患者は小児に比較して有意に保菌量が低いことが判明した。なお、成人患者は病週に関わらず低い菌量を示し、病期による有意差を認めなかった。成人患者の百日咳保菌量は乳児の1/340、小児の1/65であり、この低い保菌量が成人百日咳の非典型的な臨床像ならびに低い診断率の原因になっているものと考察された。

#### A. 研究目的

わが国を始めとする先進国では、青年・成人層における百日咳感染が新たな問題となっている。一般に成人百日咳の臨床像は非典型的とされ、その臨床像には長期間に渡る咳嗽のみが認められる。また培養検査の陽性率は低く、成人患者からの菌分離はほとんど期待できない。このことは、成人層における感染状態は小児のものと異なることを強く示唆するが、まだ明確にはなっていない。

近年、多くの感染症で高感度な遺伝子診断法が開発され、新たな実験室診断として利用することが可能となってきた。百日咳ではLAMP法ならびにIS481を標的としたreal-time PCRが感度および迅速性に優れ、特にIS481 real-time PCRは検体中のDNA量、すなわち菌量の推定を可能とする。そこで、本研究では成人と小児における百日咳感染の実態を明らかに



することを目的に、IS481 real-timePCR を用いて成人と小児患者における百日咳保菌量を解析した。また、百日咳菌の保菌量と菌タイプの関係についても検討を行った。

## B. 研究方法

臨床検体：百日咳 LAMP 法により確定診断された成人患者 19 名（平均年齢 43.3 才）、乳児患者 14 名（平均年齢 2.9 ヶ月）、小児患者 26 名（平均年齢 9.2 才）の鼻腔スワブ DNA を供試した。陰性対照には LAMP 陰性者 24 名（成人 6 名、小児 18 名）の鼻腔スワブ DNA を用いた。なお、鼻腔スワブ DNA は QIAamp DNA Microkit により抽出し、25  $\mu$ l の AEBuffer を用いてカラムから溶出した。

Real-time PCR：IS481 real-time PCR は既報に従い TaqMan probe を用いて実施した（Kösters et al., J Med Microbiol, 2001）。測定には 2  $\mu$ l の鼻腔スワブ DNA を供試し、ABI 7500 Fast リアルタイム PCR システムにより解析した。検量線には百日咳菌東浜株 DNA（4.2 fg DNA/genomic copy）を使用し、その cycle threshold 値（CT）から検体中の菌量を算出した。

Multilocus sequence typing (MLST)：患者 DNA 検体を鋳型に百日咳菌の allelic gene (*ptxS1*, *prn*, *fim3*) を増幅し、シーケンス解析によりそれぞれの allele タイプを決定した。MLST は上記 3 遺伝子の allele タイプの組み合わせから決定した。

有意差検定：Mann-Whitney U 検定により実施し、 $P < 0.05$  を有意とした。

### （倫理面への配慮）

本研究におけるヒト臨床検体は診断目的に採取されたものであり、ヒト遺伝子の解析を目的としない。ただし、臨床検体は非連結匿名化し、個人が特定できないよう配慮した。

## C. 結果

解析に先立ち、百日咳菌東浜株 DNA を用いて IS481 real-time PCR の検出感度と直線性を検討した。その結果、IS481 real-time PCR は 10 fg から 10ng DNA で良好な直線性 ( $R^2 = 0.99$ ) が得られ、

その検出感度は LAMP 法と同様に 10 fg DNA (CT 値 =  $37.6 \pm 0.3$ ) であることが示された (Fig. 1)。そこで、LAMP 陰性者と陽性者の DNA 検体を用いて IS481 real-time PCR (カットオフ値 = 37.6) の特異度を検討したところ、83 検体中 77 検体で LAMP 法と判定が一致し、その特異度は 93%と算出された (Fig.2)。

成人患者 ( $n = 19$ ) と小児患者検体 ( $n = 40$ ) を IS481 real-time PCR に供試したところ、平均 CT 値はそれぞれ 34.9 と 27.1 を示し、成人と小児患者では有意な保菌量の差異が認められた ( $P < 0.001$ ) (Fig.3)。また小児検体を乳児 ( $n = 14$ ) と月齢 6 ヶ月以上の小児 ( $n = 26$ ) に分けた場合、乳児と小児の平均 CT 値はそれぞれ 23.6 と 29.1 を示し、有意な保菌量の差異が認められた ( $P = 0.011$ ) (Fig. 4)。一方、成人患者 16 名について、咳嗽期間と保菌量の間を調べたところ、14 日以内の咳嗽期間を呈した患者 ( $n = 8$ ) と 15 日以上を呈した患者 ( $n = 8$ ) ではその CT 値に有意差を認めなかった ( $P = 0.92$ )。

小児検体 40 検体について MLST を解析したところ、33 検体でその MLST が決定され、17 検体がワクチン型の MLST-1、14 検体が欧米型の MLST-2、2 検体が新タイプの MLST-4 であることが判明した。そこで MLST と保菌量の間を調べたところ、MLST-1、MLST-2、MLST-4 に罹患した小児患者の平均 CT 値はそれぞれ 27.0、24.8、28.6 を示し、MLST-1 と MLST-2 の保菌量に有意差は認められなかった ( $P = 0.27$ )。

## D. 考察

本研究では成人と小児患者における百日咳保菌量を解析し、成人患者は病期に関わらず低い保菌量を示すという新見を得た。百日咳保菌量をワクチン株である東浜株に換算すると、患者鼻腔から綿棒で採取される菌量は成人で 320 個 (95% CI, 120~910)、小児で  $2.1 \times 10^4$  個 ( $5.3 \times 10^3 \sim 8.3 \times 10^4$ )、 $1.1 \times 10^6$  個 ( $1.2 \times 10^5 \sim 8.9 \times 10^6$ ) と算出され、成人の保菌量は小児の 1/65、乳児の 1/340 であることが示された (Table 1)。このことから、百日咳菌の保菌量は患者年齢に強く依存することが指摘され、成人の非典型的な臨床像は低い保菌量に起因するものと考察された。

今回解析を行った乳児の85%がワクチン未接種児、小児の83%がワクチン4回接種児であった。このことは、乳児と小児の保菌量はワクチン接種により強く影響を受ける可能性を指摘する。乳児の保菌量は小児の4.8倍であり、小児は百日咳菌に感染してもワクチンにより菌増殖がある程度抑えられているものと考えられた。一方、成人の多くはワクチン接種歴が不明であったため、成人の低い保菌量とワクチン効果との関係は解析不能であった。ただし、百日咳ワクチンの免疫賦与期間は4~12年であり、青年・成人層は百日咳に対する免疫を持たないとされている。そのため、成人患者の低い保菌量にはワクチン以外の要因が強く関与するものと考えられた。

WHOでは、百日咳の診断は菌培養法をいまでもgold standardとしている。しかし、本研究により成人患者の保菌量は病期に関わらず低いことが判明したことから、菌培養法による診断は成人には不適である。成人患者の診断には高感度な遺伝子検査、すなわちLAMP法やIS481 real-time PCRによる遺伝子診断の実施が必要である。また、現行の血清診断法（菌凝集素価法、抗PT・抗FHA抗体価測定法）の感度も成人患者の診断には十分とはいえないため、今後高感度な新規血清診断法の開発が必要である。

## E. 結論

百日咳感染において、成人患者は小児患者よりもその保菌量がきわめて低いことが判明した。また、成人患者は病期に関わらず低い保菌量を示したことから、成人患者の診断には高感度な遺伝子検査の実施が必要である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文（雑誌）発表：

- 1) 齋藤良一, 蒲地一成: 百日咳菌 広範囲 血液・尿化学検査, 免疫学的検査 (第七版), 日本臨牀, 2010 (発刊予定).
- 2) 蒲地一成: 感染症動向 2010 百日咳, メディカル朝日, 1: 42-44, 2010.

3) 蒲地一成: 百日咳毒素と分泌機構, 化学療法の領域, 25: 21-27, 2009.

### 2. 学会発表：

- 1) 蒲地一成, 豊泉裕美, 中村敦, 中島夏樹, 石川隆, 多屋馨子, 荒川宜親, 岡部信彦, 岡田賢司. 咳嗽成人患者を対象とした百日咳保菌率調査. 第83回日本感染症学会総会, 平成21年4月, 東京
- 2) 大塚菜緒, 蒲地一成, 豊泉裕美, 中村幸嗣, 齋藤良一, 荒川宜親. 百日咳菌における定着因子Prnの欠損機構. 第83回日本細菌学会総会, 平成21年3月, 横浜 (予定)
- 3) 中村幸嗣, 蒲地一成, 豊泉裕美, 齋藤良一, 鶴岡純一郎, 勝田友博, 立山悟志, 徳竹忠臣, 中島夏樹, 岡田賢司, 加藤達夫, 荒川宜親. 成人と小児における百日咳保菌量の差異について. 第84回日本感染症学会総会, 平成22年4月, 京都 (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

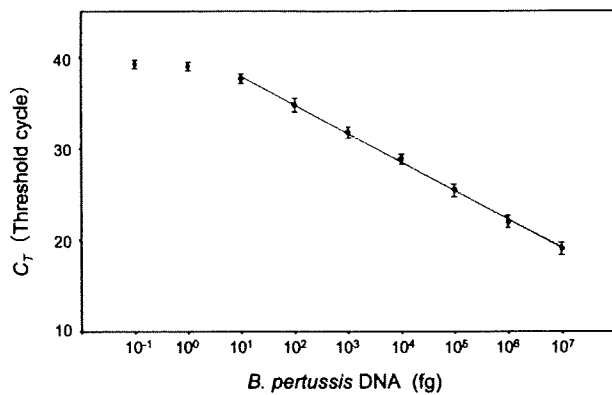


FIG. 1. Detection limit for linear calibration of IS481 real-time PCR. Serial dilutions of *B. pertussis* Tohama DNA were subjected to the real-time PCR. Data are averages  $\pm$  SD for three independent experiments.

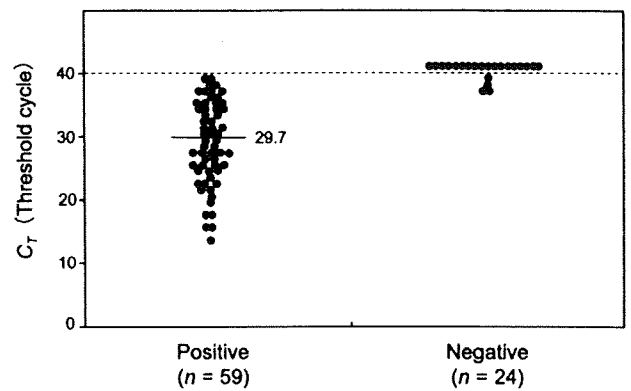


FIG. 2. Specificity of IS481 real-time PCR in clinical samples (NPSs) compared with LAMP assay. Fifty-nine LAMP-positive and 24 LAMP-negative DNA samples (2  $\mu$ l) from children and adults suspected with pertussis were subjected to the real-time PCR. The dashed line indicates no detectable amplification (*CT* value of 40). Horizontal bar indicates mean *CT* value.

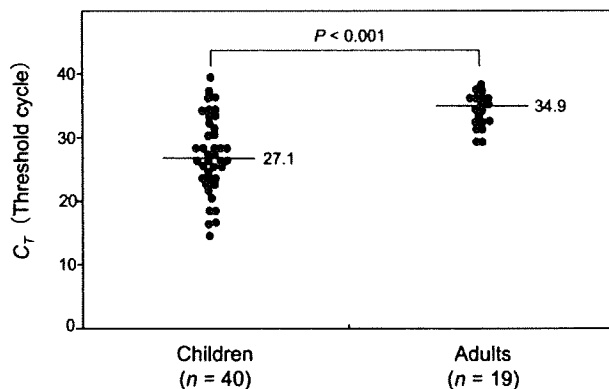


FIG. 3. Comparison of *B. pertussis* DNA loads in NPSs from children and adults with pertussis. Forty child and 19 adult DNA samples (2  $\mu$ l), which were LAMP-positive, were subjected to IS481 real-time PCR. Horizontal bars indicate mean *CT* values.

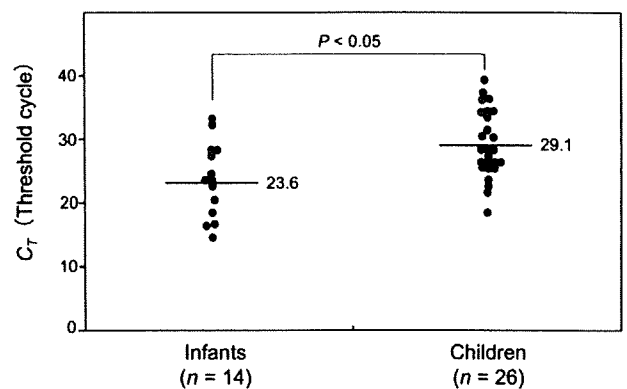


FIG. 4. Comparison of *B. pertussis* DNA loads in NPSs from infants and older children with pertussis. Fourteen infant and 26 older child DNA samples (2  $\mu$ l), which were LAMP-positive, were subjected to IS481 real-time PCR. Horizontal bars indicate mean *CT* values.

TABLE 1. Number of *Bordetella pertussis* cells taken with a rayon-tipped swab from a infant, child and adult patient

Patient	No. of patients	Mean age (age range)	<i>B. pertussis</i> cells/swab (95% CI) <sup>a</sup>
Infant	14	2.9 months (1 - 6 months)	$1.1 \times 10^6$ ( $1.2 \times 10^5 - 8.9 \times 10^6$ )
Child	26	9.2 years (2 - 15 years)	$2.1 \times 10^4$ ( $5.3 \times 10^3 - 8.3 \times 10^4$ )
Adult	19	43.3 years (22 - 83 years)	320 (120 - 910)

<sup>a</sup> The bacterial cells were calculated as *B. pertussis* Tohama.

4 研究代表者：加藤達夫、研究分担者：荒川宜親、

岡田賢司、研究協力者：新庄正宜らは、百日咳に関する今後の研究のプロトコールを作成した。

#### 研究結果の概要

「成人における百日咳の把握」近年、年長児、成人の百日咳が増加し、周囲への感染性も問題となっていることから、彼らへの百日咳の予防が大切であることが注目されている。この研究では、第二期の DPT 化の重要性を示すため、まずは成人（以下、中学卒業以降を指す）の百日咳の病態を明らかにすることを目的とする。この研究の成果は、成人百日咳の予防、治療の向上に役立てられる。現時点では、研究計画書を慶應義塾大学医学部の倫理委員会に提出し、その判定を待機している段階である。

#### 研究により得られた成果の今後の活用・提供

現時点では、研究計画書を慶應義塾大学医学部の倫理委員会に提出し、その判定を待機している段階であるが、今後おおむね1年間実施されるアンケートおよび百日咳菌の検出によって、国内の成人百日咳の実態の一部を把握することができると想定される。

#### 研究の実施経過

現時点では、研究計画書を慶應義塾大学医学部の倫理委員会に提出（2009年済み）し、その判定を待機している段階である。