

図 1. 院内水痘発端者、及び院内曝露者に対する免疫グロブリンの適応

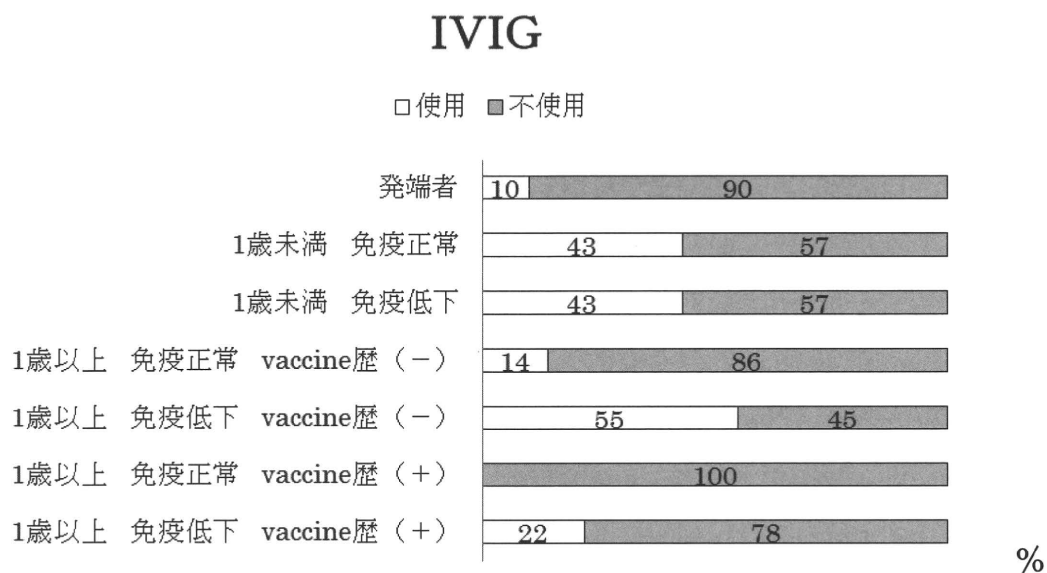


図 2. 院内水痘発端者、及び院内曝露者に対するアシクロビル静注の適応

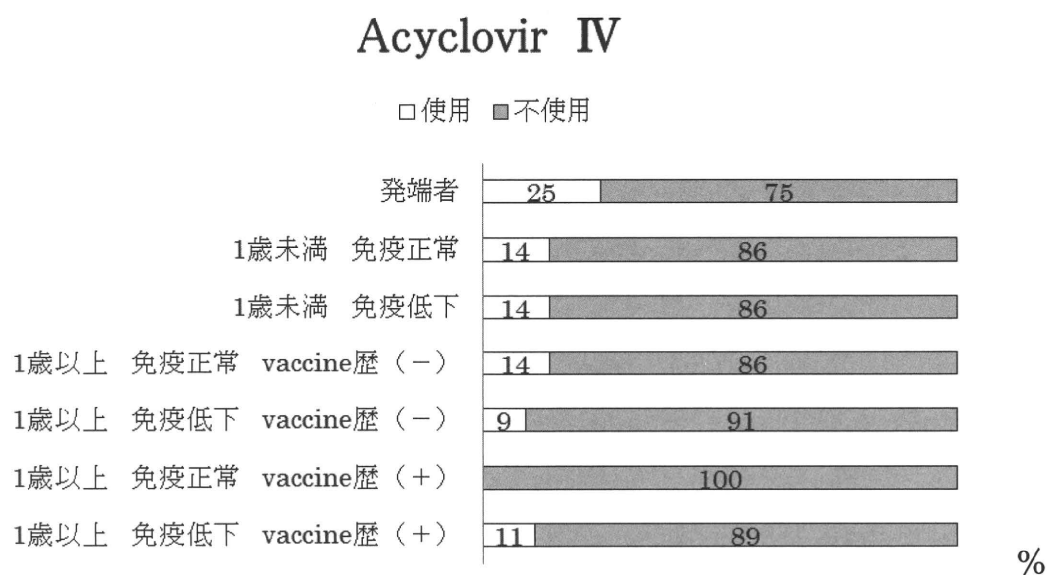


図 3. 院内水痘発端者、及び院内曝露者に対するアシクロビル内服の適応

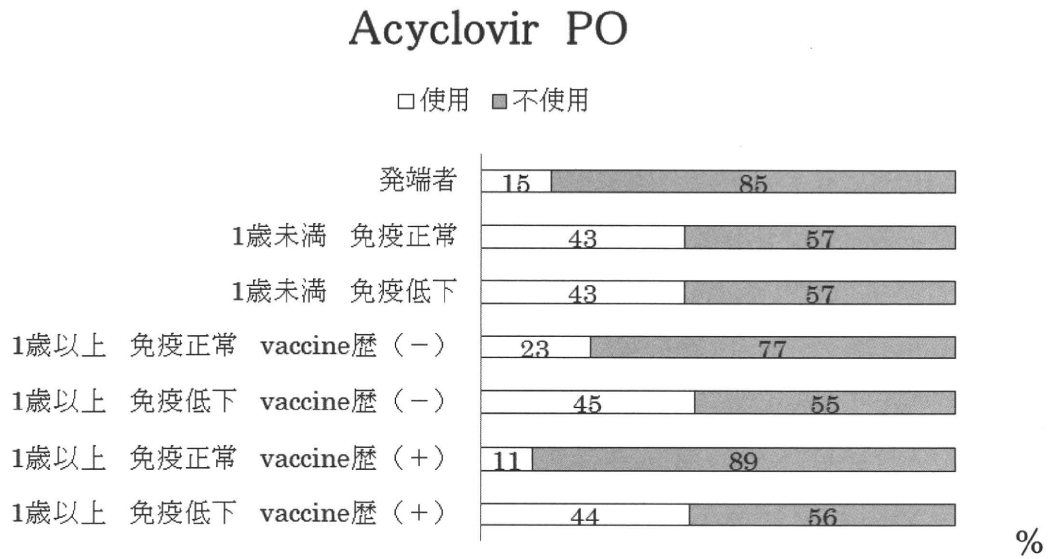


図 4. 院内水痘発端者、及び院内曝露者に対するバラシクロビル内服の適応

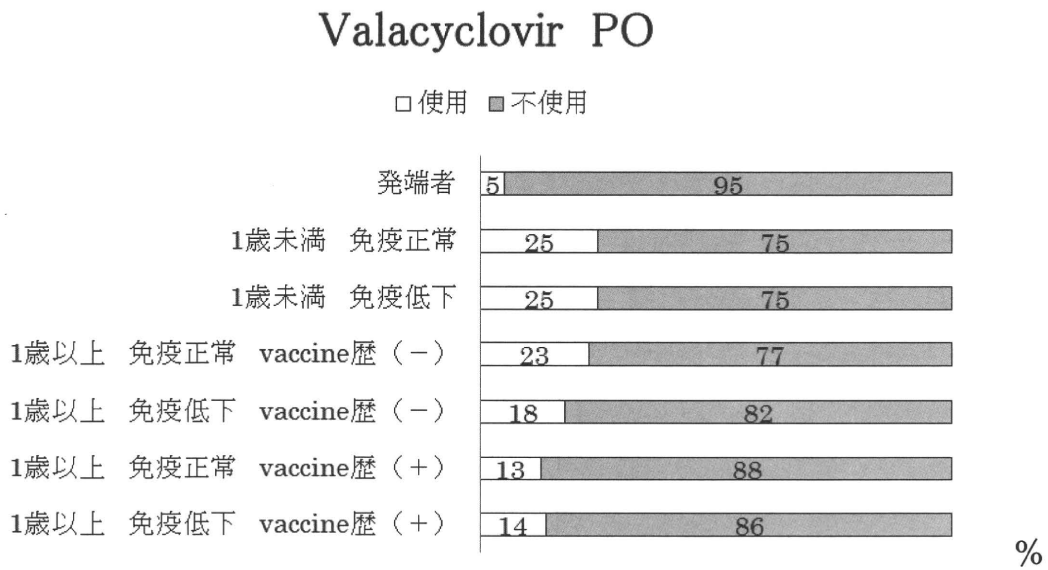
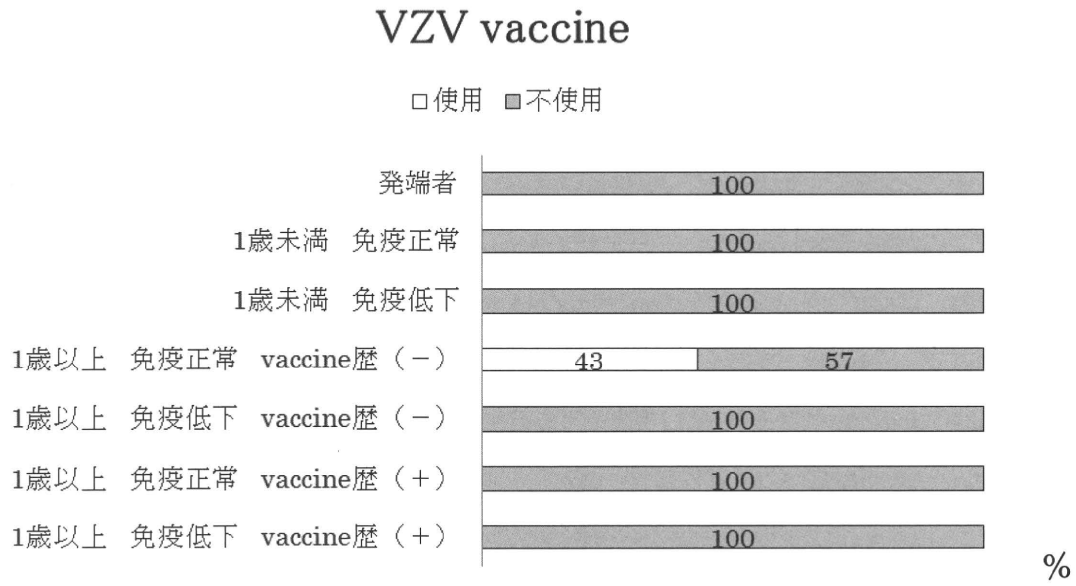


図5. 院内曝露者に対する緊急水痘ワクチン接種の適応



4 研究代表者：加藤達夫、研究協力者：中島夏樹、勝田友博らは、

「全国の保育所における水痘発生の実態と職員の水痘および水痘ワクチンに対する意識に関する研究」を行った。

研究要旨

全国の保育所で水痘アンケート調査を行った。水痘の集団発生を数年以内に経験している園が72%にのぼり、水痘に対する認識は、絶対に罹患を避けるべきが6%、可能な限り避けるべきが48%であったが、子供のうちに罹患すべきとの意見も41%あった。水痘ワクチンの接種率が上がらない理由としては、接種費用が高いとの意見が多数を占め、定期接種すべきとの意見が42%、任意接種のまま費用を援助すべきとの意見も50%あった。

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。

G. 研究発表

1. 論文発表

小児保健研究 70 巻 第 1 号 2011 in press

5 研究代表者：加藤達夫、研究協力者：高山直秀、菅沼明彦、柳澤如樹、中山栄一らは、「麻疹・風疹混合ワクチンと水痘ワクチンの同時接種によるワクチンの安全性と有効性に関する研究」を行った

研究要旨

水痘ワクチンは任意接種であるため、その接種率は30%程度に低迷している。水痘ワクチンを定期接種のワクチンとし、MR ワクチンと同時接種できれば、水痘ワクチンの接種率は95%以上に高まるものと期待できる。MR と水痘ワクチンの同時接種(MR+V)を広く実施するためには、MR+Vの安全性と有効性を検討する必要がある。平成22年10月から12月に10例の1歳児にMR+Vを実施した。有効性の検討のために、接種後健康記録票への記入を依頼し、有効性の検討のためには抗体検査用に接種前と接種4週後に血液を採取した。8例から健康記録票を回収できた。軽度～中等度の発熱、接種部位の発赤、腫脹がみられたが、重大な健康被害はみられず、MR+V接種は安全に実施できるものと考えられた。

A. 研究目的

近年わが国においても新しいワクチンが導入され、乳幼児期に接種が勧められるワクチンの数が増加した。しかし、これらのワクチンの多くは、その推奨接種時期が重なっており、すべてのワクチンの接種率を高率に維持するためには、接種を受ける側の負担を、接種費用の面だけでなく、受診回数の方でも減らすことが必要である。

この目的のために、諸外国では数種のワクチンを同時に接種できる混合ワクチンの導入が進められている。麻疹ワクチン、おたふくかぜワ

クチン、風疹ワクチン3種混合生ワクチン(MMR)は、すでに1971年に米国で導入されており、さらに、2005年にはMMRに水痘ワクチンを加えた4種混合生ワクチン(MMRV)が接種されるようになった。

一方、わが国においては、1988年に国産MMRが導入されたものの、健康被害発生のため接種中止となった。2006年に麻疹・風疹混合ワクチン(MR)が定期接種に導入された。MRの導入により、低迷していた風疹ワクチンの接種率は、麻疹ワクチンと同率に向上した。しかし、MRに含まれない水痘ワクチン及びおたふくかぜワクチンの接種率は30%程度と推定されている。

わが国においてもMMRVを定期接種に導入できれば、MRの生後24ヵ月における累積接種率は95%以上に達しているため、水痘ワクチン、おたふくかぜワクチンの接種率を一気に95%超に高めることが可能である。しかし、MMRVの導入が見込めない現状では、水痘ワクチンの累積接種率をMRと同様95%超に高めることが可能となる、MRと水痘ワクチンの同時接種(MR+V)が次善の方策となる。

MR+Vを広く実施するためには、MR+Vの安全性と有効性の検討が不可欠であるため、下記の方法でこれらの調査を実施した。

B. 研究方法

満1歳に達して、MR接種を希望して来院した小児のうち、保護者にMR+V試験接種の目的、意義及び不利益などについて説明したのち、本接種試験への参加を希望した者を対象とした。

参加希望1歳児の右腕上腕にMRワクチンを、左腕上腕に水痘ワクチンをいずれも皮下接種した。安全性調査のため、保護者に28日間記録できる健康記録用紙を渡し、被接種児の接種局所と全身状態を観察して記録することを依頼した。

観察項目は、全身症状として発熱、発疹、リンパ節腫脹、関節痛、痙攣、局所症状として、注射部位の発赤、腫脹、さらに一般症状として、鼻汁、咳、下痢の有無をあげた。症状を集計する際には、接種後 0-6 日、7-13 日、14-20 日、21-28 日の 4 期間に分けて実施した。また、症状の程度は表 1 のように、なし、軽度、中等度、高度の 4 段階に分けた。

有効性調査のため、麻疹抗体、風疹抗体、水痘抗体の測定を実施する目的で、ワクチン接種前と接種約 4 週間後に 3-4ml の血液を採取した。倫理面への配慮：本研究を実施するに当たっては、東京都立駒込病院に設置された倫理委員会に計画書を提出して審議を依頼し、その了承を得た。また、調査結果を集計するに当たっては、すべての個人情報情報を排除して行った。

C. 研究結果

平成 22 年 10 月 1 日から平成 22 年 12 月 28 日の間に、10 名の 1 歳児に MR+V 接種を行い、うち 8 名から健康記録表を回収した。

発熱は、0-6 日、7-13 日、14-20 日、21-28 日のいずれの期間にもみられた。0-6 日には程度 1 の発熱と程度 3 の発熱が各 1 名いたが、程度 3 の発熱は突発性発疹によるものであった。7-13 日には程度 2 の発熱が 1 名、14-20 日には程度 1、程度 2 の発熱が各 1 名、21-28 日には程度 3 の発熱が 1 名みられた。

発疹は、7-13 日に程度 1 が 1 名、程度 2 が 2 名にみられたが、程度 2 の 1 名は突発性発疹によるものであった。

リンパ節腫脹、関節痛、痙攣はいずれの時期にもみられなかった。MR ワクチン、水痘ワクチン注射局所の発赤、腫脹は、いずれも 0-6 日にみられ、他の 3 期間にはみられなかった。MR ワクチン接種部位には、程度 1 と 2 の発赤が各 1

名、程度 1 と 2 の腫脹が各 1 名みられた。水痘ワクチン接種部位には、程度 1 と 2 の発赤が各 1 名、程度 2 の腫脹が 1 名にみられた。なお、MR ワクチン接種部位が発赤、腫脹した児は水痘ワクチン接種部位にも発赤、腫脹がみられた。

鼻汁、咳は、接種後 0-6 日、7-13 日、14-20 日、21-28 日いずれの期間にも 3~5 名から報告があった。程度は 1 または 2 であった。0-6 日に程度 1 の下痢が 1 名で記載されていた。別に、0-6 日で不機嫌が 1 名で、7-13 日で滲出性中耳炎が 2 名で記録されていた。

抗体測定が未実施のため、有効性の検討はできなかった。

D. 考察

今回、MR+V 接種を行った小児 8 名について、接種後の健康記録票を回収して分析した。発熱は 6 名でみられたが、うち 1 名は突発性発疹による発熱であり、別の 1 名は接種後 28 日の発熱であり、ワクチンによる発熱の可能性は小さいと思われる。残る 4 名のうち 3 名には鼻汁、咳が同時期にみられており、発熱が紛れ込みである可能性が考えられた。7-13 日に程度 2 の発熱を記録した 1 名では、鼻汁も咳もなくワクチンによる発熱が否定できなかった。

発疹は 3 名で、7-13 日にみられたが、うち 1 名は突発性発疹によるものであったので、ワクチンの関与が否定できない発疹は 2 名であった。

重大な健康被害はみられず、MR+V 接種は安全に実施できるものと考えられた。今後は、症例を増してさらに安全性の検討を行うとともに、抗体検査を実施して安全性の検討を行う予定である。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. 各症状の程度区分

程度区分		発熱	注射部位の発赤, 腫脹	発疹	リンパ節腫脹	それ以外の症状
軽度	1	37.5～37.9℃	直径1cm～5cm未満	パラパラ程度	正常範囲かもしれない程度	いつもとほぼ変わりなく生活している
中等度	2	38.0～38.4℃	直径5cm～10cm未満	全身に多数	触って分かる程度	いつもの生活とはかなり様子が違う
高度	3	38.5℃以上	直径10cm以上	全身に密集	見て分かる程度	いつもの生活がほとんどできない
なし	0	37.5℃未満				

MR

① 研究代表者：加藤達夫、研究協力者：中島夏樹、勝田友博らは「麻疹・風疹（MR）混合ワクチン3期、4期接種の安全性に関する研究」を行った。

研究要旨

麻疹・風疹（MR）混合ワクチン3期、4期接種後の有害事象を健康状態観察表で調査した。接種28日までの37.5℃以上の発熱は、7名（19.4%）に報告された。その他はリンパ節の腫脹が1名（2.8%）に見られたのみであった

A. 研究目的

2006年6月より、MR麻しん風しん混合ワクチンの2回接種が開始され、さらに2008年4月より5年間の期限付きで中学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。しかし第3期および第4期接種の安全性に関するデータは限られている。

B. 研究方法

中学1年および高校3年生に対するMRワクチンの安全性を確認するため、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、第4期接種に来院した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の上郵送で回収した。

C. 研究結果

平成22年11月25日現在、36枚の調査票が回収された。使用されたワクチンは、ビケンMR89,92,96,99,103,104,106,114,121,125、タケダY081,084であった。1回目の麻疹および

風疹の予防接種歴は、両者とも全員が接種していた。1名は生後10ヶ月で麻疹に罹患していた。接種28日までの37.5℃以上の発熱は、7名（19.4%）に報告された。内訳は、37.5～37.9℃が2例（5.6%）、38.0～38.9℃が3例（8.3%）、39.0℃以上が2例（5.6%）であった。観察期間中に発疹を認めたのは0例、リンパ節の腫脹は1例（2.8%）、関節痛は0例であった。接種部位の局所反応は全く認められなかった。また、生後10ヶ月で麻疹に罹患した例では、その後のMRワクチン接種で、発熱、局所反応などの有害事象は認められなかった。

D. 考察

現在までに得られているデータでは、発熱以外の有害事象はほとんど認められず、発熱も、ウイルス増殖期と考えられる接種7～13日の発熱は、1例（2.8%）のみであり、以前のMRワクチン1期、2期接種や、麻疹ワクチン接種後の発熱より、特段頻度の高いものではないと思われる。今後の成人へのMRワクチン接種や、中高生へのキャッチアップ接種に対する安全性の貴重な基礎データとなると思われ、今後も例数を増やして、調査を続けてゆく予定である。

② 研究代表者：加藤達夫、研究協力者：花岡正智、山口晃史らは、「妊娠中の麻疹、風疹の抗体保有率ならびに出産後のワクチン接種」を行った。

研究要旨

妊婦初期健診の結果から妊娠可能年齢層における麻疹・風疹（MR）ワクチンもしくは水痘ワクチン接種対象者の把握、その対象者に対するワクチン接種率を比較することにより、この年齢層のそれぞれのワクチン接種状況を把握し、評価、ワクチン接種の推奨を行う事を目的とした。麻疹・風疹に関しては接種対象者がそれぞれ 27.4%、15.8%で、接種率は両者ともに 10%程度であった。接種対象者が比較的多いのに比し接種率は低く、2012 年の麻疹排除を目標とした麻疹感染症の予防を推進するためには、新たな定期接種スケジュールに適応しない成人年齢層における MR ワクチン接種の啓蒙は重要であると考えられた。

A. 研究目的

低抗体価の患者さんへ対し確実な麻疹・風疹ワクチン接種の推奨と接種の遂行：妊娠可能年齢の麻疹・風疹・水痘の免疫獲得率を調査するとともに、麻疹・風疹（MR）ワクチンもしくは水痘ワクチン接種の必要性がある人口比率を調べワクチン接種対象者の把握を行う。さらに、ワクチン接種対象者における接種率を比較することにより、現在のワクチン接種状況が把握でき、その対策についての検討、推奨を行う。

B. 研究方法

妊娠可能年齢における麻疹・風疹ワクチン

もしくは水痘ワクチン接種の必要性の評価と接種の推奨を行う為に、2006 年 1 月より 2008 年 12 月の期間に国立成育医療研究センターで妊娠管理をしている患者さんに対し（図 1）、診療録を用いて妊娠初期検診でのそれぞれの感染症に対する抗体価を後方視的に調査し（図 2）、さらにワクチン接種対象者に対する実際の接種率を調査し評価した。

成育医療センター倫理委員会承認
(2009 年；受付番号 344)

C. 研究結果

① 麻疹：

4237 例に後方視的調査を行った。麻疹ワクチン接種該当者は NT 法による検査で 4 倍以下とした場合、当院で妊娠管理を行った患者さんの 27.4%であった（図 3）。そのワクチン接種該当者の中での MR ワクチンの接種率は約 10%であった（図 4）。

② 風疹：

3789 例に後方視的調査を行った。風疹ワクチン接種該当者は HI 法による検査で 16 倍以下とした場合、当院で妊娠管理を行った患者さんの 15.8%であった（図 5）。そのワクチン接種該当者の中での MR ワクチンの接種率は約 10%であった（図 6）。

③ 水痘：

3095 例に後方視的調査を行った。水痘 IgG 抗体陰性例者は 1.3%、陰性+プラスマイナス判定を含めると 4.4%であった（図 7）。

D. 考察

先天性風疹症候群の予防、2012年の麻疹排除を目標とした麻疹感染症の予防を推進するために、新たな定期接種スケジュールに適応しない成人年齢層（現在の妊娠可能年齢層）の抗体保有率の調査と麻疹・風疹ワクチン接種とその評価は重要である。

施設により妊娠を前提として必要な抗体価が異なり、また地域差はあると思われるが、国立成育医療研究センターでの調査では麻疹・風疹抗体の妊娠を前提として必要な抗体価の保有率は十分とは言えず、出産後のワクチン接種対象者は4-5人に1人という割合であった。これらの患者さんへ対してのワクチン接種の推奨はもとより、この割合は他の成人にもあてはまる可能性はあり、今後成人を対象とした調査と、保有率が不十分であれば成人層へのワクチン接種の推奨も必要となることを示唆している。

一方、接種対象者が比較的多いのに比し接種率は低く、2012年の麻疹排除を目標とした麻疹感染症の予防を推進するためには新たな、定期接種スケジュールに適応しない成人年齢層におけるMRワクチン接種の啓蒙は重要であると考えられた。

E. 結論

周産期管理において、麻疹・風疹・水痘の抗体価について検査することが望ましく、抗体陰性症例を含む抗体低値症例では感染予防、出産後のワクチン接種について啓蒙することが重要である。これにより疫学的に十分な免疫の獲得（抗体陽性率の向上）を達成し感染防御を行い行政施策へ貢献したい。

F. 健康危険情報

総括研究報告書を参照。

G. 研究発表

なし。

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。

図 1.

	2006 年	2007 年	2008 年
分娩総数[例]	1529	1497	1589
年齢 (Mean±SD [歳])	33.7±4.4	34.1±4.3	34.1±4.3
分娩週数 (Mean±SD [週])	38.0±4.0	38.1±3.6	38.1±3.5
麻疹対象合計[例]	1374	1369	1494
風疹対象合計 [例]	1277	1223	1289

図2

	麻疹	風疹	水痘
検査項目名称	麻疹ウイルス	風疹ウイルス	水痘・帯状ヘルペスウイルス IgG
検査方法	NT 法 (中和反応)	HI 法 (赤血球凝集抑制反応)	EIA 法
保険点数	80 点	80 点	230 点
試薬名称	イーグル MEM 培地	風疹ウイルス HI 試薬	ウイルス抗体 EIA
キット名称	SRL	「生研」HA 抗原	「生研」水痘 IgG

図 3

麻疹 NT	症例数	抗体保有率 (%)
4 倍未満	438	10.3
4 倍	725	17.1
8 倍	1160	27.4
16 倍	972	22.9
32 倍	593	14
64 倍	253	6
128 倍	82	1.9
256 倍	11	0.26
512 倍	3	0.071
対象合計	4237	100

図 4

	2006 年	2007 年	2008 年
対象者(人) 麻疹抗体 NT=4倍以下	310	348	505
麻疹ワクチン接種者(人)	13	4	0
MR ワクチン接種者(人)	1	37	50
接種率(%)	4.5	11.8	9.9

図 5

風疹 HI	症例数	抗体保有率 (%)
8倍未満	118	3.1
8倍	120	3.2
16倍	360	9.5
32倍	676	17.8
64倍	969	25.6
128倍	841	22.2
256倍	464	12.2
512倍	183	4.8
1024倍	58	1.5
対象合計	3789	100

図6

	2006 年	2007 年	2008 年
対象者(人) 風疹抗体 HI=16 倍以下	183	193	222
風疹ワクチン接種者(人)	9	17	9
MR ワクチン接種者(人)	1	6	6
接種率(%)	5.5	11.9	6.8

図7

VGv IgG 抗体価	人数(n=3095)	%
2.0 倍未満(陰性)	40	1.3
2.0-4.0 未満 (プラスマイナス判定)	96	3.1
2.0 以上(陽性)	2959	96

3 研究代表者：加藤達夫、研究協力者：久野 道、山口晃史らは、「産褥期のMRワクチン接種」を行った。

研究要旨

産褥期の麻疹・風疹混合（MR）ワクチン接種による免疫応答の評価をおこなった。産褥期にMRワクチンを接種後、麻疹に関しては約90%が、風疹に関しては約70%が妊娠を前提とした追加ワクチン接種の必要性のないレベルの抗体価を得た。一方、両者ともに発症予防レベル（麻疹NT法で4倍以上、風疹HI法で16倍以上）で評価すると、接種後には対象者のほぼ100%が十分な免疫を獲得した。従って、産褥期のMRワクチン接種は妊娠初期検診で対象者の選択が可能であることや接種の機会があるという点で成人期のワクチン接種のひとつの方法として有用であると考えられた。

A. 研究目的

産褥期でのMRワクチン接種後の免疫原性を評価することにより、推奨できる接種時期、接種回数を明確にする事が出来、成人における麻疹・風疹の抗体保有率の向上を産褥期の有効なMRワクチン接種により遂行することを目的とする。また、これらの情報をもとに成人期のワクチン接種プロトコルの作成に寄与する。

B. 研究方法

2009年5月より現在まで、国立成育医療研究センターで出産し、妊娠初期検診で麻疹（4倍以下、NT法）、風疹（16倍以下、HI法）の低抗体価により産褥期にMRワクチンを接種した産褥婦36人を対象にワ

クチン接種後の抗体価測定を行った。

① 研究対象

妊娠初期検診で麻疹もしくは風疹に対する抗体価が低値でワクチン接種が必要であると判断された患者のうち、ワクチン接種希望者でかつ当研究に対する同意が得られた者を対象とする。

② 研究方法

麻疹・風疹混合ワクチン接種時（産褥期）、接種後1ヶ月で血清の採取を行い、麻疹抗体価（EIA、HI、NT法）、風疹抗体価（EIA、HI法）を測定し、産褥期がワクチン接種時期として適切であるか否かの評価、ならびにそれぞれの抗体測定法での結果について考察する。

（倫理面への配慮）

成育医療センター倫理委員会承認

（2009年；受付番号344）

C. 研究結果

- ① 麻疹に関しては、産褥1ヶ月のMRワクチン接種により90%近くが妊娠を前提として必要な抗体価を獲得しており、産褥期のMRワクチン接種は免疫獲得に有効であることが示唆された。一方、MRワクチン接種後にも感染防御に十分な抗体価が上昇しない症例があり、3例中2例は1ヶ月後に再度接種を行ったが、2例とも抗体価は上昇しなかった（図1）。
- ② 風疹に関しては、風疹ワクチンがMRワクチンより安価であるため、風疹ワクチンのみの接種対象者は風疹ワクチン単独接種を行っていた。従って、麻疹ワクチン接種目的でMR

ワクチンを接種する症例が多く、接種前の風疹抗体価は高値である対象症例が多かった。産褥1ヶ月のMRワクチン接種により約70%が妊娠を前提として必要な抗体価を獲得した(図2)。

D. 考察

① 免疫獲得

麻疹に関しては約90%が、風疹に関しては約70%が妊娠を前提とした追加ワクチン接種の必要性のないレベルの抗体価を得た。また、一般的な発症予防レベルを麻疹4倍以上、風疹16倍以上として評価すると、接種後には対象者のほぼ100%が十分な免疫を獲得した。

他のワクチン同様、接種前の抗体価が高い場合、免疫反応は鈍く、ワクチン接種必要レベルの最も高いレベルである、麻疹はNT法で4倍以上、風疹はHI法で16倍以上では抗体価の上昇が有意でなかった症例もみられた。この抗体反応(陽転率)は他のHI法で行った妊娠可能年齢での評価との比較検討が必要であると思われた。

一方、一般的な発症予防レベル(麻疹はNT法で4倍以上、風疹はHI法で16倍以上)で評価すると、両者ともにMRワクチン接種後はほぼ発症予防レベルに達しており、産褥期のMRワクチン接種の有用性が伺えた。

② 検査方法

麻疹に関しては、NT法が免疫学的に実際の感染中和活性の評価という点では優れているが、その測定方法(細胞アッセイ系)の難しさから、同一施設内、さらには他施設での再現性の悪さを考慮に入れる必要性

があると思われた。これらの検査方法の比較検討は既に庵原らによって行われているが、今後、HI法もしくは中和活性の高い抗体をターゲットとしたEIA法との比較検討も必要であると思われた。

E. 結論

産褥期のMRワクチン接種はこの時期の免疫変動に関係なく、免疫獲得が成立する時期であることが明らかとなった。妊娠初期検診で対象者の選択が可能であることや接種の機会があるという点で成人期のワクチン接種のひとつの方法として有用であると考えられた。

F. 健康危険情報

総括研究報告書を参照。

G. 研究発表

なし。

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。

図 1

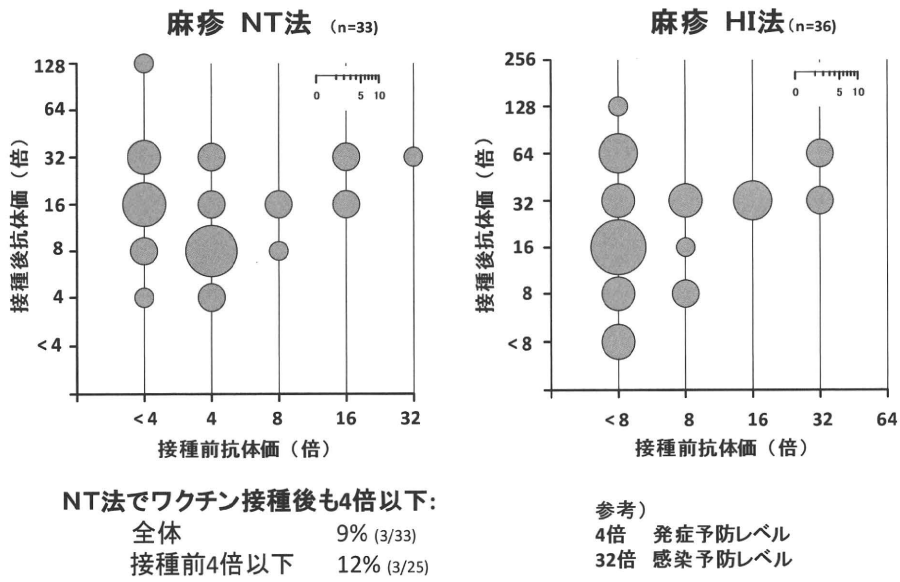
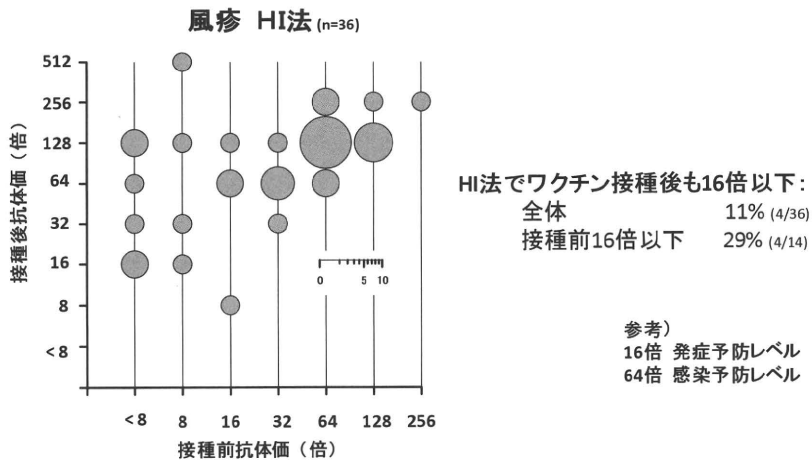


図 2



4 研究代表者：加藤達夫、研究協力者：山口晃史らは、「麻疹および風疹に対する細胞性免疫の評価」を行った。

研究要旨

妊娠中に感染すると母体もしくは胎児へ大きな影響を与えてしまう可能性のある感染症でワクチンの存在する感染症に麻疹・風疹がある。多くの場合は妊娠初期に検査され、抗体価が低い場合は妊娠中に患者への接触を避ける努力をし、出産後はワクチンにより免疫を獲得する。感染に対する防御力の評価は行われているが、現在の検査は全て抗体に依存しており、細胞性免疫に関する指標は無い。従って、免疫的には応答能力はあっても持続抗体産生量が少ない場合に抗体保有をしていないと評価されてしまう可能性がある。逆に抗体価は高くとも中和抗体でない場合や免疫応答が弱い可能性もあり、これらの点を改善するために、細胞性免疫の情報を加え評価が行えるよう、新たな評価方法の確立と既存の方法と合わせた評価方法の確立を行う。今年度は研究計画ならびに蛋白抗原のデザインと作成方法の検討を行う。

A. 研究背景

ウイルス感染による自然獲得免疫やワクチン接種に代表される人工獲得免疫に対する評価は成人において意図的になされることは少ない。一方、女性では妊娠時その弊害となりうるウイルス感染症に対する獲得免疫の評価がなされている。しかし、現在行われている評価方法は全て抗体検査に依存しており（液性免疫の評価）、中和抗体の測定結果を除き、その他の抗体測定の結果からでは検査方法の違いやカットオフ値の設定の違いから相当するウイル

スに対する正しい感染防御能力の評価が困難な場合が多い。これは既感染もしくはワクチン接種後の状態で、仮に免疫が獲得されていても、新たな抗原刺激（ウイルスへの暴露）が頻回に与えられないため、平常時の抗体産生量が少量に留まっている可能性が考えられる。

ウイルス感染に対しての防御は細胞性免疫が主体であり、その記憶も主にT細胞に担われているため、細胞性免疫による評価は液性免疫のそれに比し有用な免疫獲得の評価がなされると考えられるが、その方法は確立されていない。

B. 研究目的

本研究では *in vitro* で全血球成分をウイルス抗原で刺激する事により抗体産生能の再活性化の有無を測定するとともに細胞性免疫の側面からウイルスへ対する獲得免疫の評価を行い、免疫獲得の有無を明確にすることを目的とする。

C. 期待される成果

抗体検査で抗体価がカットオフ値付近に位置し、免疫獲得（感染防御能力の獲得）が明らかでない患者さんに対し、その有無を明確にすることで以下の成果が期待される。

- ①妊婦さんの感染者への接触に対するバイオハザードレベルが明らかとなる。
- ②ワクチン接種の必要性が明らかとなると同時に不必要なワクチン接種が減らせる可能性がある。（現在、低抗体価の患者さんに対し産褥期にワクチン接種を勧めている。しかし、生ワクチンの場合、接種後に感染症状が現れる場合が少なくなく、児への感染性の危険性は無いと考えられているが、授乳期での生ワクチンの接種に抵抗がある場合が多い。）
- ③刺激抗原の種類により現在流行のウイルス

株に相当する免疫の獲得の有無を明らかにすることができ、そのウイルス株に免疫が獲得されていない場合、新たなワクチン接種の必要性を判断できる。

D. 研究方法

①研究仮説:抗体検査結果において高抗体価を示した場合、そのウイルスに対する獲得免疫の存在が示唆されるが、低抗体価の場合はその判断は困難である。

免疫応答は液性免疫ならびに細胞性免疫の両者によって担われているため、我々は B 細胞、T 細胞ともに存在する全血球成分に対し各ウイルスの特異抗原蛋白、合成ペプチドもしくは不活性化ウイルス粒子を *in vitro* で反応し、B 細胞から産生される抗体量、抗体産生細胞数などを測定するとともに T 細胞から産生されるサイトカインを測定し、総合的に獲得免疫の評価を行う。これにより特異ウイルス抗原に対する免疫応答の情報を得る事ができ、血清中の抗体価のみの情報で判断が困難な場合の評価に有用であると考えられる。

②研究方法:

麻疹および風疹に対する細胞性免疫獲得の評価に対する検査方法の確立を行い、既存の方法と当研究での方法のそれぞれの結果を比較検討する。

③実施方法:

1. 蛋白の合成

DNA の作成)

麻疹ウィルスタンパク質の F タンパク質、HA タンパク質および風疹ウィルスタンパク質の C タンパク質、E1 タンパク質、E2 タンパク質の遺伝子を人工遺伝子合成により作製する。この遺伝子の

合成は、発現細胞に合わせて配列を最適化し、両端に発現ベクター構築用に BamHI および XhoI サイトを付加して行う。

クローニング)

合成した人工遺伝子を制限酵素処理し、発現ベクター pcDNA3.1 HisC vector(Invitrogen)の BamHI/XhoI サイトへクローニングを行う。

遺伝子導入)

発現用細胞の HEK293 細胞は、10%FBS を含む DMEM(SIGMA)にて 37°C、5%CO₂ 存在下にて培養し、構築した発現ベクター 2 μg と遺伝子導入試薬 FuGeneHD (Roche)5 μl を Opti-MEM I Reduced Serum Medium(Invitrogen)中で混合し、室温で 15 分間反応させる。各反応液を培養中の HEK293 細胞へ滴下し、遺伝子導入を行う。遺伝子導入から 24 時間後に細胞を希釈培養し、遺伝子導入から 48 時間後に培地を 800 μg/ml の G-418(GIBCO)含有培地に置き換え、選択培養を行う。

タンパクの精製)

樹立した発現細胞を回収し、RIPA Buffer(PIERCE)を用いてタンパク質を抽出する。抽出液には、Halt Protease Inhibitor Cocktail EDTA-Free(PIERCE)を添加し、遠心分離を行い、細胞残渣を除いた。回収した上清を、平衡化した Co²⁺カラム (タカラバイオ)を用いて精製を行い、発現タンパク質を得る。

2. 検査方法の確立

B細胞、T細胞ともに存在する全血球成分に対し各ウイルスの特異抗原蛋白、合成ペプチドもしくは不活性化ウイルス粒子を *in vitro* で反応し、B細胞から産生される抗体量、抗体産生細胞数などを測定するとともに T細胞から産生されるサイトカイン (INF- γ) を測定し、総合的に獲得免疫の評価の確立を行う。

3. 既存の検査方法による結果との比較

(妊婦初期検診)

既存の方法 (NT、HI、EIA、FA、CF) の抗体価測定時に加えて当研究方法による測定を行う。(出産後) 検診時の抗体価が低値であった場合、ワクチンの接種。

(接種後2ヶ月)

抗体測定および当研究方法による測定を行い、必要があれば追加接種と同検査を2ヶ月おきに繰り返す。

(考察)

初回検査時、抗体価低値の割合の解析 (ワクチン既往、感染既往、両既往なし)。既存の方法と当研究の方法を比較検討。新たなワクチン接種に対する免疫獲得の状況を検討。

E. 研究結果

現在、特異抗原としてのウイルス蛋白の選択を遺伝子上で行い、ウイルス蛋白合成のための遺伝子は人工遺伝子合成により取得、その遺伝子をもとにヒト由来の HEK293 細胞を用い蛋白合成を行っている。また、ウイルス蛋白抗原に関しても精製の準備を行っている。

F. 考察

本研究では、麻疹・風疹ウイルスに感染した際に引き起こされる細胞性免疫を誘発する物質として有効なタンパク質の合成を目指している。

発現系としては、大腸菌発現系、昆虫細胞発現系、哺乳動物細胞発現系等があるが大腸菌及び昆虫細胞発現系ではヒト由来以外の成分の混入により、非特異的な免疫応答を誘発してしまう可能性が高いと思われる。一方、哺乳動物細胞発現系では、ヒト由来の HEK293 細胞を用いる事で、非特異的な免疫応答が誘発されにくくなると期待できる。また、目的タンパク質を発現する細胞株として樹立する事で安定して供給する事が期待できる。

ウイルス蛋白合成のための遺伝子は人工遺伝子合成により取得した。ウイルスゲノム DNA から PCR にて取得する方法と比べて、配列を自由に合成できる利点がある。ウイルスタンパク質を哺乳動物細胞にて発現させる場合、コドンの使用頻度の問題等により発現に影響を及ぼす可能性があるが、配列を最適化することでこの問題は解消できると思われる。

麻疹・風疹の免疫獲得を評価する上で既存の抗体の関与する検査方法に加え、細胞性免疫獲得の検査方法が加わりより詳細な情報を得る事が可能となる。これにより特異ウイルス抗原に対する免疫応答の情報を得る事ができ、血清中の抗体価のみの情報で判断が困難な場合の評価に有用であるばかりでなく、この方法により現在流行しているウイルス株に相当する免疫獲得の評価も行える可能性がある。

これらの免疫学的、血清学的研究結果から根拠ある有効なワクチン接種が可能となり、確実な感染予防に貢献できる。

G. 結論

先天性風疹症候群の予防、2012年の麻疹排除を目標とした麻疹感染症の予防を推進するために、新たな定期接種スケジュールに適応しない年齢層への麻疹・風疹混合ワクチン（MR ワクチン）接種と免疫の獲得は重要な課題である。妊婦においては検診にてこれらの感染症に対する抗体価の測定は通常行われており、低値の場合は出産後にワクチン接種を勧めているが、明確な接種の必要性に関する抗体価の定義は無い。当測定方法は細胞性免疫の側から見た免疫獲得の確認方法で、ウイルス性疾患の評価において初めて試みられるものであり、この評価方法の確立と臨床検体の評価と考察結果は、麻疹、風疹に限らず多くのウイルス性疾患へ応用することができ、今後のウイルス感染症に対する免疫獲得評価において重要な検査方法となり、多くの医学的貢献ができるものと推測される。

H. 健康危険情報

総括研究報告書を参照。

I. 研究発表

なし。

J. 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。

Ⅱ.研究成果の刊行に関する一覧表