

201034054A

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

小児臓器移植前後における  
ワクチン接種の安全性と有効性に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 齋藤 昭彦

平成 23 (2011) 年 3 月

## 目 次

### I. 総括研究報告

小児臓器移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性に関する研究.....	3
（独）国立成育医療研究センター 内科系専門診療部 感染症科 齋藤 昭彦	

### II. 分担研究報告

1. 小児臓器移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性に関する研究.....	11
（独）国立成育医療研究センター 外科系専門診療部 移植外科 笠原 群生	
2. 小児臓器移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性に関する研究.....	13
国立感染症研究所 ウイルス第三部 竹田 誠	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	17
--------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷.....	23
----------------------	----

# I . 総括研究報告

## 小児臓器移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性に関する研究

研究代表者 齋藤 昭彦 国立成育医療研究センター 感染症科医長

### 研究要旨

生体肝移植は、死体臓器移植の行えない我が国において、肝、代謝疾患に苦しむ患者に対する最終的な治療手段である。特に小児の生体肝移植の適応がある患者においては、多くの患者が乳幼児であり、肝移植後に免疫抑制薬を服用し続けるため、様々な感染症に対して脆弱であり、感染すると重症化、死亡するおそれがある。それらの感染症の中で、特にワクチンで予防できる感染症に関しては、可能な限りワクチンを接種し、その予防と軽症化に努めることが重要である。国立成育医療センターでは平成17年11月から平成23年4月までに150例を超える生体肝移植を施行し、移植待機患者は常時40症例を超えている。生体ドナーには重篤な合併症を認めず、レシピエント生存率90%（全国平均生存率86.6%）と成績良好である。当センターでは、生体肝移植前後の積極的なワクチン接種を推奨しているが、肝移植前後のワクチンの有効性、安全性を示すデータは少なく、特に小児では、極めて乏しい。本研究の目的は、当センターにおいて、生体肝移植を受けた、あるいは、生体肝移植予定の小児の客観的な免疫学的評価を行い、効果があり、かつ安全なワクチン接種スケジュールの作成を行う。2010年度は、過去に当センターで行われた生体肝移植患者約110名に行われたワクチン接種について、移植前と移植後に分け、接種されたワクチンの種類、副反応、各疾患に対する罹患歴を後方視的に調査し、当センターにおける生体肝移植患者に対するワクチン接種の現状を明らかにする。また、倫理委員会への申請を行い、その申請許可を得た。2011年度は、実際の患者からの検体を採取を開始した。そして、それらのデータの蓄積を行い、最終年度は、データを解析し、接種後の免疫機能を評価し、生体肝移植患者における客観的データに基づく予防接種スケジュールを確立する。これらの情報は、国内外の学会、専門誌に発表し、最終的に国内外の生体肝移植を行う施設に発信する予定である。また、これらの情報は、生体肝移植患者にとどまらず、同様の免疫抑制剤を服用する腎移植患者、化学療法後の患者、更には、今後普及する可能性のある死体患者からの移植後の患者に対しても、重要な情報になるものと考えられる。

### 研究分担者

笠原 群生	国立成育医療センター移植外科 医長
竹田 誠	国立感染症研究所ウイルス第3部 部長

免疫不全状態におかれる。これらの脆弱な子供達を様々な感染症、特にワクチンで予防できる疾患から守るのは、我々の責務である。当センターでは、その様な患者に対して、ワクチン接種を強く推奨しているが、移植後の患者に対しては、推奨されるワクチンスケジュールが存在しない。当センターでは、1) 不活化ワクチンの接種は肝移植術後1年以上、生ワクチンの接種は2年以上経過、2) 肝機能・全身状態が良好（ワクチン接種予定の6か月以内に拒

### A. 研究目的

生体肝移植後の児は、免疫抑制剤を常時服用し、

絶反応、感染症のエピソードがない)、3) 免疫抑制療法が低用量のカルシニューリン阻害剤による単剤投与、以上の条件を満たすものにワクチン接種を行ってきた。しかしながら、その開始時期、適応に関しては、科学的根拠に乏しい。生体肝移植前のワクチン接種の有効性、安全性を規定する大きな要因は、患者の年齢である。特に水痘、麻疹、ムンプス、風疹などの生ワクチンは生後1歳以降に接種することが推奨されているが、生体肝移植の患者の約半数は、1歳未満の患者であり、その年齢における接種の安全性、有効性は不明である。一方で移植患者に生ワクチンに関する安全性を確認するデータは存在するものの(Vaccine 2008;26:6859-63.)、インフルエンザワクチンに対しては、効果が弱いというデータも存在する(Clin Infect Dis 2008;46:712-8)。その患者の年齢、免疫抑制薬の量、種類などによって、その効果は大きく異なる。したがって、より客観的な指標をもって、効果があり、安全なワクチン接種が行えるように、接種後の抗体価の測定、細胞性免疫機能の評価を移植後の患者に行い、データを蓄積することが重要である。それらのデータに基づいて、効果があり、かつ安全性の高いワクチンスケジュールを作成し、それを国内外に提供することがこの研究の目的である。本研究の大きな特徴は、国内で最大の小児生体肝移植症例数を誇る国立成育医療センターで研究を行うことで、今後、多くの患児の研究への参加が期待でき、より多くのデータの集積が期待できること、また、研究前に既に150名のワクチン接種を受けた生体肝移植患者がおり、それらの患者に対するワクチンの効果と安全性の調査が行えることである。

た生体肝移植患者約120名に行われたワクチン接種について、移植前と移植後に分けて接種されたワクチンの種類、接種後の副反応、その後の各疾患に対する罹患歴、ワクチンの効果を後方視的に調査し、その有効性、安全性について検討した。抽出されるデータは、患者の年齢、基礎疾患、ワクチンの種類と接種日、肝移植実施日、各疾患に対する罹患の有無、免疫抑制剤の服用と期間、副反応などである。  
② 生体肝移植前後のワクチンの効果、安全性の前方視的調査

#### 1) 生体肝移植前の患者の評価

目標症例数は、現時点で当センターで年間約40例の生体肝移植が行われており、3年間で約120例の症例が研究に参加可能である。それらの患者に対して、移植前に接種できるワクチンは、可能な限り接種を推奨する。まず、患者の免疫能の評価として、接種前の各種抗体価と細胞性免疫機能の評価する。また、移植入院時、同様の検査を行い、既に接種したワクチンの効果を抗体価、細胞性免疫機能を用いて評価する。

#### 2) 生体肝移植後の患者の評価

移植後は、移植後1, 3, 6, 9, 12, 18, 24カ月に同様の抗体価、細胞性免疫機能の評価を行う。特定のワクチン接種後は、その特定のウイルス、または細菌に対する抗体価を定量し、効果を判定する。その決定因子として、年齢、免疫抑制剤の種類、投与量などがあげられる。

#### 3) 研究開始時に既に生体肝移植が終了している患者

研究開始時に既に移植の終了した患者においては、研究に参加した時点で、同様の検査を行い、免疫状態を把握する。特定のワクチン接種後は、その特定の抗体価を定量し、効果を判定する。その決定因子として、年齢、免疫抑制剤の種類、投与量などがあげられる。

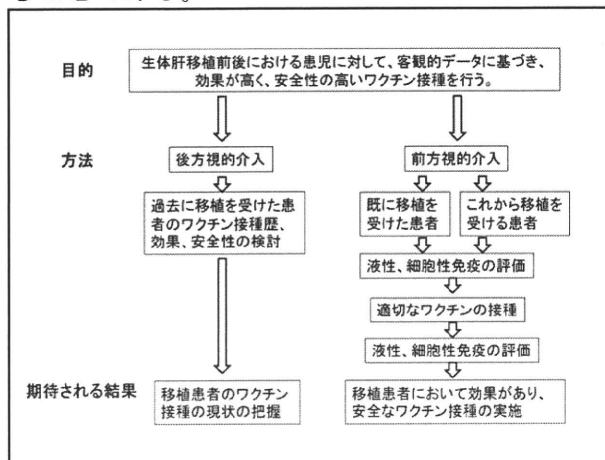
#### 4) 生体肝移植患者に対するワクチンスケジュールの作成

以上の研究の結果から得られたデータを基に、生体肝移植患者に効果があり、安全なワクチン接種が実施できるようにワクチンスケジュールを作成する。

#### ③ 免疫学的評価

##### 1) 液性免疫能 (B細胞機能)

液性免疫能を調べるにあたり、血中の免疫グロブリン量(IgG)を定量する。血中グロブリン量は、総グロブリン量と、過去のワクチン接種によって得られたと考えられる測定可能なジフテリア、破傷風に対する特異的抗体をEIA法によって測定する。また、生ワクチンに対する抗体価の上昇を見るため、水痘、



## B. 研究方法

### ① 過去に生体肝移植を行った児の移植前後のワクチン接種歴とその効果

平成17年から平成22年夏まで当センターで行われ

風疹、ムンプス、麻疹に関して、EIA 法にて抗体価の測定を行う。

2) 細胞性免疫能 (T 細胞機能)

細胞性免疫は、抗体産生をつかさどる B 細胞の機能をコントロールしており、その機能は、多岐にわたる。特に細胞障害 T 細胞の機能は、抗原に対して生体が反応する重要な役割を果たしており、その機能の評価は重要である。この機能の評価を行うにあたり、フローサイトメトリーによる T 細胞、B 細胞の百分率、並びに PHA、Con-A による抗原刺激によって T 細胞の機能を測定する。また、麻疹、水痘、風疹抗原による ELISPOT、Tetramer を用いた CD8+細胞の反応を測定する。

④ 年度計画

平成 22 年度は、現在までの約 120 症例のワクチン接種歴とその効果、安全性についてまとめ、現状の把握を行った。同時に、倫理委員会に計画案を提出し、承認を得、患者の研究への参加の募集を開始した。平成 23 年度は、患者の研究への参加を募り、患者からの検体を採取し、実際の測定を行う。平成 24 年度は、同様に研究を続け、最終的にその結果をまとめ、国内、国際学会への発表、並びに国際医学雑誌への投稿を準備する。主任研究者（齋藤昭彦）とその研究協力者は、過去のワクチン接種歴とその結果のまとめ、倫理委員会への資料提出、実際の検体結果の解析、まとめを行う。分担研究者（笠原群生）とその研究協力者は、実際の患者の研究への参加、結果の解析、まとめを行う。分担研究者（竹田誠）とその研究協力者は、各種抗体価と細胞性免疫機能の測定を行う。

研究開始時に既に移植の終了した患者においては、研究に参加した時点で、同様の検査を行い、免疫状態を把握する。特定のワクチン接種後は、その特定の抗体価を定量し、効果を判定する。その決定因子として、年齢、免疫抑制剤の種類、投与量などがあげられる。

C. 研究結果

①過去に生体肝移植を行った児の移植前後のワクチン接種歴とその効果（第 14 回ワクチン学会で発表）

【目的】当院では、2005 年以降 120 例を超える小児に対する生体肝移植を施行してきた。移植後の患者には術後長期の免疫抑制剤投与が必要となるが、易感染性のある移植患者には、術前後に適正なワクチン接種を行い、ワクチンで予防できる病気（Vaccine Preventable Diseases）を予防することが重要である。生体肝移植前後のワクチン接種を評価するために、当院における生体肝移植患者のワクチン接種の現状を

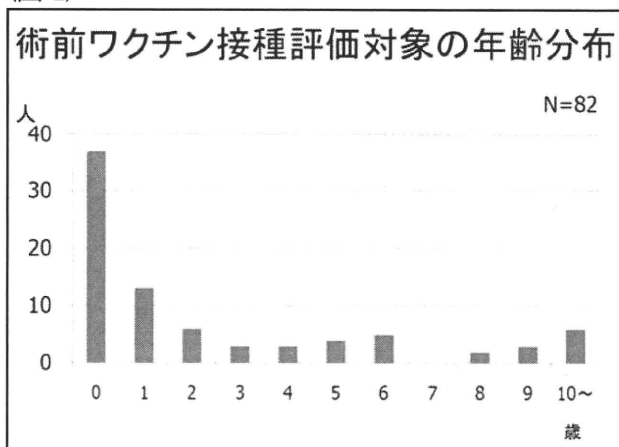
検討した。

【方法】2005 年 12 月から 2010 年 5 月にかけて当院において生体肝移植が施行された 122 名の術前後のワクチン接種状況、有害事象、副反応の有無、接種後の各疾患罹患歴などを電子カルテデータベースより抽出し、後方視的に検討した。対象は、転院等により詳細なワクチン接種歴の把握が困難である 26 名を除外した 96 名の生体肝移植患者とした。術前ワクチン接種評価としては、劇症肝炎などの術前にワクチン接種計画が立案困難な緊急移植症患者 14 名を除いた 82 名をその対象とし(表 1、図 1)、術後ワクチン接種評価としては、術後にワクチン接種を行った 54 名を対象とした(表 2)。

(表 1)

患者数	N	82
年齢 month	median (range)	15 (1-215)
性別 女児	N (%)	52 (63)
基礎疾患	(%)	
	胆汁鬱滞性疾患	48 (59)
	代謝性疾患	22 (27)
	肝硬変	4 (5)
	先天性門脈欠損	4 (5)
	腫瘍	2 (2)
	肝線維症	2 (2)
当院初診から移植までの期間 month	median (range)	95 (2-605)

(図 1)

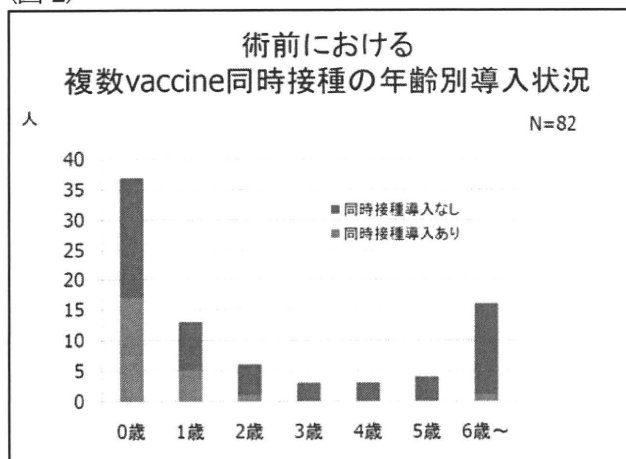


(表 2)

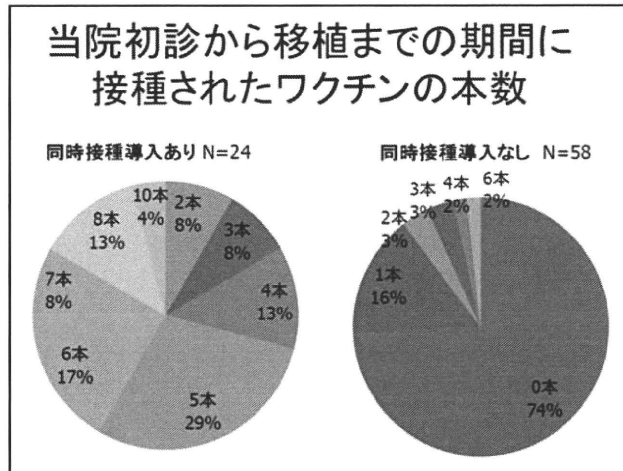
	不活化ワクチン	生ワクチン
患者数	N (%) 47 (87)	7 (13)
移植後、初回接種までの期間 month median (range)	18 (6-46)	31 (20-40)
性別 女児	N (%) 26 (55)	2 (29)
基礎疾患 (%)		
胆汁鬱滞性疾患	25 (52)	3 (43)
代謝性疾患	9 (20)	1 (14)
肝硬変	3 (6)	2 (28)
肝線維症	1 (2)	0 (0)
劇症肝炎	9 (20)	1 (14)

【結果】対象年齢の中央値は15か月（範囲：1か月-215か月）であった。術前の生ワクチン接種率は、麻疹79%、風疹73%、水痘56%、流行性耳下腺炎62%、BCG84%、ポリオ47%であった。術前複数ワクチン同時接種（平均2.9本、範囲2-7本）は、1歳未満の患者を中心に24名（29%）に行われていたが（図2、図3）、同時接種による明らかな有害事象は認めなかった。術後ワクチン接種は、免疫機能や免疫抑制剤血中濃度などを参考に生ワクチンは7名、不活化ワクチンは47名に施行されたが（図4）、明らかな有害事象は認めなかった。移植手術から初回生ワクチン接種、不活化ワクチン接種までの平均期間はそれぞれ29か月（範囲：20か月-40か月）、20か月（範囲：6か月-36か月）であった。

（図2）



（図3）



（図4）

不活化ワクチン	生ワクチン
(接種本数)	
•DTaP (13)	•麻疹風疹 (4)
•B型肝炎 (3)	•風疹 (1)
•Hib (5)	•流行性耳下腺炎 (3)
•PCV7 (1)	•水痘 (4)
•インフルエンザ H1N1 2009 (56)	
Seasonal (59)	

【考察】生体肝移植までの限られた期間で、効率的に術前ワクチン接種を行うためには術前の複数のワクチンの同時接種が有効である。また、術後のワクチン接種における安全性と有効性を確実に評価するためには、後方視的な検討では限界があり、接種前細胞性免疫能や接種後の抗体価評価などが必要である。

【結論】生体肝移植患児において、術前の複数のワクチンによる同時接種は有効な手段である。

## ②生体肝移植前後のワクチンの効果、安全性の前方視的調査

生体肝移植は、継続的に行われており、2010年には、40件を超える肝移植が行われた。一方で、予防接種を行う場を確保するために、2010年8月より、国立成育医療研究センターにおけるワクチンセンターの活動を開始し、肝移植前後の患者のワクチン接種を開始した。ここでは、現在、週1回の外来を行っており、多くの患者が予防接種の評価と実際の接種を行っている。また、本研究の内容は、2010年10月5日に国立成育医療研究センターの倫理委員会の承認を得た。また、その後、同研究内容が国立感染研究所の倫理委員会でも承認された。現在、患者検

体の採取を外来で行っており、2011年4月現在、計25検体の採取を行い、国立感染研究所に検体を輸送した。液性免疫の評価である抗体価の測定に関しては、阪大微生物研究所に依頼予定である。

国立感染研究所においては、水痘の細胞性免疫測定に関しては、ボランティアの健常成人血を用い、水痘（VZV）ワクチン株由来のVZV粒子標品を抗原とし、インターフェロン（IFN） $\gamma$ 産生を指標として細胞性免疫をELISPOT法にて半定量的に評価できるように準備された。麻疹の細胞性免疫測定に関しては、麻しんウイルス特異的Tリンパ球反応の解析に関する情報収集を行っている。一方で、風疹の細胞性免疫測定に関しては、*in vitro*において日本人に最も多いHLA-2402分子に結合する風疹ウイルスエピトープペプチド候補7種を絞り、細胞性免疫解析法作製の準備を行った。

#### D. 考察

生体肝移植後にどのようなスケジュールでワクチン接種を勧めるかは、免疫の低下した子どもたちをワクチンで予防できる病気から守るためにも、極めて重要な課題である。残念ながら、その基準となるデータは存在せず、それぞれの患者の年齢、基礎疾患、免疫抑制剤の種類、量などによって、その適応が異なる。この研究では、その基礎的なデータを作成するために、現在患者からの検体を採取し、解析を進めているところである。この結果によって、今後、それぞれの患者に応じたテーラーメイドのワクチン接種が可能になると考える。

#### E. 結論

生体移植後のワクチン接種は、客観的データがなく、その接種に関する明確な基準は存在しない。したがって、現在採血を行っている患者のデータを把握することは極めて重要であり、データの蓄積とその解析が待たれる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 国内の学会発表

齋藤昭彦： 米国における小児科学の卒後教育．第113回日本小児科学会学術集会，岩手，2010.4.23

齋藤昭彦： ワクチンで子供たちを感染症から守ろう-米国の制度から学ぶこと-．第57回日本小児保健学会，新潟，2010.9.16

齋藤昭彦： 小児における抗インフルエンザ薬の適正使用とは？．第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第57回日本化学療法学会東日本支部総会，東京，2010.10.21

齋藤昭彦： 実践感染対策 あなたならどうする？トラブルシューティングを含めて．第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第57回日本化学療法学会東日本支部総会，東京，2010.10.21

齋藤昭彦： 小児に対する結合型肺炎球菌ワクチン．第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第57回日本化学療法学会東日本支部総会，東京，2010.10.21

齋藤昭彦： 小児専門医療施設における小児感染症コンサルテーションの実態（第一報）．第42回日本小児感染症学会総会学術集会，宮城，2010.11.27

勝田友博、福田晃也、重田孝信、坂本靖介、笠原群生、加藤達夫、庄司健介、齋藤昭彦： 生体肝移植前後のワクチン接種の現状．第14回日本ワクチン学会，東京，2010.12

##### 国際学会での発表

Yotani N, Tsuji S, Saitoh A, Sakai H, Takayama JI. Which Children Are Hospitalized With Novel H1N1 Influenza? Pediatric Academy Societies Annual Meeting, Vancouver, BC. May, 2010.

Fukuda S, Oana S, Sakai H, Kato H, Ito S, Saitoh A, Abe J, Ito R, Takayama JI. Development of Coronary Artery Abnormalities Associated With Persistence Of Non-Fever Symptoms In Kawasaki Disease. Pediatric Academy Societies Annual Meeting, Vancouver, BC. May, 2010.

Ueno H, Maekawa T, Tsuchida N, Oana S, Sakai H, Saitoh A, Ito S, Kato H, Abe J, Takayama JI. Clinical Predictors of Resistance To IVIG And Progression To Coronary Artery Abnormalities In Patients With Kawasaki Disease. Pediatric Academy Societies Annual Meeting, Vancouver, BC. May, 2010.

Uematsu S, Saitoh A, Takayama JI and Sakai H. Isopropyl Alcohol to Prepare Skin To Obtain



Blood Culture In The Pediatric Emergency Room. Pediatric Academy Societies Annual Meeting, Vancouver, BC. May, 2010.

Kamiyama S, Watanabe Y, Saitoh A. Current Vancomycin Dosing is not Sufficient to Achieve Appropriate Trough Levels for Serious Staphylococcal Infections in Children. 50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Boston, MA, September, 2010.

Shoji K, Sugawara Y, Knaup E, Adachi S, Yotani N, Funaki T, Katsuta T, Nakagawa S, Saitoh A. A High Admission Rate in School Aged Children with 2009 pandemic influenza A/H1N1 in Japan. 50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Boston, MA. September, 2010.

Saitoh A, Sakamoto S, Kamiyama S, Fukuda A, Shigeta T, Katsuta T, Shoji K, Ogimi C, Kasahara M. Preemptive Therapy for Cytomegalovirus Infections in Children after Live Donor Liver Transplantation. The 5<sup>th</sup> Asian Congress of Pediatric Infectious Diseases, Oral Presentation, (received Outstanding Researcher Award), Taipei, Taiwan. September, 2010.

Shoji K, Saitoh A. A High Rate of Inducible Clindamycin Resistance in Staphylococcal aureus in Pediatric Hospital in Japan. The 5<sup>th</sup> Asian Congress of Pediatric Infectious Diseases, Poster Presentation, Taipei, Taiwan, September, 2010.

#### 国内での講演

齋藤昭彦： ワクチンで予防できる病気 (VPD) から子どもたちを守るために-米国の予防接種から学ぶこと-。 埼玉県小児科医会学術講演会， 埼玉， 2010. 6. 19

齋藤昭彦： IDATEN ケースカンファレンスにおける演者。 日本感染症教育研究会， 東京， 2010. 6. 12

齋藤昭彦： ロタウイルス感染症について。 ロタウイルス感染症勉強会， 東京， 2010. 6. 26

齋藤昭彦： VPD から子供達を守るために-米国の予防接種制度から学ぶこと-。 鎌ヶ谷市医師会， 千葉， 2010. 6. 23

齋藤昭彦： 小児感染症の臨床現場における微生物検査の意義。 第23回臨床微生物迅速診断研究会総会， 岐阜， 2010. 6. 26

齋藤昭彦： わが国における予防接種の現状-米国の予防接種制度と比較して-。 河内医師会学術講演会， 大阪， 2010. 7. 14

齋藤昭彦： ワクチンで予防できる病気 (VPD) から子どもたちを守るために-米国の予防接種制度から学ぶこと-。 千葉県小児科医会7月例会， 千葉， 2010. 7. 10

齋藤昭彦： 細菌性髄膜炎を予防できるワクチン-ヒブワクチンと肺炎球菌ワクチンについて-。 第16回成育臨床懇話会， 東京， 2010. 7. 24

齋藤昭彦： 小児感染症 移植に関する感染症。 第8回JSEPTICセミナー， 東京， 2010. 8. 21

齋藤昭彦： ランチョンセミナー2。 第20回日本外来小児科学会年次集会， 福岡 2010. 8. 29

齋藤昭彦： 新型インフルエンザの重症例と今後の動向。 第2回区西南部総合診療感染症研究会， 東京， 2010. 9. 2

齋藤昭彦： ワクチンで予防できる病気 (VPD) から子どもたちを守ろう-米国の制度から学ぶことと日本の現状-。 島根県小児科医会学術講演会， 島根， 2010. 9. 5

齋藤昭彦： ワクチン行政の現状と課題-米国の予防接種制度から学ぶこと-。 兵庫県保険医協会北阪神支部 第25回支部総会記念講演， 大阪， 2010. 10. 2

齋藤昭彦： インフルエンザ最前線講演， 東京， 2010. 10. 9

齋藤昭彦： 第3回東京小児臨床感染症勉強会， 東京， 2010. 10. 13

齋藤昭彦： 第25回滋賀小児感染症 血液疾患研究

会， 滋賀， 2010.10.16

齋藤昭彦： 細菌感染 インフルエンザ感染の予防。  
第3回都心臨床小児カンファレンス， 東京，  
2010.10.26

齋藤昭彦： インフルエンザ感染症の診断と治療  
2010 Update. 世田谷区医師会講演会日医生涯教育  
認定講座， 東京， 2010.11.10

齋藤昭彦： ワクチンで予防できる疾患（VPD）から  
子どもたちを守るために-米国の予防接種制度から  
学ぶこと-。 第13回茨城県小児感染症研究会， 茨  
城， 2010.11.16

齋藤昭彦： Vaccines in the USA Challenges Now  
and in the Future. 第19回国際医療協力シンポ  
ジウム， 東京， 2010.11.19

齋藤昭彦： 三鷹市医師会小児科医会講演会， 東  
京， 2010.12.7

齋藤昭彦： 日本の予防接種制度の現状と課題。  
第14回日本ワクチン学会学術集会教育セミナー，  
東京， 2010.12.12

齋藤昭彦： インフルエンザ感染症の治療薬とその  
適正使用。 世田谷薬剤師会保険薬局部会12月度  
拡大勉強会， 東京， 2010.12.12

齋藤昭彦： 日本の予防接種の現状と課題-米国の  
制度から学ぶ安全かつ有効な予防接種のあり方-。  
中野区医師会講演会 日医生涯教育認定講座， 東  
京， 2010.12.16

齋藤昭彦： 小児におけるインフルエンザ感染症へ  
の対策-2009 A/H1N1 インフルエンザ感染症から学  
ぶこと-。 第26回日本環境感染学会総会， 横浜，  
2011.2.18

齋藤昭彦： 米国における肺炎球菌ワクチン導入の  
インパクト、プレバナー発売1周年記念講演， 東  
京， 2011.2.20

Peer-Reviewed Journals に掲載された記事

Saitoh A, Sarles E, Capparelli E, Aweeka F,  
Singh KK, Kovacs A, Burchett SK, Wiznia A,  
Nachman S, Fenton S, Spector SA. CYP2C19  
Genetic Variants Affect Nelfinavir

Pharmacokinetics and Virologic Response in  
HIV-1 Infected Children Receiving HAART. *J  
Acquir Immune Defic Syndr* 2010;54:285-9.

Ohishi A, Takahashi S, Ito Y, Ohishi Y,  
Tsukamoto K, Nanba Y, Ito N, Kakiuchi S,  
Saitoh A, Morotomi M, Nakamura T.  
Bifidobacterium septicemia associated with  
postoperative probiotic therapy in a neonate with  
omphalocele. *J Pediatr* 2010;156:679-81.

Shoji K, Ito Y, Inoue N, Adachi S, Fujimaru T,  
Nakamura T, Nishina S, Azuma N, Saitoh A. Is a  
Six-Week Course of Ganciclovir Therapy  
Effective for Chorioretinitis in Infants with  
Congenital Cytomegalovirus Infection? *J Pediatr*  
2010;157:331-3.

Ogimi C, Tanaka R, Saitoh A, Ohishi T.  
Immunogenicity of Influenza Vaccine in Children  
with Pediatric Rheumatic Diseases Receiving  
Immunosuppressive Agents. *Pediatr Infect Dis J*.  
2011;30:208-11.

Katsuta T, Kato H, Kaneko Y, Kaneko M, Misaki  
Y, Kimura M, Shoji K, Nakao H, Saitoh A.  
Complete Atrioventricular Block without  
Myocarditis as a Complication of Varicella in  
Children. *Pediatr Infect Dis J* (in press)

Shoji K, Saitoh A. Bacteremia Associated with  
Intravascular Catheter Colonized *Staphylococcus  
aureus* in Children. *J Hosp Infection* (accepted).

Saitoh A, Dominguez D, Stani TM, Rossi S,  
Capparelli E, Spector SA. Intracellular  
Concentrations of Non-Nucleoside Reverse  
Transcriptase Inhibitors and Its Potential Role  
on Apoptosis in Peripheral Blood Mononuclear  
Cells. *J Antivir Antiretrovir* (accepted).

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

## II. 分担研究報告

## 小児臓器移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性に関する研究

研究分担者 笠原 群生 （国立成育医療研究センター 移植外科）

### 研究要旨

小児肝移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性

### 研究協力者

阪本 靖介 （(独)国立成育医療研究センター）

福田 晃也 （同上）

金澤 寛之 （同上）

### A. 研究目的

固形臓器移植後のワクチン接種の安全性を確立する。

### B. 研究方法

#### 倫理面への配慮

当該治療の成果は、学会報告や学術雑誌、データベース上で公表されることがあるが、匿名化を行うなど、個人情報を守護する。

### C. 研究結果

肝移植後患者で免疫抑制剤投与中の患者に、ワクチン接種を実施した。重篤な副作用を認めず、免疫抑制状態であっても、安全にワクチン接種が可能であった。

### D. 考察

肝移植成績は良好である。乳児期に肝移植を受ける患者では、術前肝不全のためにワクチン接種が不可能なことがあり、術後に麻疹・風疹・水痘感染症が重篤化することがある。今回安全にワクチン接種が可能であることが証明されたが、今後個々の患者の免疫抑制剤使用状況・細胞分画を検討し、免疫能に応じたワクチン接種プロトコルを検討したい。

### E. 結論

免疫抑制状態であっても、安全にワクチン接種が可能であった。

### F. 健康危機情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

Shigeta T, Imadome K, Sakamoto S, Fukuda A, Kakiuchi T, Matsuno N, Tanaka H, Nakazawa A, Kasahara M: Epstein-barr virus infection after pediatric living-related liver transplantation-management and risk factors. *Transplant Proc.* 2010 Dec;42(10):4178-80

笠原群生: 移植医療と感染症. *医療の広場* 2010;5:4-6

阪本靖介, 笠原群生, 福田晃也, 重田孝信, 江川裕人, 上本伸二: 【臓器移植後のサイトメガロウイルス感染症対策】 肝移植におけるサイトメガロウイルス感染症対策. *今日の移植* 2010; 23:196-202

#### 2. 学会発表

福田晃也: 第10回京都肝移植周術期研究会, 講演「小児生体肝移植後のEBV感染に関連した合併症例の報告」, 京都, 2010.3.27

笠原群生, 堀川玲子, 小崎里華, 中川温子, 伊藤秀一, 齋藤昭彦, 中川聡, 松井陽: 【分野別シンポジウム 5 先天性代謝異常症の最新治療】 代謝性疾患に対する肝移植治療. 第113回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010.4.24

笠原群生, 堀川玲子, 小崎里華, 中川温子, 伊藤秀一, 齋藤昭彦, 中川聡, 松井陽: 代謝性

疾患に対する肝移植治療. 第 113 回日本小児  
科学会学術集会, 岩手, 2010. 4. 25

Shigeta T, Sakamoto S, Fukuda A,  
Nakagawa A, Imadome K, Kasahara M:  
Epstein-barr virus infection after pediatric  
living-related liver transplantation:  
Management and risk factor, The  
International Colleges of Surgeons, The  
56th Annual Congress of the Japan Section,  
Tokyo, 2010.6.12

重田孝信, 阪本靖介, 福田晃也, 田中秀明, 中  
川温子, 笠原群生: 当院における、肝移植後  
CMV・EBV 感染の現況と対策. 第 28 回日本  
肝移植研究会, 広島, 2010. 7. 2

Shigeta T, Sakamoto S, Fukuda A,  
Kasahara M: Epstein-barr virus infection  
after pediatric living-related liver  
transplantation: Management and risk  
factor. XXIII Interational Congress of the  
Transplantation Society, Vancouver,  
2010.8.15-19

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

- |    |        |
|----|--------|
| 1. | 特許取得   |
| 無し |        |
| 2. | 実用新案登録 |
| 無し |        |
| 3. | その他    |
| 無し |        |

小児臓器移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性に関する研究

研究分担者 竹田 誠 （国立感染症研究所 ウイルス第三部）

研究要旨

生体肝移植後の患者に対しては、推奨されるワクチンスケジュールが存在しない。本分担研究の目的は、特に水痘、麻疹、風疹について、より客観的な指標をもって、効果があり、安全なワクチン接種が行えるように、細胞性免疫機能の評価を移植前後の患者に行い、データを蓄積することである。水痘、麻疹、風疹の各々に関して細胞性免疫機能の評価のための ELISPOT 法確立に向けて条件検討を行った。水痘に関しては、条件の至適化を行い、水痘ワクチン接種移植児の臨床検体を用いての検討を行うための準備を整えた。ただ、今後は、厳密な意味での陰性コントロールとなる水痘未罹患者の材料や、細胞性免疫の成立が不十分な 1 歳未満の乳児の材料を用いた検討が必要である。麻疹に関しては、これまでの解析では、麻疹ウイルス特異的リンパ球反応を検出できなかった。その原因として、用いたリンパ球がワクチン接種後数十年を経過した健常者から提供されたもので、ウイルス抗原に対するメモリー反応が減弱している可能性が考えられた。今後は、ワクチン接種後の経過時間が少ないリンパ球を用いて、試験の最適条件を検討する必要がある。風疹に関しては、ウイルスタンパクを大量に精製するのは困難であるため、抗原としてエピトープペプチドを選択することとした。日本人に最も多い HLA 型である HLA-A24 に絞ってエピトープ検索を試みた結果、in vitro で HLA-A\*2402 分子に結合するペプチド 7 種を見出した。また、このうち 1 種は HLA-A2 にも親和性を持つと予想された。今後、この結果をもとに風疹ウイルスの ELISPOT 法を作製し、風疹ウイルスに対する細胞性免疫解析法を確立する予定である。

研究協力者

井上直樹 国立感染症研究所ウイルス第一部  
金井亨輔 国立感染症研究所ウイルス第一部  
染谷健二 国立感染症研究所ウイルス第三部  
岡本貴世子 国立感染症研究所ウイルス第三部

A. 研究目的

生体肝移植後の児は、免疫抑制剤を常時服用し免疫不全状態におかれる。これらの脆弱な子供達を様々な感染症、特にワクチンで予防できる疾患から守るのは、われわれの責務である。しかしながら、移植後の患者に対しては、推奨されるワクチンスケジュールが存在しない。特に水痘、麻疹、風疹などの生ワクチンは生後 1 歳以降に接種することが推奨されているが、生体肝移植の患者の約半数は、1 歳未満の患者であり、その年齢における接種の安全性、有効性は不明である。したがって、より客観的な指標をもって、効果があり、安全なワクチン接種が行えるように、特に水痘、麻疹、風疹につ

いて細胞性免疫機能の評価を移植前後の患者に行い、データを蓄積することが本分担研究の目的である。

B. 研究方法

【水痘に関して】

VZV 特異的細胞性免疫の定量系を整えるため、独立行政法人医薬基盤研究所・感染制御プロジェクト・森康子リーダー及び湯華民研究員（当時）より ELISPOT 法の技術移転を受けた。この技術を元に、本研究室での ELISPOT 法実施において必要な詳細条件の検討を行い、プロトコルの至適化を図った。

1. 抗原の調製方法の検討：水痘ワクチン株 (vOka) を感染させたヒト 2 倍体線維芽細胞 HEL 及びモルモット線維芽細胞 GPL を超音波破碎して得たライセートを ELISPOT の抗原として使用できるか、また、どちらの細胞がより抗原ソースとして適しているか検討した。同期間培養した未感染細胞ライセートを陰性対照、水痘ワクチン小分け品製剤を陽性対照として用いた。また、VZVgE など複数の特異抗体を用いた ELISA 法により、ライセートそれぞれの抗原性を比較した。

2. ELISPOT プレートのフィルターの材質の比較:セルロース混合エステルフィルターのプレート(HA)と疎水性 PVDF フィルターのプレート(IP)を比較した。それぞれのプレートを用いて同一条件で ELISPOT 法を行い、染色スポットを観察することで検出感度・バックグラウンドの程度・スポットの明瞭さについて比較した。

3. 抗体量・抗原量・末梢血単核球(PBMC)数の検討:スポットの判別及び計数がより容易な染色像が得られ、かつ可能な限り使用量を抑えることができる条件を検討した。補足抗体量、検出抗体量、抗原添加量及び PBMC 数それぞれについて異なる量を組み合わせて用いた ELISPOT を行い、最適条件を決定した。

#### 【麻疹に関して】

麻疹ウイルス特異的な IFN- $\gamma$  産生リンパ球応答を ELISPOT 法により検出できるか確認するため、麻疹ワクチン接種歴のある健康人リンパ球を用いて検討をおこなった。末梢血より分離したリンパ球、 $5 \times 10^4$  個に麻疹ウイルス Edmonston 株を M.O.I=1, 0.5 となるように接種して 24 時間および 48 時間培養した。陰性コントロールには、ウイルス未接種のリンパ球、陽性コントロールにはマイトジェン (PHA:phytohemagglutinin) 刺激したリンパ球を用いた。IFN- $\gamma$  陽性細胞の検出には、ヒト IFN- $\gamma$  ELISPOT キット(ベクトン・ディッキンソン)を用いた。

#### 【風疹に関して】

[風疹ウイルスにおける HLA-A24 拘束性 CTL エピトープのスクリーニング]

風疹ウイルススタンパクのアミノ酸配列から NetMHC 3.2 Server ソフトウェアプログラムを用いて日本人に最も多い HLA 型である HLA-A24 (A\*2402) に高親和性を持つと推定される 9 アミノ酸残基からなるペプチド 10 種を選び、合成した。この中には HLA-A2 (A\*0201) にも親和性を持つと予測されたペプチドも含まれていた。HLA-A\*2402 分子を発現するマウス胸腺由来細胞 RMA-S-h82m-HLA-A\*2402 に各々のペプチドを負荷後、HLA-A 分子の細胞表面発現変化を FACS にて解析した。

#### 倫理面への配慮

本研究は一部、材料として健康人ボランティアから得たヒト末梢血を使用した。このため、生体肝移植患者を対象とした医学研究倫理審査会承認に加えて、国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査会において、健康人ボランティア検体の使用について別途申請し承認を得た。承認内容に基づき十分な説明を行った

上で同意を得て採血した。また、検体から個人が特定できないように検体を管理することで、個人情報の保護に配慮して研究が実施された。

#### C. 研究結果

##### 【水痘に関して】

1. ELISPOT 法による検討の結果、VZV 感染 HEL 及び GPL 細胞ライセートは水痘ワクチン小分け品製剤と同等またはそれ以上の抗原性を示し、抗原として有効であることが示された。また、ELISA 法でも GPL 細胞と HEL 細胞は同程度の抗原性を示した。GPL 細胞はモルモット由来であり、モルモット IFN- $\gamma$  は今回使用した抗ヒト IFN- $\gamma$  モノクローナル抗体と交差反応しなかったことから、抗原とする感染細胞ライセート中の IFN- $\gamma$  による影響がない GPL 細胞を採用し以降の検討に用いた。

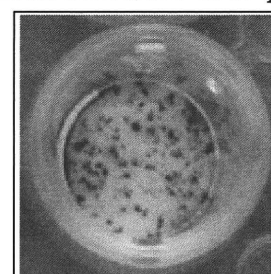


図. 典型的なスポット像  
1つのスポットが1つの  
IFN- $\gamma$  産生細胞を表わす

2. HA 及び IP の間に、検出感度の点での著明な差は見られなかった。しかし、IP は HA と比較してバックグラウンドが低く、染色スポットも明瞭な輪郭を示したことから、計数がより容易な IP プレートを以降の検討で使用した。

3. 1 ウェルあたりに用いる最適量が以下のように決定された。

[補足抗ヒト IFN- $\gamma$  抗体量: 200ng/50  $\mu$ l、検出抗体量: 0.4ng/100  $\mu$ l、抗原量: 総培養液量の 10~25%、末梢血単核球数  $1 \sim 2 \times 10^5$  個]

抗原量を除くこれらの量は、医薬基盤研のオリジナルのプロトコルより少量に抑えられている。

##### 【麻疹に関して】

ウイルス抗原刺激による IFN- $\gamma$  産生細胞数は、抗原量に関わらず、刺激後 24 時間、48 時間でもほとんど観察されず、陰性コントロールとの差は認められなかった。陽性コントロールでは、IFN- $\gamma$  産生細胞を検出することができた(表 1)。

表1. ELISPOT法で検出できたIFN- $\gamma$  陽性細胞数

	IFN- $\gamma$ 産生細胞数 / $2 \times 10^4$ 細胞*	
	24時間刺激	48時間刺激
MOI= 1	<1	<1
MOI= 0.5	1 $\pm$ 1	0.3 $\pm$ 0.6
陽性コントロール	44 $\pm$ 10.6	62.3 $\pm$ 9.1
陰性コントロール	<1	<1

\* 平均 $\pm$ SD

【風疹に関して】

in vitro において HLA-A\*2402 分子と結合する風疹ウイルスタンパク由来ペプチド 7 種を決定した(表1)。この中には HLA-A\*2 にも親和性を持つと予想されたペプチド 1 種も含んでいた。

(表1)風疹ウイルス由来の HLA-A24(A\*2402)に親和性を有すると推測されたペプチドの RMA-S-h62m-HLA-A\*2402 細胞によるスクリーニング結果(太字は HLA-A2 (A\*0201)とも親和性を有すると推測されたペプチドを示す)

ペプチド候補	ウイルス蛋白質領域 (a.a.)	ウイルス蛋白質	RMA-S A2402 との結合
1 VFYRVDLHF	166-174	C	+
2 TYAEQDFRV	226-234	C	+
3 RSARHPWRI	268-276	C	++
4 HYGHHHHQL	324-332	E2	++
5 RWGLPPWELVV	475-485	E2	+
6 ALWLATANAL	524-533	E2	-
7 GYAQLASYF	676-684	E1	+
8 CYQCGTPALV	931-940	E1	-
9 VYGTHTTAV	1006-1014	E1	++
10 WWQLTLGAI	1029-1040	E1	-

D. 考察

【水痘に関して】

今回の検討で用いた PBMC はすべて VZV 既感染の成人に由来するものであり、厳密な意味での陰性対照である VZV 未感染の PBMC を用いた検討を行うことが出来なかった。今後は、VZV 未感染者の PBMC を入手しての検討が必要である。また、1 歳未満の乳児では細胞性免疫の成立が不十分で、VZV 特異的細胞性免疫が本定量系では十分に検出できない可能性があることや必要細胞数(即ち採血量)をさらに少なくすることも視野に入れて、RT-RealTime PCR 法による IFN- $\gamma$  mRNA の定量系による解析準備も進行させている。

VZV 感染に伴う細胞性免疫が標的とするウイルス抗原については、知見が乏しく感染防御の中核を担っている抗原を同定することも、今後検討していきたい。

【麻疹に関して】

今回の試験では、麻疹ウイルス特異的リンパ球反応を検出できなかった。その原因として、用いたリンパ球がワクチン接種後数十年を経過した健常者から提供され

たもので、ウイルス抗原に対するメモリー反応が減弱している可能性があること、また、刺激抗原量、刺激時間、細胞数等の条件が不適切であることも考えられた。今後は、ワクチン接種後の経過時間が少ないリンパ球を用い、試験の最適条件を検討する必要がある。

【風疹に関して】

細胞性免疫誘導の解析には効率よく細胞障害性 T 細胞を活性化する抗原が不可欠である。風疹ウイルスは増殖性が低く、ウイルスタンパクを大量に精製するのは実験室レベルでは難しいため、抗原としてエピトープペプチドを選択した。今回、日本人に最も多い HLA 型である HLA-A24 に絞ってエピトープ検索を試みた結果、in vitro で HLA-A\*2402 分子に結合するペプチド 7 種を見出した。また、このうち 1 種は HLA-A2 にも親和性を持つことが予想された。今後、これらペプチドが in vivo で実際に提示され、細胞障害性 T 細胞を活性化することをヒト末梢血単核球(PBMC)を用いて確認し、風疹ウイルスに対する細胞性免疫解析法を作製する予定である。

E. 結論

【水痘に関して】

VZV 特異的細胞性免疫の定量系の最適化を行い、水痘ワクチン接種移植児の臨床検体 PBMC を用いての検討を行うための準備を整えた。

【麻疹に関して】

ELISPOT 法では、複雑な操作をすることなく T 細胞免疫反応を測定できる。今回の試験では、ウイルス特異的免疫反応は検出できなかったが、陽性コントロールの IFN- $\gamma$  産生は検出することが確認できたので、今後は最適な試験条件を検討して、研究対象者検体の測定を進めていきたいと考えている。

【風疹に関して】

風疹ウイルスに対する細胞性免疫解析法確立のため、HLA-A24 拘束性風疹ウイルス特異的抗原のスクリーニングを行った。この結果をもとに風疹ウイルスの ELISPOT assay 法を作製し、MR ワクチン接種後の細胞性免疫解析を行う。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

水痘帯状疱疹ウイルス (VZV)金井亨輔、山田壮一、井上直樹 日本ウイルス学会学会誌「ウイルス」60(2): 197-208. 2010



2. 学会発表

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 |

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

別紙 4

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版 年	ページ
齋藤昭彦	小児における抗菌薬 治療	山口 徹 北原光夫 福井次矢	今日の治療指針 2010	医学書院	東京	2010	1085
上山伸也 齋藤昭彦	小児の副鼻腔炎 中 耳炎 未来に抗菌薬 を残すために	梅澤俊彦	いきなり名医！ 見逃したらコワ イ外来で診る感 染症	日本医事新 報社	東京	2010	85-92
齋藤昭彦	小児病棟における感 染症の特徴と管理 感染症と抗菌薬の使 い方	国立成育医 療研究セン ター	ナースのための 小児感染症	中山書店	東京	2010	157-159
齋藤昭彦	CA-MRSA に対してどう エンピリック治療を 進めるか？	細川直登 前崎繁文 大曲貴夫	臨床感染症 ブックレット	文光堂	東京	2010	114-115

## 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ohishi A, Takahashi S, Ito Y, Ohishi Y, Tsukamoto K, Nanba Y, Ito N, Kakiuchi S, Saitoh A, Morotomi M, Nakamura T	Bifidobacterium septicemia associated with postoperative probiotic therapy in a neonate with omphalocele	THE JOURNAL OF PEDIATRICS	156	679-681	2010
Shoji K, Ito Y, Inoue N, Adachi S, Fujimaru T, Nakamura T, Nishina S, Azuma N, Saitoh A	Is a Six-Week Course of Ganciclovir Therapy Effective for Chorioretinitis in Infants with Congenital Cytomegalovirus Infection?	THE JOURNAL OF PEDIATRICS	157	331-333	2010
Ogimi C, Tanaka R, Saitoh A, Oh-Ishi T	Immunogenicity of influenza vaccine in children with pediatric rheumatic diseases receiving immunosuppressive agents	Pediatr Infect Dis J	30	208-211	2011
Shoji K, Saitoh A	Bacteraemia associated with intravascular catheter colonisation with Staphylococcus aureus in children	Journal of Hospital Infection	78	65-66	2011