

成人を対象としたジフテリア・百日咳・破傷風混合ワクチンの安全性と免疫原性

国立病院機構三重病院小児科¹⁾, 三重大学医学部小児科²⁾

伊東 宏明¹⁾ 中野 貴司¹⁾ 松野 紋子¹⁾
長尾みづほ¹⁾ 藤沢 隆夫¹⁾ 庵原 俊昭¹⁾
神谷 齊¹⁾ 堀 浩樹²⁾ 駒田 美弘²⁾

要 旨

国内外で、成人や年長児の百日咳患者が増加傾向にあることが昨今指摘されている。これらの年代では百日咳の臨床症状が非定型的な場合も多く、診断されずに放置されることもしばしばである。わが国では未だ Tdap ワクチンは認可されていないが、現行のジフテリア・百日咳・破傷風混合(DPT)ワクチンは、その接種量を調整すれば欧米の Tdap ワクチンと類似した組成となる。我々は、成人 164 名に対して DPT ワクチン 0.2ml を接種して、その安全性と免疫原性を検討した。接種前血清では 163 名中 76 名 (47%) で抗百日咳毒素 (PT) 抗体価、24 名 (15%) で抗線維状赤血球凝集素 (FHA) 抗体価が感染防御レベルとされる 10ELISA unit/ml 未満であった。今回検討した年代では、過去の接種歴にかかわらず、百日咳に対する感染防御能が十分ではない可能性があると考えられた。抗 PT 抗体、抗 FHA 抗体は接種により有意な抗体上昇を認めた。また、副反応は通常の乳児への DPT 接種と比べて重篤ではないと考えられた。DPT ワクチン 0.2ml 接種は、成人での百日咳予防策として有用であると同時に、リスクの高い乳幼児への伝播を予防することにも繋がり、今後積極的に導入することを提言したい。

キーワード：百日咳，DPT，Tdap，免疫原性，副反応

はじめに

国内外で、成人や年長児の百日咳患者が増加傾向にあることが昨今指摘されている。成人や年長児では百日咳の臨床症状が非定型的な場合も多く、診断されずに放置されることもしばしばである^{1)~4)}。新生児や乳児と密に接触する医療従事者などから、百日咳が重症化することの多い彼らに感染が伝播すれば、大きな問題となる。

多くの欧米諸国においては、百日咳抗原を含有する Tdap ワクチンで定期のブースター追加接種を実施し、免疫を強固にすることで年長児や成人の百日咳患者の制御を目指している^{5)~7)}。わが国では未だ Tdap ワクチンは認可されておらず、新薬治験により採用されるには多額の費用と長い期間が必要である。しかし、現行のジフテリア・百日咳・破傷風混合 (DPT) ワクチンは、その接種量を調整すれば欧米の Tdap ワクチンと類似した組成となる。今回、成人に対して、調整した接種量で DPT ワクチンを接種して、その安全性と免疫原性を解析し、百日咳予防策を検討した。

対象と方法

研究内容について説明後、接種を希望し、文書による同意が得られた三重大学医学部学生 99 名と三重大学医学部附属病院職員 65 名の計 164 名を対象とした。また、本研究の実施については国立病院機構三重病院倫理審査委員会の承認を得た (受付番号 20-5)。

2008 年 7 月から 2009 年 3 月を研究期間とし、(財)阪大微生物病研究会製 DPT ワクチン トリビック® (Lot. 3E07A) 0.2ml を、左上腕に単回皮下接種した。安全性として、被験者の健康状態について、接種 4 週間以内の全身症状 (発熱、頭痛、倦怠感、他) と局所反応 (発赤、疼痛、かゆみ、他) について健康観察日誌を用いて調査した。接種 1 週間後までは全項目、それ以降は異常を認めたときのみ日誌への記載を被験者に依頼した。免疫原性の検討については、ワクチン接種前及び接種 4 週間後に採血し、百日咳感染防御能を反映するとされる抗百日咳毒素 (PT) 抗体、抗線維状赤血球凝集素 (FHA) 抗体については ELISA 法を用いて IgG 抗体を測定した。ジフテリア抗毒素抗体についてはカラーチェンジ法、破傷風抗毒素抗体は KPA 法で測定した。抗体価の測定は、いずれも阪大微生物病研究会観音寺研究所で実施した。抗 PT 抗体、抗 FHA 抗体はそれぞれ 10ELISA unit (EU) /ml 以上、ジフテ

(平成 21 年 5 月 22 日受付) (平成 21 年 9 月 16 日受理)

別刷請求先：(〒514-0125) 津市大里窪田町 357

国立病院機構三重病院小児科 伊東 宏明

表1 安全性 (接種後の有害事象) (n = 164)

全身症状		局所反応	
発熱*	2名 (1.2%)	疼痛	23名 (14.0%)
頭痛	6名 (3.6%)	かゆみ	14名 (8.5%)
倦怠感	4名 (2.4%)	発赤#	11名 (6.7%)
		腫脹#	10名 (6.1%)
		熱感	9名 (5.5%)

*最高体温
37.8℃(接種1, 2日後)
37.5℃(接種7日後)

#発赤, 腫脹が5cm以上であった者は2名

リア抗毒素抗体は0.1IU/ml以上⁹⁾, 破傷風抗毒素抗体は0.01IU/ml以上を陽性とした。免疫原性の判定では, ①接種前抗体価が陰性の場合には陽転化したとき, ②接種前抗体価が陽性の場合には, 接種後に抗体価がEU測定値もしくはIU/ml測定値で2倍以上に上昇したときをそれぞれ有意な抗体価上昇とした。今回はDPTワクチンに含有される百日咳ワクチンの免疫原性について主として検討した。

過去のDPTワクチン接種歴については, 母子手帳あるいはそのコピーを持参させ, 実際に記載された記録に基づいて調査した。

各年代におけるワクチン接種前の抗体価陽性率の比較については, 統計ソフトウェアPrism(version 5.01)を用いて χ^2 乗の傾向検定を行い解析し, $p < 0.05$ を有意とした。

結 果

DPTワクチン0.2mlを接種した対象者の平均年齢は 27.3 ± 6.0 歳(22歳から50歳), 中央値24歳, 男性83名, 女性81名であった。健康観察日誌は, 全員から回収した。接種前後のペア血清による百日咳抗体価は, 接種前採血未実施の1名を除いて163名(99%)で測定した。過去のDPTワクチン接種歴は, 既接種(接種回数は3回が10名, 4回が48名)が58名(35%), 未接種が8名(5%), 明らかな記録の所在が不明(母子手帳紛失など)が98名(60%)であった。

接種後の有害事象について全身症状は10名(6.1%)で観察され, 37.5℃以上の発熱1.2%, 頭痛, 倦怠感がそれぞれ3.6%, 2.4%であった。発熱の持続期間は1日間が1名, 2日間が1名であり, 最高体温はそれぞれ37.8℃(1日目), 37.5℃(7日目)であった。接種局所の症状は19.5%が訴え, その内訳は疼痛14.0%, かゆみ8.5%, 発赤6.7%, 腫脹6.1%, 熱感5.5%で, 5cm以上の発赤, 腫脹は同一の2名(1.2%)に認めた(表

1)。これらの局所症状は接種1日後から3日後に出現し, おおむね1日から3日間持続した。

対象者の接種前抗体価については, 抗PT抗体は53%で陽性であった。年齢階層別に陽性者の占める割合を比較したが, 20歳台59%, 30歳台43%, 40歳台22%であり, 20歳台でもっとも陽性率が高く, 年代が上がるに従って陽性率が低下していた($p = 0.0111$)(表2)。また, 抗FHA抗体に関しては, 接種前抗体価は85%で陽性であった。年齢階層別に陽性者の占める割合を比較したが, 20歳台88%, 30歳台80%, 40歳台67%であり, 20歳台でもっとも陽性率が高く, 年代が上がるに従って陽性率が低下していた($p = 0.0455$)(表2)。乳幼児期に百日咳抗原含有ワクチンを3回以上接種した明らかな記録がある58名の接種前抗体価については, 抗PT抗体で37名(64%), 抗FHA抗体で49名(84%)が陽性であった。乳幼児期に百日咳抗原含有ワクチンを接種した母子手帳などの記録がない97名において, 接種前抗体価は, 抗PT抗体で48名(49%), 抗FHA抗体で85名(87%)が陽性であった。

接種前の抗PT抗体価が陰性であった76名の幾何平均値(GMT)は接種前が $10^{0.71 \pm 0.22}$ EU/ml(GMT, \pm SDの範囲; 5.13, 3.09~8.51)で, 接種後には $10^{1.94 \pm 0.47}$ EU/ml(同; 87.10, 29.01~257.04)となった。接種後の抗体価は2名を除いて陽転化した。陽転化しなかった2名はともに, 小児期に1度も百日咳抗原含有ワクチンの接種歴が無かった例であった。また, 接種前抗体価が陽性であった87例の幾何平均値は接種前が $10^{1.45 \pm 0.35}$ EU/ml(同; 28.18, 12.60~63.10)で, 接種後には $10^{2.36 \pm 0.52}$ EU/ml(同; 229.09, 69.18~758.58)となった。接種後の抗体価がEU測定値で接種前の2倍以上に上昇したのは77例(89%)であった(図1)。

抗FHA抗体において, 接種前抗体価が陰性であった24名の幾何平均値は接種前が $10^{0.83 \pm 0.67}$ EU/ml(同; 6.76, 1.45~31.62)で, 接種後には $10^{2.10 \pm 0.38}$ EU/ml(同; 125.89, 52.48~302.00)となり, 接種後の抗体価は全例で陽転化した。また, 接種前抗体価が陽性であった139例の幾何平均値は接種前が $10^{1.58 \pm 0.42}$ EU/ml(同; 38.02, 16.98~100.00)で, 接種後には $10^{2.43 \pm 0.47}$ EU/ml(同; 269.15, 91.20~794.33)となった。接種前の抗FHA抗体価がEU測定値で接種前の2倍以上に上昇したのは122例(88%)であった(図2)。

対象者163名の接種前抗体価については, ジフテリア抗毒素抗体は94%(154名)で, 破傷風抗毒素抗体は67%(110名)で陽性であった。ジフテリア抗毒素抗体, 破傷風抗毒素抗体において, それぞれ92%(150人), 96%(157人)で有意な抗体上昇を認めた。

乳幼児期に百日咳抗原含有ワクチンの接種歴がなかった8名の接種前抗体価は, 抗PT抗体は陽性2名

表2 接種前の抗百日咳抗体 (年代別の陽性率)

	抗 PT 抗体* (n=163)		抗 FHA 抗体# (n=163)	
	陽性	陰性	陽性	陰性
20～29歳	70 (59%)	49 (41%)	105 (88%)	14 (12%)
30～39歳	15 (43%)	20 (57%)	28 (80%)	7 (20%)
40～50歳	2 (22%)	7 (78%)	6 (67%)	3 (33%)
計	87 (53%)	76 (47%)	139 (85%)	24 (15%)

*: χ^2 乗の傾向検定; p = 0.0111 #: χ^2 乗の傾向検定; p = 0.0455
 抗 PT 抗体, 抗 FHA 抗体: それぞれ感染防御レベルとされる 10 ELISA unit/ml 以上であった場合を陽性と判定した。

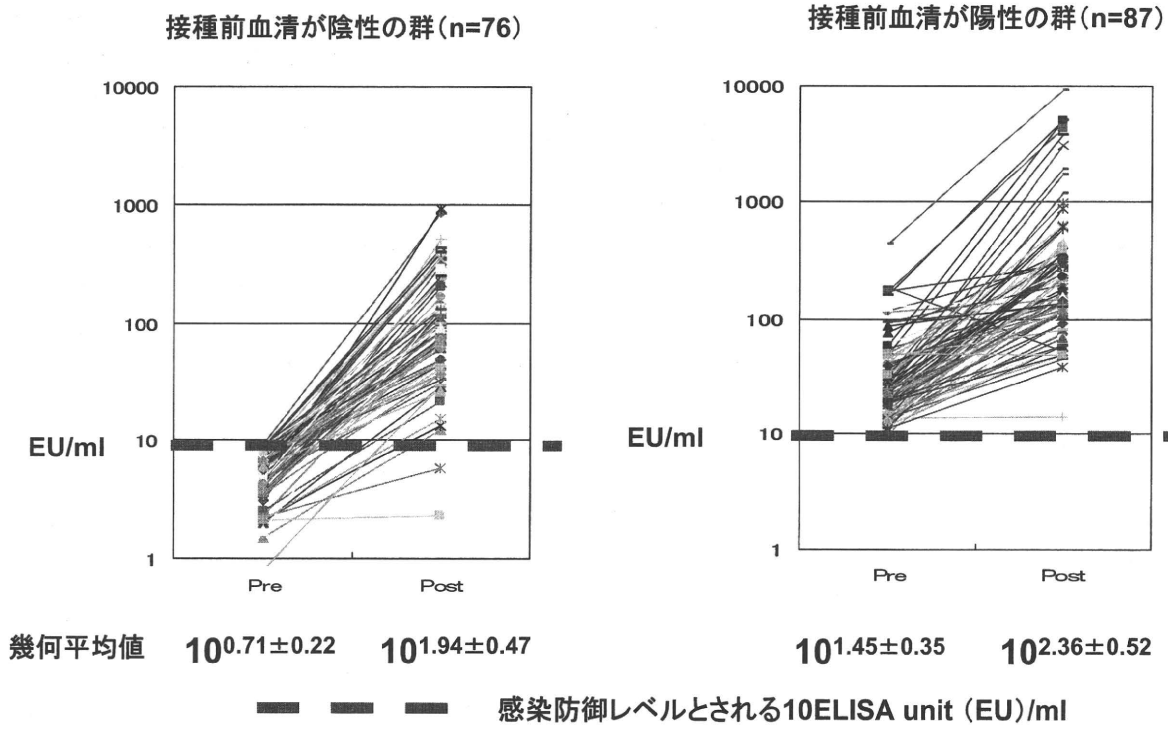


図1 抗 PT 抗体
(接種前後の抗体価推移)

(25%), 陰性 6 名 (75%) で, 抗 FHA 抗体は陽性 5 名 (62%), 陰性 3 名 (38%) であった. DPT0.2ml 接種により, 抗 PT 抗体価は陰性者 6 名のうち 4 名 (67%) が, 抗 FHA 抗体価は陰性者 3 名全例が陽性となった. 乳幼児期に百日咳抗原含有ワクチン接種歴がなく, 接種前抗体価が陽性であった者のうち, 抗 PT 抗体は 2 名中 2 名 (100%), 抗 FHA 抗体は 6 名中 5 名 (83%) が, EU 測定値で接種前の 2 倍以上の抗体価に上昇していた (図 3). これら 8 名において, 接種前のジフテリア抗毒素抗体価, 破傷風抗毒素抗体価はそれぞれ 3 名, 6 名で陽性であり, 接種後にはそれぞれ 6 名, 8 名が陽性であった (表 3).

乳幼児期に百日咳抗原含有ワクチンの接種歴がある 58 名, 接種歴不明の 97 名, 接種歴なしの 8 名の 3 つの

グループにおいて, 有意な抗体の上昇が認められた者の割合は抗 PT 抗体がそれぞれ 98%, 93%, 75%, 抗 FHA 抗体がそれぞれ 91%, 88%, 88% であった.

考 察

Tdap ワクチンは思春期から成人世代に接種する破傷風, ジフテリア, 百日咳予防ワクチンとして, 米国 FDA では 2009 年 8 月 現在 Adacel® と Boostrix® の 2 つの製品が認可されている. 副反応を軽減する目的で, ジフテリアトキソイドと百日咳抗原を減量しており, アルファベットの小文字を用いることによりこれらを表現している.

トリビック®0.2ml に含まれる PT, FHA 抗原量はともに 9.4 μ g であり, Tdap ワクチンである Adacel® の

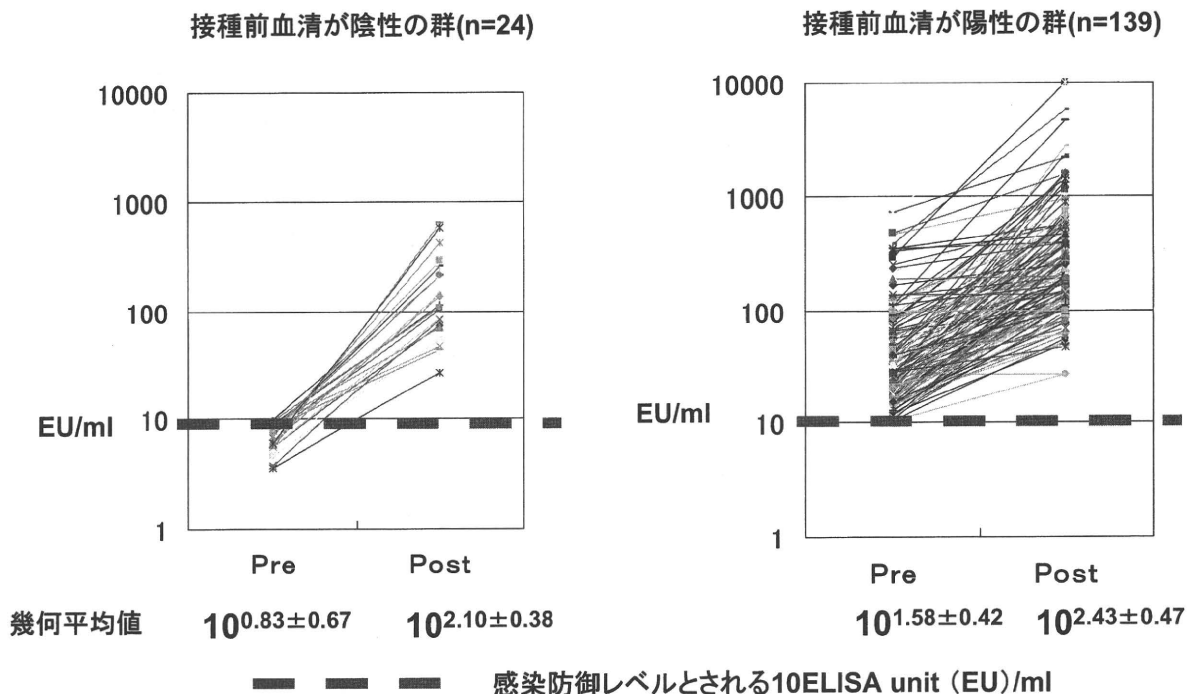


図2 抗FHA抗体
(接種前後の抗体価推移)

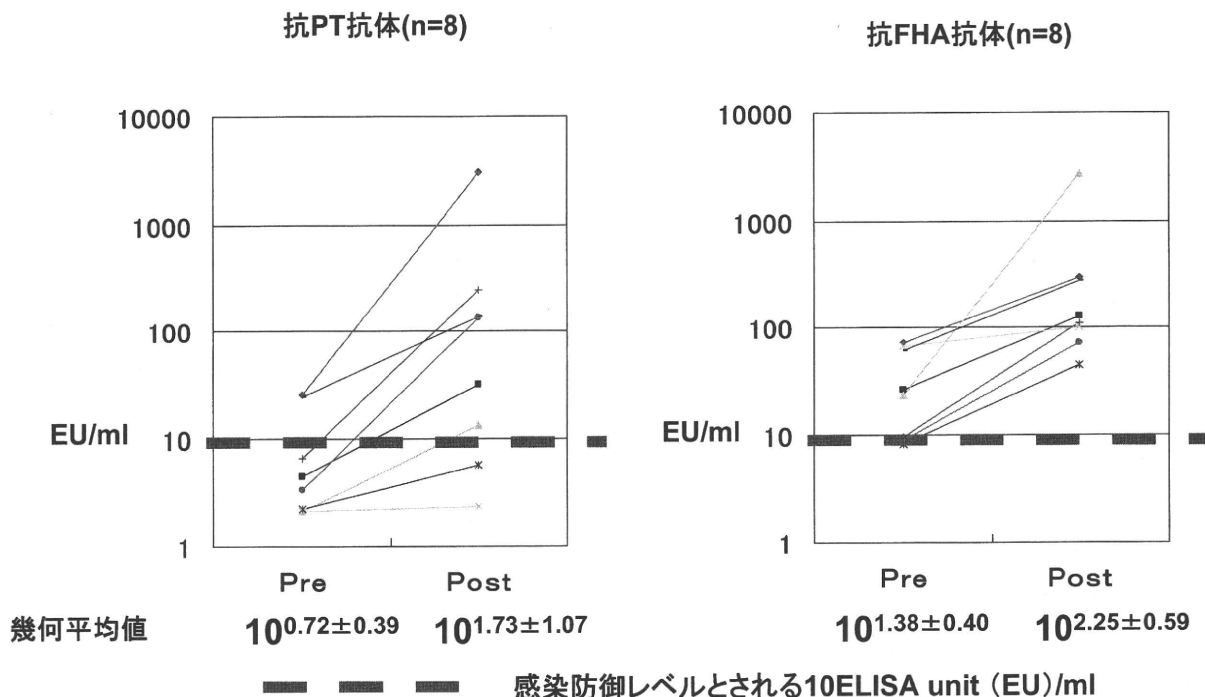


図3 百日咳抗原含有ワクチン未接種者
(接種前後の抗体価推移)

PT 2.5 μ g, FHA 5 μ g や Boostrix[®]の PT 8 μ g, FHA 8 μ g と同等あるいはそれ以上となる。トリビック[®]0.2ml 中のジフテリアトキソイド, 破傷風トキソイドは, それぞれ 6 Lf 以下, 1Lf 以下であり, Adacel[®]の 2Lf, 5

Lf や, Boostrix[®]の 2.5Lf, 5Lf と比較して, ジフテリアトキソイドは多め, 破傷風トキソイドは少なめである。一方, わが国で 10 歳以上の者にジフテリア, 破傷風の追加接種として用いる DT ワクチン 0.1ml に含まれる

表3 百日咳抗原含有ワクチン未接種者における DPT0.2ml 接種前後の抗体価推移と過去の DT ワクチン接種回数

症例	抗 PT 抗体 EU/ml		抗 FHA 抗体 EU/ml		ジフテリア抗毒素抗体 IU/ml		破傷風抗毒素抗体 IU/ml		母子手帳で確認された DT 接種回数*
	接種前	接種後	接種前	接種後	接種前	接種後	接種前	接種後	
1	25.5	3,074.7	70.7	295.7	0.08	5.12	2.56	40.96	4 回
2	4.5	31.1	26.2	126.9	2.56	20.48	0.64	10.24	1 回
3	2.1	2.3	66.8	99.2	1.02	8.19	0.08	5.12	0 回
4	2.1	13.2	22.7	2,732	< 0.01	0.08	< 0.01	0.64	0 回
5	2.2	5.7	8.2	44.5	0.03	0.81	0.08	1.28	4 回
6	3.3	133.7	8.7	71.7	0.49	15.67	0.02	40.96	0 回
7	6.6	242.0	9.5	110.9	< 0.01	0.24	0.32	5.12	0 回
8	24.4	136.6	60.3	276.6	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.04	0 回

* 症例 1 は百日咳罹患歴があり、DT のみ 4 回接種となった。症例 5 に関しては詳細不明。DT 接種回数 0 回とは D、P、T のいずれの成分においても接種歴が確認できなかったことを意味する。

表4 トリビック® (0.2ml)、DT ビック® (0.1ml) および海外の思春期・成人用 Tdap (0.5ml) に含有される百日咳・ジフテリア・破傷風抗原量 (添付文書より)

DPT/DT/Tdap	PT (μg)	FHA (μg)	D (Lf)	T (Lf)
トリビック® 0.2ml	9.4	9.4	6 以下	1 以下
DT ビック® 0.1ml			5 以下	1 以下
Adacel® #1	2.5	5	2	5
Boostrix® #2	8	8	2.5	5

#1 Adacel® : Sanofi Pasteur 社製、米国では 2005 年 6 月に 11 ~ 64 歳に使用が認可された。

#2 Boostrix® : Glaxo Smith Kline 社製；米国では 2005 年 5 月に 10 ~ 18 歳に使用が認可された。

ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイドは、トリビック®と同じ (財) 阪大微生物病研究会が製造した DT ビック®ではそれぞれ 5 Lf 以下、1Lf 以下であり、トリビック®0.2ml 中のジフテリアトキソイド、破傷風トキソイドとはほぼ同等である (表 4)。また、トリビック®を 0.1ml まで減量した場合、PT、FHA に関しては Tdap ワクチンと同等となるが、破傷風抗原においては DT ワクチン (DT ビック®) と比較してもさらに少なくなり十分な免疫原性が得られない可能性がある。以上のことから、トリビック®0.2ml 接種は今回の研究対象とした成人に用いる追加接種用のワクチンとして抗原組成の点では理にかなっていると考えられる。

なお各抗原量に関しては生物学的製剤基準により規定されているもので、DPT ワクチン (トリビック®) 中のジフテリアトキソイド、破傷風トキソイドの抗原量の詳細について添付文書への記載はない。我が国では 5 社によって DPT ワクチンが製造されているが、感染防御抗原の主体と考えられている PT 抗原や FHA 抗原以外に 69kD 外膜蛋白や百日咳凝集原を抗原として含有するものもあり、抗原量やその比率は各社においてまちまちである。(財) 阪大微生物病研究会以外の他

社の PT 抗原量、FHA 抗原量は 0.5ml あたり 6.1~9.0 μg、32.0~51.6 μg の含有量¹⁰⁾で 0.2ml あたり 2.4~3.6 μg、12.8~20.6 μg となる。トリビック®0.2ml に含まれる PT、FHA 抗原量はともに 9.4 μg であり、他社製品と比較して PT 抗原は 2.6~3.9 倍、FHA 抗原は 0.46~0.73 倍となる。組成は各メーカーで異なるもののその組成に大きな違いはなく他社製品に関しても有効であることが期待されるが、その安全性と免疫原性に関する研究が待たれる。

接種後の有害事象に関して、乳幼児に対するトリビック®0.5ml 接種で観察された発赤は 40.3%、硬結は 20.7% と報告されている¹¹⁾のに対して、今回の研究では、発赤は 6.7%、腫脹は 6.1% であった (表 1)。また、乳幼児へのトリビック®0.5ml 接種では直径 5cm 以上の発赤は 1.8% と報告されている¹⁰⁾のに対して、今回の研究では 1.2% であった。以上より、今回の接種後に出現した局所反応は、通常の乳児への DPT 接種と比べて重篤ではないと考えられた。全身反応についても、特に問題となるものは認められず、DPT ワクチン 0.2 ml の成人への接種はおおむね安全に接種できると考えられた。

接種前血清では抗 PT 抗体の 53%, 抗 FHA 抗体の 85% が陽性であった。抗 FHA 抗体の陽性者が抗 PT 抗体の陽性者と比較して多くなった理由としては、抗 PT 抗体が百日咳菌に特異的であるのに対して抗 FHA 抗体は百日咳菌以外の *Bordetella* 属や他の細菌に対して交差反応を起こす¹²⁾ことが関係している可能性が考えられるが、今回詳細な検討は行っていない。年齢階層別に比較すると、抗 PT 抗体、抗 FHA 抗体ともに陽性者の占める割合は 20 歳台でもっとも高く、年代が上がるに従って低下していた(表 2)。この結果より、ワクチン接種からの時間経過とともに百日咳菌に対する感染防御抗体は徐々に減衰していく可能性があると考えられた。また、乳幼児期に百日咳抗原含有ワクチンの接種歴を、母子手帳で確認できた 58 名においても抗 PT 抗体で 21 人 (36%), 抗 FHA 抗体で 9 人 (16%) が陰性であったことから、今回検討した年代では、過去の接種歴にかかわらず、百日咳に対する感染防御能が十分ではない可能性があると考えられた。また、20 歳台に限ってみても抗 PT 抗体価で 41%, 抗 FHA 抗体価で 12% が陰性であり、百日咳菌に対する免疫が減衰していると考えられる。平成 20 年 9 月より日本ワクチン学会—ワクチン推進ワーキンググループによって、沈降精製百日せきジフテリア破傷風 (DTaP) の追加接種臨床試験— (DT) 接種時期における DTaP 接種の安全性と免疫原性の検討—が行われているが、20 歳台においても免疫の減衰が推定される今回の結果からも 11 歳~13 歳未満での定期接種である DT 接種を百日咳抗原含有ワクチンに変更して行うことを積極的に考慮すべきと思われる。

有効性については、抗 PT 抗体、抗 FHA 抗体、ジフテリア抗毒素抗体、破傷風抗毒素抗体に関して①「接種前抗体価陰性者では陽転化」、②「接種前抗体価陽性者では EU 測定値の 2 倍以上の上昇」を有効な抗体価上昇と定義すると、本研究の結果からは成人に対する DPT ワクチン 0.2ml 接種の免疫原性は良好と考えられた。ジフテリア抗毒素抗体価、破傷風抗毒素抗体価の推移などの詳細に関しては別に報告を予定している。

また、今回の検討で、母子手帳で DPT ワクチン接種歴がないことが確認できた 8 名中 2 名 (表 3 の症例 4 と症例 8) において、DPT0.2ml 接種後のジフテリア抗毒素抗体価は、それぞれ 0.08IU/ml, 0.01IU/ml 未満、破傷風抗毒素抗体価は、それぞれ 0.64IU/ml, 0.04IU/ml と、いずれも十分な上昇は認められなかったが、DPT0.2ml 接種後の抗 PT 抗体価はそれぞれ 13.2EU/ml, 136.6EU/ml, 抗 FHA 抗体価はそれぞれ 2.732EU/ml, 276.6EU/ml と、1 回の百日咳抗原含有ワクチン接種のみで有意に上昇していた。この結果は、抗体反応の個人差の範疇である可能性もあるが、ジフテリアと

破傷風に対する免疫のプライミングは有していなかったが、百日咳に対する免疫のプライミングの存在を示す結果であり、彼らがかつて野生株の百日咳菌に暴露されたことにより免疫学的メモリーが成立していた可能性も考えられた。

さらに、乳幼児期に百日咳抗原含有ワクチンの接種歴がある 58 名、接種歴不明の 97 名、接種歴なしの 8 名の 3 グループ間で抗体価の上昇した者の割合を比較した。人数が少なく統計学的な解析は不可能であったが、接種歴ありの群、不明群、なしの群の順で抗体価が優位に上昇した者の割合が高かった。この点からも乳幼児期の基礎免疫はやはり重要と考えられた。接種歴不明の群においては実際には接種歴のある者が多いのか、接種歴のある群と同等に有意な抗体価の上昇があると推察された。

結 語

成人に対する DPT ワクチン 0.2ml 追加接種は、安全性については大きな問題は認められず、大多数で抗体価が有意に上昇しており、成人に対する百日咳予防策として有用であると考えられた。DPT ワクチンの組成は各メーカーで異なるもののその組成に大きな違いはなく、同様の結果であることが予想されるが、その安全性と免疫原性に関する研究が待たれる。成人の百日咳予防は、リスクの高い乳幼児への伝播を予防することにも繋がり、今後積極的に導入することを提言したい。

本研究の一部は、厚生労働科学研究補助金(新興・再興感染症研究事業)「インフルエンザ及び近年流行が問題となっている呼吸器感染症の分析疫学研究」(主任研究者: 廣田良夫) によってなされた。

謝辞 今回、各抗体価の測定をしていただいた(財)阪大微生物病研究会の前田 一洋先生、奥野 良信先生、またご協力いただいた神谷 元先生、莊司 貴代先生に深謝致します。

日本小児科学会の定める利益相反に関する開示事項はありません。

文 献

- 1) Hewlett EL, Edwards KM. Pertussis-Not Just for Kids. *N Engl J Med* 2005; 352: 1215-1222.
- 2) 岡田賢司. 変貌する百日咳と進む世界の対策. *小児科臨床* 2007; 60: 1759-1765.
- 3) 脇口 宏. 子どもの感染症が成人で流行している—麻疹, 百日咳—. *小児科臨床* 2008; 61: 1079-1084.
- 4) 中野貴司. 再興感染症としての百日咳—わが国においても対策の大切さを認識しましょう—. *小児科臨床* 2006; 59: 1673-1680.
- 5) Pichichero ME, Rennels MB, Edwards KM, et al.

- Combined Tetanus, Diphtheria, and 5-Component Pertussis Vaccine for Use in Adolescents and Adults. *JAMA* 2005 ; 293 : 3003—3011.
- 6) Ward JI, James DC, Chang S, et al. Efficacy of an acellular pertussis vaccine among adolescent and adults. *N Engl J Med* 2005 ; 353 : 1555—1563.
- 7) Broder KR, Cortese MM, Iskander JK, et al. Preventing Tetanus, Diphtheria, and Pertussis Among Adolescents : Use of Tetanus Toxoid, Reduced Diphtheria Toxoid and Acellular Pertussis Vaccines Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2006 ; 55 : RR-3.
- 8) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報 1998 ; 19 (10) (<http://idsc.nih.go.jp/iasr/19/224/tpc224-j.html>).
- 9) Hasselhorn HM, Nubling M, Tiller FW, et al. Factors influencing immunity against diphtheria in adults. *Vaccine* 1998 ; 16 : 70—75.
- 10) 木村三生夫, 平山宗宏, 堺 春美. 予防接種の手びき<第12版>. 近代出版, 2008 : 142—163.
- 11) トリビック®添付文書((財) 阪大微生物病研究会製).
- 12) Von Konig CH, Halperin S, Riffelmann M, et al. Pertussis of adults and infants. *Lancet Infect Dis* 2002 ; 2 : 744—750.

Safety and Immunogenicity of Reducing the Amount of Japanese Diphtheria-acellular Pertussis-Tetanus Vaccine among Adults

Hiroaki Ito¹⁾, Takashi Nakano¹⁾, Ayako Matsuno¹⁾,
Mizuho Nagao¹⁾, Takao Fujisawa¹⁾, Toshiaki Ihara¹⁾,
Hitoshi Kamiya¹⁾, Hiroki Hori²⁾ and Yoshihiro Komada²⁾

¹⁾Department of Pediatrics, National Hospital Organization Mie National Hospital

²⁾Department of Pediatrics, Mie University School of Medicine

There has been much concern in recent years over the increasing number of pertussis patients among the adolescent and adult populations both in Japan and abroad. The symptoms of pertussis in this population are often non-specific, and cases may go undetected and undiagnosed. Although the Tdap vaccine used in the United States and European countries has not yet been approved in Japan, by adjusting the vaccination dosage of the present Japanese Diphtheria-acellular Pertussis-Tetanus (DPT) vaccine, it is possible to obtain a comparable composition to the Tdap vaccine. In our study, we therefore administered 0.2ml of DPT vaccine to 164 healthy adults to examine safety and immunogenicity. In pre-vaccination assays, serum values were less than the 10 ELISA units/ml considered protective against pertussis in 76 people (47%) for anti-pertussis toxin (PT) antibody and in 24 people (15%) for anti-filamentous hemagglutinin (FHA). This result indicates that among the age groups studied in this population, protection against pertussis may be insufficient regardless of past vaccination status. Following vaccination, antibody titers for PT and FHA increased to a level sufficient to protect against pertussis. In addition, the adverse events were less serious compared to those observed among babies vaccinated with 0.5ml of the standard DPT vaccine. We therefore propose administering 0.2ml of DPT vaccine to the adolescent and adult population in Japan to improve pertussis control in this population as well as help to prevent the spread of pertussis infection to high-risk populations such as infants.

新しいワクチンの国内導入

パンデミックインフルエンザワクチン

プロトタイプワクチンと 2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチン

IHARA TOSHIAKI

庵原俊昭

●国立病院機構三重病院小児科

要旨 2009年にパンデミックを起こしたインフルエンザウイルスの亜型は A/H1N1 であるが、08/09 シーズンまで流行していた同じ亜型の A ソ連型と抗原性が大きく異なっている。多くの成人では 2009 インフルエンザ A/H1N1 ウイルス抗体は検出できないが、本邦の 2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチン研究では、13 歳以上の人はこのウイルスに対する免疫記憶があり、1 回接種でヨーロッパのインフルエンザワクチン評価基準を満たす免疫反応が認められた。

はじめに

20 世紀には新型インフルエンザウイルスのパンデミックを 3 回経験している¹⁾。いずれのパンデミック時にも、グローバルな情報交流やサーベイランスが不十分、インフルエンザワクチンの製造が困難、抗インフルエンザ剤や抗生剤などの薬剤が未開発や不十分などの理由で多くの死亡者が認められた。

ワクチンは毎年のインフルエンザ対策にとって効果的なツールの一つであり、パンデミック時にも重要な役割が期待されていた。2009 年 4 月にメキシコで 2009 インフルエンザ A/H1N1 ウイルスが出現するまでは、ニワトリからヒトに感染する A/H5N1, A/H7N7, A/H9N2 と抗原循環説による A/H2N2 が、新型インフルエンザウイルスの候補亜型として挙げられ、これらの亜型によるパンデミックに備えるワクチンとしてプロトタイプワクチンの開発が行われた。

本稿では、2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチンを含め各種インフルエンザワクチンについて

解説する。

■インフルエンザワクチンの種類 (表 1)

インフルエンザワクチンには、生ワクチンと不活化ワクチンがあり、不活化ワクチンは剤形により、全粒子ワクチン、スプリットワクチン、サブユニットワクチンに分類され、さらに不活化ワクチンには免疫を増強させるアジュバントを含むワクチンと含まないワクチンとがある。ウイルス全粒子をエーテル処理にてエンベロープに含まれる脂質成分を取り除いたワクチンがスプリットワクチンであり、本邦では HA (hemagglutinin, 赤血球凝集素) ワクチンと呼ばれている。HA を精製したワクチンがサブユニットワクチンであり、ウイルス全粒子をデITERジェント処理後、精製して作製する方法と、バキュロウイルスベクターを用いて HA 遺伝子をカイコ由来細胞に挿入し、製造された蛋白を精製して作製する方法とがある。

インフルエンザワクチンに使用されるアジュバントとしては、水酸化アルミやリン酸アルミなど

表1 インフルエンザワクチンの製造方法と剤形

- 1) ウイルス増殖方法またはHA製造方法
 - ・ウイルス増殖：発育鶏卵，培養細胞（Vero細胞，MDCK細胞）
 - ・HA製造：カイコ由来細胞（HA遺伝子の挿入細胞）
- 2) ワクチンの剤形
 - ・生ワクチン
 - ・不活化ワクチン
 - 全粒子ワクチン
 - スプリットワクチン
 - サブユニットワクチン
 - ビロゾームワクチン
- 3) アジュバント添加（不活化ワクチンのみ）
 - ・なし
 - ・あり：アルミアジュバント（水酸化アルミ，リン酸アルミ）
スクワレン系アジュバント*（MF59，AS03，AF03）

HA：ヘマアグルチニン

*：oil in water (o/w) アジュバントとも呼ばれている

のアルミアジュバントと，サメ肝油由来のスクワレン系アジュバントがある。ノバルティスが開発したMF59やグラクソ・スミスクライン（GSK）が開発したAS03はスクワレン系アジュバントである。スクワレン系アジュバントを含むインフルエンザワクチンには界面活性剤が含まれており，ウイルスの剤形はスプリットである。

■季節性インフルエンザワクチン

毎年インフルエンザ流行前に接種するワクチンが季節性インフルエンザワクチンであり，Aソ連型（A/H1N1），A香港型（A/H3N2），B型の3種類が含まれている。世界のインフルエンザセンターからの流行情報を集め，毎年，南半球用と北半球用のワクチン株が決定されている。接種する季節性インフルエンザワクチンのHA量は各株15 μ g/doseである。

全粒子ワクチンを用いているハンガリーなど一部の国を除き，本邦を含め多くの国はスプリットワクチンを使用している。MF59を含むワクチンは，ヨーロッパでは高齢者用季節性インフルエンザワクチンとして認可されており，発育鶏卵で増

殖させたウイルスを用いている。スプリットワクチンは，接種部位の局所反応や発熱率は低く，ブースター効果は優れているものの，初めて接種する人に免疫記憶を誘導する力（プライミング）が弱い欠点がある^{2,3}。

インフルエンザワクチンのヨーロッパの評価基準を表2に示した。プロトタイプワクチンを含め世界各国のインフルエンザワクチンの免疫原性の評価には，この基準が用いられている。なお，ヨーロッパの季節性インフルエンザワクチンは，毎年臨床研究を行い，評価基準を満たすことを確認してから市販されているが，本邦では季節性インフルエンザワクチンのヒトにおける免疫原性試験は，発売前の審査項目に含まれていない。

■プロトタイプワクチン

新型インフルエンザウイルスとして出現すると予測される亜型を用い，パンデミックに備えるワクチンとして2009年4月以前に開発されたのが，プロトタイプワクチンである。開発に当たっては，パンデミックを起こした時に感染者が重症化するリスクが高いと考えられていたA/H5N1が用いられた。

プロトタイプワクチンに必要な要素は，多くの人は新型インフルエンザウイルスに対する免疫を持たないため，高いプライミング効果と，ワクチン株と流行株の免疫原性が異なっても，ワクチンにより誘導された免疫が流行株にも反応する広い交差免疫性である。現行スプリットワクチンは期待される効果が低いとして，新たに本邦で開発されたのが沈降インフルエンザワクチンH5N1である⁴。インフルエンザウイルス全粒子を用い，水酸化アルミをアジュバントとして加えている。中国，ハンガリーが開発したワクチンも日本と同様の組成である^{5,6}。いずれもワクチン製造時にアルミアジュバントとウイルス全粒子を反応させているのが特徴である。一方，ノバルティスやGSKが開発したプロトタイプワクチンは，スクワレン系アジュバントが添加されたワクチンであ

表2 インフルエンザワクチン免疫原性の評価基準 (EMEA)

	18~60 歳	≥61 歳
抗体陽転率 (seroresponse rate)	≥40%	≥30%
抗体増加率 (GMT ratio, GMR)	≥2.5 倍	≥2 倍
抗体陽性率 (seropositive rate)	≥70%	≥60%

EMEA：欧州医薬品庁

GMT：geometric mean titer (幾何平均抗体価)，GMR：geometric mean ratio

1) 抗体陽転率：「接種前<10 倍かつ接種後≥40 倍」または「変化率が4 倍以上」の割合

2) 抗体増加率 (抗体価変化率)：接種前後の幾何平均抗体価 (GMT) の増加倍率

3) 抗体陽性率：抗体価≥40 倍の割合

・季節性インフルエンザワクチンでは少なくとも1 項目以上満たすこと (EMEA)

・プロトタイプワクチンでは，EMEA は3 項目とも満たすこと，FDA は少なくとも1 項目満たすことが条件

表3 2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチンの成人治験成績 (日本)

	日本製ワクチン	輸入ワクチン	
		GSK	ノバルティス
ウイルス 増殖	発育鶏卵	発育鶏卵	MDCK 細胞
形状	スプリット	スプリット	スプリット
成人接種 HA 量	15 μg	3.75 μg	3.75 μg
アジュバント	なし	AS03	MF59
開発目的	季節性対策	パンデミック対策	パンデミック対策
ワクチンの性状	水様・透明	アジュバント液と混合*2	乳白濁
接種方法	皮下注	筋注	筋注
免疫 プライミング	劣る	優れている	優れている
ブースティング	あり	あり	あり
抗体陽転率	73.5%	94.0%	78.6%
抗体保有率	78.6%	95.0%	80.6%
GMR*1	9.3	26.3	12.8
注射部位の疼痛/腫脹	36%/18%	98%/17%	68%/3%
発熱/頭痛	1%/12%	4%/35%	3%/14%

GSK：グラクソ・スミスクライン，HA：ヘマゲルチニン，GMR：geometric mean ratio (幾何平均抗体価増加率)

*1：厚生労働省新型インフルエンザ対策推進室 平成22年1月15日事務連絡，別紙1から作表

*2：インフルエンザエンザウイルス抗原液とアジュバント液を混合すると乳白濁となる

る。高いプライミング効果が認められているが、臨床反応の出現頻度はアルミアジュバントを加えたプロトタイプワクチンよりも高率である⁷⁻⁹⁾。

■2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチン

1. ワクチン製造株

2009年5月に分離したカリフォルニア株のHAとneuraminidase (NA)を、発育鶏卵での増殖が優れているA/PR8株(A/H1N1亜型)に組み込んだウイルスをワクチン株として用いてい

る。現在までのところ、HA抗原レベルでは、ワクチン株とパンデミック流行株との間に抗原性の変異は認められていない。

2. 国産ワクチンと輸入ワクチン (表3)

本邦で開発されたプロトタイプワクチンである沈降インフルエンザワクチンは小児への適応がないため、小児から高齢者まで広い年齢層で使用するために、本邦では季節性インフルエンザワクチンの剤形であるスプリットワクチンが、2009イ

表4 2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチン (スプリット型*) の免疫反応 (HI 抗体)

	オーストラリア		中国	イギリス	米国	日本
	18~49 歳	50~64 歳	18~60 歳	18~50 歳	18~64 歳	20~59 歳
接種前						
人数	58	62	660	25	150	98
陽性率 (≥1:40)	32.8%	27.4%	4.3%	4.0%	26%	8.2%
GMT	18.3	15.0	6.9	6.9	21.9	7.9
1 回接種後						
人数	58	62	660	25	145	98
陽性率	96.6%	93.5%	97.1%	67%	98%	78.6%
陽転率	77.6%	71.0%		67%	96%	73.5%
GMT	277.3	140.4	237.8	88.2	1405	73.5
変化率	15.1	9.4	34.5	12.8	64.3	9.3
2 回接種後						
人数	55	62	660	25		98
陽性率	98.2%	98.4%	97.1%	78%		77.6%
陽転率	83.6%	80.6%		78%		71.4%
GMT	320.0	215.6	212.9	166.4		88.5
変化率	18.0	14.4	30.9	24.1		8.7

*: HA15 μg 接種

(文献10, 14~17 から作表)

ンフルエンザ A/H1N1 ワクチンの製造に用いられた。スクワレン系アジュバントを承認していないオーストラリアや米国も、2009 インフルエンザウイルス対策としてスプリットワクチンを用いている。

一方、今回のパンデミックウイルスを新型インフルエンザウイルスとしてとらえたヨーロッパ各国やカナダでは、プロトタイプワクチンとして開発されたスクワレン系アジュバントを含むワクチンを2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチンとして市場に提供した^{10,11)}。本邦では GSK が開発したパンデミックワクチン (アレパンリックス、通称 Q-Pan) とノバルティスが開発したパンデミックワクチンを輸入することになっている。アジュバントを含まないスプリットワクチンと比較し、いずれも免疫原性が優れている。なお、ノバルティス A/H1N1 ワクチンは MDCK 細胞で増殖させたウイルスを用いて製造されているが、その他の各国2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチンは、発育鶏卵で増殖させたウイルスを用いて製造されている。

3. 接種回数

2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチンの接種回数を決めるに当たって問題となったのは、同じ H1N1 亜型である A ソ連型で誘導された免疫を持つ人に、2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチンを接種したときの免疫反応である。1 回接種後に二次免疫応答が認められるならば1回の接種で十分であり、多くの人に接種が可能となる。一方、1 回接種によって二次免疫応答が認められないならば、プライミングするために2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチンの2 回接種が必要となる。しかし、プロトタイプワクチン開発時の研究結果からアジュバントを含むワクチンならばプライミングは期待できるが、スプリットワクチンではプライミングが期待できず^{4-9,12,13)}、本邦のスプリット型2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチンでは抗体反応が低いことが予測された。

日本を含むオーストラリア、中国、アメリカでのスプリット型2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチンの研究結果によると、いずれも1回の接種でヨーロッパの評価基準を満たし、2 回目の接種

表5 2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチンの接種量と接種回数

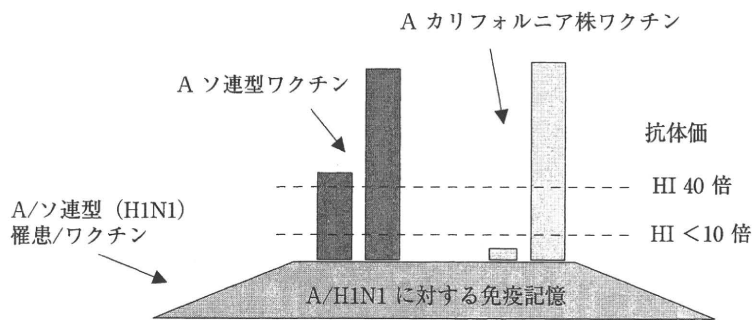
	年齢	接種量	接種回数	接種方法
国産ワクチン	<1 歳	0.1mL	2 回	皮下注
	1~5 歳	0.2mL	2 回	皮下注
	6~12 歳	0.3mL	2 回	皮下注
	13 歳以上	0.5mL	1 回	皮下注
	妊婦	0.5mL	1 回	皮下注
	高齢者・基礎疾患者	0.5mL	1 回 ^{*1}	皮下注
GSK ^{*2}	6 か月~9 歳	0.25mL	1 回	筋注
	10 歳~成人	0.5mL	1 回	筋注
ノバルティス	3~17 歳	0.25mL	2 回	筋注
	18~49 歳	0.25mL	1 回	筋注
	50 歳以上	0.25mL	2 回	筋注

*1: 著しく免疫反応が抑制されている者は2回接種も考慮

*2: 妊婦, 高齢者には接種が勧められていない

注1) 製剤の容量: GSK は 5mL (成人 10 回分), ノバルティスは 6mL (成人 17 回分)

注2) 保存可能期間: GSK は調整後 24 時間, ノバルティスは初回の薬液吸引後 6 時間, 国産は初回の薬液吸引後 24 時間



*接種前 A ソ連型に対する抗体は検出され, 1 回の接種で上昇し, A カリフォルニア株に対する抗体は接種前には検出されないが, 1 回の接種で陽性レベル以上に上昇する
*2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチン 1 回接種は米国は 10 歳から, 日本は 13 歳から

図1 2009 インフルエンザ A/H1N1 ワクチンの免疫学的評価からみた免疫応答 (仮説)

を行っても明らかな免疫増強が認められなかった (表4)¹⁴⁻¹⁷⁾. この結果を受け, アメリカやオーストラリアでは季節性インフルエンザワクチンと同じ接種方式で2009インフルエンザワクチン接種が開始されたが, 本邦では小児や妊婦へのワクチン接種成績を確認後に2009インフルエンザワクチンの接種量, 接種回数を確定した (表5). 本邦の年齢別2009インフルエンザワクチン接種量は, 季節性インフルエンザワクチンと同じである. なお, 今回のパンデミック騒動により妊婦へのインフルエンザワクチン接種が認可された.

本邦を含めた各国の治験結果から, Q-Pan は

年齢にかかわらず1回接種であり, ノバルティスのワクチンは年齢により接種回数や接種量が異なっている (表5). Q-Pan は接種前にウイルス成分とアジュバントを混合させてから接種するが, ノバルティス A/H1N1 ワクチンは, すでにアジュバントと混合した状態で出庫されている (表3). なお, 接種時の輸入ワクチンの外観はいずれも乳白濁であり, 筋注で接種する.

4. ワクチン後の免疫反応 (図1)

2009 インフルエンザ A/H1N1 ウイルスは, 1930 年頃にヒトからブタに感染し, その後, ブ

タの間で感染が持続し、2009年にヒトへの感染性を身につけ、ヒトの間でパンデミックを起こしたウイルスであり、多くの80歳未満の人が抗体を持たないウイルスである⁸⁾。しかし、スプリットワクチン1回接種で二次免疫応答を認めたことは、世界中の10歳以上の多くの人が2009インフルエンザA/H1N1ウイルスに対する免疫記憶を有していたことを示している。図1にワクチン後の免疫応答を模式的に示した。Aソ連型に対しては接種前から抗体は陽性(HI抗体 \geq 40倍)であり、1回接種で抗体価が上昇することを、Aカリフォルニア株に対しては接種前の抗体は陰性であるが、1回接種で抗体価が陽性になることを示している。Aソ連型とカリフォルニア株との間に共通抗原性が認められており¹⁹⁾、Aソ連型の感染により誘導された免疫記憶がカリフォルニア株接種時の二次免疫応答に関与している。

5. 獲得した抗体の有効期間

A香港型の出現時、パンデミックウイルスと抗原性が大きく異なる変異ウイルスが出現したのは4年後である²⁰⁾。インフルエンザワクチン接種後の抗体価の減衰については十分に検討されていないが、今までのパンデミック出現後の罹患状況の調査から、パンデミック出現時にインフルエンザに罹患した人は、抗原性が大きく変異したウイルスが出現するまでは再罹患はしていない²¹⁾。1回の2009インフルエンザA/H1N1ワクチン接種により高い抗体価が誘導された人は、4年間は発症しないと予測されるが、今後の流行を注意深く見守る必要がある。

6. 今後のA/H1N1対策

現在のところ、予測されているインフルエンザウイルスの流行は、A/H1N1ではソ連型が消失し、カリフォルニア系が季節性インフルエンザウイルスになること、現在のA/H3N2(香港型)は消失せずに季節性インフルエンザウイルスとして残ること、B型は今までどおりビクトリア系と

ヤマガタ系がシーズンにより流行することである。この予測から、来シーズンの季節性インフルエンザワクチンはA/H1N1カリフォルニア系から1株、A/H3N2から1株、B型から1株選ばれた合計3株で構成され、このワクチンを用いて2009インフルエンザA/H1N1ウイルス対策が行われることになっている。

おわりに

2009年4月に出現した2009インフルエンザA/H1N1ウイルスは、全くの新型インフルエンザウイルスではなく、10歳以上の多くの人が免疫記憶を有していたウイルスであった。今回のパンデミックワクチンの剤形は、本邦や米国ではアジュバントを含まないスプリットワクチンであり、ヨーロッパではスクワレン系アジュバントを含むワクチンである。いずれのワクチンも免疫記憶がある人では、1回接種で効果的な二次免疫応答が期待される。

文 献

- 1) Morens DM, Fauci AS: The 1918 influenza pandemic: insights for the 21st century. *J Infect Dis* 195: 1018-1028, 2007.
- 2) Wright PF, Thompson J, Vaughn WK *et al.*: Trials of influenza A/New Jersey/76 virus vaccine in normal children: an overview of age-related antigenicity and reactogenicity. *J Infect Dis* 136: s731-s741, 1977.
- 3) Hampson AW: Vaccines for pandemic influenza. The history of our current vaccines, their limitations and the requirements to deal with a pandemic threat. *Ann Acad Med Singapore* 37: 510-517, 2008.
- 4) 庵原俊昭: 沈降インフルエンザワクチンH5N1の開発と今後. *インフルエンザ* 11: 63-68, 2009.
- 5) Wu J, Fang H, Chen J *et al.*: Immunogenicity, safety, and cross-reactivity of an inactivated, adjuvanted, prototype pandemic influenza (H5N1) vaccine: a phase II, double-blind, randomized trial. *Clin Infect Dis* 48: 1087-1095, 2009.
- 6) Fazekas G, Martosne-Mendi R, Jankovics I *et al.*: Cross-reactive immunity to clade 2 strains of influenza virus A subtype H5N1 induced in adults and elderly patients by Fluval, a prototype pandemic influenza virus vaccine derived by reverse genetics, formulated with a phosphate adjuvant, and directed to clade 1 strains. *Clin Vaccine Immunol* 16:

- 437-443, 2009.
- 7) Leroux-Roels I, Borkowski A, Vanwollenghem T *et al.* : Antigen sparing and cross-reactive immunity with an adjuvanted rH5N1 prototype pandemic influenza vaccine : a randomized controlled trial. *Lancet* **370** : 580-589, 2007.
 - 8) Levie K, Leroux-Roels I, Hoppnbrouwers K *et al.* : An adjuvanted, low-dose, pandemic influenza A (H5N1) vaccine candidate is safe, immunogenic, and induces cross-reactive immune responses in healthy adults. *J Infect Dis* **198** : 642-649, 2008.
 - 9) Stephenson I, Nicholson K, Hoshler K *et al.* : Antigenically distinct MF59-adjuvanted vaccine to boost immunity to H5N1. *N Engl J Med* **359** : 1631-1633, 2008.
 - 10) Clark TW, Pareek M, Hoschler K *et al.* : Trial of 2009 influenza A (H1N1) monovalent MF59-adjuvanted vaccine. *N Engl J Med* **361** : 2424-2335, 2009.
 - 11) グラクソ・スミスクライン : アレパンリックス (H1N1) 筋注添付文書.
 - 12) Treanor J, Campbell JD, Zangwill KM *et al.* : Safety and immunogenicity of an inactivated subvirion influenza A (H5N1) vaccine. *N Engl J Med* **354** : 1343-1351, 2006.
 - 13) Bresson J, Perronne C, Launay O *et al.* : Safety and immunogenicity of an inactivated split-virion influenza A/Vietnam/1194/2004(H5N1) vaccine : phase I randomized trial. *Lancet* **367** : 1657-1664, 2006.
 - 14) Greenberg ME, Lai MH, Hartel GF *et al.* : Response to a monovalent 2009 influenza A (H1N1) vaccine. *N Engl J Med* **361** : 2405-2413, 2009.
 - 15) Zhu F, Wang H, Fang H *et al.* : A novel influenza A (H1N1) vaccine in various age groups. *N Engl J Med* **361** : 2414-2423, 2009.
 - 16) 伊藤澄信 : 新型インフルエンザワクチンに関する有識者との意見交換会 (平成 21 年 11 月 11 日), 資料 1
 - 17) Plennevaux E, Scheldon M, Blatter M *et al.* : Immune response after a single vaccination against 2009 influenza A H1N1 in USA : a preliminary report of two randomized controlled phase 2 trials. *Lancet* **375** : 41-48, 2010.
 - 18) CDC : Serum cross-reactive antibody response to a novel influenza A (H1N1) virus after vaccination with seasonal influenza vaccine. *MMWR* **58** : 521-524, 2009.
 - 19) Greenbaum JA, Kotturi MF, Kim Y *et al.* : Pre-existing immunity against swine-origin H1N1 influenza viruses in the general human population. *PNAS*.
www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0911580106
 - 20) Pereira MS, Chakraverty P, Schild GC *et al.* : Prevalence of antibody to current influenza viruses and effect of vaccination on antibody response. *Br Med J* **4** : 701-703, 1972.
 - 21) Miller MA, Vibound C, Balinska M *et al.* : The signature features of influenza pandemics- implications for policy. *N Engl J Med* **10** : 1056/NEJMp0903906, 2009.

* * *

3. 沈降インフルエンザワクチンの評価と インフルエンザ A (H1N1) 2009 ワクチンの今後

庵原 俊昭

国立病院機構三重病院小児科

H5N1 パンデミックに備え、世界各国でプライミング効果に優れたプロトタイプワクチンが開発された。本邦の沈降インフルエンザワクチン H5N1 は、水酸化アルミニウムをアジュバントとする全粒子ワクチンで、初回の2回接種により優れたプライミング効果を認め、2年後に行った異なる株の追加接種により良好なブースティングと幅広い交差免疫が誘導され、副反応は容認される範囲であった。しかし、2009年4月以来パンデミックをおこしたのは、Aソ連型と抗原性が大きく異なる H1N1 であった。スプリットタイプの A(H1N1)2009 ウイルス単味ワクチンの1回接種により効果的なブースティングが認められ、多くの成人はこのウイルスに対する免疫記憶があることが示された。この結果から世界各国では季節性インフルエンザワクチンと同じ接種方式でこのワクチンの接種が行われた。なお今後の流行予測から 2010/11 シーズンの季節性インフルエンザワクチンに、A(H1N1)2009 ウイルス由来株が含まれることになった。

はじめに

2009年4月にメキシコで A (H1N1) 亜型であるブタ由来インフルエンザウイルス (swine-origin influenza virus, S-OIV) が出現しパンデミックを引き起こすまでは、人の間で流行している A (H1N1) および A (H3N2) 以外の A 型インフルエンザウイルス亜型が新型インフルエンザウイルスとして出現すると予測されていた^{1,4)}。当時予測されていた亜型は、A (H2N2), A (H5N1), A (H7N7), A (H9N2) などであり、なかでもニワトリからヒトに感染したときの死亡率が高い A (H5N1) の出現が恐れられていた。

新型インフルエンザウイルス出現によるパンデミック対策として、種々の社会的対策や医学的対策があるが、ワクチンは効果的な医学的対策の一つである。本邦で (H5N1)

対策として開発された沈降インフルエンザワクチン H5N1 と、S-OIV (インフルエンザ A (H1N1) 2009 ウイルス) 対策として用いられたインフルエンザ A (H1N1) 2009 単味ワクチンの開発コンセプト、評価、今後について解説する。

1. ワクチンと免疫 (図 1)

ワクチンを接種するとまず抗原提示細胞がワクチン抗原を認識し、その情報を免疫未熟細胞に伝えると同時に活性化させ、免疫記憶細胞へと誘導させる。誘導された免疫記憶細胞は、免疫実行細胞を活性化させるとともに数を増加させ、最終的に免疫実行細胞の一つであるプラズマ細胞が抗体を産生し、同時に CD8+ 細胞は細胞傷害性 T リンパ球として働き、感染からの回復や感染防御に働いている。なお CD8+ 細胞が誘導できるのは、MHC クラス I による抗原提示が誘導できる生ワクチンだけである⁵⁾

一度誘導された免疫記憶細胞は消失しないが、免疫実行細胞は適切な抗原刺激が続かないと数が減少し、時に抗体が検出されなくなる。抗体が陰性でも免疫記憶細胞が誘導されていると、1回の軽い刺激で免疫が増強される。免疫記憶がない状態 (ナイーブ) から免疫記憶細胞や免疫実行細胞を誘導することがプライミングであり、一度誘導されている免疫記憶細胞や免疫実行細胞を再活性化させることがブースティングである。不活化ワクチンでは最初に2ま

連絡先

〒514-0125

津市大里窪田町 357

国立病院機構三重病院小児科

TEL: 059-232-2531

FAX: 059-232-5994

E-mail: ihara@mie-m.hosp.go.jp

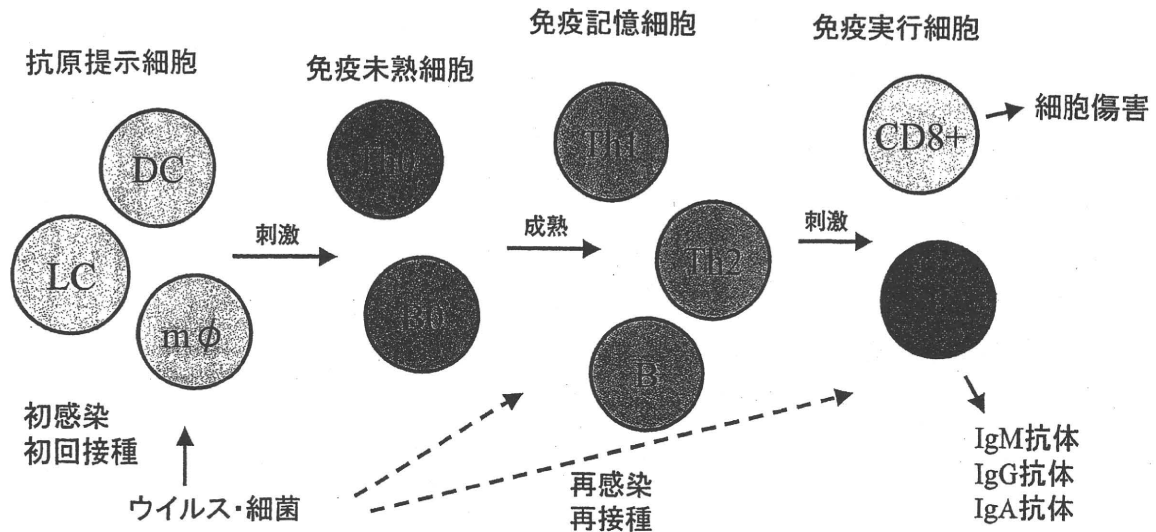


図1 感染・ワクチンと特異免疫の誘導

DC：樹状細胞，LC：ランゲルハンス細胞，mφ：マクロファージ，P：プラズマ細胞

- 1) ウイルス増殖量が多いほど症状が重く，強い特異免疫力を誘導する
- 2) 一度免疫記憶細胞が誘導されると，抗体価が陰転化しても1回の接種で二次免疫応答がおこる
- 3) 記憶B細胞の誘導には4-6か月が必要なため，追加接種（ブースティング）は初回接種後4-6ヶ月以降に行う

たは3回接種して免疫をプライミングさせ，4～6ヵ月後以降に再接種して免疫力を高めることが感染防御に大切である．不活化ワクチンを複数回接種して免疫を高めることを prime-boost と呼んでいる．

2. インフルエンザワクチンの種類

1) ワクチンの剖形

世界で使用されているインフルエンザワクチンには不活化ワクチンと生ワクチンがある．生ワクチンは，骨格となる温度変異株 (ts mutant) に流行株の hemagglutinin (HA) と neuraminidase (NA) をリアソートさせて製造される．ロシアや米国で使用されている．

不活化ワクチンは全粒子ワクチン，スプリットワクチン，サブユニットワクチン，ピロゾームワクチンに分類される．不活化したウイルス粒子を精製したワクチンが全粒子ワクチンであり，スプリットワクチンやサブユニットワクチンよりも免疫原性は優れているが，局所反応などの副反応の出現率が高い欠点がある．全粒子ワクチンの副反応に関与しているエンベロープ中の脂質層をエーテル処理にて取り除いたのがスプリットワクチンである．サブユニットワクチンは，ウイルス全粒子をデイタージェント処理後，または HA 遺伝子を組み込んだ培養細胞で作らせた HA を精製したワクチンである．ピロゾームに精製された HA と NA を吸着させたのがピロゾームワクチンである．本邦で使用されている HA ワクチンはスプリットワクチンである．

2) インフルエンザウイルス増殖方法

以前はインフルエンザウイルスの増殖に発育鶏卵が用いられていたが，近年サル腎臓由来 Vero 細胞やイヌ腎臓由来 MDCK 細胞がインフルエンザウイルス増殖に用いられるようになっている^{6,7)}．

3) インフルエンザワクチンとアジュバント

主としてブースティングを期待する季節性インフルエンザワクチンには，一般的にアジュバントを含まない不活化ワクチンが使用されているが，ヨーロッパの一部の国は成人と比べ抗体反応が弱い高齢者に対し，MF59 を含むスプリットワクチンを用いている．

多くの免疫学的にナイーブな人に接種する A (H5N1) 対策用ワクチン (プロトタイプワクチン) には，プライミング効果を高めるためアジュバントが含まれている．日本，中国，オーストラリア，ハンガリーなどで開発されたワクチンには，アルミ系アジュバントが使用されている⁸⁻¹⁴⁾．前もってアルミ系アジュバントに抗原を吸着させておかないとプライミング効果は認められない^{6,15,16)}．一方，グラクソスミスクライン (GSK) やノバルティスが開発した A (H5N1) 対策用ワクチンには AS03 や MF59 などのスクワレン系アジュバントが含まれている¹⁷⁻¹⁹⁾．

3. A (H5N1) 対策用プロトタイプワクチン

1) 開発戦略

プロトタイプワクチンは多くの免疫を持たないヒトに接

表1 インフルエンザワクチン免疫原性の評価基準 (EMEA)

	18-60歳	≥ 60歳
抗体陽転率(seroresponse rate)	≥ 40 %	≥ 30 %
抗体増加率(GMT ratio)	≥ 2.5 倍	≥ 2 倍
抗体陽性率(seropositive rate)	≥ 70 %	≥ 60 %

GMT: geometric mean titer (幾何平均抗体価)

- 1) 抗体陽転率: 「接種前<10倍かつ接種後≥40倍」または「変化率が4倍以上」の割合
- 2) 抗体増加率(抗体価変化率): 接種前後の幾何平均抗体価(GMT)の増加倍率
- 3) 抗体陽性率: 抗体価≥40倍の割合
 - ・季節性インフルエンザワクチンでは少なくとも一項目以上満たすこと(EMEA)
 - ・プロトタイプワクチンでは, EMEAは三項目とも満たすこと, FDAは少なくとも一項目満たすことが条件

表2 株ごとの初回接種による免疫原性の評価*

		V株(1)		V株(2)		A株	I株
		L群	H群	L群	H群	H群	H群
抗体陽転率(%)	V株	44.7	70.9	65.1	80.5	1.0	20.0
	A株	nt	nt	nt	nt	94.0	54.0
	I株	nt	nt	nt	nt	12.0	87.0
抗体増加率(倍)	V株	2.6	4.7	3.7	5.1	1.4	2.0
	A株	nt	nt	nt	nt	11.4	3.1
	I株	nt	nt	nt	nt	1.6	9.4
抗体陽性率(%)	V株	56.7	85.1	25.5	52.3	0.0	15.0
	A株	nt	nt	nt	nt	77.0	55.0
	I株	nt	nt	nt	nt	3.0	74.0

*2回目接種21日後

V: ベトナム, A: 安徽, I: インドネシア, nt: not tested

L群: HA蛋白量5μgを接種, H群: HA蛋白量15μgを接種

種し, 発症を予防するまたは軽症化させることを目的としているため, 開発に当たり考慮すべき条件として, ①初回接種で効果的な免疫記憶と高い抗体価の誘導が可能なこと, ②ワクチン株とパンデミック株とは一致しないことが予測されるため, ワクチン接種により幅広い交差免疫の誘導が可能なこと, ③短期間に製造される抗原量が少ないので, 少ない抗原量で効果的な免疫が誘導されること, などである³⁾.

2) 世界の開発状況

今までの開発状況をまとめると, ①アジュバントを添加せずに高い免疫原性を得るためには全粒子の方が優れており, スプリットワクチンでは1回45μg以上のHA蛋白量が必要なこと^{15,16,20,21)}, ②アルミ系アジュバントを用いるときは, 前もってウイルス抗原をアジュバントに吸着させること⁸⁻¹⁴⁾, ③アルミ系アジュバントを用いると抗原量を減らすことができること^{10,12,13)}, ④スクワレン系アジュバントは油性のためデタージェントが入っており全粒子が用いられないこと, ⑤スクワレン系アジュバントでは注射

時に混合してもアジュバント効果を認め, 抗原量を減らすことができること^{7,17-19)}, ⑥アルミ系アジュバントおよびスクワレン系アジュバントを用いると, プライミング時でも交差免疫を誘導できるが, 異なるクレード, サブクレードの株に対する抗体価は低いこと^{12,13,18)}, ⑦prime-boostで接種すると高い抗体価と幅広い交差免疫が誘導できること^{22-26,27,28)}, などである.

プロトタイプワクチンの免疫原性の評価には, ヨーロッパ共同体で季節性インフルエンザワクチンに用いられている評価基準が準用されている(表1)²⁹⁾. なお, 季節性インフルエンザワクチンの免疫原性評価には広く赤血球凝集抑制(HI)法が用いられているが, プロトタイプワクチンではHI抗体測定方法が確立していないため, マイクロ中和(MN)法による免疫原性の評価が行われている.

3) 日本のプロトタイプワクチン(沈降インフルエンザワクチンH5N1)の開発

日本で開発された沈降インフルエンザワクチンH5N1は, 発育鶏卵で増殖させたウイルス全粒子を前もって水酸化ア

表3 沈降新型インフルエンザワクチンの副反応 (%) (ベトナム株 H 群)

種類	皮下接種	筋肉内接種
副反応全体	92.4	75.3
注射部位反応		
紅斑	82.4	14.0
疼痛	69.4	71.3
そう痒感	61.2	8.0
腫脹	53.5	12.7
熱感	45.9	11.3
全身症状		
倦怠感	12.9	12.7
頭痛	2.0*	3.3

* 第 I 相試験

表4 インドネシア株・安徽株追加接種時の免疫原性の評価

ワクチン株	追加接種 7 日後			追加接種 21 日後		
	V 株	A 株	I 株	V 株	A 株	I 株
インドネシア株						
抗体陽転率 (%)	59.8	76.5	75.5	94.1	96.1	96.1
平均抗体価(GMT)	75.8	67.5	48.7	369.1	340.2	242.2
抗体増加率 (倍)	4.7	7.1	7.4	23.1	35.8	36.7
抗体陽性率 (%)	78.4	71.6	65.7	97.1	95.1	92.2
安徽株						
抗体陽転率 (%)	45.4	70.4	43.5	74.1	81.5	66.7
平均抗体価(GMT)	22.9	48.5	15.3	51.4	108.9	34.7
抗体増加率 (倍)	3.4	5.3	2.9	7.6	12.0	6.7
抗体陽性率 (%)	32.4	63.9	23.1	59.3	79.6	51.9

V:ベトナム, A:安徽, I:インドネシア

ルミニウムに吸着させたワクチンである。1回 5 μ g の HA 蛋白量 2 回接種で免疫記憶の誘導は可能であるが、初回接種では抗体価が低値なため、薬事法上 1回 15 μ g の HA 蛋白量で、3 週間隔で 2 回接種することになっている (表 2)^{8,9)}。副反応の面では筋注よりも皮下注の方が局所反応の出現頻度は高かったが、許容される程度と頻度であった (表 3)。

日本では先ずベトナム株 (クレード 1) を用いてプロトタイプワクチンが開発されたが、インドネシア株 (クレード 2.1) および安徽株 (クレード 2.3) を用いて製造されたプロトタイプワクチンも効果的なプライミング効果が認められている (表 2)¹⁰⁾。この結果は、日本のプロトタイプワクチンはパンデミック時にはパンデミック株を用いて製造したとしても、効果的なプライミング効果が期待できることを示している。

4) プロトタイプワクチンと prime-boost

本邦の prime-boost 研究は、ベトナム株接種 2 年後にインドネシア株または安徽株を追加接種して行われた²²⁾。多くの例では、接種前のベトナム株、インドネシア株、安徽株に対する抗体は陰性であったが、接種後 7 日目には抗体は検出され (二次免疫応答, anamnestic response), 接種後 21 日目には更に上昇していた (表 4)。また、初回ベトナム

株 5 μ g 接種群でも二次免疫応答が認められ、パンデミック対策として prime-boost で接種を行うならば、プライミング時の抗原量を節約することが可能と推察された (表 5)。

インフルエンザウイルスは変異しやすいウイルスであり、プロトタイプワクチンに用いる株とパンデミック株とは必ずしも一致しない。このため、プロトタイプワクチンで誘導される抗体には幅広い交差免疫が期待されている。本邦の検討を含め今までの報告によると、初回接種によって誘導される抗体は、交差免疫は認められるもののその抗体価は低値であり^{12,13,17,18)}、追加接種により誘導される抗体は、抗体価が高いうえに交差免疫の幅が広いことである²²⁻²⁸⁾。また、追加接種による交差免疫は、初回接種する株と追加接種する株が同じであっても異なっても誘導できるため、プロトタイプワクチンでプライミングしておき、パンデミック時にパンデミック株を追加接種することで、高い抗体価と幅広い交差免疫の誘導が期待され、実際的である。

5) プロトタイプワクチン H5N1 の今後

prime-boost により幅広い交差免疫が示されたことから、2009 年 4 月までは、希望者に前もって沈降インフルエンザワクチン H5N1 の初回接種を行い、H5N1 パンデミック時にプロトタイプワクチンを追加接種する対策が検討されて

表5 初回接種群別の追加接種後の免疫原性の評価（接種後21日）*

接種株	指標	H群			追加接種21日後		
		V株	A株	I株	V株	A株	I株
インドネシア株							
	抗体陽転率(%)	91.8	93.9	91.8	96.2	98.1	100.0
	抗体増加率(倍)	16.9	27.0	24.5	30.8	30.8	54.0
	抗体陽性率(%)	95.9	91.8	85.7	98.1	98.1	98.1
安徽株							
	抗体陽転率(%)	69.8	77.4	64.2	78.2	85.5	69.1
	抗体増加率(倍)	6.8	10.0	6.0	8.4	14.3	7.3
	抗体陽性率(%)	60.4	71.7	49.1	58.2	87.3	54.5

H群：初回接種をHA15 μ gで2回接種，L群：初回接種をHA5 μ gで2回接種，安徽株接種H群53人，L群55人，インドネシア株接種H群49人，L群53人，追加接種はそれぞれの株をHA15 μ g接種する。

V株：ベトナム株，A株：安徽株，I株：インドネシア株

* マイクロ中和法による抗体価の評価

表6 本邦インフルエンザA(H1N1)2009 ワクチンの免疫原性

	接種量	
	15 μ g* (98人)	30 μ g* (100人)
接種前		
GMT	7.9	6.6
抗体陽性率	8.2%	3.0%
1回接種後		
抗体陽転率	73.5%	87.0%
GMT	73.5	137.4
抗体増加率(倍)	9.3	21.0
抗体陽性率	78.6%	88.0%
2回接種後		
抗体陽転率	71.4%	88.0%
GMT	88.5	116.3
抗体増加率(倍)	8.7	17.8
抗体陽性率	77.6%	88.0%

15 μ g接種群は皮下注，30 μ g接種群は筋注

* HAタンパク量

いたが，一方ではパンデミックをおこすインフルエンザウイルスはH5N1とは限らないことから，沈降インフルエンザワクチンH5N1の接種に慎重な意見もあった³⁰⁾。S-OIVパンデミック後の2010年6月時点では，沈降新型インフルエンザワクチンH5N1の事前接種は開始されていない。

4. インフルエンザA(H1N1)2009単味ワクチン (新型インフルエンザH1N1ワクチン)

1) 開発のコンセプト

A(H5N1)ワクチンの開発経験から，初回接種により効果的なプライミングを誘導させるためには，①アルミ系アジュバントに吸着させた全粒子ワクチンを用いるか，②スプリットワクチンにスクワレン系アジュバントを添加するか，③スプリットワクチン単独ならばHAタンパク量45 μ g以上を接種するか，④全粒子ワクチン単独ならばHA蛋白量

15 μ g以上を接種するかである。

S-OIV対策用ワクチンで問題となったのは，今回のパンデミック株が全くの新型であるのか，同じH1N1亜型であるAソ連型と交差免疫があるのかの判断であった。今回のパンデミック株を新型と判断したヨーロッパのメーカーは，(H5N1)ワクチンと同様にスクワレン系アジュバントを含んだA(H1N1)2009単味ワクチンを開発した^{31,32)}。一方，スクワレン系アジュバントを認可していない米国，オーストラリア，中国などはスプリットワクチンの剤形でA(H1N1)2009単味ワクチンを製造した³³⁻³⁷⁾。本邦では，沈降インフルエンザワクチンH5N1は小児への安全性が確立していないこと，H5N1を(H1N1)2009ウイルスに代えると新たな治験が必要なこと，すべてのメーカーで沈降インフルエンザワクチン製造が承認されていないことなどから，単味スプリットワクチンを製造した。

表7 本邦インフルエンザ A(H1N1)2009 ワクチンの安全性の検討

HA タンパク量	1回接種後		2回接種後	
	15 μ g (100人)	30 μ g (100人)	15 μ g (100人)	30 μ g (100人)
局所反応				
全体	57 %	33 %	57 %	31 %
発赤	38 %	6 %	37 %	3 %
腫脹	18 %	3 %	22 %	2 %
疼痛	36 %	30 %	36 %	29 %
熱感	23 %	8 %	15 %	6 %
かゆみ	21 %	7 %	24 %	3 %
全身反応				
発熱	1 %	4 %	2 %	4 %
体調変化	27 %	28 %	23 %	23 %
頭痛	12 %	18 %	12 %	12 %
倦怠感	20 %	20 %	12 %	11 %

15 μ g 接種群は皮下注, 30 μ g 接種群は筋注

表8 A(H1N1)2009 スプリットワクチン*の免疫原性 (HI 抗体)

	オーストラリア		中国	イギリス	USA	日本
	18~49歳	50~64歳	18~60歳	18~50歳	18~64歳	20~59歳
接種前						
人数	58	62	660	25	150	98
GMT	18.3	15.0	6.9	7.1	21.9	7.9
抗体陽性率	32.8%	27.4%	4.3%	12.0%	26%	8.2%
1回接種後						
人数	58	62	660	25	145	98
抗体陽転率	77.6%	71.0%	52%	96%	73.5%	
GMT	277.3	140.4	237.8	95.6	1405	73.5
抗体増加率	15.1	9.4	34.5	13.5	64.3	9.3
抗体陽性率	96.6%	93.5%	97.1%	63%	98%	78.6%
2回接種後						
人数	55	62	660	25		98
抗体陽転率	83.6%	80.6%		74%		71.4%
GMT	320.0	215.6	212.9	194.3		88.5
抗体増加率	18.0	14.4	30.9	27.4		8.7
抗体陽性率	98.2%	98.4%	97.1%	74%		77.6%

*15 μ g 接種群

(文献 31,33,34,35,37 より作図)

2) 臨床研究のデザイン

臨床研究計画時, A (H1N1) 2009 ウイルスが A ソ連型と交差免疫があれば, 多くの人で A (H1N1) 2009 ウイルスに対する抗体が検出されなくても A ソ連型罹患により免疫記憶が誘導されており, スプリットワクチン 1 回接種で効果的な免疫が誘導できるが, A ソ連型との交差免疫がなければ, スプリットワクチン 15 μ g を 2 回接種しても効果的なプライミングが誘導できないと予測された. この結果多くの国で行われたスプリットタイプの (H1N1) 2009 ワクチン治験は, 1 回量 15 μ g と 30 μ g を 2 回接種し, 免疫原性と安全性をみるものであった.

3) スプリットワクチンの臨床研究

(H1N1) 2009 単味ワクチンを成人に接種した国立病院機

構の研究によると, 15 μ g 接種群では, 接種前の抗体保有率 (HI 抗体 \geq 40 倍の割合) が 8.2% であったのに対して 1 回接種後 78.6%, 30 μ g 接種群では, 接種前の抗体保有率が 3.0% であったのに対して 1 回接種後 88.0% と, いずれの接種量でも 1 回の接種で EMEA の評価基準を満たし, 更に平均抗体増加率, 抗体陽転率も基準を満たしていた. さらに計画通り初回接種 3 週後に 2 回目接種を行ったが, 効果的な免疫賦活は認められなかった (表 6)³⁷⁾. なお, 2 回の接種による副反応は容認される範囲であった (表 7).

オーストラリア, 中国, 米国などで行われたスプリットワクチンの免疫原性の結果を表 8 に示した^{31,33-35,37)}. 本邦の結果と同様に 1 回の接種で効果的な二次免疫応答が認められ, 一部の結果を除き 2 回目接種による効果的な免疫増