

人、ワクチン株が4人から分離され、6人は分離陰性であった。7-10歳群155人では10人(6.45%)が腫脹し、野生株が6人、ワクチン株が3人から分離され、1人は分離陰性であった。11歳以上群では137人中4人(2.92%)からすべて野生株が分離された。

野生株が分離された症例を除いたときの耳下腺腫脹率は、1歳群0.73%、2-3歳群1.36%、4-6歳群2.63%、7-10歳群2.58%と年齢が高くなるにつれ耳下腺腫脹率が有意に増加した(表5)。

5) 思春期集団におけるムンプスワクチン有効性および血清疫学の検討

ワクチン歴なし56人中、既往歴があるもの30人(53.6%)、既往歴がないもの26人(46.4%)であり、ワクチン歴があるもの28人(接種率33.3%)中、既往歴があるもの6人(21.4%)、既往歴がないもの22人(78.6%)であった(表6)。なお、ワクチン歴あり28人中2人はムンプス流行中にムンプスワクチンの緊急接種を受けたが発症したものであった。緊急接種後発症した者を含めたときのムンプスワクチンの有効率は60.0%($P=0.00439$)であり、この2人を除いたときのワクチンの有効率は71.3%($P=0.00089$)と、いずれもムンプスワクチンの有効性が認められた。

ムンプス抗体陽性率は、ワクチン歴なし既往あり群30人中29人(96.7%)、ワクチン歴なし既往なし群26人中14人(53.8%)、ワクチン歴あり既往あり群6人中6人(100%)、ワクチン歴あり既往なし群22人中14人(63.6%)と、ワクチン歴に関わらず既往歴あり群の方が、抗体陽性率が有意に高率であった(既往あり群97.2%、既往なし群58.3%、 $P<0.0001$)。

抗体陰性6人、判定保留15人を対象にムンプスワクチン接種を行ったところ、接種前平均抗体価 1.16 ± 0.71 (2^{nd} EIA価)から 3.05 ± 0.70 (2^{nd} EIA価)に有意に上昇した($P<0.0001$)。接種前抗体価(2を底とする対数に変換)を横軸に、抗体上昇率(接種後抗体価/接種前抗体価、2を底とする対数に変換)を縦軸にとると、接種前抗体価と抗体上昇率は有意の相関が認められた($R=0.69324$ 、 $P=0.0005$)。相関直線は $Y=-0.95X+2.99$ となり、EIA抗体価が2倍以上上昇する抗体価は $2^{2.09}(4.37)$ EIA価以下であった。

6) 思春期集団における水痘ワクチン有効性および血清疫学の検討(表7)

ワクチン歴なし群74人中、既往歴があるもの63人(85.1%)、既往歴がないもの11人(14.8%)であり、ワクチン歴があるもの10人(接種率11.9%)中、既往歴があるもの3人(30%)、既往歴がないもの7人(70%)であった。なお、ワクチン歴あり10人中1人は水痘流行中に水痘ワクチンの緊急接種を受けたが発症したものであった。緊急接種後発症した者を含めたときの水痘ワクチンの有効率は64.8%($P=0.00056$)であり、緊急接種例1人を除いたときのワクチンの有効率は73.9%($P=0.00021$)と、いずれも水痘ワクチンの有効性が認められた。

水痘抗体陽性率は、ワクチン歴なし既往あり群63人中61人(96.8%)、ワクチン歴なし既往なし群11人中11人(100%)、ワクチン歴あり既往あり群3人中1人(33.3%)、ワクチン歴あり既往なし群7人中4人(57.1%)であった。ワクチン歴により陽性率を比較すると、既往歴にかかわらず、ワクチン歴なし群97.2%(72人中70人)、ワクチン歴あり群50%と、ワクチン歴なし群の方が、有意に抗体陽性率は高率であった($P=0.00015$)。

抗体陰性2人、判定保留4人を対象に水痘ワクチン接種を行ったところ、接種前平均抗体価 1.33 ± 0.75 (2^{nd} EIA価)から 3.74 ± 1.31 (2^{nd} EIA価)に有意に上昇した($P<0.00016$)。

7) 2008年保育園における水痘流行時の水痘ワクチンの有効性の検討

2008年流行時の水痘ワクチン接種率は91人中46人(50.5%)であった。水痘流行前の水痘罹患率は、ワクチン歴なし群45人中25人(55.6%)、ワクチン歴あり群46人中4人(8.7%)と、ワクチン歴あり群では有意に水痘発症率が低率であった(有効率84.4%、 $P<0.0001$) (表8)。なお、今回の流行前の水痘既往者は29人(うちワクチン接種者は4人)であり、年齢が高くなるほど水痘既往率が高率であった。

1歳児クラスから5歳児クラスをまとめた水痘発症率は、ワクチン歴なし群20人中16人(発症率80%)、ワクチン歴あり群42人中16人(38.1%)であり、水痘ワクチンの有効率は52.4%と、有意の発症予防効果が認められた($P=0.00206$)。なお、2008年流行時の水痘発症

率は、1歳児クラス～3歳児クラス 43.5%に対し、4歳児クラス～5歳児クラス 31.6%と、年齢が高いクラス群の方が低率であった。

8) 2010/11年同じ保育園における水痘流行時の水痘ワクチンの有効性の検討

2010/11年流行時の水痘ワクチン接種率は106人中75人(70.8%)であった。0歳児クラスから5歳児クラスをまとめた水痘発症率は、ワクチン歴なし群13人中13人(発症率100%)、ワクチン歴あり群61人中27人(44.3%)であり、水痘ワクチンの有効率は55.7%と、有意の発症予防効果が認められた($P=0.00247$) (表9)。なお、今回の流行前での既往者は32人(うちワクチン接種者は14人(30.1%))であり、年齢が高くなるほど水痘既往率が高率であった。また、2008年の流行を経験し、このとき水痘を発症しなかった6人は、2度目の水痘流行時にも発症しなかった。

水痘既往のない水痘ワクチン接種者61人のうち、0歳児クラス～2歳児クラスの38人では23人(60.5%)が発症したのに対して、3歳児クラス～5歳児クラスの23人では4人(17.4%)しか発症せず、年齢が小さい群ほど発症率が高率であった($P=0.0010$) (表10)。また、ワクチン接種日が記載されていた0歳児クラス～2歳児クラスの37人では、接種から流行までの期間が0～12ヶ月の群では、発症者は19人中8人(42.1%)であったのに対して、13ヶ月以上経過した群では18人中14人(77.8%)と、発症率は有意に高率であった($P=0.02956$) (表11)。

9) 水痘ワクチン後の罹患者数と水痘の集団免疫率の検討

2008年の水痘流行時、水痘ワクチン歴がある44人中4人は水痘既往があり、流行時に16人が発症したため、水痘ワクチン後の水痘総罹患数は20人、水痘発症率は45.5%であった。2010/11年の水痘流行時、水痘ワクチン歴がある75人中14人は水痘既往があり、流行時に27人が発症したため、水痘ワクチン後の水痘総罹患数は41人、水痘発症率は54.7%であった。

水痘流行の曝露を受けたとき、発症しなかった水痘ワクチン接種者は水痘に対する免疫があると考えられ、また今回の流行で、水痘既往がなく発症しなかった人を除けば水痘に免疫があると考えられる。今回の検討結果から、2008

年流行終了時の免疫率は95.6%であり、2010/11年の流行終了時の免疫率は100%であった。

D. 考察

ムンプス、水痘ともにワクチン予防可能疾患であるが、入院率や後遺症率、死亡率が低いため軽症の感染症と考えられており、また任意接種であることもあって、接種率は低率である。また、ムンプスワクチン、水痘ワクチンともに接種後の自然感染があり、わが国ではワクチンの有効性やワクチン後の自然感染の病態や疫学については十分に検討されていない。

初年度に行った研究では、ムンプス EIA-IgM 抗体検出試薬に用いられる二次抗体および三次抗体の濃度を変更することで、感度は低下するものの特異度が高まることが示され、改良品の方が、現行品よりも臨床経過とよく一致すると推察された。実際、改良品ではワクチン後の自然感染例の多くの例で IgM 抗体が検出されなくなった。以上の結果から、ワクチン後のムンプス自然感染を診断するためには、IgM 抗体測定だけでは診断が不可能であり、唾液からのウイルス分離、血清 IgG 抗体、IgM 抗体を測定し、総合的に primary vaccine failure か secondary vaccine failure かを診断する必要があると思われた。改良品は平成 23 年度からわが国で使用されている。

ムンプスワクチン後のムンプス自然感染例の多くは、急性期ムンプス IgG 抗体が 25.8 EIA 価以上を示している。今回経験したムンプス自然感染二度係例の2例とも、2回目のムンプス発症時には二次性抗体反応を示しており、また臨床経過も初回に比べて軽症に経過した。以上の結果から、ムンプスでは自然感染でもムンプス再感染例があり、ムンプス後の自然感染例と同様に、二度目の感染では軽症に経過する事が確認された。

なお、ムンプスでは麻疹や風疹と比べ、IgG 抗体産生細胞数が少なく、このことが麻疹や風疹と比べて抗体価が低値である事と関係していると推察されている。ムンプスワクチン後の自然感染やムンプス再感染の頻度が、麻疹や風疹と比べて多いのは、ムンプス IgG 抗体産生細胞数の少なさが関与している可能性が推察された。

現在ムンプスワクチンの定期接種化が計画されている。以前 MMR ワクチンが導入された時ムンプスワクチンによる無菌性髄膜炎が問題と

なった。ムンプスワクチン定期接種導入に当たっては、ムンプスワクチンによる髄膜炎合併をいかに減少させるかが問題となっている。今回の検討では、ムンプスワクチンを受けた 3561 人全員が髄膜炎を合併しなかったために、年齢によるムンプスワクチン髄膜炎の合併率の検討は不可能であったが、耳下腺腫脹の合併率は低年齢ほど低いことが認められた。

ムンプス髄膜炎の発症年齢は、ムンプス好発年齢よりも 1.5 歳年齢が高いこと、年齢が高くなるほど髄膜炎や難聴などのムンプス合併症の発症率が高くなること、今回の年齢別のムンプスワクチン後耳下腺腫脹率の検討から、ムンプス髄膜炎を含めたムンプスワクチン後の副作用を軽減させるためには、初回接種は、1 歳時の MR ワクチン接種後に接種することが望ましいと思われた。

今回調査した思春期群において、ワクチン歴、既往歴からみた、ムンプスワクチン、水痘ワクチンの有効率は、それぞれの感染症流行中に緊急にワクチン接種を受け発症した者を除くと、ムンプスワクチン 71.3%、水痘ワクチン 73.9% と、今までの報告と同様に高い有効率が認められた。なお、思春期群の血清疫学の検討では、ムンプスにおいては、既往歴を有する者は抗体陽性率が高かったが、既往歴がないものは抗体陽性率が低く、思春期群でムンプス既往歴がないものは、ワクチン接種が勧められる集団と判断された。

ムンプスワクチン、水痘ワクチンはいずれも生ワクチンであり、接種後ウイルスが増殖することで抗体の有意上昇が誘導される。今回の検討では、いずれのワクチンも、抗体陰性者および判定保留者を対象にワクチンを接種したところ、有意の平均抗体価の上昇が認められた。また、ムンプスでは接種前の抗体価と接種後の抗体上昇率との間には有意の負の相関があり、得られた相関直線から、ムンプスワクチン後に抗体の有意上昇を示す抗体価は、4.37 EIA 価以下と算出された。以上の結果から、抗体陰性者に加えて判定保留者にもワクチン接種をすることは、効果的な感染対策と思われた。

保育園流行時の水痘ワクチンの有効率は 55.5%との報告がある。今回の検討では、2008 年の流行時および 2010/11 年の流行時の水痘ワクチンの有効率は、それぞれ 52.4%、55.7%と、以前の報告と同程度であった。また、今回の検

討では、いずれの流行時ともに、ワクチン群においては低年齢群の方が高年齢群よりも発症率が高く、また 2008 年の流行を経験した年中児および年長児 6 人は 2010/11 年の流行時にはいずれも発症しなかった。以上の結果から、水痘ワクチン後に誘導される特異免疫は低いいため、流行の曝露を受けると発症のリスクは比較的高いが、この時に発症しなかった児は、抗体の自然ブースタがかかり、その後に流行の曝露を受けても発症しないと推察された。

今回の検討では、2010/11 年の流行時、0 歳児クラス～2 歳児クラスにおいては、水痘ワクチン接種後 1 年以上経過した児の発症率は 77.8%と極めて高率であった。また、水痘ワクチン接種者の発症率は、2008 年では 45.5%、2010/11 年では 54.7%と比較的高率であった。以上の結果から、水痘ワクチンにより発症予防、流行抑制を期待するならば、多くの子どもの移行抗体が消失した 1 歳過ぎに初回を接種し、2 回目は初回接種後 1 年以内に接種することが適切である。

現在、水痘ワクチン 2 回目の接種時期を、米国では 4～6 歳とし、ドイツでは初回接種 4～12 ヶ月後としている。本邦でも水痘ワクチンを定期接種に導入するに当たっては、水痘流行が十分に抑制されていないうちは、水痘ワクチン後の水痘罹患率を高めないために、ドイツ方式に導入が適切と判断された。

水痘の集団免疫率については十分に検討されていない。今回の検討では、水痘の集団免疫率は 95.6～100%と極めて高率であり、この値は麻疹や百日咳と同等であった。以上の結果から、保育園での水痘流行を抑制するためには、95%以上の高い接種率で 2 回接種することが大切と思われた。

E. 結論

ムンプス、水痘はワクチン予防可能疾患であるが、接種率が低いと繰り返しの流行が認められている。ムンプスワクチン、水痘ワクチン後の再感染の診断には、適切なウイルス学的アプローチが必要である。また、ムンプスワクチン、水痘ワクチンともに有効なワクチンであるが、水痘ワクチンでは接種後の水痘罹患率が高く、ワクチンによって流行抑制を図るならば、初回接種 1 年後以内に 2 回目の接種が必要と思われた。

G.研究発表

1. 著書・論文発表

- 1)庵原俊昭：ムンプス. 小児科 2009;50:15-21
- 2)庵原俊昭、落合 仁：ムンプスー再感染と vaccine failure. 小児内科 2009;41:1012-1016
- 3)庵原俊昭：ムンプス最近の話題. 小児保健研究 2009;68:125-126
- 4)庵原俊昭：任意接種(1)ムンプス. 母子保健情報 2009;59:82-85
- 5)庵原俊昭：ムンプス. 小児科診療 73:s152-s154, 2010
- 6)庵原俊昭：任意接種のワクチン「ムンプス」. 臨床検査 54:1339-1344, 2010
- 7)庵原俊昭：ムンプスワクチン. 小児内科. 42:1984-1987, 2010
- 8)庵原俊昭：ムンプスワクチン：現状と今後. 臨床とウイルス 38:386-392, 2010
- 9)庵原俊昭：流行性耳下腺炎. 社団法人日本感染症学会編、感染症専門医テキスト 第I部解説編、南江堂、東京、854-856, 2011
- 10)庵原俊昭：ムンプスとムンプスワクチン. 日本小児科医会会報 41:95-98, 2011
- 11)庵原俊昭、中野貴司、落合 仁、渡辺正博：改良されたムンプス酵素免疫法(EIA)-IgM 抗体検査法の臨床評価. 小児感染免疫 23:123-129, 2011
- 12)庵原俊昭：ムンプス (流行性耳下腺炎). 小児科学レクチャー1:301-307, 2011

2. 学会発表

- 1)庵原俊昭、落合 仁、中野貴司、神谷 齊：ワクチン歴による水痘急性期 IgM 抗体・IgG 抗

体の比較検討. 第 112 回日本小児科学会学術集会 (2009 年 4 月、奈良)

- 2)庵原俊昭、中野貴司、神谷 齊、落合 仁、渡辺正博：ムンプス EIA-IgM 抗体検査法の改良. 第 41 回日本小児感染症学会 (2009 年 11 月、福井)
- 3)木下星次郎、伊藤守弘、庵原俊昭、幸脇貴久、鶴留雅人、伊藤康彦：ムンプスウイルスの臓器・組織親和性を規定する因子の同定. 第 58 回日本ウイルス学会 (徳島、201 年 11 月)
- 4)落合 仁、庵原俊昭、神谷 齊、中山哲夫：ムンプスワクチン接種年齢による副反応出現率の検討. 第 14 回日本ワクチン学会 (東京、2010 年 12 月)
- 5)庵原俊昭：ムンプスワクチン. 第 114 回日本小児科学会学術集会 (東京、2011 年 8 月)
- 6)庵原俊昭：今後のムンプス、麻疹、風疹対策について～おたふくかぜワクチンを中心に～第 43 回日本小児感染症学会総会 (岡山、2011 年 10 月)
- 7)落合 仁、庵原俊昭、菅 秀：2 度の水痘流行を経験した保育園における水痘ワクチンの効果の検討. 第 15 回日本ワクチン学会 (東京、2011 年 12 月)

H.知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特記することなし。
2. 実用新案特許
特記することなし。

(表 1) 各群における既存品と改良品の感度、特異度、全体一致率

		感度(%)	特異度(%)	全体一致率(%)
未接種群	既存品	91.1	81.8	88.3
	改良品	79.2	86.4	81.4
早期腫脹群	既存品	100	33.3	77.8
	改良品	100	33.3	77.8
後期腫脹群	既存品	28.6	92.3	63.8
	改良品	4.8	100	57.4

早期腫脹群はワクチン接種後 30 日以内に耳下腺腫脹が出現、後期腫脹群はワクチン接種後 1 か月以上経過して耳下腺腫脹

(表2) ワクチン歴による病日ごとのIgM抗体陽性率と平均抗体価

ワクチン歴		現行品		改良品	
		陽性率(%)	平均抗体価*	陽性率(%)	平均抗体価*
未接種群	1病日	82.6(38/46)	7.74±5.12	69.6(32/46)	2.97±2.20
	2病日	97.8(45/46)	9.53±4.49	84.8(39/46)	3.63±1.88
	3病日	100(7/7)	14.01±0.87	100(7/7)	5.14±0.88
後期腫脹群	1病日	44.4(4/9)	2.01±3.12	11.1(1/9)	0.77±1.24
	2病日	0(0/9)	0.54±0.26	0(0/9)	0.18±0.08
	3病日	66.7(2/3)	1.47±1.33	0(0/3)	0.52±0.48

*抗体指数

(表3) 自然ムンプス二度罹り例の診断と臨床経過

	症例1 (男児)		症例2 (女児)	
	初回 (4歳)	2回目 (6歳)	初回 (1歳)	2回目 (4歳)
診断				
地域の流行	あり	あり	あり	あり
家族の発症	あり	なし	あり	なし
ウイルス分離	陽性	施行せず	陰性	陽性
急性期血清抗体	施行せず	二次免疫応答*	施行せず	二次免疫応答†
疫学的関連性	あり	あり	あり	あり
臨床経過				
耳下腺腫脹部位	両側	片側 (左)	片側 (右)	片側 (右)
耳下腺腫脹期間	7日間	3日間	5日間	2日間
発熱	あり (39°C)	なし	あり (37.6°C)	なし
発熱期間	4日間	0日間	1日間	0日間

*IgM抗体=2.36抗体指数、IgG抗体=57.1EIA価

†IgM抗体=1.24抗体指数、IgG抗体=33.0EIA価

(表4) 年齢群別耳下腺腫脹率とウイルス分離

	接種者数	腫脹者数(%)	ウイルス分離		
			野生株	星野株	陰性
1歳	1641	16(0.98)	4	6	6
2-3歳	1102	24(2.18)	9	8	7
4-6歳	526	20(3.80)	10	4	6
7-10歳	155	10(6.45)	6	3	1
11歳以上	137	4(2.92)	4	0	0

(表5) 年齢によるムンプスワクチンによる耳下腺腫脹率

年齢	例数	耳下腺腫脹*	腫脹率(%)	OR	P value
1歳	1641	12	0.73		ref
2-3歳	1102	15	1.36	1.87	0.10137
4-6歳	526	10	1.90	2.63	0.01985
7-10歳	155	4	2.58	3.60	0.01917

*野生株分離陽性例を除く例数

(表6) 思春期群のワクチン歴・既往歴によるムンプス抗体

ワクチン歴	既往歴	陰性	判定保留	陽性	合計
なし	なし	6	6	14	26
	あり		1	29	30
あり	なし		8	14	22
	あり			6*	6
合計		6	15	63	84

*緊急接種後発症した2人を含む

全症例 : ワクチン有効率 = $(30/56 - 6/28) \div 30/56 \times 100 = 60.0\%$ (P=0.00439)緊急接種例を除く : ワクチン有効率 = $(30/56 - 4/26) \div 30/56 \times 100 = 71.3\%$ (P=0.00089)既往歴あり群の抗体陽性率 = $35/36 \times 100 = 97.2\%$ 既往歴なし群も抗体陽性率 = $28/48 \times 100 = 58.3\%$

(表7) 思春期群のワクチン歴・既往歴による水痘抗体

ワクチン歴	既往歴	陰性	判定保留	陽性	合計
なし	なし			11	11
	あり	1	1	61	63
あり	なし		3	4	7
	あり		2	1*	3
合計		1	6	77	84

*緊急接種後発症した1人を含む

全症例 : ワクチン有効率 = $(63/74 - 3/10) \div 63/74 \times 100 = 64.8\%$ (P=0.00056)緊急接種例を除く : ワクチン有効率 = $(63/76 - 2/9) \div 63/76 \times 100 = 73.9\%$ (P=0.00021)

(表 8) A 保育園 2008 年水痘流行時の水痘発症

クラス	既往あり		既往なし				合計
	Vなし	Vあり	Vなし		Vあり		
			発症なし	発症	発症なし	発症	
1 歳児	3	0	3	3	5	1	15
2 歳児	1	0	0	5	5	5	16
3 歳児	5	1	0	5	3	4	18
4 歳児	6	1	1	2	8	5	23
5 歳児	10	2	0	1	5	1	19
合計	25	4	4	16	26	16	91

V: 水痘ワクチン

水痘ワクチン有効率 = $(16/20 - 16/42) \div 16/20 \times 100 = 52.4\%$ (P=0.00206)

ワクチン群の発症率: 1 歳児~3 歳児群 = 43.5%、4 歳児~5 歳児群 = 31.6%

(表 9) A 保育園 2010/11 年水痘流行時の水痘発症

クラス	既往あり		既往なし				合計
	Vなし	Vあり	Vなし		Vあり		
			発症なし	発症	発症なし	発症	
0 歳児	0	0	0	5	3	2	10
1 歳児	2	0	0	3	10	13	28
2 歳児	2	1	0	3	2	8	16
3 歳児	4	2	0	1	11	3	21
4 歳児	3	6	0	1	5	0	15
5 歳児	7	5	0	0	3	1	16
合計	18	14	0	13	34	27	106

V: 水痘ワクチン

水痘ワクチン有効率 = $(13/13 - 27/61) \div 13/13 \times 100 = 55.7\%$ (P=0.00247)

(表 10) 水痘ワクチン接種者の年齢群別の発症率

クラス群	例数	発症(%)
0 歳児~2 歳児	38	23 (60.5%)
3 歳児~5 歳児	18	4 (17.4%)

P=0.00099

(表 11) ワクチン接種から発症までの期間と発症率 (0 歳児~2 歳児クラス)

接種から流行曝露まで	例数	発症 (%)
0~12ヶ月	19	8 (42.1%)
≥13ヶ月	18	14 (77.8%)

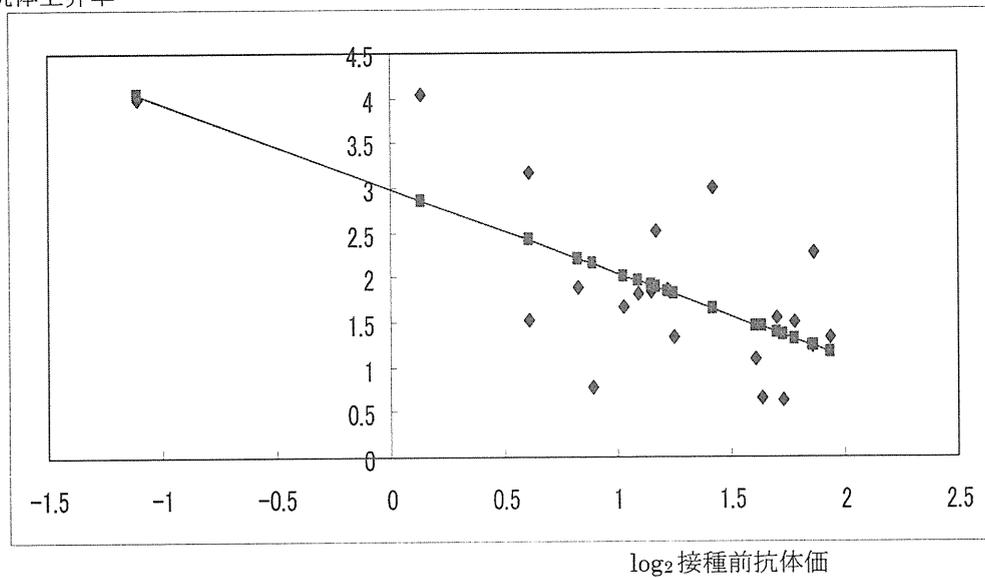
P=0.02956

(表 1 2) 水痘ワクチン接種者の水痘発症率

流行	例数	既発症	発症	発症者数(%)
2008年	44	4	16	20(45.5%)
2010/11年	75	14	27	41(54.7%)
合計	119	18	43	61(51.3%)

(図 1) ムンプスワクチン接種による接種前抗体価と抗体上昇率の関係

log₂抗体上昇率



R=0.69324 (P=0.0005)

Y=-0.95X+2.99

Y=1 のとき X=2.09 (EIA 価=4.37)

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）
（分担研究報告書）

ワクチン戦略による麻疹および先天性風疹症候群の排除、およびワクチンで
予防可能疾患の疫学並びにワクチンの有用性に関する基礎的臨床的研究

ムンプスウイルスの中枢神経病原性遺伝子に関する研究、および
東アジアで流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析に関する研究

分担研究者 木所 稔（国立感染症研究所・ウイルス第三部・主任研究官）
研究協力者 加藤 篤、駒瀬勝啓（国立感染症研究所・ウイルス第三部）
網 康至、須崎百合子（国立感染症研究所・動物管理室）
永田典代（国立感染症研究所・感染病理部）
Tuul Renchin (NCCD of Mongolia)

研究要旨 ムンプスウイルスの中枢神経病原性に関わる遺伝子を特定することはムンプスウイルスの病原性発現機構を解明する上でも、新ワクチンの開発や品質管理においても重要である。そこで我々は、リバースジェネティクス法を確立し、強毒株 Y213 から組換えウイルス rY213 を作成した。しかし、rY213 は高度に弱毒化しており原株の性状を反映していなかった。その原因は rY213 の遺伝的多様性の低下によるものと推定された。そこで r213 の遺伝的多様性を変異原処理によって増加させたところ r213 の病原性が原株と同程度に回復した。この病原復帰ウイルスのより詳細なゲノム解析から、病原復帰ウイルスには P 遺伝子と L 遺伝子内に 2 ヶ所のアミノ酸置換が存在し、これらの変異を rY213 に導入した組換えウイルスはいずれも病原性が復帰した。従って、この 2 ヶ所の変異がムンプスウイルスの病原性復帰に関わることが明らかとなった。

我々はモンゴル国で流行するムンプスウイルスについて分子疫学的解析を行うと共に、その抗原性と中枢神経病原性について解析した。その結果、モンゴル由来株は遺伝子型 H に分類されたが、既存の H 型からは系統学的に大きく異なり新規の亜型 (H3) に分類される事が明らかになった。加えて、一連の解析結果から従来の遺伝子型分類の基準は見直しが必要であることが示された。その抗原性は他の遺伝子型に比べて遺伝子型 A から最も乖離していた。従来、遺伝子型 H のウイルスは中枢神経病原性との関連性が高いという報告があるが、この分離株の病原性は通常の国内分離株と同程度に低かった。

併せて我々は 1993 年から 2011 年にかけて三重県内で分離されたムンプスウイルスについて分子疫学的解析を行い、流行株の経年変化について解析した。その結果、1990 年代は遺伝子型 B と J が主に流行していたが、1999 年に突然 G 型と L 型に取って代われ、2000 年以降現在まで G 型が流行の主流を占めることが明らかとなった。

A. 研究目的

日本国内においては MMR の中止以降ムンプスワクチンの普及が進まず、おたふくかぜの流行は制御できていない。一方、他の先進諸国においては MMR ワクチンの 2 回接種が普及しているにも関わらずおたふくかぜのたび重なるアウトブレイクは後を絶たない。こうした状況を打開するためには、より有効で安全なワクチンの開発が必要である。そのためにはムンプスウイルスの病原性発現機構を解明する必要がある。また、こうした情報はワクチンの品質管理にも重要である。そこで我々はムンプスウイルスの組換え技術であるリバースジェネティクス法を確立し、同一の野外株に由来しながら病原性の異なる Y125 株と Y213 株の塩基配列の違いに着目して病原性発現機構の解析を進めて来た。その

過程で、リバースジェネティクスで作製された強毒株 Y213 由来の組換えウイルス rY213 が病原性を失っていること (図 1)、それが変異原処理によって復活することを見出した。この病原性復帰の原因を解明するため、詳細な遺伝子解析をしたところ、この病原性復帰はポリオウイルスで見られるようなウイルスの遺伝的多様性によるのではなく、P 遺伝子と L 遺伝子に新たに生じた 2 ヶ所の点変異に由来することが明らかとなった

国内のみならず東アジア近隣諸国で流行するムンプスウイルスの解析は、国内での流行動態を理解する上でも、ワクチン対策においても重要である。また、感染症サーベランスが未整備の地域にとってはこうした調査は国際協力の側面からも意義がある。

今回我々は、モンゴル国内で採取されたムンプス患者の材料を手に入れることができたため、そこから分離されたウイルスとその遺伝子について分子系統学的解析を行い、過去の国内および国外の流行株との関連について解析を行った。併せて、分離ウイルスについては、新生ラットの感染発症モデルを用いた中枢神経病原性の評価と、抗ムンプスウイルス高度免疫血清による抗原解析を行った。

併せて我々は、1993年から2011年にかけて国立病院機構三重病院で分離されたムンプスウイルスについて分子疫学的解析を行い、流行株の経年変化について解析した。併せて、遺伝子型によって抗原性にどの程度の違いがあるかを調べるため、国産ワクチン株星野株（遺伝子型B）に対する抗ムンプスウイルス高度免疫ウサギ血清を用いていくつかの遺伝子型について抗原解析を行った。

B. 研究方法

(1) リバースジェネティクス法による組換えウイルスの作製

T7 プロモーターの直下に Y213 株由来の全長ゲノム cDNA を連結したプラスミドを、NP、P、L の各遺伝子を発現する 3 種類のヘルパープラスミドと共に BHK/T7 細胞にトランスフェクトし、組換えウイルス rY213（以後 rY213ori）を回収した。

(2) リバビリン存在下での組換えウイルスの培養

rY213ori を $moi=0.01$ で Vero 細胞に接種し、 0.4mM リバビリン存在下で 2 代継代培養した。このウイルスをリバビリン非存在下で更に 1 代 Vero 細胞で継代し (rY213/Rib)、以後の実験に供した。

(3) 遺伝的多様性の評価

原株 Y213 のゲノム配列の多様性を評価するために、全ゲノムの 94% に相当する領域を 6 つに分けて RT-PCR で増幅し、PCR 産物を TA-cloning した。各領域から得られた個々の TA クローンについて塩基配列を決定し、コンセンサス配列に比較してどの程度の多様性があるか塩基置換の比率を調べた。同様に組換えウイルスについてもリバビリン処理の前後の rY213ori と rY213/Rib の各ウイルスについてリーダー配列から P 遺伝子までの領域 (23nt-3152nt) について同様の解析を行い原株との比較を行った (図-1)。

(4) 新生ラット脳内接種試験

生後 24 時間以内の Lewis 系ラットの右脳に 100 PFU のムンプスウイルス液を接種し、一ヶ月後に MRI によって脳室の拡張を観察した。得られた頭部の断面画像から脳全体の面積に対する脳室の面積比パーセントを求め、これを neurovirulence score (NV 値) とした。

(5) ムンプス患者由来材料

モンゴル国 NCCD の呼吸器感染症外来にムンプス患者として入院した 32 名から採取された咽頭拭い液 32 検体、および血清 31 検体を試験に供した。

(6) ウイルス分離

2000xg, 10 分間遠心したムンプス患者由来の咽頭拭い液の上清を Vero 細胞に接種し、2 週間培養した。CPE が出現した場合にはその極期にハーベストした。1 回目の培養で CPE 陰性の検体は更に Vero 細胞にもう 1 代継代培養した。

(7) 国内ムンプス患者由来分離ウイルス

1993年から2011年にかけて国立三重病院においてムンプス患者から分離された分離ウイルス 185 株を庵原俊昭先生から分与頂き、試験に供した。

(8) 分子系統学的解析

モンゴル国由来の咽頭ぬぐい液から検出された 21 例の SH 遺伝子領域 cDNA に加えて、1 例の分離ウイルス株の全ゲノム配列を決定し、データベースに登録された既知の塩基配列を基に、F 遺伝子、HN 遺伝子、及び全ゲノム配列について NJ 法を用いて分子系統学的解析を行った。それらの結果を、SH 遺伝子に基づいた系統解析の結果と比較し、モンゴル国内流行株の分子系統学的な位置づけを試みた。

全国内分離株の SH 遺伝子領域の配列を決定し、データベースに登録された既知の塩基配列を基に、NJ 法を用いて遺伝子型を決定した。

(9) 新生ラット脳内接種試験

試験にはモンゴル分離株 (MuVi-MNG09-024) のほか対照として 2 つの国内分離株 02-49 株 (遺伝子型 J)、および大館株 (遺伝子型 I) を用いた。生後 24 時間以内の Lewis 系ラットの右脳に 100 PFU のウイルス液を接種し、一ヶ月後に MRI によって脳室の拡張を観察した。得られた頭部の断面画像から脳全体の面積に対する脳室の面積比 (%) を求め、これを neurovirulence test score (NVT 値) とした。

(10) 分離ウイルスの抗原性の検討

Enders 株 (遺伝子型 A) および星野株 (遺伝子型 B) に対する高度免疫ウサギ血清を用いて、

モンゴル分離株（遺伝子型 H3）のほか Enders 株、占部株（遺伝子型 B）、02-49 株（遺伝子型 J）、北海道株（遺伝子型 G）、36-1079 株（遺伝子型 L）、および大館株（遺伝子型 I）に対する中和曲線を求めた。4 倍階段希釈された高度免疫血清とウイルスを等量混合し、37°C、2 時間インキュベーションした後、各血清希釈倍率ごとのウイルスカ価を測定した。これをグラフにプロットし、ウイルスごとの中和曲線を得た。

（倫理面への配慮）

動物実験は全て国立感染症研究所動物実験委員会の審査を受け、動物に対する苦痛低減措置、および使用個体数が適切であるという承認を得た上で、国立感染症研究所動物実験委員会実施規程に基づき実施した。

ヒト由来材料の取扱いについては国立感染症研究所医学研究倫理審査委員会の審査を受け、承認を得た。

C. 結果

（1）リバビリン処理組換えウイルスの遺伝的多様性

リバビリン存在下で 2 代継代培養した組換えウイルス rY213/Rib（図 2）に由来する TA クローンの塩基配列を調べたところ、変異率は 0.241% で、原株 Y213 のウイルス液の 0.117% の約 2 倍、処理前のウイルス rY213ori の 0.006% よりも 40 倍増加していた（図 3）。

（2）新生ラットモデルによるリバビリン処理組換えウイルスの中中枢神経病原性の評価

リバビリン処理によって組換えウイルスの遺伝的多様性が原株と同等以上に上昇したので、このウイルスの中中枢神経病原性を新生ラットの脳内接種試験で評価した。14 匹の新生ラットに rY213/Rib を脳内接種したところ、全頭で脳室の拡張が観察され、ほとんど拡張が認められなかった rY213ori の反応とは明らかに異なっていた（図 4）。MRI の脳断面画像から算出された脳室拡張率（NV 値）の平均値は、30.7% と原株 Y213 の値 32.0% とほぼ同等であった（図 4）。

（3）リバビリン処理組換えウイルス rY213/Rib ゲノムの変異部位解析

リバビリン存在下で rY213 を培養したウイルスサンプル（rY213/Rib）のゲノムの全塩基配列を解析した。その結果、P 遺伝子と L 遺伝子内にそれぞれ 1 ヶ所の塩基置換が検出された（図 5）。

（4）新規変異導入組換えウイルスの中中枢神経

病原性

当初、rY213/Rib の病原性復帰はウイルスの遺伝的多様性の上昇によるものと想定されたが（図 3、4）、新たに 2 ヶ所の変異が見出されたことから、これらの変異が rY213 の病原性復帰に関与するかどうかを確認する必要が出てきた。そこで、Y213 の cDNA にこれらの変異をそれぞれ 1 つずつ、あるいは両方を導入した 3 種類の組換えウイルス（rY213Pmut、rY213Lmut、rY213W）を作製し（図 5）、その中中枢神経病原性を新生ラット脳内接種試験で評価した（図 6）。その結果、いずれのウイルスにおいても元の rY213（rY213ori）よりも病原性が上昇しており、特に P 遺伝子に変異導入したウイルス（rY213Pmut）において病原性復帰が顕著であった（図 6）。これらの結果から、rY213 の病原性復帰にはゲノムの多様性ではなく、P 遺伝子と L 遺伝子内の変異が直接関与していることが証明された。

（6）モンゴル株の分子系統学的解析

モンゴル国内で採取された 32 例の咽頭ぬぐい液から検出された 21 例の SH 遺伝子領域 cDNA に加えて、1 例の分離株の全ゲノム配列を決定し、データベースに登録された既知のシーケンスを基に、SH 遺伝子について分子系統学的解析を行った（図 7）。その結果、モンゴル株は全て同一のクラスターに分類され、遺伝子型 H に最も近縁であった。しかし、モンゴル分離株は遺伝子型 H の標準株に対して、6.3 から 8.2% の配列の違いがあることから、従来の遺伝子型分類の基準（標準株に対して 5% 以上の違い）からすると新規の遺伝子型に分類される。一方で、遺伝子型 H の中でもモンゴル株に最も近縁である 1990 年代末に埼玉県や韓国、およびスイスで分離された一群のウイルス株では、その塩基配列の違いは 4.1 から 6.3% で、必ずしも 5% を超えなかった。また、これらのウイルス間では他の遺伝子型 H のウイルスには存在しない SH タンパク質のアミノ酸配列に特徴的なモチーフ（19 番目のシステインと 26 番目のイソロイシン）が保存されていることが判明した（表 1）。これらの結果から、モンゴル株を新規の遺伝子型に分類することは、必ずしも適当ではないことが示唆された。そこで、モンゴル分離株（MuVi-MNG09-024）ゲノムの全塩基配列を決定し、F 遺伝子、HN 遺伝子、及び全ゲノムの塩基配列に基づく系統解析を行い、モンゴル株と遺伝子型 H との系統学的関連についてさらに詳細な解析を行った（表 2）。その結果、F、HN 遺伝子、

及び全ゲノムに基づくモンゴル株と遺伝子型 H ウイルス株間の遺伝的多様性はそれぞれ、0.5-1.6%、1.3-3.1%、2.0-2.3%の範囲にとどまった。これらの値は、他の遺伝子型における型内部における塩基配列の多様性の範囲を超えるものではなかった（表 2）。

以上の結果から、モンゴル由来株は新規の遺伝子型とは言い難く、遺伝子型 H に分類されるのが適当であると判断された。

また、これらの結果は、WHO が推奨するムンプスウイルスの系統学的分類の基準が必ずしも適切ではないことを示唆しており、基準の見直しが必要であることを意味している。

(7) 抗ムンプスウイルス高度免疫血清によるモンゴル株の抗原性の検討

検討した株の中ではモンゴル分離株と遺伝子型 L の 36-1079 株が最も中和されにくく、最も低い希釈倍率の抗血清（1：4 倍）においても完全には中和されなかった（図 8）。一方、遺伝子型 G の北海道株は Enders 株に次いで中和されやすいことが分かった。

(8) モンゴル株の中中枢神経病原性の評価

新生ラットに対する病原性は強毒株の大館株に比べ、明らかに病原性は低く、その違いは統計学的に有意であった（ $p = 0.00027$ ）（図 9）。一方、対照においた通常の国内分離株 02-49 との間には有意差は認められなかった。

(9) 国内分離ウイルスの経年変化

1993 年から 2011 年にかけて三重県内でムンプスウイルス 185 株の遺伝子型を解析したところ、1990 年代（1993-1998 年）は B 型と J 型がほぼ拮抗する状態で流行の主流であった（図 10）。しかし、1999 年に突然 G 型と L 型に取って代われ、2000 年以降は G 型が流行の主流を占めることが判明した。L 型の流行は 1999 年の 1 年間で途絶えていた。1999 年以降流行している G 型は大きく 2 つの系統に分かれ、年によって流行する系統が変化することが判明した（図 11）。

(10) 抗ムンプスウイルス高度免疫ウサギ血清による流行株の抗原性解析

遺伝子型 G 以外のウイルスはほぼ同様の中和曲線を示し、効率よく中和されることが明らかとなった（図 12）。一方、遺伝子型 G の北海道株は検討した株の中では最も中和されにくく、最も低い希釈倍率の抗血清（1：4 倍）においてやっと完全に中和された。

D. 考察

リバースジェネティクス法によってコンセン

サスシーケンスに基づいて作製された組換えウイルスは原株の性状を反映せず高度に弱毒化していた。その原因の一つとして、原株の持つ遺伝的多様性がモノクローナルな組換えウイルスでは失われていることが考えられた。この仮説を裏付けるために、組換えウイルスを変異原として知られるリバビリンの存在下で培養することによって、人為的に rY213 の遺伝学的多様性を高くした場合に病原性が復帰するかを調べた。

その結果、リバビリン処理後のウイルス rY213/Rib の遺伝的多様性は処理前のウイルス rY213/ori の 40 倍に増加し、それに伴ってラットに対する中枢神経病原性も原株の Y213 と同程度にまで復帰した。しかし、その後の更に詳細なゲノム解析によって、リバビリン処理ウイルス（rY213/Rib）のゲノム内に全てのクローンに共通する 2 ヶ所の変異が存在することが判明し、さらに、それらの変異を導入したキメラウイルスがいずれも病原性を復帰していた。従って、rY213 の病原性復帰にはポリオウイルスで報告されたゲノムの多様性による影響ではなく、この 2 ヶ所の変異が直接関与していることが強く示唆された。これらの変異はいずれか一方のみでも病原性を回復しており、特に P 遺伝子内の変異は病原性復帰の効果が顕著であった。一方の L 遺伝子内の変異は病原性復帰への影響は P 遺伝子ほど大きくないものの、L 遺伝子が病原性に係わるという報告は今までに興味深い。いずれにしても、わずか 1 ヶ所の変異によってこれほど劇的にウイルスの病原性が変化する現象は報告が無く、ムンプスウイルスの病原性発現機構の解明にとって、非常に有効な材料となりうる。

今回の解析で、モンゴル由来株の遺伝子型は H に分類されたが、系統学的に既存の H 型からは大きく離れており、1990 年代末に埼玉県と韓国で分離された株に最も近縁であった。今回の一連の解析結果から、SH 遺伝子領域のみでは適切な系統学的解析を行うには十分ではなく、F 遺伝子、あるいは HN 遺伝子の遺伝情報を加味して判断する必要があることを示している。その原因は SH 遺伝子領域が他のゲノム領域に比べて変異が起こりやすいのに対し、解析に用いる配列長が 316 塩基では短すぎるためと思われる。従って、従来 WHO が推奨してきた遺伝子型決定の基準は変更する必要がある、これまで報告されてきた 13 の遺伝子型についても F 遺伝子、あるいは HN 遺伝子の配列情報を加えて再分類する必要がある。新たな亜型 H3 として分類され

たモンゴル株を含む一群のウイルスは、ほとんどが日本、韓国、モンゴルと言った東アジアで分離されていることから、これまで西半球に主に分布すると考えられていた遺伝子型 H ウイルスにも東アジア由来の一群があることが示唆された。従来、遺伝子型 H のウイルスは病原性との関連性が高いという報告がある。しかし、新生ラットの感染モデル系による評価ではモンゴル株の中枢神経病原性は高くはなかった。対照として用いた通常の国内分離株 02-49 株も高病原性との関連が報告されている遺伝子型 J であるが、病原性は低い。一方、ヒトにおいて高い髄膜炎発生率が問題視され、ラットにおける病原性も非常に高い大館株は遺伝子型 I であるが、同時期に韓国で流行した近縁のウイルスについては高い病原性との関連性を否定する報告がある。以上のことから、遺伝子型と病原性との関連性は低いと考えられた。

日本国内における流行株は 1999 年を境に大きく変化していることが今回の解析で明らかとなった。国産ワクチン株と同じ遺伝子型 B は日本固有の遺伝子型と考えられ、以前から長く流行株の主流を占めてきたが、2000 年代にはその主役の座を遺伝子型 G に取って代わられた。遺伝子型 L は 1999 年前後に日本の他の地域でも分離されているが、その後は全く分離されておらず、その理由は明らかではない。一方の遺伝子型 G は 1999 年以降現在まで流行の主流を占め続け、これは全世界的な傾向でもある。しかしながら、日本国内で流行している G 型ウイルスと欧米各国でアウトブレイクを引き起こしているウイルスとは系統学的に異なっており、国内流行株の由来は不明である。国内流行株は更に 2 系統に分かれており、同じ配列を持ったウイルスは首都圏で分離されたウイルスでも見られるため、全国的な傾向と考えられる。

Enders 株（遺伝子型 A）に対する高度免疫血清を用いた中和試験の成績から、モンゴル株の抗原性は他の遺伝子型に比べて遺伝子型 A から最も離れていることが示めされた。この結果から、この株の流行は Jeryl-Lynn 株のワクチン効果を減じる可能性が有ることを示唆している。

国産ワクチン株星野株（遺伝子型 B）に対する高度免疫血清を用いた中和試験の成績から、G 型の抗原性は他の遺伝子型に比べて遺伝子型 B から最も離れていることが示唆された。この結果から、この株の流行は国産ワクチンの効果を減じる可能性が有る可能性を示唆しているのかもしれない。また、流行株の主流が B 型の後に

G 型に取って代わられた原因の一つがこの抗原性の違いに因るのかもしれない。

E. 結論

1. rY213 をリバビリン処理することによって病原性が復帰した。
2. リバビリン処理により quagispecies の多様性が 40 倍上昇した。
3. リバビリン処理ウイルス (rY213/Rib) のゲノム内に全てのクローンに共通する 2 ヶ所の変異が存在する。
4. 病原性復帰の直接の原因は P および L 遺伝子内の 2 ヶ所のアミノ酸変異であった。
5. 従って、rY213 の病原性復帰に遺伝的多様性が影響している可能性は否定された。
6. モンゴル分離株は遺伝子型 H (新規の亜型 H3) に分類される。
7. 従来のムンプスウイルスの遺伝子型分類基準は見直しが必要である。
8. H3 亜型のウイルスは従来の H 型ウイルスが主に西半球で流行しているのとは異なり、主に日本を含む東アジアで流行している。
9. モンゴル分離株の抗原性は A 型から大きく乖離している。
10. モンゴル分離株は従来 H 型で言われてきたような高い中枢神経病原性を示さないことから、遺伝子型と病原性との関連性は低いと考えられる。
11. 三重県内においては 1993-1998 年は B 型と J 型の流行が主流であった。
12. 1999 年に突然 G 型と L 型に取って代わられるが、L 型の流行は 1 年で途絶えた。
13. 2000 年以降の流行は G 型が主流。
14. G 型には 2 つの系統が存在し、いずれも欧米での流行株とは系統が異なっている。
15. 抗 B 型血清では G 型のみが中和されにくい。

F. 健康危害情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Suzuki H, Kidokoro M, Fofana IB, Ohashi T, Okamura T, Matsuo K, Yamamoto N, Shida H. Immunogenicity of newly constructed attenuated vaccinia strain

LC16m8Delta that expresses SIV Gag protein. Vaccine 2009, 27, 966-971

2. Kidokoro M., R. Tuul, K. Komase, P. Nymadawa. Characterization of mumps viruses circulating in Mongolia: identification of a novel cluster of genotype H. J Clin Microbiol 2011, 49, 1917-1925.
3. Hikichi M., M. Kidokoro, T. Haraguchi, H. Iba, H. Shida, H. Tahara, T. Nakamura, MicroRNA regulation of glycoprotein B5R in oncolytic vaccinia virus reduces viral pathogenicity without impairing its antitumor efficacy. Molecular Therapy 2011, 19, 1107-1115.

2. 学会発表

1. 木所 稔、齋加志津子、田代真人、加藤 篤：リバーシジェネティクスによって作製したムンプスウイルスの病原性復帰と遺伝的多様性との関連性に関する解析、第 57 回日本ウイルス学会、東京、2009 年 10 月
2. 木所 稔、駒瀬勝啓、Tuul Renchin、モンゴル国内で分離された新規 genotype ムンプスウイルスの性状について、第 57 回日本ウイルス学会、東京、2009 年 10 月
3. 木所 稔、駒瀬勝啓、Tuul Renchin、モンゴル国内で流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析-続報-、第 58 回日本ウイルス学会、徳島、2010 年 11 月
4. 木所 稔、駒瀬勝啓、Tuul Renchin、東アジアで流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析、第 14 回日本ワクチン学会、東京、2010 年 12 月
5. 木所 稔、齋加志津子、加藤 篤、リバーシジェネティクスによって作製したムンプスウイルスの病原性復帰と遺伝的多様性との関連性に関する研究、第 15 回日本ワクチン学会、東京、2011 年 12 月
- 6.

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

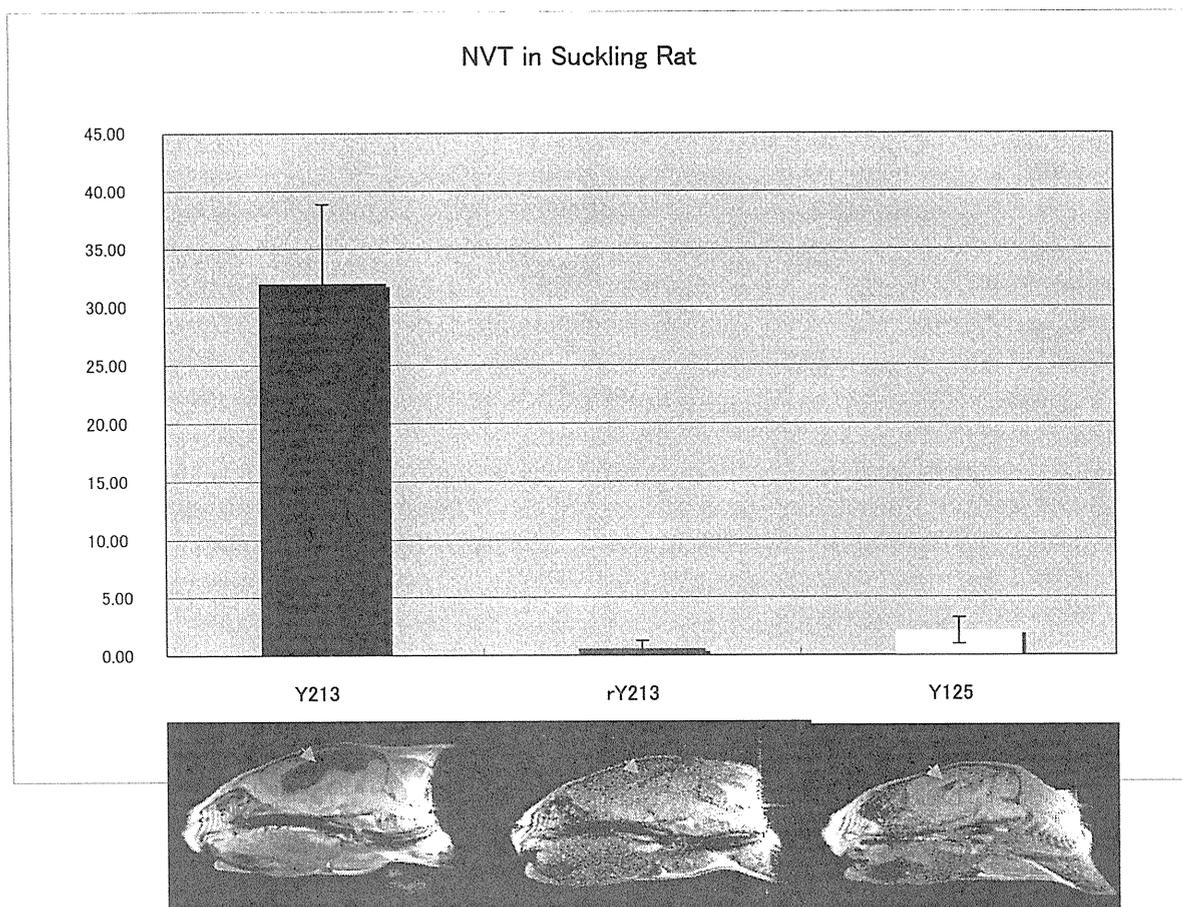


図1 強毒株由来組換えウイルス rY213 の新生ラットにおける中枢神経病原性

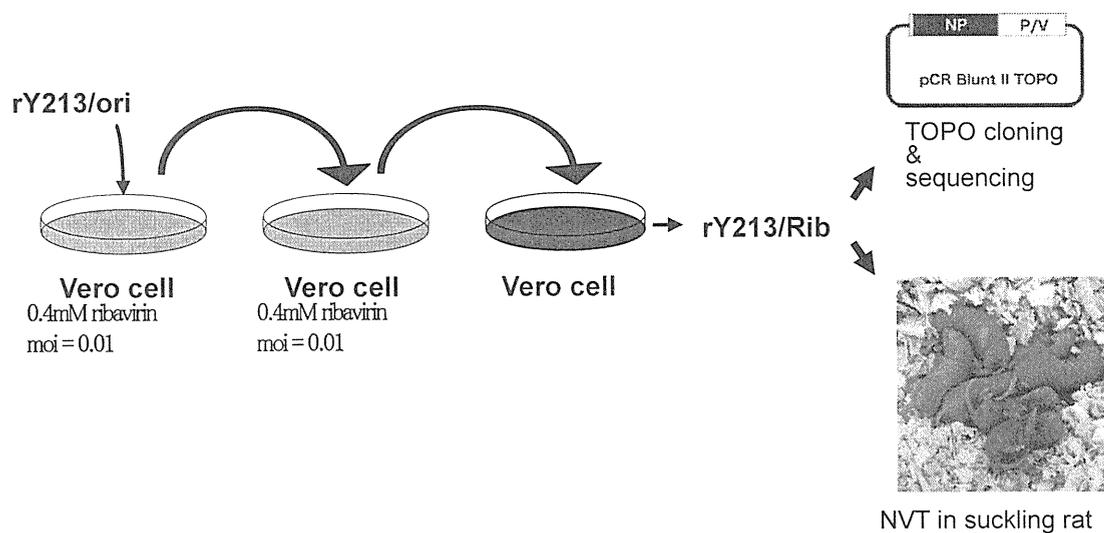


図2 リバビリンによる rY213 株への突然変異誘導

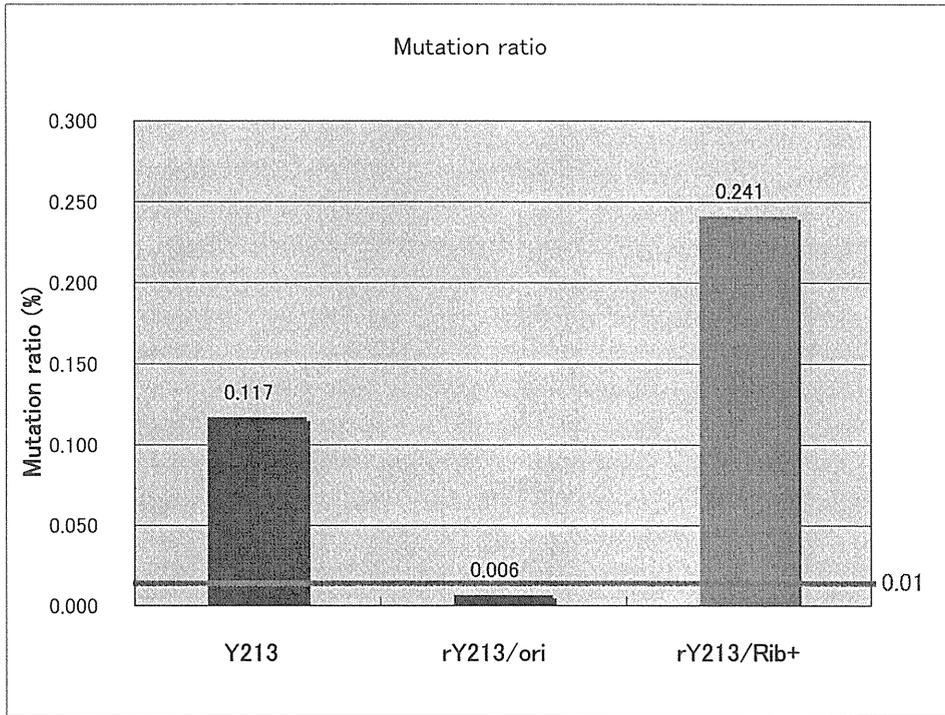


図3 リバビリン処理による遺伝的多様性の変化

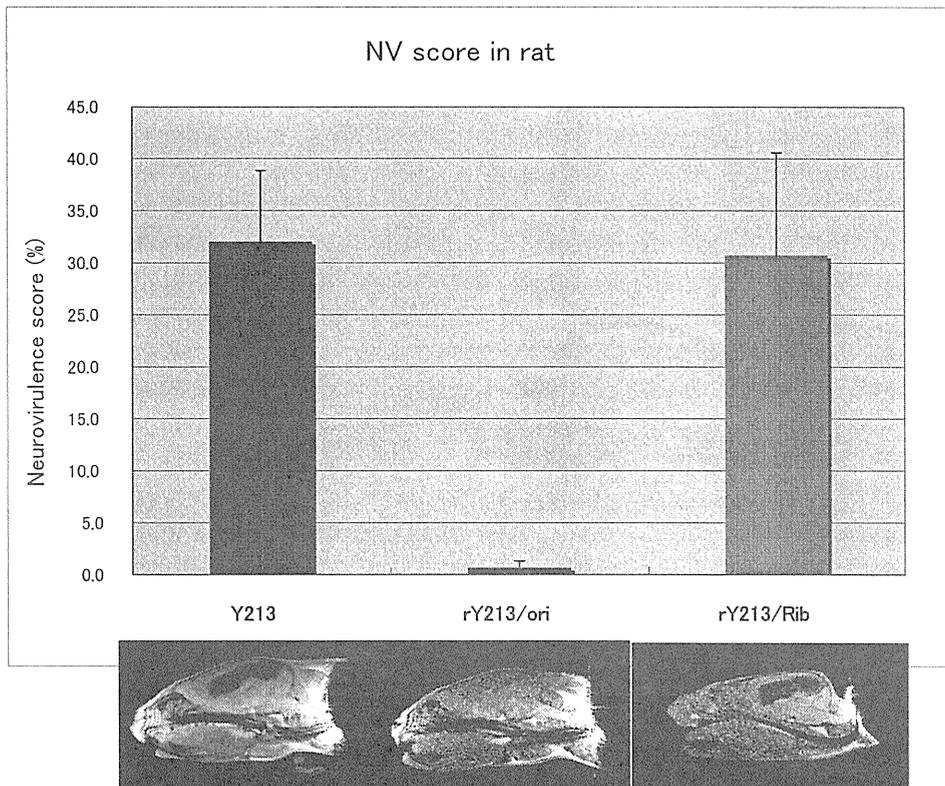


図4 リバビリン処理による中枢神経病原性の変化

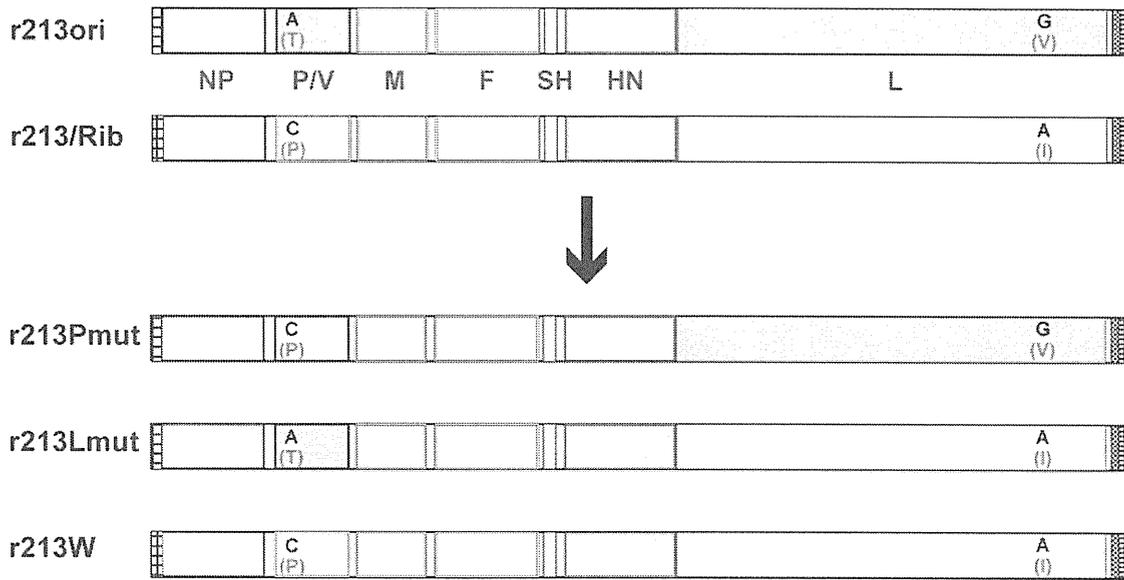


図5 リバビリン処理 rY213 における変異部位を導入したキメラウイルスの作製

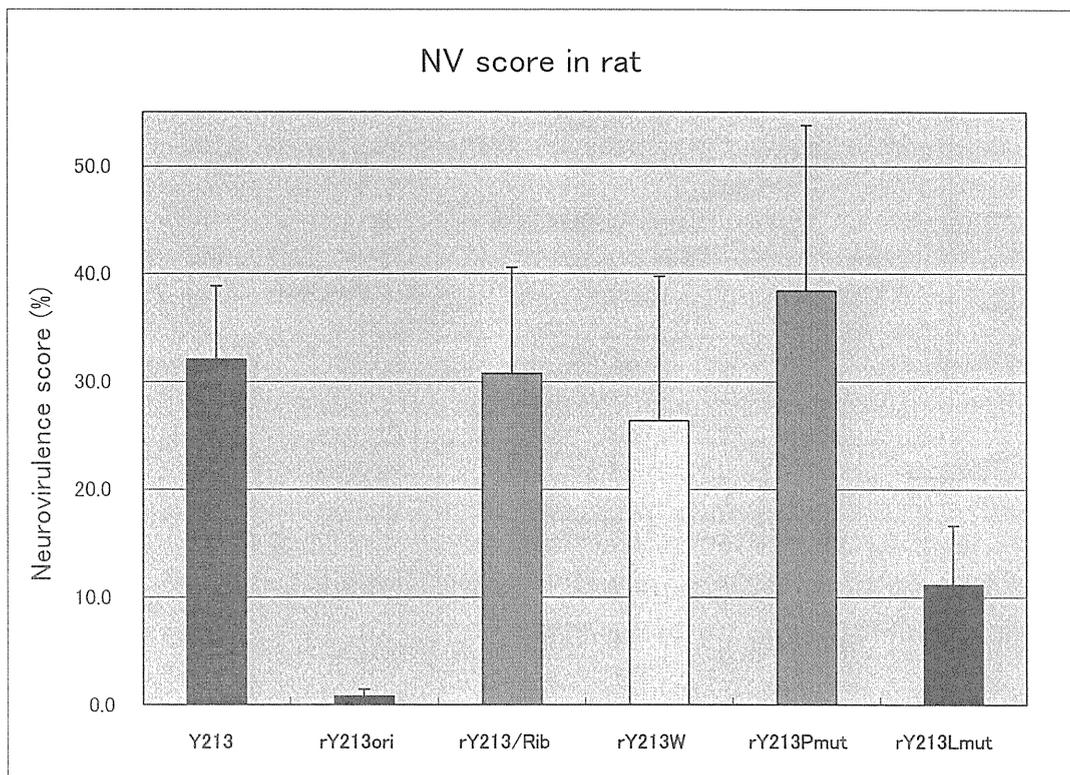
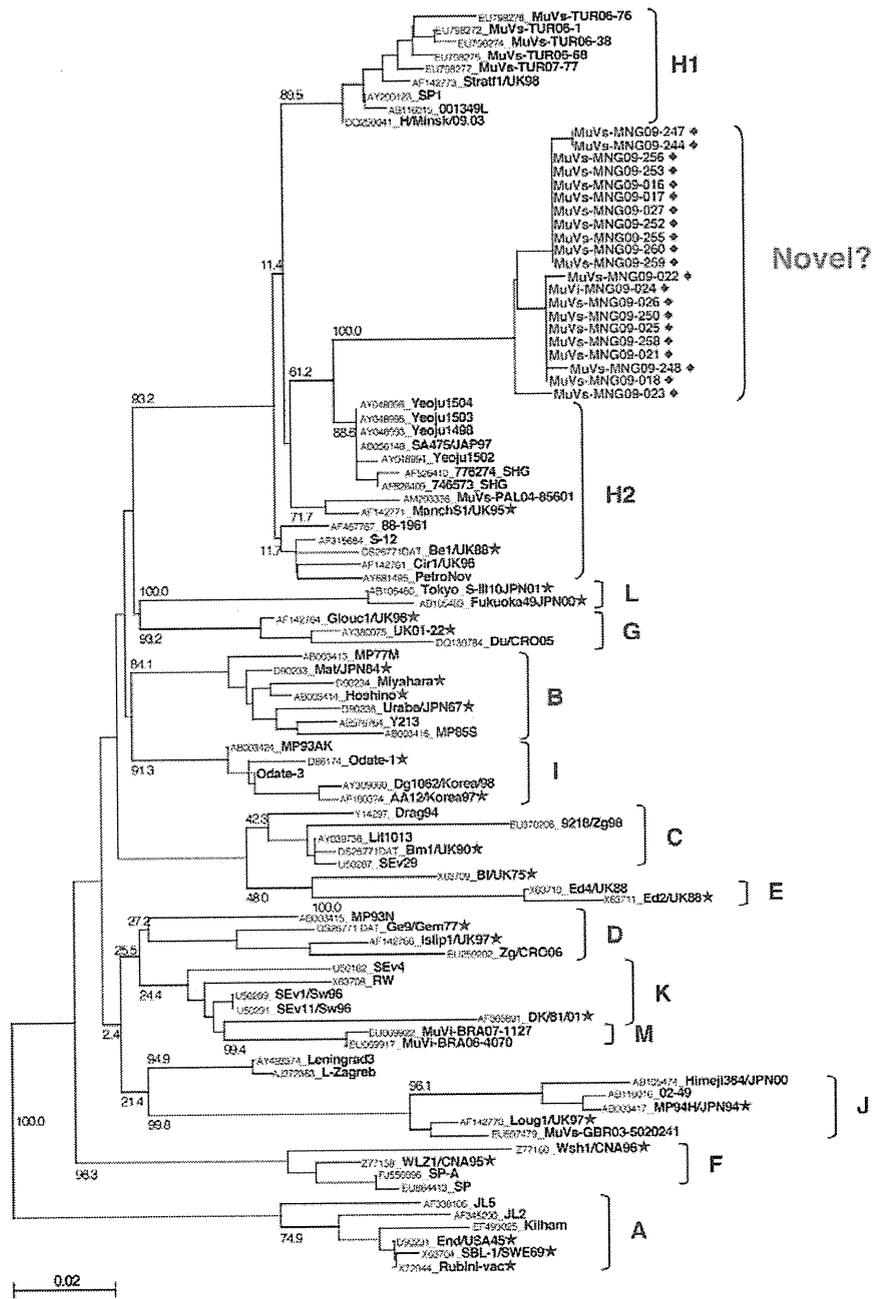


図6 変異導入キメラウイルスのラットにおける中枢神経病原性



◆ モンゴル分離株 ★ リファレンス株

図7 SH遺伝子に基づく分子系統学的解析

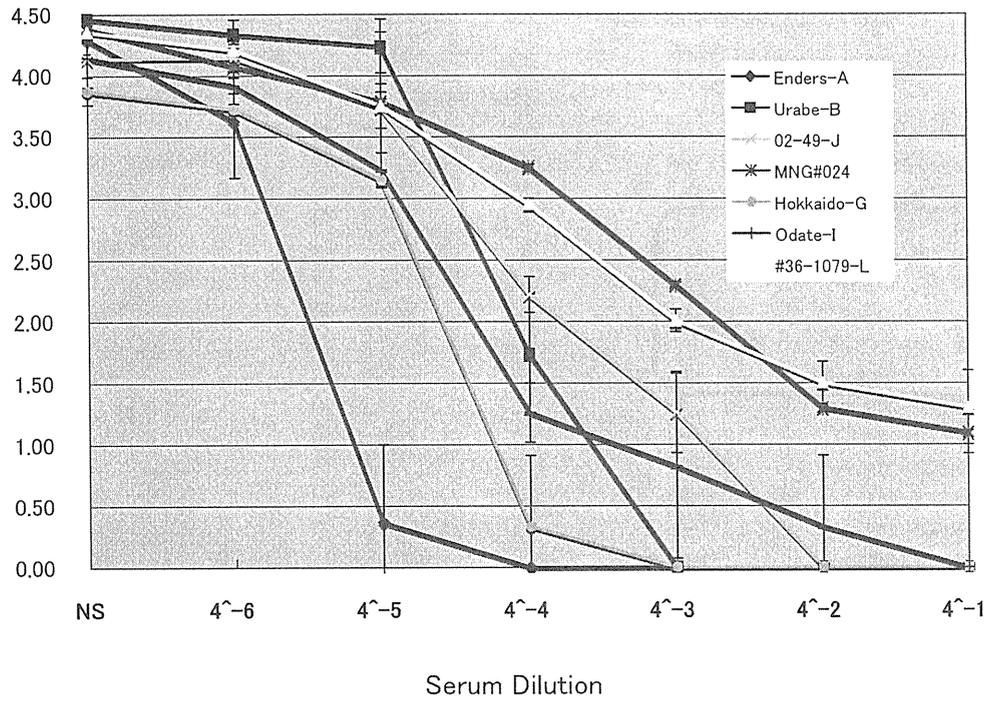


図8 抗A高度免疫血清による中和曲線の比較

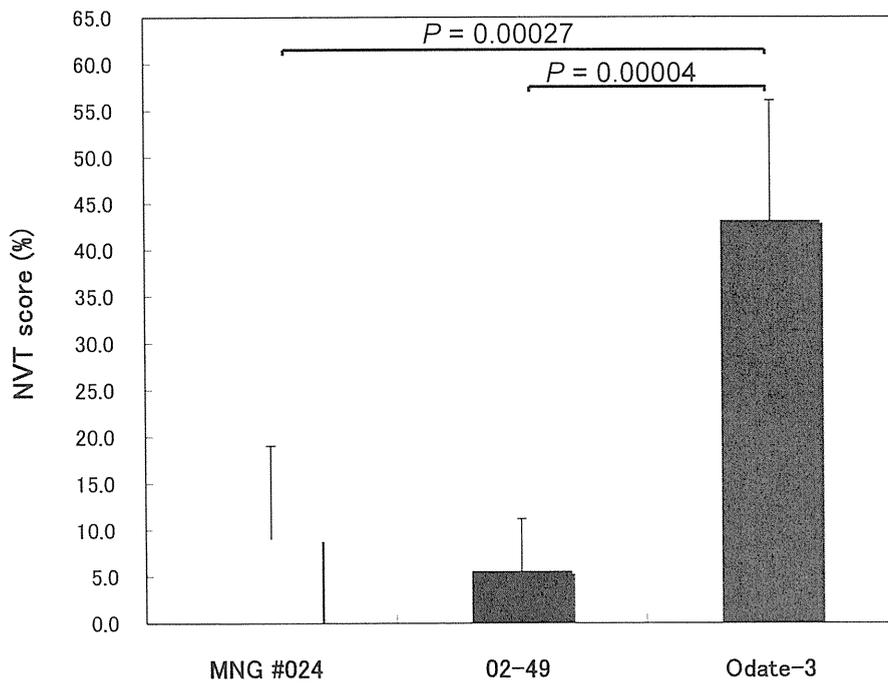


図9 新生ラットにおける中枢神経病原性