

図 10 三重県における遺伝子型の経年変化



図 1 1 国内で流行する遺伝子型 G の系統

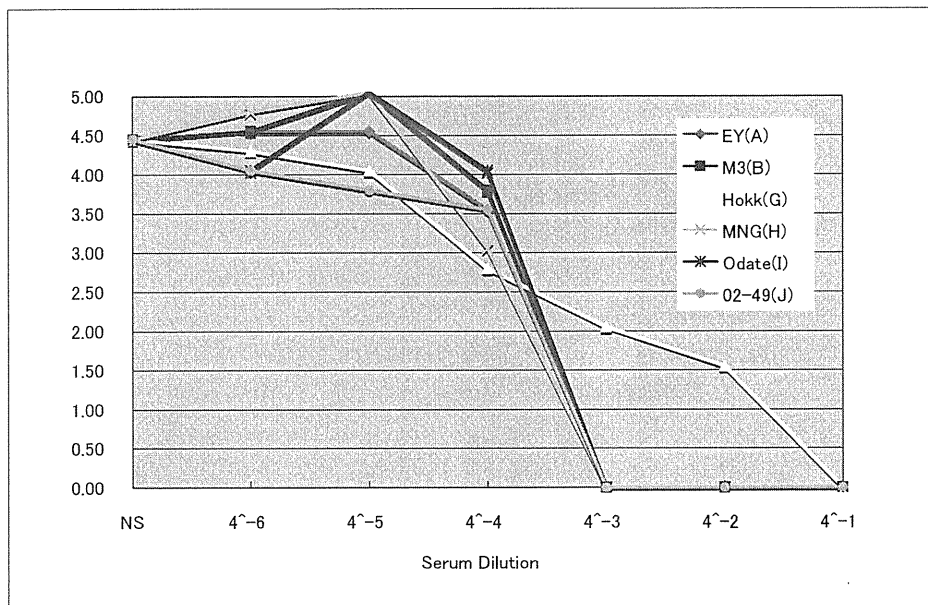


図 1 2 抗ムンプス中和曲線 (Anti-B 血清)

水痘帯状疱疹ウイルスに対する細胞性免疫応答の測定

（分担）研究者 森 康子 神戸大学大学院医学研究科教授

研究要旨

水痘は水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）の初感染によって発症し、そのウイルスは初感染後宿主の知覚神経節に潜伏感染する。免疫抑制状態でウイルスが再活性化すると帯状疱疹を発症させる。帯状疱疹の発症予防には液性免疫に加え、細胞性免疫応答が関与していることが示唆されている。我々は、VZV 特異的な細胞性免疫応答を IFN γ -ELISPOT 法をもちいて測定し、細胞性免疫応答と病態についての関連性を解析する。また水痘ワクチン接種後の細胞性免疫応答についても解析する。

A. 研究目的

水痘は水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）の初感染によって発症し、そのウイルスは宿主の知覚神経節に潜伏感染する。そして免疫抑制状態でウイルスが再活性化すると帯状疱疹を発症させる。水痘発症予防法として現在、水痘生ワクチンが存在する。水痘生ワクチンは現在任意接種であるが将来は定期接種になることが強く望まれる。

帯状疱疹の発症予防には液性免疫に加え、細胞性免疫応答が関与していることが示唆されている。

本研究では、水痘ワクチン接種者においてウイルス特異的な細胞性免疫応答を測定し、ワクチン効果と細胞性免疫応答の関連性を解析したい。また、免疫抑制者においてウイルス特異的な細胞性免疫能を測定し、帯状疱疹発症の関連性を解析したいと考える。細胞性免疫応答は、IFN γ -ELISPOT 法を用いて行う。

H23 年度は、MR ワクチン水痘ワクチン同時接種群と水痘ワクチンまたは MR ワクチン単独接種群間で、VZV 特異的な免疫能を評価した（藤田保健衛生大との共同研究）。免疫反応を評価するため、被検児の末梢血単核球（PBMCs）を用いて ELISPOT アッセイを実施した（分担研究）。

B. 研究方法

本研究は、臨床研究に関する倫理指針を遵守し、関連する機関の倫理委員会において承認を得た上で研究を行った。

対象

藤田保健衛生大学病院、豊川市民病院小児科へ

MR ワクチン接種（第 1 期）を希望して来院した児で、水痘ワクチン同時接種に同意した 50 名と、年齢、性別をマッチさせた水痘ワクチン単独接種群 43 名および MR ワクチン単独接種群 51 名（江南厚生病院こども医療センター）。接種前、接種後（1 か月後）に採血を行った。

分担研究として当研究室では、輸送されてきた検体（分離された単核球）を用いて細胞性免疫能の測定を行った。測定は、ELISPOT アッセイにより行った。

方法

IFN γ -ELISPOT 法

採血した血液を Ficoll により末梢血単核球（PBMC）を分離、採取する。

IFN- γ 抗体をコートした 96 穴メンブレンプレートに PBMC を 2×10^5 個あるいは 4×10^5 個加え、その上に不活化した水痘ワクチン原液（阪大微研、 9×10^5 pfu/ml）を最終濃度 3×10^4 pfu/ml になるように希釈し、加える。一方、T 細胞の応答を見るため、PHA による刺激も同時に行う。37°C、5% CO₂ 条件下で 32-36 時間培養した後、プレートを洗浄し、ビオチン標識抗 IFN- γ 抗体(clone B133.5, Endogen)、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン(1:1000, BD)、TMB-H 発色液(Moss)を反応させることによりスポットを得る。スポット数の測定は KS-ELISPOT 測定装置(Karl Zeiss)により行う。

C. 研究結果

今回は、コントロール血液を用いて IFN γ -ELISPOT 法測定法を確立した。H23 年度の結果は図 1 に記す。

D. E. 考察・結論

今回、輸送されてきた末梢血単核球を用いて ELISPOT アッセイを行った。しかし、解凍した細胞は死細胞も多く、量的に測定不可能な検体もあった。即ち、保存時の細胞数と解凍時の細胞数に差が生じていた。そのため、単核球の分離、保存や輸送条件の検討が必要である。

今回は、接種後4週後に採血し細胞性免疫能測定を行ったが、実際、ワクチン接種後細胞性免疫を獲得するまでにどれくらいの期間を要するかに関する検討も必要であると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

研究協力者

(独) 医薬基盤研究所

森石永子、岡本成史

藤田保健衛生大学医学部

吉川哲史

図 1

ELISPOT

Pr No.	接種前					接種4週間後				
	IAHA	sp-ELISA	ELISPOT			IAHA	sp-ELISA	ELISPOT		
			VZV Ag	PHA	Control			VZV Ag	PHA	Control
1	-2	50	5.0	165.0	2.5	32	466	42.0	200.0	4
2	-2	50	1.0	103.0	0.5	16	31*	n.d.	n.d.	n.d.
3	-2	50	19.0	200.0	20	16	310	0.0	124.0	1
4	-2	50	3.5	107.0	1	16	14*	13.0	200.0	2
5	-2	50	0.0	170.0	2	8	114	n.d.	n.d.	n.d.
6	-2	50	0.7	200.0	0.5	8	93	n.d.	n.d.	n.d.
7	-2	50	1.0	92.0	3	-2	50	2.5	72.0	0.5
8	-2	50	n.d.	n.d.	n.d.	2	50	9.7	200.0	3
9	-2	50	3.0	194.0	4	-2	50	0.5	200.0	1
10	-2	56	3.0	200.0	1.5	16	355	10.0	200.0	2
陽性率						70%	70%	71.4%		
						(7/10)	(7/10)	(5/7)		

n.d.:未実施

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

VZV 再活性化制御に関する解析ならびにロタウイルス感染症の重症例発生状況の把握

研究分担者 吉川哲史 藤田保健衛生大学医学部小児科 教授

研究協力者 大橋正博 藤田保健衛生大学医学部小児科 講師

研究協力者 河村吉紀 藤田保健衛生大学医学部小児科 助教

研究協力者 井平 勝 藤田保健衛生大学医療科学部、臨床工学科 准教授

研究協力者 森 康子 神戸大学大学院医学研究科、臨床ウイルス学分野 教授

研究協力者 岩田直美 あいち小児保健医療総合センター、感染免疫科

研究要旨

水痘ワクチン定期接種導入を目指し費用対効果を算出するために、免疫不全宿主における水痘、帯状疱疹重症例のアンケート調査を行った。造血幹細胞移植後などの医原性免疫不全患児での重症例が報告された。水痘ワクチンを若年性特発性関節炎の治療開始前に接種した患者を対象として、免疫の維持について比較検討した。ELISPOT アッセイによる水痘特異的細胞性免疫能の解析はできなかった。細胞の保存条件等に問題があり、現在その点を改良している。一方、液性免疫については、水痘ワクチン接種群が水痘既往のある群に比べ抗体価は有意に低く、陽性率も低かった。サイクリングプローブ法を用いたリアルタイム PCR 法による VZV 野生株・ワクチン株の迅速な鑑別法を開発した。ワクチン株、野生株共に特異的にかつ効率良くウイルス遺伝子を増幅することが確認できた。ロタウイルス重症例の全国調査を実施した。約 70%の回収率で、平成 21-22 年、22-23 年シーズンで脳炎/脳症が 19 例、32 例発生、心肺停止症例が 3 例、4 例ずつ発生していた。その結果、わが国でも年間 30~40 例のロタウイルス関連脳炎/脳症が発生し、4~5 例の心肺停止例が発生していると予測された。

A. 研究目的

水痘ワクチン定期接種化を目指し、初年度は費用対効果を左右する重要な点として、免疫不全宿主における水痘、帯状疱疹の現状把握を目指して全国規模でのアンケート調査を実施した。

また次年度は、若年性特発性関節炎 (JIA) 患児に対する水痘ワクチンを用いた感染予防法の確立を目指した研究を行った。あいち小児医療センターでは水痘免疫のない JIA 患児に対して免疫抑制療法開始前にワクチンを接種し、感染予防を行っている。よって二年目の研究では、このような介入方法が水痘感染予防に有効か評価することを目的とした。

さらに、二年目から最終年度にかけての研究では、以下の二つの検討を行った。今後わが国でも、米国同様水痘ワクチン定期接種化が進むにつれ、ワクチン接種後患者における

水疱性皮膚疾患の診療時に、varicella-zoster virus (VZV)-野生株とワクチン株との型判別が重要となる。サイクリングプローブ法は、DNA-RNA からなるキメラプローブと RNase の組み合わせにより SNP を含む特定塩基配列を効率よく検出できる新たな方法である。そこで今年度の研究では、このシステムを用いて VZV ワクチン株、野生株の鑑別方法開発を試みた。

次に、我々の施設ならびに関連施設において、平成 22-23 年シーズンに、4 例のロタウイルス胃腸炎に関連した死亡例と、重度の後遺症を残した脳炎例を経験した。そこで、本邦でも新たにワクチンが導入されたロタウイルス関連の死亡例、脳炎例がどれくらい発生しているか明らかにすることを目的として全国調査を行った。

B. 研究方法

I. 水痘、帯状疱疹重症例についての全国調査

1. 対象

小児科の入院施設がある、全国 3357 施設を対象にアンケート調査を行った。観察期間は 2007 年 1 月から 2008 年 12 月までの 2 年間とし、医原性免疫不全宿主に発症した水痘、帯状疱疹による重症化症例を調査した。

2. 方法

1. 一次調査

はじめに一次調査として、全国の 3357 施設に往復はがきによるアンケートを郵送した。設問は①症例の有無、症例があった場合は②疾患(水痘か帯状疱疹のどちらか)、③年齢、④性別、⑤基礎疾患、⑥予後について行った。

2. 二次調査

一次調査で対象症例があると報告した 8 施設、9 症例についてさらに詳細な解析を進めるために二次調査を実施した。調査内容は以下の通りである。

1) 水痘ワクチン接種歴

a) あり、b) なし、c) 不明 から選択。

2) 水痘罹患歴

a) あり、b) なし、c) 不明 から選択。

3) 合併症

疾患名を記入

4) 基礎疾患

疾患名を記入

5) 後遺症

a) あり、b) なし、c) 死亡 から選択。

6) 入院期間

入院期間を記入

7) 感染源

a) 家族内、b) 院内感染、c) 幼稚園・学校、d) その他、e) 不明 から選択。

7) その他特記すべき事

合併症・後遺症の詳細等を記入

II. JIA 患児における治療開始前水痘ワクチン接種の有用性についての検討

対象: あいち小児保健医療総合センター感染免疫科に入院した JIA 患児 29 名。全例がメトトレキサート少量パルス療法を受けており、3 名はエタネルセプト、5 名はトシリズマブの投

与を受けている。

方法: 治療開始前に水痘既往歴がなく水痘ワクチンを接種した症例 12 例、水痘既往のあった症例 15 例、水痘既往があったがワクチンを接種した症例 2 例から、治療中に血清 1ml とヘパリン加血 5ml を採取。血清は抗体測定用に保存、全血は ELISPOT 解析用に単核球を比重遠心法で分離し液体窒素中に保存した。水痘抗体価は IAHA 法と ELISA 法(IgG)で測定した。

III. サイクリングプローブ法による VZV 野生株・ワクチン株の鑑別法開発

VZV ワクチン株と野生株間で遺伝子変異が多く認められる ORF 62 の中に標的領域を設定し、プライマー(野生株、ワクチン株共通)、と野生株、ワクチン株用の型特異的プローブを設計した。標的領域をサブクローニングし DNA を抽出後、コピー数を決定、段階希釈して感度決定などの基礎検討に用いた。リアルタイム PCR 反応は StepOne (ABI)で行い、それぞれの型特異プローブによるシングル反応に加え、両プローブをミックスした Multiplex 反応でも検討した。

IV. ロタウイルス感染に伴う重症例の疫学調査

調査期間を、平成 21 年 9 月 1 日～平成 22 年 8 月 31 日(平成 21-22 年シーズン)と平成 22 年 9 月 1 日～平成 23 年 8 月 31 日(平成 22 年-23 年シーズン)に分けて調査した。対象症例は、ロタウイルス関連の脳炎/脳症と来院時心肺停止症例とした。アンケート送付先は、全国の小児の入院設備のある施設、1365 施設。

(倫理面への配慮)

JIA 患児における、水痘ワクチンの効果判定についての検討では以下のような倫理的配慮をした。説明文書を使用し患者に説明、同意書に署名を得た後実施。個人情報の保護、試料保存についても説明文書に記載。連結可能匿名化により個人情報を保護する。対照表は暗号化した上で、パスワードにて管理されたエクセルファイルにて管理する(分担研究者吉川哲史教授室内で施錠管理されたコンピューター。検体輸送に際しては、検体ラベルに

はコード番号のみを記載し、後に別に保管した対照表を基に主任研究者のみ連結化が可能となるような形をとる。使用済みの検体は小児科学教室にて一括して管理、保存され、研究終了に伴い廃棄される。得られた検体は、本研究以外には使用しない。

サイクリングプローブ法による VZV 野生株・ワクチン株の鑑別法開発において患者からの皮疹部拭い液を使用。以前の研究で保存してあった検体を使用したため、研究内容を学内の倫理委員会へ提出し承認を得た。検体を採取した施設の小児科外来において、今回の研究内容を掲示し、個人情報の保護等について説明の上、非同意の場合は申し出てもらう形をとった。

C. 研究結果

I. 水痘、帯状疱疹重症例についての全国調査

1) 医原性免疫不全宿主に発症した水痘、帯状疱疹による重症化症例の発生頻度

一次調査のアンケート回収数は 2406 施設(回収率 71.6%)であった。閉院・閉科・記載不備などを除いた有効回答数は 2248 施設(回収率 70.0%)あり、そのうち医原性免疫不全宿主に発症した水痘、帯状疱疹による重症化症例は 8 施設から 9 症例が報告された。この 8 施設に二次調査を依頼しさらに詳細に調査したところ、患児が免疫不全状態ではなかった例が 1 例、免疫不全は存在したものの医原性ではなく先天性であったものが 1 例、今回の観察期間からは外れる症例が 1 例含まれていたためこれら 3 例は除外した。また二次調査で新たに 1 例追加記入されていた施設もあり、最終的に 6 施設・7 症例について解析を行った。

2) 疾患

医原性免疫不全宿主に発症した水痘または帯状疱疹による重症化症例は計 7 症例認め、水痘 6 例、帯状疱疹 1 例であった。

3) 年齢、性別

平均年齢は 8.0 歳(4~18 歳)であり、4 歳・5 歳が各 2 例ずつと半数以上を占めた。その他は 7 歳・13 歳・18 歳が各 1 例あった。今回の調査では女児の報告はなく 7 例全例男児であ

った。

4) 水痘ワクチン接種歴、水痘罹患歴

2 例については記載がなかったが、記載のあった 5 例はすべて水痘ワクチン接種歴がなく水痘罹患歴もなかった。

5) 感染経路

院内感染例を 1 例認めた。残りは家族内 1 例、幼稚園 1 例、外出先が 1 例、不明が 1 例、未記入が 2 例であった。

6) 基礎疾患

基礎疾患としては悪性腫瘍が 6 例と最多であり、そのうち詳細不明な例を除けば全例白血病であった。その他としては腎疾患が 1 例であった。

7) 合併症

合併症は脳炎・脳症が 2 例、肺炎 1 例、肝炎 1 例、播種性血管内凝固症候群 1 例、基礎疾患の悪化が 1 例、播種性水痘が 1 例という結果であった。

8) 入院期間・後遺症・予後

入院期間の記載は 2 例のみであったが、臨床経過の記載内容をみると長期間の入院が推測された。今回の調査では死亡例を 1 例認めたが、その他の症例で後遺症を残したものはなかった。

II. JIA 患児における治療開始前水痘ワクチン接種の有用性についての検討

今回の検討では、ELISPOT アッセイによる水痘特異的細胞性免疫能の解析はできなかった。細胞の保存条件等に問題があり、現在その点を改良している。一方、液性免疫については図 1 に示す通りで、水痘ワクチン接種群が既往のある群に比べ抗体価は有意に低く、陽性率も低かった。

図 1. JIA の免疫抑制療法開始前水痘ワクチン接種群と水痘罹患の既往がある患児群間での治療開始後水痘抗体価の比較

水痘罹患 vs 水痘ワクチン接種

	①群 ワクチン接種 (n=12)		②群 水痘罹患 (n=15)	
	抗体価(2 ⁿ)	陽性率	抗体価(2 ⁿ)	陽性率
IAHA法	2.67*	66.70%	4.87*	86.70%
ELISA法	-	100%	-	100%

* $p=0.02$

Ⅲ. サイクリングプローブ法による VZV 野生株・ワクチン株の鑑別法開発

ワクチン株、野生株の単独リアルタイム PCR 反応は、 10^{-1} – 10^6 コピー/反応の間で優れた直線性と相関係数(図1:野生株 $R^2=0.99$ 、図2:ワクチン株 $R^2=0.98$)を示した。この条件下でワクチン株プローブは 10^5 コピーの野生株と、野生株プローブは 10^5 コピーのワクチン株と交差反応を示さなかった。Multiplex 反応においても交差反応を認めず、それぞれ標的遺伝子配列を特異的に増幅可能であった。

図 1. VZV 野生株プローブの初期検討

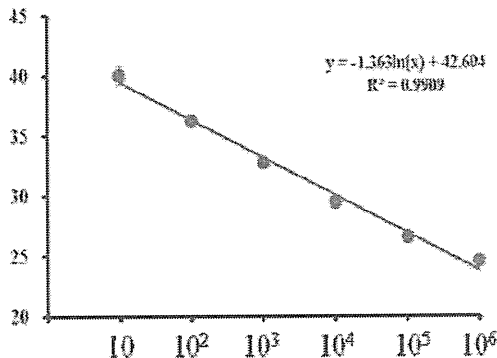
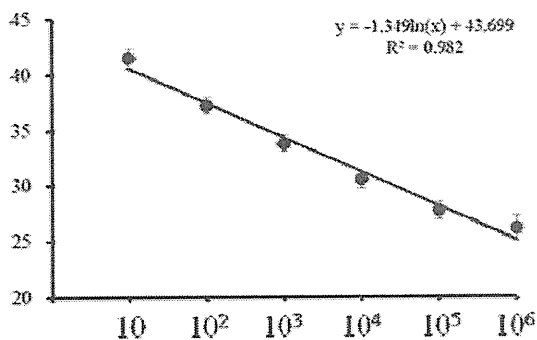


図 2. VZV ワクチン株プローブの初期検討



Ⅳ. ロタウイルス感染に伴う重症例の疫学調査

一次調査は 958 施設 (70.2%) から回答があり、該当症例は 48 施設から 58 症例の報告があった。各シーズン毎の該当症例の発生状況は、平成 21-22 年シーズン: 脳炎/脳症が 19 例 (男児 10 例、女児 9 例)、年齢の中央値は 2 歳 7 カ月 (10 カ月から 9 歳 4 カ月)、心肺停止症例 3 例 (男児 1 例、女児 2 例)、年齢の中央値は 1 歳 6 カ月 (7 カ月から 4 歳 9 カ月)。平成 22-23 年シーズン: 脳炎/脳症が 32 例 (男児 19 例、女児 13 例)、年齢の中央値は 2 歳 7 カ月 (3 カ月から 12 歳 7 カ月)、心肺停止症例 4 例 (男児 4 例、女児 0 例)、年齢の中央値は 11 カ月 (4 カ月から 1 歳 0 カ月)。予後は、心肺停止例は全例死亡。平成 21-22 年脳炎/脳症例 13 例は後遺症なし、4 例後遺症あり、2 例死亡。平成 22-23 年脳炎/脳症例 16 例は後遺症なし、10 例後遺症あり、6 例死亡。つまり、平成 22-23 年シーズンは脳炎、心肺停止症例を合わせて 10 例死亡していた。

D. 考察

I. 水痘、带状疱疹重症例についての全国調査

一次調査の回収率は 70% で、水痘 6 例、带状疱疹 1 例の計 7 例の重症例の報告があった。重症例の半数以上の 4 例が大学病院、1 例が小児病院からの報告であった。医原性の免疫不全患者は大学病院などの比較的大規模な施設で治療を受ける場合が多いと考えられる。また水痘、带状疱疹が重症化した際も同様の施設で治療を受けることが多いと思われる。今回の調査はそれを裏付ける結果となった。一次調査の返信状況をみると、未回答の大学病院、小児病院や他の大規模施設で未報告例が若干ある可能性はあるが、今回の調査により現状のほぼ全貌を把握できたのではないかと考えられる。

今回、7 例のうち 2 例の記載不備例を除く 5 例全例で水痘ワクチン接種歴はなく、水痘罹患歴もなかった。また発症年齢は 4~5 歳が半数以上を占め、通常の水痘好発年齢と矛盾しない結果であった。よって、定期接種化に際し

最も現実的な接種時期である、1期MRワクチン接種との同時接種を実施すれば今回の報告例は全例発症阻止できた可能性が高い。さらに、感染経路についても一般的な水痘同様家族内、保育施設に加え院内感染例を1例認めた。免疫不全宿主は現行の弱毒生ワクチン接種を受けることができない場合も多く、ワクチンによる個人防衛手段だけではこのような症例をなくすことは不可能である。よって、水痘ワクチン定期接種を導入し herd immunity を向上させ、水痘流行を阻止することがこのような免疫不全宿主を VZV 感染から守るために極めて重要なことが理解できる。

基礎疾患は7例中6例が悪性腫瘍で1例が腎疾患であった。白血病患児での播種性水痘は良く知られており、血液・腫瘍専門医の間でもこのような症例で皮疹出現前に激しい腰背部痛が前駆症状として認められることは良く認識されている。合併症・予後に関しては、骨髄移植後に graft versus host disease 治療のため免疫抑制剤投与を受けていた患児が播種性水痘となり死亡したが、他の症例では長期間の治療を要したものの特に大きな後遺症を残すことなく治癒していた。これは、主治医の適切な早期診断、治療が功を奏した可能性が考えられる。幸い、固形臓器移植症例や小児リウマチ性疾患、炎症性腸疾患患児は今回の報告例の中には認められなかった。しかしながら、このような基礎疾患を持つ患児での重症水痘例の報告も多く、今後も引き続き今回同様の調査を継続してゆく必要があるものと思われる。

今回、入院期間の記載は2例のみであったが、臨床経過の記載内容をみると急性骨髄性白血病の水痘症例において脳炎を合併し、長期間のアシクロビル投与に抵抗性でホスカルネットが奏功した症例などいずれも長期間の入院が推測された。また死亡例については、莫大な医療費だけでなく患児の生涯賃金損失分も考慮せねばならず、その経済的損失は計り知れない。しかしながら、今後ワクチンの費用対効果をより明確にするためには、今回報告されたような症例に投入された医療資源の正確な情報が必要と思われ今後の全国調査では是非解明してゆきたい。

II. JIA 患児における治療開始前水痘ワクチン接種の有用性についての検討

JIA 患児は、診断確定後いわゆる免疫抑制療法を開始までに若干の時間的余裕があるため(NSAIDs による治療時期)、今回計画したような免疫抑制療法開始前の水痘ワクチン投与が可能となる。今回は水痘特異的液性免疫の解析だけにとどまったが、ワクチン接種群と水痘既往のある患児との間での抗体価比較が可能となった。また、ワクチン接種後の観察期間やその間の水痘患者との接触歴、水痘感染の有無などの情報は集めていないが、今後これらの情報を収集しつつ、水痘特異的細胞性免疫能の解析を進めてゆく予定である。ELISPOT アッセイの実施に際し、検体の輸送や細胞保存条件等に検討の余地があり、今後そのあたりの条件設定が研究遂行上の鍵になると思われる。

III. サイクリングプローブ法による VZV 野生株・ワクチン株の鑑別法開発

サイクリングプローブによる VZV 野生株・ワクチン株鑑別法は、ワクチン株、野生株共に特異的にかつ効率良くウイルス遺伝子を増幅することが確認できた。今後、臨床検体を用いた検討を加え現場での有用性について検討を進める予定である。

IV. ロタウイルス感染に伴う重症例の疫学調査

ロタウイルス感染に伴う脳炎/脳症例、心肺停止症例についての全国調査を行った。約70%の回収率で、平成21-22年、22-23年シーズンで脳炎/脳症が19例、32例発生、心肺停止症例が3例、4例ずつ発生していた。よって、わが国でも年間30~40例のロタウイルス関連脳炎/脳症が発生し、4~5例の心肺停止例が発生していると予測される。また、死亡例は年間十数例発生していると推測される。二シーズンのみでの調査のため不確実ではあるが、平成21-22シーズンに比べ、平成22-23年シーズンのほうが報告例が多かった。今後ロタウイルス胃腸炎の発生状況とも照らし合わせながらより詳細に検討するとともに、同様の調査を継続しシーズンごとの重症例発生頻度に差が

あるのかどうか検討してゆく必要がある。

E. 結論

1. 免疫不全患児における重症水痘、帯状疱疹症例の全国調査で、抗ウイルス剤の投与が広く行われているにもかかわらず、いまだ極めて重症な症例が発生していることが明らかとなった。
2. JIA 患児に対する、免疫抑制療法開始前の水痘ワクチン投与の有効性が示唆された。今後、実際の感染防御効果の解析を進める予定である。
3. サイクリングプローブ法を用いたリアルタイム PCR 法による VZV 野生株・ワクチン株の迅速な鑑別法を開発した。
4. ロタウイルス重症例の全国調査を実施した。その結果、わが国でも年間 30~40 例のロタウイルス関連脳炎/脳症が発生し、4~5 例の心肺停止例が発生していると予測された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yoshikawa T, Ohashi M, Miyake F, Funjita A, Usui C, Sugata K, Suga S, Hashimoto S, Asano Y. Nationwide survey of exanthem subitum-associated encephalitis in Japan. *Pediatr Neurol* 41:353-8, 2009.
2. Ohta A, Fujita A, Murayama T, Iba Y, Kurosawa Y, Yoshikawa T, Asano Y. Recombinant human monoclonal antibodies to human cytomegalovirus glycoprotein B neutralize virus in a complement-dependent manner. *Microbe Infect* 11:1029-36, 2009.
3. Suzuki R, Ihira M, Enomoto Y, Yano H, Maruyama F, Emi N, Asano Y, Yoshikawa T. Heat denaturation increases the sensitivity of the cytomegalovirus loop-mediated isothermal amplification method *Microbiol Immunol*, 54:466-70, 2010.
4. Ihira M, Sugiyama H, Enomoto Y, Higashimoto Y, Sugata K, Asano Y, Yoshikawa T. Direct detection of human herpesvirus 6 DNA in serum by variant

specific loop-mediated isothermal amplification in hematopoietic stem cell transplant recipients. *J Virol Methods*. 167:103-6, 2010.

5. Yoshikawa T, Sugata K, Asano Y, Ihira M, Kumagai T. Kinetics of the cytokines and chemokines in cases with primary HHV-6 infection. *J Clin Virol* 50(1):65-8, 2011.
6. Kawamura Y, Sugata K, Ihira M, Mihara T, Mutoh T, Asano Y, Yoshikawa T Different characteristics of human herpesvirus 6 encephalitis between primary infection and viral reactivation. *J Clin Virol* 51(1):12-9, 2011.
7. Ogata M, Satou T, Kawano R, Yoshikawa T, Ikewaki J, Kohno K, Ando T, Miyazaki Y, Ohtsuka E, Saburi Y, Kikuchi H, Saikawa T, Kadota J. High incidence of cytomegalovirus, human herpesvirus-6, and Epstein-Barr virus reactivation in patients receiving cytotoxic chemotherapy for Adult T cell leukemia. *J Med Virol*. 83:702-9, 2011.
8. Sugata K, Taniguchi K, Yui A, Asano Y, Hashimoto S, Ihira M, Yagasaki H, Takahashi Y, Kojima S, Matsumoto K, Kato K, Yoshikawa T. Analysis of rotavirus antigenemia in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Transplant Infect Dis* doi: 10.1111/j.1399-3062.
9. Higashimoto Y, Ohta A, Nishiyama Y, Ihira M, Sugata K, Asano Y, Ablashi DV, Yoshikawa T Development of human herpesvirus 6 variant specific immunoblotting assay. *J Clin Microbiol* (in press)
10. Kawamura Y, Ohashi M, Asahito H, Takahashi Y, Kojima S, Yoshikawa T. Posterior reversible encephalopathy syndrome in a child with post-transplant HHV-6B encephalitis. *Bone Marrow Transplant* (in press)

2. 学会発表

1. Ohta A, Yoshikawa T, Fujita A, Murayama T, Iba, Y, Kurosawa Y, Asano Y. 2009

Human monoclonal antibodies isolated from phage-displayed library neutralized human cytomegalovirus. (12th

International CMV/Beta Herpesvirus Wrokshop 5/10-14/09, Boston, MA)

2. 菅田 健、吉川哲史、谷口孝喜、浅野喜造 平成 21 年 基礎疾患のある長期入院患児におけるロタウイルス感染症の病態解明(第 50 回日本臨床ウイルス学会、高知、6/13-14)
 3. 吉川哲史、熊谷卓司、菅田 健、井平勝、浅野喜造 平成 21 年 HHV-6 初感染時の血清中サイトカイン・ケモカインの動態解析(第 50 回日本臨床ウイルス学会、高知、6/13-14)
 4. 中井英剛、菅田健、吉川哲史、浅野喜造 平成 21 年 医原性免疫不全宿主に発症した水痘または帯状疱疹による重症化例の検討(第 13 回日本ワクチン学会学術集会、札幌、9/27/09)
 5. 菅田 健、吉川哲史、谷口孝喜、浅野喜造 平成 21 年 免疫不全児におけるロタウイルス感染症の病態解明:院内感染リスクの高い小児病棟内での状況把握(第 57 回日本ウイルス学会学術集会、東京、10/25-27)
 6. 菅田健、中井英剛、浅野喜造、吉川哲史、深谷修作、吉田俊治、岡本成史、森康子 平成 22 年 膠原病患者における帯状疱疹発症リスクの解析:水痘帯状疱疹ウイルス ELISPOT アッセイによる特異的細胞性免疫能の評価(第 25 回 ヘルペスウイルス研究会、静岡、5/27-29)
 7. 吉川哲史、中井英剛、菅田健、西村直子、尾崎隆男、永井崇雄、浅野喜造 平成 22 年 突発疹後 MR ワクチン接種間隔に関する検討(第 14 回 日本ワクチン学会、東京、12/11-12/10)
 8. 大橋正博、河村吉紀、加藤伴親、西村直子、尾崎隆男、吉川哲史 平成 23 年 MR ワクチンと水痘ワクチン同時接種の効果ならびに安全性に関する検討(第 52 回日本臨床ウイルス学会、津、6/11-12/11)
 9. 河村吉紀、谷口孝喜、加藤伴親、大橋正博、尾崎隆男、西村直子、吉川哲史 平成 23 年 ロタウイルス(RV)抗原血症の病態解明:マトリックスメタロプロテナーゼ(MMP)の関与(第 52 回日本臨床ウイルス学会、津、6/11-12/11)
 10. 井平勝、榎本喜彦、東本祐紀、菅田健、河村吉紀、吉川哲史 平成 23 年 サイクリングプローブ法を用いた VZV ワクチン株、野生株の鑑別法開発(第 52 回日本臨床ウイルス学会、津、6/11-12/11)
 11. 大橋正博、河村吉紀、吉川哲史、加藤伴親、西村直子、尾崎隆男 平成 23 年 水痘ワクチン定期接種化にむけて -水痘・MR ワクチンの同時接種に関する効果ならびに安全性の検討-(第 47 回中部日本小児科学会、名古屋、8/21/11)
 12. 後藤研誠、西村直子、吉永麻衣、岡井佑、大島康徳、河辺慎司、細野治樹、山本康人、渡辺一功、尾崎隆男、吉川哲史 平成 23 年 致死的な経過をとったロタウイルス感染症の 2 例(第 47 回中部日本小児科学会、名古屋、8/21/11)
 13. 後藤研誠、西村直子、吉永麻衣、岡井佑、大島康徳、河辺慎司、細野治樹、山本康人、吉川哲史、尾崎隆男 平成 23 年 極めて予後不良であったロタウイルス感染症の検討(第 43 回 日本小児感染症学会総会・学術集会、岡山 10/29-30/11)
- 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

IV. 日本脳炎

国の施策変更に伴う乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン接種の動向：福岡市の経験
平成 21 年度～平成 23 年度

研究分担者 宮崎千明 (福岡市立西部療育センター)

研究要旨

乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンは平成 21 年 6 月に発売され、平成 22 年 4 月から部分的に積極的勧奨が再開された。同年 8 月末に積極的勧奨の差控えによる接種遅れ者への対応と 2 期の定期接種に使用可能になった。平成 23 年 4 月から勧奨年齢の拡大が図られ、5 月には特例対象者への定期接種(20 歳未満まで)も認められた。これらの国の施策変更前後の接種状況の変化を福岡市において調査した。

新ワクチンの登場と接種勧奨の再開により、年間接種数は大幅に増加し、平成 16 年度レベルを大幅に上回っていた。1 期初回の接種数は順調に伸びたが、1 期追加、2 期接種、接種遅れ者への接種は伸び悩んでいた。幼児の免疫ギャップはなお残存しており、さらなる接種勧奨の追加と啓発が期待される。

A. 研究目的

2009 年 2 月に乾燥細胞培養ワクチン(以下、新ワクチンと略す)が製造承認され、6 月 2 日に発売され、1 期の定期接種として接種可能になった。平成 22 年 4 月には標準的接種年齢(3 歳)で積極的勧奨を再開した。8 月には 2 期の定期接種として接種が可能になり、同時に、国の積極的勧奨の差控えにより接種が遅れていた 1 期接種の残り回数を、定期接種年齢内で定期接種として可能とする施策がとられた。

さらに平成 23 年 4 月には 4 歳と 9-10 歳に接種勧奨を拡大した。5 月に国の接種勧奨差し控え中に接種機会を逸した特定年齢層に対して 20 歳未満まで定期接種で行える政令改正がなされた。

これら国の追加施策変更によって、実際の予防接種がどのように反応したか、福岡市で調査し検討したので報告する。これらの施策変更によって実際の予防接種がどのように反応したのか、福岡市で調査し検討した。

B. 研究方法

福岡市における乾燥細胞日本脳炎ワクチン(新ワクチン)の月別、期別、接種実数を市の保健福祉局より提供を受け、調査、解析した。また、年次別の日本脳炎ワクチンの

実施率を検討した。なお、調査期間における 1 期接種対象年齢の福岡市の年間出生数は約 13,000 人で推移していた。

また、データの一部に平成 21 年度に接種されたマウス脳由来日本脳炎ワクチン(旧ワクチン)の接種数データも加えた。

本稿でいう予防接種実施率とは、標準的接種年齢の対象者数で実際の接種者数を除いたものであり、ある特定年齢における予防接種率を示すものではない。

また、個人情報を取り扱わず、接種数のみをデータとして用いた(倫理面への配慮)

C. 研究結果

図1に、福岡市における平成 16 年度から平成 22 年度、および 23 年度 10 月末までの日本脳炎ワクチンの期別年間接種数の推移を示した。平成 19 年度から徐々に回復していた 1 期の接種数は、平成 20 年度には勧奨差し控え前のレベルに回復し、新ワクチンの使用が始まった平成 21 年度にそれを越え、平成 12 年度には通常年の 2 倍以上の接種数に達した。しかし 2 期接種数は極めて緩やかな回復で、平成 22 年度に 16 年度と同等になり、23 年度はそれよりわずかに増加した。

図2に平成 21 年度の接種数の推移を示し

た。平成 21 年 6 月の新ワクチン接種開始から速やかに新ワクチンの接種者数が上昇し、秋～冬に接種数が低下したが年度末に再上昇して 22 年度に続いた。

2 期接種は新ワクチンが定期接種として接種できなかったため、旧ワクチンが少数接種され、秋以降接種数は低下していった。

図3に 22 年度～23 年度 10 月までの期別、月別日本脳炎ワクチンの接種者数の推移を示した。平成 22 年 3 月で旧ワクチンの最終ロットの有効期限が終了したので、4 月からの接種は全て新ワクチンになったが、同時期に氷人的接種年齢である 3 歳の接種勧奨が再開されたため、4 月から接種数は高いレベルを示し、8 月にピークを迎え、秋も高い水準を維持した。

また、国の積極的勧奨の差控え中に接種が遅れていた 1 期接種の救済策が同年 8 月末に示されたことを受けて、9 月から特例接種の 1 期初回分、1 期追加分が始まったが、接種数は多くなかった。

この時、新ワクチンが 2 期の定期接種として認められたため、2 期接種が立ち上がった。

平成 22 年度に大幅に増加した接種数が、平成 23 年にはほぼ前年規模で推移しながら 8 月に接種のピークを迎えた。他の特例接種(本来の予防接種法による接種時期を外れた対象者)も基本的には通常の各期別接種と同じ動向を示した。

図4に平成 21 年度～23 年度の 1 期接種を合計して示した。1 期追加接種はそれぞれ前年の 1 期初回接種の半数の接種数が期待されたが、平成 22 年度、23 年度ともに伸び悩んだ。

図5に 1 期のキャッチアップ接種の接種数を示した。特例対象者に対する接種が政令で 20 歳未満まで拡大されたが、夏にやや接種者数が増加したが効果は少なかった。

図6に 2 期接種数を示した。平成 21 年度末までは全て旧ワクチンが接種された。平成 22 年 8 月末に 2 期接種に新ワクチン使用が認められたため、9 月から 2 期接種が始まり 10 月に頂点となった。

平成 23 年 5 月 20 日に定期接種年齢を越えた接種漏れ者(特例対象者)も対象に 2 期接種が可能になり、8 月にピークを示したが、前年度のピークには及ばなかった。

D. 考察

国立感染症研究所感染症情報センターのデータによれば、2000 年～2011 年 7 月までの日本脳炎患者の地域発生は西日本に多く、年平均 6 例の発生が見られた。また、2005 年 5 月の日本脳炎ワクチンの積極的勧奨が差し控え後 7 シーズンが過ぎ、その間、計 6 例(2006 年に 3 歳熊本県、2008 年に 7 歳熊本県、1 歳高知県、2010 年には 6 歳山口県、2011 年に 1 歳沖縄県、10 歳福岡県)の小児の日本脳炎患者が発生したと報告された。

表1にマウス脳由来ワクチンから乾燥細胞培養ワクチンへの転換とその前後における施策や状況の変化を時系列で簡単に示した。

日本脳炎ワクチンの組織培養日本脳炎ワクチン(新ワクチン)は平成 21 年 2 月に承認、6 月から発売され、同時に 1 期接種のみに定期接種が認められた。しかし 2 期接種では、新ワクチンの安全性と有効性が確認できないとの理由で定期接種として認められず、マウス脳由来ワクチン(旧ワクチン)のみが使用された。また、既に供給量が減っていた旧ワクチンの最終ロットが平成 22 年 3 月に有効期限が切れ、その後は全て新ワクチンになった。

接種勧奨の差し控え後も、定期接種ができるとされていたが、予防接種実施率は 5% 前後と、全国的に極めて低調に推移した。

しかし福岡市では、新ワクチン登場前の平成 20 年度に 1 期で 60%を越える水準まで回復していた。そして平成 21 年 6 月に発売された新ワクチンは、接種医と被接種者の保護者に受け入れられ、1 期初回では新ワクチンへの切り替えが比較的スムーズに進み、年実施率は 80%を越えた。

しかし平成 21 年度は国が積極的勧奨の差し控えを継続したため、各自治体は消極的な姿勢を変えることができず、新ワクチンの 1 期における接種数は年間約 100 万回接種にとどまり、実施率はなお低迷した。

平成 22 年 4 月に 1 期初回の標準的接種年齢である 3 歳で積極的勧奨が再開され、さらに新ワクチンの追加接種試験データ(本研究班による中間報告)をもとに、2 期接種に接種可能になり(添付文書改訂)、8 月末には省令改正により 2 期の定期接種に新ワクチンが使用できるようになった。しかし、日本脳炎ワクチンの接種時期のピークを過ぎ

ていたこともあり、実施率は期待されたほど上昇しなかった。

また、同時に国が積極的勧奨を差し控えている間に接種が遅れていた児に対して、1期の接種回数に残り回数を1期の定期接種の年齢(6カ月～90カ月未満)、または2期の定期接種年齢(9歳～13歳未満)、の間に定期接種できる施策がとられた。この特例接種も接種時期が9月からになったため、大きくは伸びなかった。

結果にしめしたように、平成21年度に始まった新ワクチンの接種は、平成22年度に大きく接種数を伸ばし、その傾向は平成23年度も続いており、施策変更は有効であったと考えられる。

平成23年4月に、4歳と、9-10歳の年齢に勧奨を再開し、同年5月20日には特例対象者(平成7年6月1日～19年4月1日生まれ)には、20歳未満まで定期接種を可能とする政令改正が行われた。

1期の接種数は平成23年度も順調に伸びているが、2期追加接種はやっと平成16年度レベルに回復したに過ぎない。1期接種の中でも、1期初回の回復はよいが、1期追加接種数は期待値に至っていない。

平成23年4月に国内2社目の乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンが発売されたので、供給量は潤沢になったので、残る5-8歳への勧奨再開と、接種漏れ者へのさらなる啓発(情報伝達)が必要と思われる。

E. 結論

乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンは、平成21年6月の発売、平成22年4月の3歳の積極的勧奨の再開、8月末の2期定期接種への使用開始と接種遅れ者への救済策が出された。さらに平成23年度には4歳、9-10歳への勧奨再開と、定期年齢超過者に定期接種を認める政令改正がなされた。

国の施策変更に伴い、接種数はよく反応して増加し、接種数は勧奨差し控え前の平成16年度を大幅に上回り、キャッチアップ接種がすすんでいることが示された。しかし、1期初回の接種数は順調に回復しているが、1期追加、2期接種はなお伸び悩んでおり、更なる接種率の上昇が必要である。

残された年齢層(5歳～8歳)への接種勧奨の拡大と1期追加接種や2期接種の重要性の啓発が望まれる。

F. 文献

厚生労働省の日本脳炎ワクチンに関する政令改正、省令改正、諸通知文書を適宜引用した。

G. 研究発表(日本脳炎関連分)

1. 論文発表(原著)なし

2. 論文発表(総論)

1) 宮崎千明: 乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン. 小児科 51:917-922, 2010

2) 宮崎千明: 日本脳炎と新しい日本脳炎ワクチン. 検査と技術 38:500-504, 2010

3) 宮崎千明: 日本脳炎新ワクチンの接種総合臨床 60(2):293-294, 2011

4) 宮崎千明: 日本脳炎ワクチン. 医薬ジャーナル 47:108-113, 2011

5) 宮崎千明: 日本脳炎ワクチン接種勧奨の再開と定期接種年齢の拡大. 薬局 62(8):3028-3031, 2011

6) 宮崎千明: 日本脳炎ワクチン. 保健師ジャーナル 67(12):1071-1076, 2011

7) 宮崎千明: 日本脳炎. 小児科臨床ピクシス 25 小児感染症最新カレンダー&マップ. 五十嵐隆ら編集、中山書店、東京、2011年、p140-14

8) 宮崎千明: 予防接種後神経合併症. 小児科臨床ピクシス 28 急性脳炎・急性脳症. 五十嵐隆ら編集、中山書店、東京、2011年、p126-129

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

図1 日脳ワクチンの施策変更と接種実数

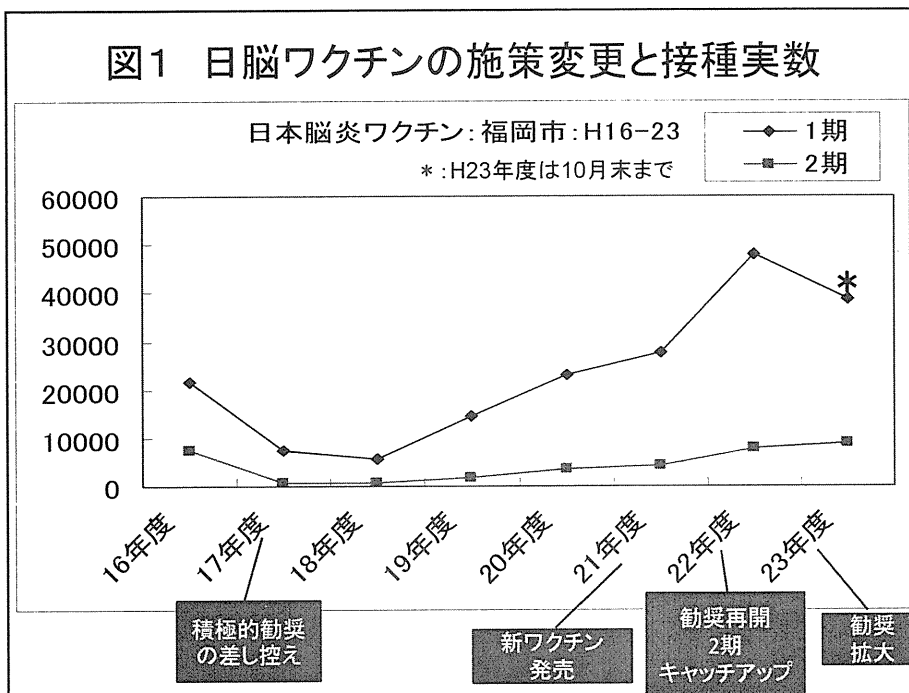


図2. 平成21年度、福岡市における
新旧日本脳炎ワクチンの接種実数の月別変移

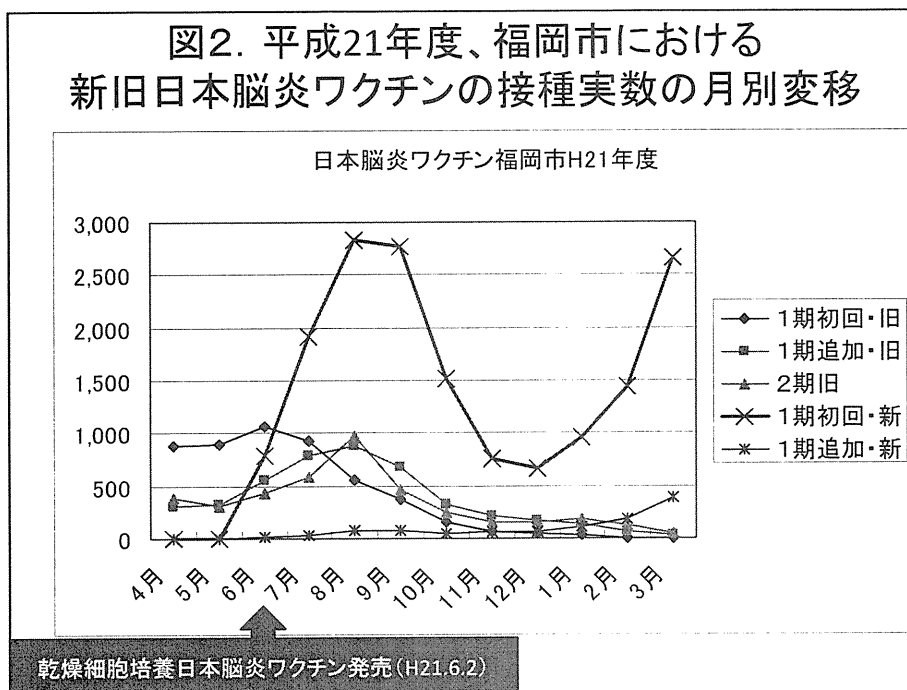


図3) 日脳ワクチン H22-23年度

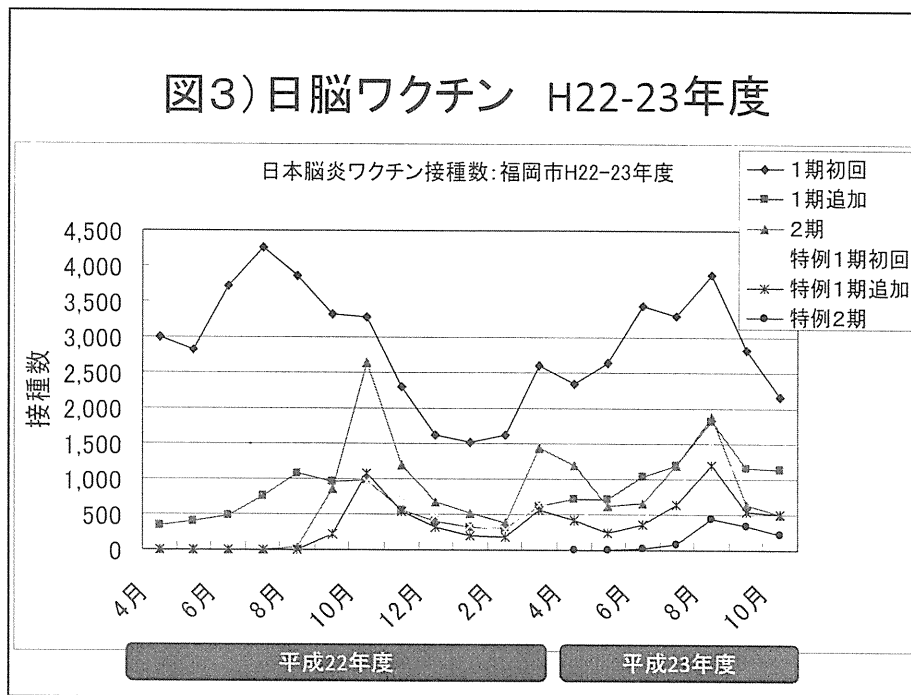


図4) 日脳ワクチン1期接種

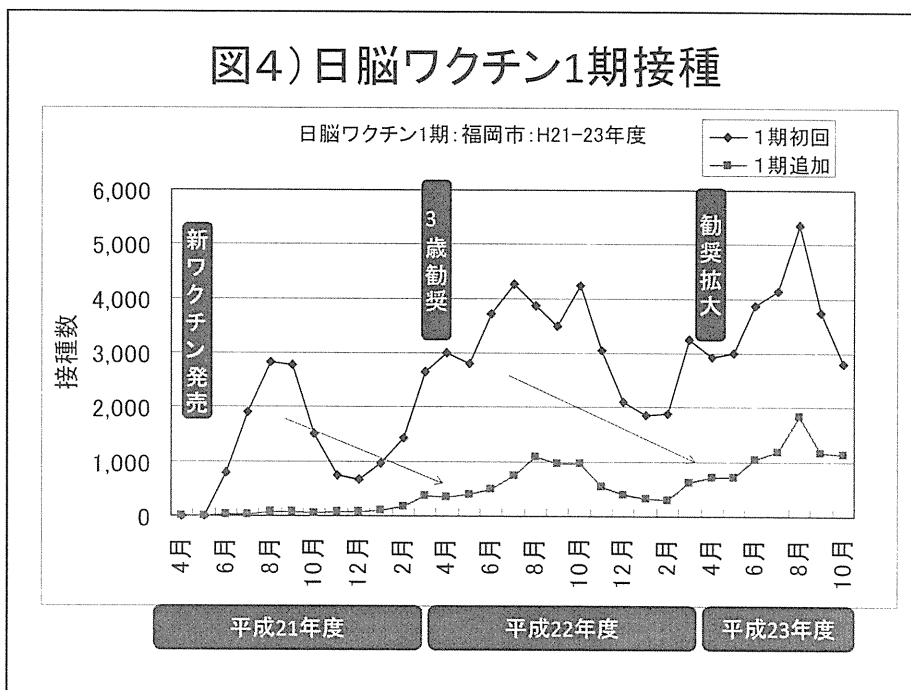


図5) 日脳ワクチン キャッチアップ接種

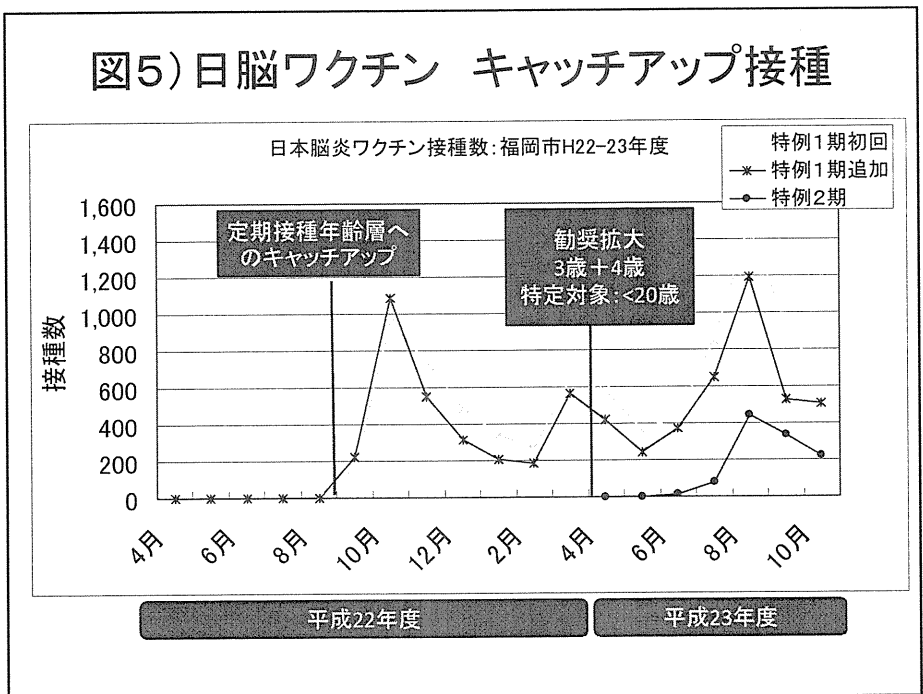


図6) 日脳ワクチン2期定期接種

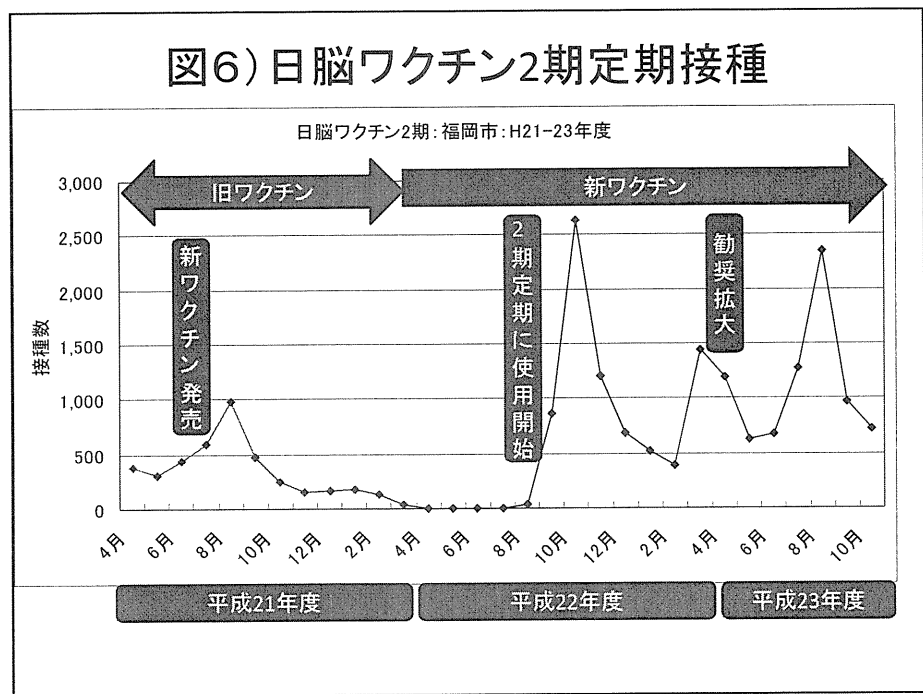


表) 日本脳炎ワクチン定期接種の経緯：
 マウス脳ワクチンから細胞培養ワクチンへ

- H17年5月 旧ワクチンの副反応認定を機に、
 突然、積極的勧奨の差し控え⇒ほぼ中止状態に
 (新ワクチン申請から4年経過)
- H21年6月 新ワクチン上市 1期のみ定期可
 (ジェービックV; 阪大微研)
- 12月 予防接種部会 日本脳炎に関する小委員会設置
 3月 追加接種に関する岡部班中間報告
- H22年4月 積極的勧奨の一部再開 (3歳)
 8月 接種漏れ者対策・2期にも定期接種可
- H23年4月 接種勧奨の拡大 (4歳、9-10歳)
 (エンセバック; 化血研)
- 5月 政令改正：対象者の拡大 (特定対象者：<20歳)

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)
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

分担研究報告書

乾燥細胞日本脳炎ワクチンの追加接種の有効性安全性に関する検討

研究代表者	岡部 信彦	国立感染症研究所感染症情報センター長
研究分担者	多屋 馨子	国立感染症研究所感染症情報センター第三室長
研究分担者	庵原 俊昭	国立病院機構三重病院長
研究分担者	中山 哲夫	北里大学北里生命科学研究所長
研究分担者	宮崎 千明	福岡市立西部療育センター長
研究分担者	岡田 賢司	国立病院機構福岡病院統括診療部長
研究協力者	神谷 齊	国立病院機構三重病院名誉院長
研究協力者	中野 貴司	川崎医科大学小児科教授
研究協力者	永井 崇雄	日本外来小児科学会予防接種委員会委員長・永井小児科医院院長
研究協力者	佐藤 弘	国立感染症研究所感染症情報センター第三室研究員
研究協力者	戸口 翔平	国立感染症研究所感染症情報センター非常勤職員
研究協力者	前田 大久	国立感染症研究所感染症情報センター非常勤職員
研究協力者	尾崎 隆男	愛知県厚生農業協同組合連合会江南厚生病院副院長
研究協力者	西村 直子	同 小児科部長
研究協力者	大柴 薫	同 治験・臨床研究審査委員会事務局
研究協力者	二井 立恵	医療法人 栄恵会白子クリニック小児科院長
研究協力者	永吉 昭一	医療法人 なかよしこどもクリニック
研究協力者	塩見 正司	大阪市立総合医療センター小児内科副部長
研究協力者	天羽 清子	同 小児救急科副部長
研究協力者	寺田 喜平	川崎医科大学小児科教授
研究協力者	長 秀男	川崎市立井田病院長
研究協力者	中尾 歩	川崎市立川崎病院小児科室長
研究協力者	井上 壽茂	財団法人住友病院内科系診療局長
研究協力者	鶴岡純一郎	聖マリアンナ医科大学 横浜市西部病院小児科医長
研究協力者	徳竹 忠臣	聖マリアンナ医科大学病院小児科講師
研究協力者	細谷 亮太	聖路加国際病院副院長
研究協力者	稲井 郁子	同 常勤嘱託医
研究協力者	渡辺 幸美	国立病院機構福岡病院臨床研究部治験管理室
研究協力者	多和 昭雄	国立病院機構大阪医療センター小児科長
研究協力者	木戸 真二	トヨタ記念病院小児科部長
研究協力者	阿辺山 知子	同 看護室治験コーディネーター
研究協力者	木村 宏	名古屋大学医学(系)研究科(研究院) 准教授