

Evaluation of ELISA Kit for Detection of Pertussis-associated IgG Antibodies

Kenji Okada

National Hospital Organization Fukuoka National Hospital

Abstract

We had an opportunity to test a kit manufactured by Denka Seiken Co., Ltd. that measures anti-PT and anti-FHA antibodies (hereinafter referred to as “this product”) and evaluate its fundamental performance. This product was an ELISA reagent with a 96-well microplate and we found that it was versatile and easy-to-handle, and had a high reproducibility of data. We also observed a high correlation of measured values between an in vitro diagnostic using a bead-based ELISA test and this product.

Introduction

Although pertussis is a vaccine-preventable disease, it may become severe in some unvaccinated infants. Meanwhile, if adults are infected, their symptoms are not always typical coughs and it is difficult to diagnose. Furthermore, adult pertussis patients are sources of infection in unvaccinated infants.¹⁻⁴⁾

In 1981, Japan lead the world in the introduction of diphtheria pertussis tetanus vaccine (DTaP) including the acellular pertussis vaccine, which mainly consisted of PT (pertussis toxin) and FHA (filamentous hemagglutinin), and the number of reported pertussis patients decreased significantly, but in recent years, the number of adult pertussis patients has relatively increased.⁵⁾ It has been considered that they replace DT routine vaccination of period II with DTaP to discourage this tendency.⁶⁾ IgG antibodies against PT and FHA must be measured to evaluate the vaccine effect, and these have been used to diagnose pertussis.^{7,8)} In regards to the measurement of serum antibodies, although the measurement of agglutination titers by bacterial aggregation is more widespread in routine clinical practice in Japan, care should be taken in the interpretation of most agglutinin titers because some of the DTaP vaccines include agglutinin⁷⁾. It has been difficult to compare data of agglutination titers with that of Western countries because the ELISA test is usually used to measure anti-PT antibodies in the West.

In this study, we tested a kit manufactured by Denka Seiken Co., Ltd. that measures anti-PT and anti-FHA antibodies and evaluated its fundamental performance.

I. Materials and Methods

I. Measurement Kit

The reagents used in this study were included in an ELISA kit newly developed by Denka Seiken

Key words : Pertussis kit, pertussis toxin (PT), filamentous hemagglutinin (FHA)

Co., Ltd. that measures serum anti-PT and anti-FHA IgG antibodies. This product consisted of the following reagents : ① A PT immobilized plate, a freeze-dried plate, ② A FHA immobilized plate, a freeze-dried plate, ③ Buffer solution, liquid form, ④ Enzyme-labeled antibodies (for PT), liquid form, ⑤ Enzyme-labeled antibodies (for FHA), liquid form, ⑥ Substrate solution, liquid form, ⑦ Concentrated washing solution, liquid form, ⑧ Stop solution, liquid form

2. Measurement Principle and Procedure for this product

The measurement principle for this product is a general ELISA test. The following is the practical procedure provided by Denka Seiken Co., Ltd.

<Preparation of Reagents>

Dilute the concentrated washing solution ten times with purified water depending on the number of samples, and use as a washing solution. Other reagents should be used without dilution.

<Preparation of Pre-diluted Samples>

Add 2 mL of buffer solution into some small test tubes according to the number of samples. Then distribute 10 μL of each sample into each test tube and mix well. Use these solutions as pre-diluted samples.

<Procedure>

Use control for PT or FHA provided separately to prepare a calibration curve. Pull out PT or FHA immobilized plates from aluminum bags according to the number of samples and set in the plate holder. Prepare a well for each blank, pre-diluted sample and each antibody titer (0, 5, 10, 20, 40, 80 and 160 EU/mL) of the control for PT or FHA.

<Step 1 (The Primary Reaction)> Instillations of Pre-diluted Samples and Controls

1) Add 100 μL of corresponding control or pre-diluted sample to PT or FHA immobilized plates in a certain order and at regular intervals. No sample or control should be added to the wells of the blank.

2) Mix for a few seconds with a microplate mixer. Cover with plastic wrap, etc., and make them stand still for 1 hour at 20-30°C.

<Step 2 (The Secondary Reaction)> Instillations of Solutions of Enzyme-labeled Antibodies

1) Remove the reaction solution in each well by aspiration in the same order and at the same intervals as in <Step 1>.

2) Add approximately 200 μL of washing solution to each well and mix for a few seconds with a microplate mixer. Remove the solution again by aspiration. Repeat these washing procedures twice more. Flip the plates upside down and beat them on some clean paper towels to remove the residual washing solution completely.

3) Add 100 μL of solutions of enzyme-labeled antibodies (for PT or for FHA) to each well in the same order and at the same intervals as in <Step 1> and mix for a few seconds with a microplate mixer. Cover with plastic wrap, etc., and make them stand still for 1 hour at 20-30°C. No solutions of enzyme-labeled antibodies should be added to the wells of the blank.

<Step 3 (Enzyme Reaction)> Instillations of Substrate Solution

1) Remove the reaction solution in each well by aspiration in the same order and at the same intervals as in <Step 1>.

2) Add approximately 200 μL of washing solution to each well and mix for a few seconds with a microplate mixer. Remove the solution again by aspiration. Repeat these washing procedures four more times. Flip the plates upside down and beat them on some clean paper towels to remove the residual washing solution completely.

3) Add 100 μL of substrate solution to each well in the same order and at the same intervals as in <Step 1> and mix for a few seconds with a microplate mixer. Cover with plastic wrap, etc., and make them stand still for 1 hour at 20-30°C under protection from light. In addition, add 100 μL of the substrate solution to the wells of the blank.

<Step 4> Instillations of Stop Solution and Measurement

1) Add 100 μL of stop solution to each well in the same order and at the same intervals as in <Step 1>. In addition, add 100 μL of the stop solution to the wells of the blank.

2) Measure with an automatic reader (dominant wavelength : 450 nm, reference wavelengths : 600~700 nm) within 30 minutes using the well of the blank as a control.

<Evaluation of Measurement Results>

1) Subtract the absorbance of the blank from that of each control.

2) Confirm that each value obtained by subtracting the absorbance of the blank from that of 10 EU/mL of antibody titer in each control is within 0.15-0.60.

3) Define the value obtained by subtracting the absorbance of the blank from that of sample as "a."

4) Plot antibody titers (EU) of each control on the horizontal axis and values obtained in 1) on the vertical axis to prepare calibration curves.

5) Based on these calibration curves, calculate the antibody titer corresponding to the absorbance of each sample (a) and display. The obtained values should be rounded down to whole numbers.

3. Serum Sample

We used serum samples from 158 patients who had visited National Hospital Organization Fukuoka National Hospital from 2005 to 2010 and had been suspected of pertussis infection.

4. Standard Substance

We dissolved the standard serum JN1H-10 (PT : 250 EU/vial, FHA : 400 EU/vial) obtained from the National Institute of Infectious Diseases in Japan into 1 mL of purified water and used this as a standard substance.

5. International Standard Serum⁹⁾¹⁰⁾

We dissolved the international standard serum 06/140 (PT : 335 IU/vial, FHA : 130 IU/vial) obtained from the National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC, U.K.) into 1 mL of purified water and used this as an international standard serum.

6. Measurement of Serum Samples, the Standard Substance and the International Standard Serum

We measured a twofold dilution series of the standard substance JN1H-10 in accordance with the above procedure and evaluated the range of absorbance and the effects by dilution. We then measured a dilution series of the international standard serum 06/140 as well and compared it with the results in JN1H-10 to evaluate the correlation between the standard unit in Japan (EU) and the international standard unit (IU).

All the serum samples were evaluated by JN1H-10. Antibody titers (EU/mL) were calculated using calibration curves prepared by controls for PT or FHA provided separately.

7. Evaluation of Changes in Measured Values by Repeated Measurement of the Same Sample

We measured two samples of known anti-PT and FHA antibody titers, a total of four samples, four times and calculated the coefficient of variation (CV, %) to evaluate within-run reproducibility of this product. We used two types of samples of known antibody titers, 20 and 80 EU/mL.

8. Correlativity with the Control Product

We used Reagent Wako for Measurement of Pertussis Bacteria Antibody Titer (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) as a control product and evaluated correlativity with this product. Since the measurement range of this product was 1~160 EU/mL and that of the control product was 1~100 EU/mL, if the antibody titer of the sample showed as out of the range for both or either of them, the sample was excluded. We calculated the slopes of regression lines and correlation coefficients for 137 samples of anti-PT antibody titers and 145 samples of anti-FHA antibody titers.

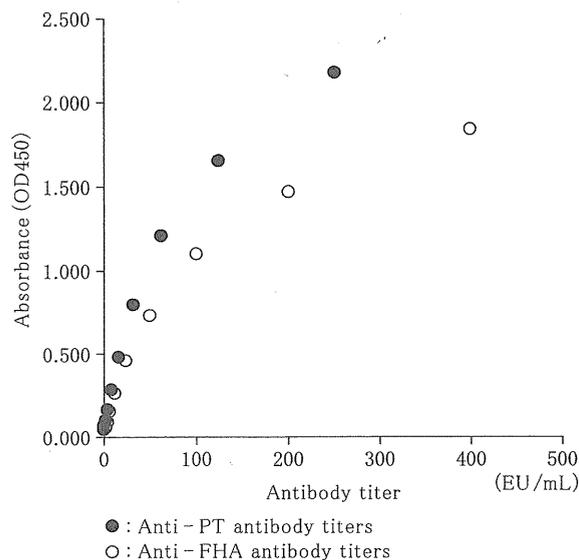


Fig. 1 Changes of absorbance in dilution series of JN1H-10

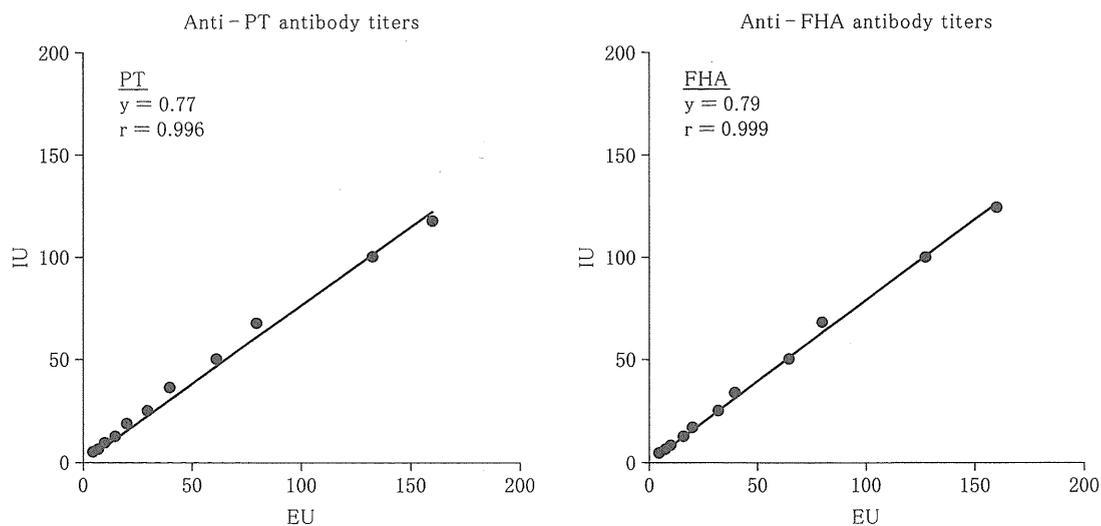


Fig. 2 Comparison between the standard unit in Japan (EU) and the international unit (IU)

II. Results

1. Changes of Absorbance in a Dilution Series of JN1H-10

We prepared a twofold dilution series of JN1H-10 and measured absorbance in accordance with the above procedure (Fig. 1). As a result, the absorbance obtained from the pre-diluted sample of the undiluted solution of JN1H-10 (diluted to 201-fold with the buffer solution) showed around 2.0 OD in both anti-PT and FHA antibodies. In the lots of reagents shown in Fig. 1, the absorbance of anti-PT antibodies was usually slightly higher than that of anti-FHA antibodies in the same EU values, but their absorbance was considered to be practically equivalent. It can be considered that increases of absorbance of anti-PT and anti-FHA antibodies slow down as increases of antibody titers and the

Table 1 Simultaneous reproducibility

Samples	Lot# of reagents	CV values (%)		
		First	Second	Third
PT (20 EU/mL)	1	1.3	2.9	2.1
	2	3.6	2.7	4.1
	3	2.8	2.0	5.5
PT (80 EU/mL)	1	4.5	3.9	1.0
	2	2.6	3.9	3.2
	3	2.4	0.5	1.9
FHA (20 EU/mL)	1	2.2	2.1	2.9
	2	2.4	1.1	1.4
	3	2.0	2.7	2.4
FHA (80 EU/mL)	1	2.0	2.4	2.9
	2	0.9	1.9	1.5
	3	2.5	1.2	1.3

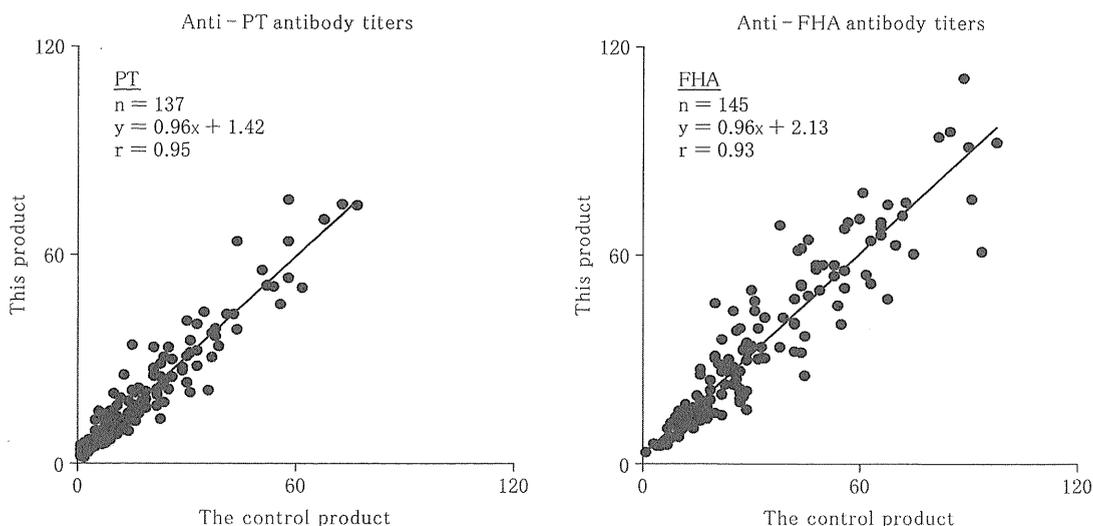


Fig. 3 Correlation with the control product

dilution curves reach plateau. This is a common phenomenon in the plate ELISA test.

2. Comparison between the Standard Unit in Japan (EU) and the International Unit (IU)

We simultaneously measured (seven times per lot) the dilution series of JN1H-10 (Fig. 2, x-axis) and the international standard serum 06/140 (Fig. 2, y-axis) using this product to compare them. The results showed a good correlation, $y=0.77x$ ($r=0.996$) in PT and $y=0.79x$ ($r=0.999$) in FHA.

3. Evaluation of Changes in Measurement Values by Repeated Measurement of the Same Sample

As shown in Table 1, the coefficient of variation (CV, %) obtained with a four-time measurement of two types of samples with known antibody titers were 0.5~5.5% in anti-PT antibody titers and 0.9~2.9% in anti-FHA antibody titers. These results showed a good reproducibility in all evaluated lots of reagents.

4. Correlation with the Control Product

As shown in Fig. 3, the linear regression formula of PT (n=137) was $y=0.96x+1.42$ ($r=0.95$) and that of FHA (n=145) was $y=0.96x+2.13$ ($r=0.93$), and both of them showed high correlations.

III. Discussion

Since this product adopts a general 96-well microplate, it is considered to have good versatility and can easily conform to automation in sites such as testing centers, which treat many samples. From the results of fundamental performance in this study, this product is a stable reagent with a good reproducibility and is expected to enable the comparison of data with that by Reagent Wako ELISA test due to a high correlation with that test, which is currently the only reagent used to measure anti-PT and anti-FHA antibodies in Japan. Furthermore, this product is also considered to allow the possibility of comparing data with anti-PT antibody titers obtained in IU in other countries¹¹⁾¹²⁾. We believe that this product can be widely used in support of clinical diagnosis of pertussis, as well as in the evaluation of vaccine effects, epidemiological studies and for other purposes.

However, the results of this study were insufficient to calculate a conversion factor between EU and IU. The purities of antigens, purification methods, strains, compositions of buffer solutions, etc., used in the test differ for every manufacturer of reagents, which affects the reactivity of reference and standard substances. Since serum antibodies are polyclonal, the composition rates of recognition epitopes may differ in every serum. In view of the fact that a certain tendency is expected to be present in the products by the same manufacturer, we estimated that the IU value was approximately 70-80% of the EU value in this product.

References

- 1) Cherry JD : The role of *Bordetella pertussis* infections in adults in the epidemiology of pertussis. *Dev Biol Stand* **89** : 181-186, 1997.
- 2) Deen JL, Mink CA, Cherry JD et al : Household contact study of *Bordetella pertussis* infections. *Clin Infect Dis* **21**(5) : 1211-1219, 1995.
- 3) Long SS, Welkon CJ, Clark JL : Widespread silent transmission of pertussis in families : antibody correlates of infection and symptomatology. *J Infect Dis* **161**(3) : 480-486, 1990.
- 4) Nelson JD : The changing epidemiology of pertussis in young infants. The role of adults as reservoirs of infection. *Am J Dis Child* **132**(4) : 371-373, 1978.
- 5) Infectious Agents Surveillance Report (monthly report) (IASR) Special topic : Pertussis 29 (3), the National Institute of Infectious Diseases, the Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division in the Health Policy Bureau in the Ministry of Health, Labour and Welfare, 2008 [Japanese]
- 6) Okada K et al : Safe and effective booster immunization using DTaP in teenagers. *Vaccine* **28**(48) : 7626-7633, 2010.
- 7) Tatsuo Kato : DPT. *The Journal of Pediatric Practice* **10**(49) : 2275-2281, 1990. [Japanese]
- 8) Guidelines for the Management of Respiratory Infectious Diseases in Children in Japan 2007, the Committee of Preparation of Guidelines for the Management of Respiratory Infectious Diseases in Children, Kyowa Kikaku Ltd., pp. 112-117, 2007. [Japanese]
- 9) Xing D, Wirsing von Konig CH, Newland P et al : Characterization of reference materials for human antiserum to pertussis antigens by an international collaborative study. *Clin Vaccine Immunol* **16**(3) : 303-311, 2009.
- 10) Dalby T, Sorensen C, Petersen JW et al : Pertussis serology : assessment of IgG anti-PT ELISA for replacement of the CHO cell assay. *APMIS* **118**(12) : 968-972, 2010.
- 11) Guiso N, Berbers G, Fry Nk et al : What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis : recommendations from EU reference laboratories. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **30**(3) : 307-312, 2011.
- 12) Riffelmann M, Thiel K, Schmetz J et al : Performance of commercial enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to *Bordetella Pertussis*. *J Clin Microbiol* **48**(12) : 4459-4463, 2010.

* * *

原因

- RNA ウイルスであるパラミクソウイルス科モルビリウイルス属麻疹ウイルスによる全身性ウイルス感染症である。
- 麻疹患者と接触後、発熱、上気道炎症状（カタル症状）出現までの潜伏期間は8～12日間、家族内接触後の発疹出現までの潜伏期間は7～18日（中央値14日）である¹⁾。
- 麻疹の発疹は、麻疹ウイルスに対する免疫反応により出現する。

疫学

- 日本では、この20数年間に数回麻疹流行を経験したが、流行株の遺伝子型はすべて異なっていた(①)²⁾。
- 日本で使用されている麻疹ワクチンの遺伝子型はすべてA型であるが、ワクチン接種により誘導された抗体は、遺伝子型の異なる野生株に対して有効である。
- 自然宿主はヒトだけであり、多くのヒトが適切にワクチン接種を受けると、地域から野生株が排除される。麻疹排除の基準、排除に向けての診断方法

① 日本で流行した麻疹ウイルスの遺伝子型と麻疹の診断

遺伝子型

- 米国で分離された Edmonston 株由来の麻疹ワクチン株である AIK-C 株、Schwartz-FF8 株はともに遺伝子型 A である。
- 日本で分離された田辺株由来の麻疹ワクチン株 CAM-70 株も遺伝子型 A である。
- 1985～1990年に日本で流行した野生株の遺伝子型は D3 であった。
- 1990～1997年に流行した野生株の遺伝子型は D5 パラオ型であった。
- 2001年ころに流行した野生株の遺伝子型は中国由来の H1 であった。
- 2006年からの3年間に流行した野生株の遺伝子型は D5 バンコク型であり、1996年ころに流行した野生株（D5）と異なる lineage であった。

麻疹の診断

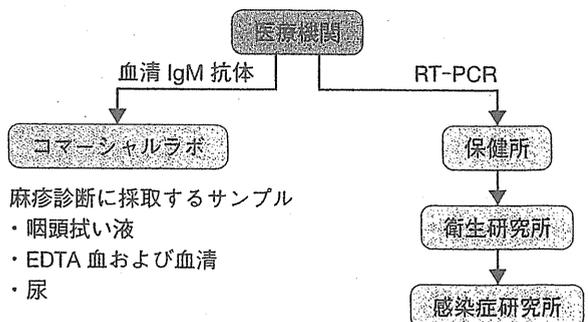
- 麻疹ワクチン接種で誘導された免疫は、遺伝子型の異なる野生株に対しても有効である。
- 麻疹初感染または PVF の急性期血清抗体パターンは、IgM 抗体陽性、IgG 抗体陰性または弱陽性である（一次免疫応答）。
- 麻疹 SVF の急性期血清抗体パターンは、IgM 抗体陽性、IgG 抗体高値であり、IgG 抗体は急速に上昇する（二次免疫応答）。
- 初感染、PVF、SVF の急性期には、末梢血単核球、咽頭拭い液、尿から麻疹ウイルスが分離され、ウイルス RNA は検出される。

PVF：一次性ワクチン不全、SVF：二次性ワクチン不全

② 麻疹排除に向けての対策と評価（日本）

対策と評価

- 95%以上の接種率で MR ワクチンの2回接種
- 実験室診断による麻疹の全数把握（WHO 認定の麻疹センター〈国立感染症研究所〉が承認した施設〈衛生研究所〉での診断）
- 麻疹の発症率 1/100 万人
- 外国から輸入された野生株による発症で、流行は第2波まで
- 麻疹患者サンプルは保健所を介して衛生研究所に送付



③ 麻疹ワクチン接種率と麻疹発症年齢

接種率	麻疹流行間隔	野生株ウイルス量	小児の感受性者数	成人の感受性者数
0%～低率	1～2年ごと	++++	++++	+
部分接種 <90%	数年～10年ごと	++	++	+++
全般接種 ≥90%	なし 輸入例と関連 ^{*2}	+	+	+

*1 中途半端な接種率のとき流行間隔は延長するが、発症者に占める成人、ワクチン接種歴のある児(者)、1歳未満児の割合が高くなる。

*2 輸入症例の発症があっても、それに続く集団発生は小さい規模で終わる(例数<100例、流行期間<3か月)

を②に示す³⁾。

- 麻疹ウイルス野生株が排除されている国は、フィンランド、韓国、全アメリカ地域に属する国である。
- 麻疹ウイルスは主として飛沫・接触で感染し、時に空気感染する。
- 麻疹患者の周囲への感染可能期間は、カタル症状出現1～2日前(発疹出現3～5日前)から発疹出現後4日ころまでである。
- 麻疹ワクチンが行われていなかった時代の発症者は1歳過ぎの幼児であったが、集団免疫率^{*1}を下回る接種率で麻疹ワクチン接種が行われている現在の主たる発症者は、思春期から若者と1歳未満の乳児である(③)。
- 麻疹は、感受性者が集まる都会から地方へと流行が拡大する。
- 麻疹の基本再生産数^{*2}は16～21であり、集団免疫率は90～95%である。
- ワクチン不全の原因の多くは、免疫減衰による二次性ワクチン不全(SVF)である。
- 麻疹ワクチン接種世代の麻疹抗体価は、多くの人が自然感染していた世代よりも低値である⁴⁾。
- 近年、麻疹の移行抗体は低下し、生後6か月を過ぎると約半数が、10か月を過ぎると多くの子どもが移行抗体を消失している。

臨床症状(④)

- 麻疹患者と接触8～12日後に発熱、咳、鼻汁、結膜炎などのカタル症状が出現する(カタル期)。
- 2～3日後に一度解熱するが、翌日には再度39～40℃に上昇し(二峰性発熱)、二峰目の発熱出現と同時に顔面から斑丘疹が出現し、下方へ拡大する(発疹期)。
- 典型的な麻疹の皮疹は色素沈着を残して消退する(回復期)。
- 麻疹に特徴的な頬部に出現する白色の粘膜疹(Koplik斑)は、発疹出現前の解熱時に出現し、3日間程度持続する。
- 麻疹の合併症として、中耳炎、肺炎、クループ症候群、角膜潰瘍、下痢、脳炎がある。
- 肺炎には免疫不全者に認める巨細胞性肺炎、ウイルス性肺炎、細菌の二次感染による細菌性肺炎がある⁵⁾。

*1 集団免疫率

(herd immunity: H_0)

流行を止めるために必要な集団の特異免疫陽性者の割合であり、野生株の排除をめざすには、集団免疫率よりも高い接種率でワクチンを接種する必要がある。

$$H_0 = (1 - 1/R_0) \times 100$$

の関係があり、基本再生産数が高い感染症ほど集団免疫率が高くなる。麻疹と百日咳の集団免疫率がいちばん高く、90～95%である。

*2

基本再生産数

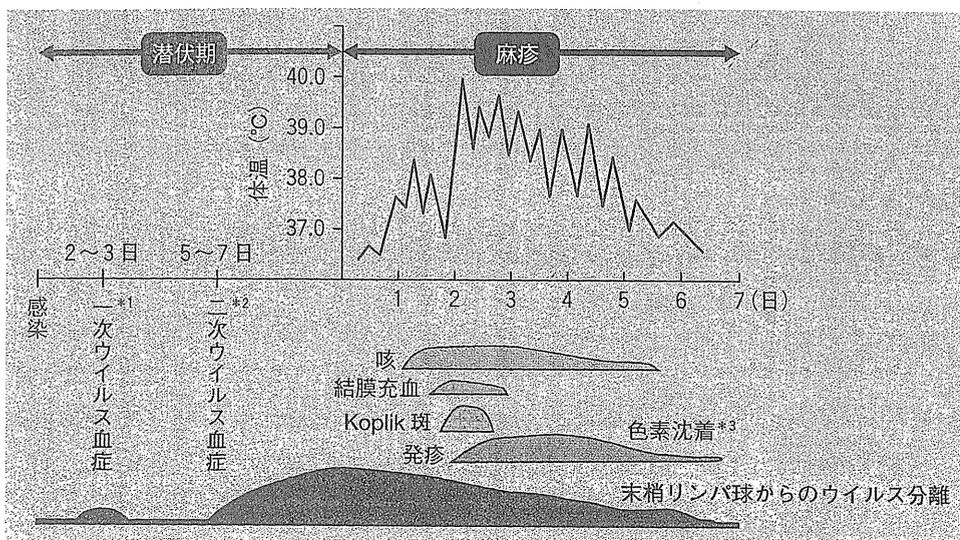
(basic reproduction number: R_0)

1人の患者が周囲の免疫のない人に感染させる数で、数が大きいほど感染力が強く、短時間の接触で感染する。

基本再生産数がいちばん高い感染症は麻疹と百日咳であり、麻疹は20分間同じ部屋に一緒にいると周囲に感染させる。

SVF: secondary vaccine failure

④ 麻疹の臨床経過



*1 ウイルスが上気道粘膜上皮で増殖して血中に入る。

*2 リンパ球に感染してウイルスが全身に広がる。

*3 10～12日の潜伏期間後に眼球結膜の充血，上気道のカタル症状が出現し，二峰性発熱とともにKoplik斑，色素沈着を残す発疹が現れる。

(岡部信彦博士より)

SSPE : subacute sclerosing pan-encephalitis

*3

SSPE と麻疹ワクチン

- ・SSPEの潜伏期間は7～10年間であり，学習障害，注意力の低下，痙攣で発症する。
- ・乳児が軽症の麻疹に罹患すると，SSPEを発症するリスクが高くなる。
- ・治療にイノシプラノベクスなどを使用するが，予後不良である。
- ・麻疹ワクチンによるSSPE発症はきわめてまれであり，麻疹ワクチンを定期接種にしているからSSPEの発症は減少している。

HIV : human immunodeficiency virus

*4

免疫不全者では発疹が出現しないことがある(麻疹の内攻)。

- 脳炎の頻度は1/1,000であり，①自己免疫的機序による麻疹後脳脊髄炎(急性散在性脳脊髄炎)，②免疫不全者に認める麻疹封入体脳炎，③Mタンパクが変異した麻疹ウイルスの持続感染による亜急性硬化性全脳炎(SSPE)*3の3種類がある¹⁾。
- ビタミンA欠乏児では角膜潰瘍を発症し，失明することがある。
- 結核が蔓延している国では，麻疹からの回復後に細胞性免疫が低下し，結核が顕性化することがある。
- 麻疹の死亡率は先進国では0.2%，途上国では2.0%であり，主たる死亡原因は脳炎，肺炎と脱水である。
- 麻疹からの回復に細胞性免疫が主として関与しており，白血病患者やヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染者，低栄養児などの細胞性免疫が低下している者では予後不良である*4。

診断の進め方

- 地域での流行，麻疹患者との接触歴が診断に重要である。
- 麻疹流行地に旅行して感染する例があるので，症状から麻疹を疑ったときは流行地への旅行について確認する。
- 日本は2012年までに麻疹排除をめざしており，実験室診断に基づく全数把握が必須であり，地方衛生研究所にサンプルを送付することが勧められている(②)。
- 年齢にかかわらず，発熱，結膜炎，咳，鼻汁，発疹を認めた場合は，麻疹を疑い実験室診断が必要である。
- 麻疹の実験室診断方法には，末梢血単核球，咽頭拭い液，尿からのウイルス分離・ウイルスRNA検出，急性期血清麻疹IgM抗体検出，血清IgG抗

体陽転化・有意上昇があり，末梢血単核球や尿からは比較的長期間ウイルス RNA が検出される。

- 地方衛生研究所では，RT-PCR 法による麻疹ウイルス RNA 検出が行われている。
- 発疹出現早期には血清 IgM 抗体が検出されないことがあり，臨床経過から麻疹が疑われるときは，発疹出現 3 日後以降に再検すると同時に，風疹 IgM 抗体も測定する。
- 麻疹ワクチン接種後の二次性ワクチン不全では IgM 抗体陽性，IgG 抗体早期上昇（二次免疫応答），一次性ワクチン不全では IgM 抗体は検出されるが，IgG 抗体は陰性または低値（一次免疫応答）である (①)。

治療

- 麻疹ウイルスに対する特異的な治療方法はなく，合併症に対して対症療法を行う。
- 脱水：輸液を行い，二次性の細菌性肺炎に対しては抗生物質を投与する。
- ウイルス性肺炎：酸素の投与とステロイドパルス療法が試みられている。
- 痙攣：ジアゼパム 0.3～0.4mg/kg の静注にて，まず痙攣をコントロールする。
- 麻疹による急性散在性脳脊髄炎に対するステロイドパルス療法は，理論上効果が期待されるが，実際の効果は不明である。
- 中等度以上の脱水，痙攣，意識障害，多呼吸などの全身状態が悪いときは，入院とする*5。
- 途上国ではビタミン A の使用により，死亡率の減少が報告されており，WHO が推奨する治療量を ⑤ に示す¹⁾。

麻疹患者と接触後の対策

- 麻疹患者と接触をした人に麻疹ワクチンまたは MR ワクチンを接種することは禁忌ではなく，接触後 72 時間以内に接種すれば発症予防に効果があり，120 時間以内ならば発症したとしても軽症化が期待される。
- 麻疹ワクチン・MR ワクチン接種によって誘導された特異免疫により，感染した麻疹ウイルス野生株の増殖が抑制される (⑥)。
- 接触後の緊急ワクチン接種では，発症しなくても麻疹抗体は誘導されている。
- 学校や保育所などで麻疹患者が発症したとき，抗体がないと予測される人（6 か月以上の乳児を含む）には，早期に麻疹ワクチンまたは MR ワクチン接種を受けるよう勧奨する。
- 1 歳未満で麻疹ワクチンまたは MR ワクチンを受けた小児は，特異免疫を獲得していない可能性があるため，1 歳になったら MR ワクチンを接種する。
- 生ワクチンが接種できない免疫不全児や妊婦では，接触後 6 日以内のガンマグロブリン投与が勧められている*6。

*5 入院時の感染管理

- ・入院時は原則個室を使用する。
- ・麻疹抗体陽性が確認されている医療スタッフが麻疹患者をケアする。

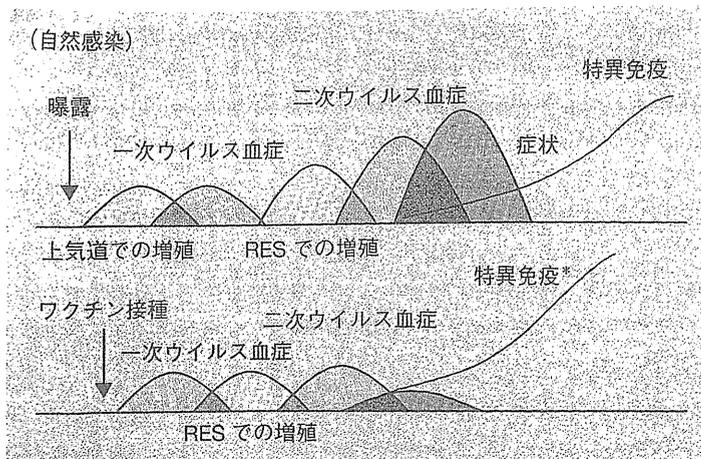
⑤ 麻疹発症児へのビタミン A 投与 (WHO)

年齢	1 回投与量 (IU)
1 歳以上	200,000
6～11 か月	100,000
6 か月未満	50,000

- 1) ビタミン A を上記投与量で 2 日間連続投与すると，2 歳以下小児の死亡リスクは低下する。
- 2) いずれの国においても麻疹を発症したすべての小児にビタミン A を投与する。
- 3) 投与方法は，1 日 1 回，2 日間投与である。

*6 筋注用ガンマグロブリンの投与量は 0.25mL/kg であり（最大 15mL），静注用ガンマグロブリン 200mg/kg は，筋注用ガンマグロブリン投与量とほぼ同じである。
免疫不全児に投与する場合は，健康児の倍量を投与する。

◎麻疹ワクチン緊急接種時の病態



* 緊急接種で誘導された特異免疫により野生株の増殖を抑制し発症を予防する。

RES : reticuloendothelial system

*7
ワクチンを受ければ登園・登校は認められる。

*8
日本では麻疹ワクチン、麻疹風疹混合 (MR) ワクチン、欧米では麻疹ムンプス風疹 (MMR) ワクチン。

*9
2008年から5年間にわたり、中学校1年生世代・高校3年生世代に、MRワクチンの定期接種が行われている。

*10
定期接種の期間以外にも任意接種として接種は可能である。

ITP : idiopathic thrombocytopenic purpura

*11
静注用ガンマグロブリンの半減期は約30日。なお米国の基準は、IVIg投与1,000mg/kgでは10か月後以降に、2,000mg/kgでは11か月後以降に麻疹ワクチン接種が勧められている¹⁾。

IVIg : intravenous immunoglobulin

麻疹流行時の対応

◎麻疹ワクチンを受けていない通園児や児童生徒には、麻疹ワクチンまたはMRワクチンを受けるよう勧め、ワクチンを受けるまでは、園や学校を休むよう指導する*7。

予防

◎麻疹ウイルスを含むワクチン*8を2回皮下接種する。
◎日本では風疹の流行排除もめざしているため、MRワクチン接種が勧められる。

- ◎1歳の誕生過ぎ早期と小学校入学前1年間の2回接種する(定期接種*9・*10)。
- ◎各時期で期待される接種率は、麻疹の集団免疫率90~95%を超える接種率である。
- ◎麻疹ワクチン接種後の抗体獲得率は95%以上であるが、抗体陽転化した人の約5%は数年後に抗体価は陰転化する。
- ◎2回接種すると99%の人は抗体が陽性になる。
- ◎ワクチン接種7~10日目に、接種者の20%に37.5℃以上の、5%に38.5℃以上の発熱が出現するが、持続期間は1日である。
- ◎麻疹ワクチン接種後に熱性痙攣を認めた場合は、他の原因による熱性痙攣と同様にまずジアゼパムを使用する。
- ◎ワクチン接種7~10日目に10%に発疹が出現するが、一過性である。
- ◎ワクチン接種後2か月以内に(とくに接種2~3週後)、100万人に1人の割合で血小板減少性紫斑病(ITP)を認めるが、通常のITPの治療に反応する。

基礎疾患のある児への接種

- ◎オボアルブミンを含むワクチンでアナフィラキシーを誘発するのは600ng/dose以上であり、麻疹ワクチン・MRワクチンに含まれるオボアルブミン濃度は1ng/mL以下なので、卵アレルギー児にも皮内テストを行わずに接種は可能である^{1,6)}。
- ◎細胞性免疫不全児にはMRワクチンは接種不适当であるが、B細胞系だけの免疫不全児には接種が可能である。
- ◎静注用ガンマグロブリン200mg/kg×5日間投与後に麻疹ワクチンなどの生ワクチンを接種するときは、治療終了後6か月以上あけてから接種し、倍量の2,000mg/kgを投与したときは、投与後7か月以上あけてから接種する*11。
- ◎ITP既往児に接種する場合は、ITP再発のリスクと麻疹対策の必要性を考

慮して接種を決定する。

- 吸入ステロイドによる喘息治療中であっても、麻疹ワクチンまたは MR ワクチンの接種は可能である。
- RS ウイルス感染予防に使われるパリーブズマブ投与中に MR ワクチンを接種しても、効果的な免疫は誘導できる。

NT : neutralization test

PA : particle agglutination

EIA : enzyme immunoassay

HI : hemagglutination inhibition

CF : complement fixation



アドバイス

麻疹 IgM 抗体の非特異陽性

- 突発性発疹、伝染性紅斑、デング熱などに罹患した子どもで、時に麻疹 IgM 抗体が弱陽性 (0.8~2.0 抗体指数) になる⁷⁾。
- 非特異陽性のときは、数日後に麻疹 IgM 抗体を再検しても抗体価の上昇が認められない。

測定方法による麻疹抗体の読み方

- 麻疹抗体陽性の基準は、中和抗体 (NT) ≥ 2

倍、粒子凝集抗体 (PA) ≥ 16 倍、酵素免疫抗体 (EIA) ≥ 2.0 EIA 価であり、95%以上の人の発症予防基準は、NT ≥ 4 倍、PA ≥ 64 倍、EIA ≥ 4.0 EIA 価である。

- 赤血球凝集抑制抗体 (HI) は、NT、PA、EIA よりも感度は低いが、HI ≥ 8 倍は、発症予防レベルである。
- 麻疹免疫の診断に補体結合法 (CF) は用いてはならない。

修飾麻疹と異型麻疹

- 修飾麻疹は、麻疹ワクチン接種後の免疫減衰時、移行抗体残存時、ガンマグロブリン投与後の麻疹発症時に認める軽症の麻疹であり、Koplik 斑を認めないことが多い。
- SVF 例では早期に免疫二次応答が認められるため、麻疹ウイルスの増殖が抑制されて軽症化し、

移行抗体残存時およびガンマグロブリン投与後では、残存している抗体により麻疹ウイルスの増殖が抑制されて軽症化する。

- 異型麻疹は麻疹不活化ワクチン接種後の麻疹罹患例に認められた重症の麻疹であり、麻疹生ワクチン使用後は認められなくなっている。

文献

- 1) AAP. Measles. In : Red Book 28th. Elk Grove Village : American Academy of Pediatrics ; 2009. p.444-55.
- 2) 中山哲夫. 麻疹ワクチン. ウイルス 2009 ; 59 : 257-66.
- 3) 竹田 誠, 駒瀬勝啓. 世界麻疹排除計画と世界麻疹風疹実験室ネットワーク. 病原微生物検出情報 2010 ; 31 : 35-6.
- 4) Ihara T. The strategy for prevention of measles and rubella prevalence with measles-rubella (MR) vaccine in Japan. Vaccine 2009 ; 27 : 3234-6.
- 5) 庵原俊昭. 麻疹ウイルス. 日本小児感染症学会編. 小児感染症マニュアル 2007. 東京 : 東京医学社 ; 2006. p.247-54.
- 6) 庵原俊昭. ムンプス (流行性耳下腺炎) ワクチン. 日本ワクチン学会編. ワクチンの事典. 東京 : 朝倉書店 ; 2004. p.119-31.
- 7) 多屋馨子ほか. 2009 年度麻疹血清疫学調査ならびに予防接種率調査—2009 年度感染症流行予測調査中間報告 (2010 年 1 月現在速報). 病原微生物検出情報 2010 ; 31 : 36-9.

話題の疾患と治療

成人の麻疹対策とワクチン

国立病院機構三重病院院長（小児科）

庵原 俊昭

感染・炎症・免疫 第41巻 第2号 別刷

平成23年7月10日発行

東京 医薬の門社

【 成人の麻疹対策とワクチン 】

*国立病院機構三重病院院長(小児科)

庵原俊昭

はじめに

麻疹はパラミクソウイルス科モルビリウイルス属に属する麻疹ウイルスによる全身性ウイルス感染症である。麻疹は極めて感染力が強く、感染すると重篤な経過を示す感染症であり、江戸時代は「命定め」の病気として恐れられていた。麻疹ワクチンが開発される以前、世界で年間600万人が麻疹により死亡していたが、麻疹ワクチンが普及した2005年には麻疹による年間死亡者数は34.5万人に減少した(減少率=99.9%)。この結果を受け世界保健機関(WHO)は、麻疹ウイルス野生株排除が達成されたアメリカ地区に加え、ヨーロッパ地区、地中海地区、西太平洋地区から野生株を排除する活動を行っている¹⁾。

本稿では、麻疹の疫学、成人の麻疹対策を中心に解説する。

I. 麻疹の疫学

麻疹ウイルスは主として飛沫および接触で感染し、ときに空気感染する。1人の麻疹患者が免疫のない人に感染させる数(基本再生産数)は、16~21人と感染症最大であり、流行を抑制するための集団免疫率は90~95%である²⁾。日本では1978年から麻疹ワクチンの定期接種が始まったが、

接種率が集団免疫率に達しないため、数年ごとに異なる遺伝子型の麻疹ウイルスによる流行を認めていた(表1)。麻疹ワクチン2回接種が始まった近年は、フィリピン、中国などからの帰国者が麻疹ウイルスを日本に持ち込んでいるが、大きな流行に至っていない。

麻疹ワクチン定期接種以前の主たる発症者は幼児であった。しかし、集団免疫率を下回る接種率で麻疹ワクチン定期接種が行われている現在の主たる発症者は、思春期から20代の若者と1歳未満の乳児である。発症した思春期から20代の若者の特徴は、麻疹にかからずしかもワクチンを受けていなかった人か、1回麻疹ワクチンを受けた後免疫が低下した人である。

麻疹患者の周囲への感染期間は、カタル症状出現1~2日前(発疹出現3~5日前)から発疹出現4日後頃までである。麻疹患者と接触後、発熱、上気道炎症状出現までの潜伏期間は8~12日間、発疹出現までの潜伏期間は7~18日(中央値14日)である。

II. 麻疹の臨床像

まず発熱、咳、鼻汁、結膜炎などのカタル症状が出現する³⁾。発熱

表1 日本の麻疹と麻疹ワクチンの歴史

江戸時代	10~40年ごとに麻疹が流行し、「命定め」の病気と恐れられていた
1846年	Faroe島での65年ぶりの麻疹流行と疫学調査
明治時代	都市に人が集まるようになり、麻疹が2年ごとに流行するようになる
1954年	Endersにより麻疹ウイルスの分離
1963年	米国で麻疹生ワクチンの開発
1969年	麻疹弱毒生ワクチンの接種開始(任意接種)
1977年	中学生女子を対象に風疹生ワクチン接種開始(定期接種)
1978年	幼児を対象に麻疹ワクチンの定期接種開始
1989年	幼児を対象に麻疹ムンプス風疹(MMR)ワクチンの接種開始
1990年頃	日本で遺伝子型D3の麻疹ウイルス流行
1993年	MMRワクチンの実施見合わせ*
1994年	麻疹ワクチン・風疹ワクチンを1歳から接種(定期接種)
1996年頃	日本で遺伝子型D5パラオ型の麻疹ウイルスが流行
2001年頃	日本で遺伝子型H1の麻疹ウイルスが流行
2006年	麻疹風疹混合(MR)ワクチン2期接種の開始
2006年頃	日本で遺伝子型D5バンコク型の麻疹ウイルスの流行
2008年	MRワクチン3期、4期接種の開始(5年間の時限措置)
2010年	フィリピンからの帰国者が日本で麻疹発症(遺伝子型D9)
2012年	日本から麻疹ウイルス野生株排除の目標年

*ムンプスワクチンによる無菌性髄膜炎の頻度が予測よりも高頻度であったため

表2 麻疹ワクチンの種類と抗体価による接種基準

1)麻疹ワクチンの種類			
起源	ワクチン株	国	遺伝子型
Edmonston株	Moraten	米国	A
	Schwartz	カナダ・フランス等	A
	Edmonston-Zagreb	クロアチア・インド等	A
	AIK-C	日本(北里研究所)	A
	Schwartz FF-8	日本(武田薬品工業)	A
田辺株	CAM70	日本(阪大微生物病研究会)	A

2)抗体価による麻疹ワクチン接種基準		
抗体測定方法	抗体価	
	一般人	医療従事者*
中和法(NT)	≦2倍	≦4倍
粒子凝集法(PA)	≦32倍	≦64倍
酵素免疫法(EIA)	<4.0 EIA 価	<8.0 EIA 価

*麻疹患者と接種するリスクが高い医療従事者。曝露量が多いときは発症予防のために高い抗体価が必要
 注意1：麻疹の免疫の確認に補体結合法(CF)は用いない
 注意2：赤血球凝集抑制(HI)抗体8倍以上は医療従事者でも発症予防効果がある

は2～3日後に一度解熱するが、翌日には再度39～40℃に上昇し、二峰目の発熱出現と同時に顔面から斑丘疹が出現し、下方へ拡大する。典型的な麻疹の皮疹は色素沈着を残して消退する。麻疹に特徴的な頬部に出現する粘膜疹(Koplik斑)は発疹出現前の解熱時に出現する。

合併症として、中耳炎、肺炎、クループ症候群、角膜潰瘍、下痢、脳炎がある。肺炎には免疫不全者に認める巨細胞性肺炎、ウイルス性肺炎、細菌の二次感染による細菌性肺炎がある。成人ではウイルス性肺炎を合併する頻度が高い。予後が悪い脳炎の頻度は1/1,000である。麻疹の死亡率は先進国では0.3%、途上国では3.0%であり、主たる死亡原因は脳炎、肺炎、下痢による脱水である。成人は小児よりも死亡率が高率である。

III. 麻疹の免疫

1781年に麻疹が流行し、その後麻疹流行がなかったFaroe島で1846年に麻疹が流行した時、1781年の流行を経験した65歳以上の人は麻疹を発症しなかったが、64歳以下の人は麻疹を発症した。この報告から麻疹は一度かかると生涯免疫が持続すると考えられていた。しかし、1回麻疹ワクチンを受けた一部の人が麻疹流行時に軽症の麻疹(修飾麻疹)を発症することがあり、先進国ではワクチン後の麻疹罹患予防を目的に麻疹ウイルスを含むワクチン(measles virus containing vaccine: MCV)の2回接種を行っている。本邦でも2006年から小学校入学前の児童を対象に麻疹風疹混合(MR)ワクチンの2期定期接種が始まったが、2006年に高校性や大学生を中心に麻疹流行を認めたため、集団生活の場での麻疹流行を

早期に抑制することを目的に、2008年から5年間の時限で、中学校1年生および高校3年生世代にMRワクチン定期接種を行っている(表1)。

IV. 麻疹ワクチン

欧米の麻疹ワクチン株や本邦のAIK-C株とFF-8株はEdmonston株由来であり、CAM70株は田辺株由来である(表2)。いずれのワクチン株も遺伝子型はAである。ワクチン接種により誘導された抗体は、遺伝子型の異なる野生株に対して有効である。麻疹ワクチン接種後の抗体獲得率は95%以上であるが、抗体陽転化した人の約5%は数年後に抗体価は陰転化する。2回接種すると99%の人は抗体が陽性になる。MCVは年齢に関係なく、任意接種として接種可能である。

V. 成人の麻疹対策

1)通常時の対策

麻疹ワクチン接種者の抗体価は自然麻疹罹患よりも低値であり、麻疹ワクチン接種者から生まれた子どもの麻疹移行抗体も6カ月頃に消失する^{4,5)}。日本では1978年から1歳児を対象に麻疹ワクチンの定期接種が始まっており、1977年以降に生まれた人の多くは麻疹ワクチン接種を受けた人達である。表3に麻疹に対する免疫があると推定される人を示した。1977年以降に生まれた人で明らかな麻疹罹患歴がない人、MCVを1回しか受けていない人には、年齢に関係なくMCV接種が勧められる。日本は麻疹流行排除と同時に風疹流行排除も目指しており、接種する

ワクチンはMRワクチンが勧められる。

麻疹抗体の測定結果からMCVを接種する方法もある。表2に抗体価によるMCV接種基準を示した。ウイルス曝露量が多いと発症するリスクが高いため、麻疹患者と接触する頻度が高い医療従事者は、発症予防のために高い抗体価が期待される。成人へのMCV接種後の抗体価測定は不要である。時にMCV2回接種後の抗体価が発症予防レベルよりも低い人はいるが、このような人は、接種されたワクチン株が体内で増殖しなかったために二次免疫応答が起こらなかった人であり、発症リスクが低い人である。そのため、原則としてMCV2回接種を受けた人への追加接種は不要である。

2) 曝露時の対策

免疫不全がない成人で、明らかな麻疹既往歴やMCV接種歴がない人が麻疹患者と接触した場合、接触後72時間以内にMCVを接種すれば発症予防が期待され、120時間以内ならば発症したとしても軽症化が期待される⁶⁾。免疫不全者や妊婦は生ワクチン接種が禁忌であり、 γ グロブリンを投与する。接触後120時間以内ならば効果が期待される。筋注用 γ グロブリン投与量は0.25 mL/kg(最大15 mL)であり、 γ グロブリン換算すると40 mg/kgである。免疫不全者には免疫健全者の倍量を投与する。静注用 γ グロブリン1 g中に含まれる麻疹抗体価は筋注用 γ グロブリン1 g中に含まれる麻疹抗体価と同等である。

表3 麻疹の免疫があると考えられる人

- ① 1976年以前に生まれた人*
- ② 麻疹流行時に麻疹に罹患したことが医師により診断された人
- ③ 発症予防レベル以上の麻疹抗体価を有していると証明された人
(中和抗体 \geq 4倍、粒子凝集抗体 \geq 64倍、酵素免疫抗体 \geq 4.0EIA価)
- ④ 麻疹ウイルスを含むワクチンを2回接種受けたことが証明される人
(母子手帳などで確認)

*米国では1957年以前に生まれた人

VI. 集団における麻疹流行時の対策

麻疹は典型的な発疹が出現する前から周囲への感染力があるため、一度流行が始まると流行抑制は困難である。学校などの施設閉鎖を行う期間は、最大潜伏期間を越える期間である。現在日本ではMCVの2回接種率が高率であるので、施設閉鎖を行うよりも、2回接種を受けている人、麻疹罹患歴が明らかな人の登校を許可し、この人達以外の人の登校を停止すると同時にMCV接種を勧め、MCV接種を受けると登校を許可する方が現実的である。なお、麻疹発症者の就労・通学停止期間は、米国では発疹出現後7日間であり⁷⁾、本邦では解熱後3日間である。

まとめ

麻疹の疫学、成人の麻疹対策について解説した。麻疹罹患歴およびワクチン歴が不明な人を含め、麻疹罹患歴がなく麻疹ワクチン歴がない人は、MCVを早期に受けるべきであり、1回MCVを受けている人は2回目のMCV接種が勧められる。

参考文献

- 1) 竹田 誠, 駒瀬勝啓: 世界麻疹排除計画と世界麻疹風疹実験室ネットワーク. 病原微生物検出情報 2010; 31: 35-36.
- 2) Nokes DJ, Anderson RM. The use of mathematical models in the epidemiological study of infectious diseases and in the design of mass immunization programmes. *Epidem Inf* 1988; 101: 1-20.
- 3) 庵原俊昭: 麻疹ウイルス. 小児感染症マニュアル2007. 日本小児感染症学会編, 東京医学社, 東京, 247-254, 2006.
- 4) Leuridan E, Hens N, Hutse V, et al. Early waning of maternal measles antibodies in era of measles elimination: longitudinal study. *Brit Med J* 2010; 340: c1626.
- 5) Ihara T. The strategy for prevention of measles and rubella prevalence with measles-rubella (MR) vaccine in Japan. *Vaccine* 2009; 27: 3234-6.
- 6) AAP: Measles. In *American Academy of Pediatrics (ed): Red Book, 28th ed*, Elk Grove Village, IL, pp444-55, 2009.
- 7) American Academy of Pediatrics: Infection prevention and control in pediatric ambulatory settings. *Pediatrics* 2007; 120: 650-65.

麻疹, 風疹, 水痘, ムンプスの患者に接触したときの感染予防措置はどうすればよいですか

庵原俊昭*

I. 麻疹, 風疹, 水痘, ムンプスの感染力

- ヒトからヒトに感染する感染症（ヒトヒト感染症）の感染力は、一人の感染した人が免疫のない周囲の人何人に感染させるかの数（基本再生産数： R_0 ）で表される。
- 感染症の流行を止める集団免疫率は $(1-1/R_0) \times 100$ で求められ、基本再生産数が高い感染症ほど感染力が強く、高い集団免疫率が必要である（表 1）。
- また、ヒトヒト感染症では曝露された病原体の量と曝露時間が、周囲の人への感染に関係している。曝露量が多い顔と顔が向き合った状態では短時間で感染し、同じ室内にいる場合は曝露量が少ないため長時間の曝露時間が必要である。
- 水痘の場合、顔と顔が向かい合った場合は 5 分間、同じ部屋にいた場合は 60 分間で他人に感染させる¹⁾。基本再生産数が高い感染症ほど短

時間の曝露で周囲に感染する。

- 麻疹, 風疹, 水痘, ムンプスにおいて感染を受けても発症しないと予測される状態は、流行時の明らかな既往, 文書で証明された 2 回のワクチン歴, 発症予防以上の抗体価の保有, である。
- 既往歴が不明の場合は免疫がないとして対応し, 1 回しかワクチンを受けていない人で確実な発症予防を希望する場合は, 2 回目のワクチン接種が勧められる。
- 麻疹, 水痘などの患者との接触時の感染予防措置の原則は, 生ワクチン接種可能者にはできるだけ早期にワクチンを接種し, 生ワクチンが接種できない者には γ グロブリンの投与が, とくに免疫不全者では倍量の投与が考慮される。

II. 麻疹の感染予防措置

- 麻疹患者と接触後 72 時間以内に麻疹ワクチンを接種すれば発症予防効果が, 120 時間以内な

表 1 麻疹・風疹・水痘・ムンプス・インフルエンザの基本再生産数・集団免疫率と感染に要する接触時間

感染症	基本再生産数	集団免疫率 (%)	接触時間*	
			向かい合わせ	同室内
麻疹	16~21	90~95	NA	≥20 分間
風疹	7~9	80~85	NA	NA
水痘	10	90	≥5 分間	≥60 分間
ムンプス	11~14	85~90	NA	NA
インフルエンザ	1.4~2.4	50	≥15 分間	≥24 時間 [†]

NA: not applicable

集団免疫率 = $(1-1/\text{基本再生産数}) \times 100$

*各病原体がヒトヒト感染するために要する時間

[†]感染者が動いた場合。おとなしくしていると、もっと長い時間が必要

*Ihara Toshiaki

国立病院機構三重病院小児科 (〒514-0125 津市大里窪田町 357)

TEL 059-232-2531 FAX 059-232-5994 E-mail: ihara@mie-m.hosp.go.jp

表2 種々生ワクチンの曝露後接種の効果

項目	麻疹	水痘	風疹	ムンプス
潜伏期間 (日)	10~14	14~16	16~18	16~18
症状出現前のウイルス排泄	あり	あり	あり	あり
ウイルス血症のピーク (主症状出現との関係)	出現時	出現時	出現時	出現前?
ワクチン後の反応				
副反応出現 (日)	7~10	14~	7~14	18~21
CMI 出現 (日)	7~10	5~13	10~14	14~
曝露後接種*	有効	有効	有効?	無効
接種までの期間	72 時間以内	72 時間以内	理論上	当日 [†]

CMI: cell mediated immunity (細胞性免疫)

*ワクチン接種により誘導された免疫により、先に感染した野生株の増殖を抑制し、発症を予防する。72 時間以内ならば発症予防が、120 時間以内ならば発症したとしても軽症化が期待される。

[†]家族内曝露当日の有効率は 57%。発症したとしても軽症化する。

らば発症したとしても軽症化が期待される (表 2)。ワクチン接種世代の乳児では移行抗体の量が少ないので、生後 6 か月以降はワクチン接種が勧められる²⁾。

- 発症予防メカニズムは、麻疹ワクチン接種によって誘導された特異免疫により、感染した麻疹ウイルス野生株の増殖を抑制するものであり、接触後早ければ早いほど高い予防効果が期待される。この方法では、麻疹を発症しなくても麻疹抗体は誘導されている。
- 生ワクチンが接種できない人では、接触後 6 日以内の γ グロブリン投与が勧められている。筋注用 γ グロブリン (IMIG) の投与量は 0.25 mL/kg (γ グロブリン 40 mg/kg, 最大 15 mL) であり、静注用 γ グロブリン (IVIG) では 50 mg/kg が IMIG 投与量にほぼ匹敵する。免疫不全児に投与する場合は健常児の倍量 (IMIG: 0.5 mL/kg, IVIG: 100 mg/kg) を投与する²⁾。

III. 風疹の感染予防措置

- 風疹ワクチンの曝露後接種の効果は証明されていない。しかし、風疹ワクチンでは、野生株感染から発症までの期間よりも早期に特異免疫が誘導されるので、理論上接触後早期の風疹ワクチン接種の効果が期待されている (表 2)³⁾。
- ワクチン接種が可能な人には、接触後早期に風

疹ワクチンまたは MR ワクチンを接種する。 γ グロブリンの風疹発症予防効果に関しても一定の見解は得られていない。

- 麻疹における IMIG や IVIG の効果をみると、IVIG 投与後の抗体価が健常者の発症予防抗体価の 4 倍以上の抗体価に到達すると予防効果が期待されるので、風疹では IVIG 100 mg/kg 以上投与すれば理論上効果が期待される (表 3)。IMIG を 0.55 mL/kg (γ グロブリン 88 mg/kg) 投与すると発症予防が期待されるという報告もある³⁾。

IV. 水痘の感染予防措置

- 水痘患者と接触後 72 時間以内に水痘ワクチンを接種すれば発症予防効果が、120 時間以内ならば発症しても軽症化が期待される¹⁾。
- 発症予防メカニズムは曝露後の麻疹ワクチン接種時と同様である。
- 欧米では带状疱疹患者の回復期血清から製造された筋注用水痘带状疱疹ウイルス抗体高単位 γ グロブリン (ZIG) を接触後 96 時間以内に投与しているが、わが国では ZIG は市販されていない。
- IVIG を用いるならば、麻疹での有効性から理論上推察すると、免疫健常児ならば 100 mg/kg, 免疫不全児ならば 200 mg/kg 投与すれば効果

表3 献血スルフォ化 IVIG® に含まれる各種抗体価と投与後に予測される血中抗体価

感染症	IVIG (2010年製造)		予測される血中抗体価*						発症予防抗体価
	平均抗体価	単位	IVIG 投与量 (mg/kg)						
			50	100	200	500	1,000	2,000	
麻疹	6,300	mIU/mL [†]	572	1,050	1,800	3,150	4,200	5,040	120 [‡]
風疹	153.5	EIA 価	14.0	25.6	43.9	76.8	102.3	122.8	5.0~7.5 [‡]
水痘	126.2	EIA 価	11.5	21.0	36.1	63.1	84.1	101.0	4.0
ムンプス	43.3	EIA 価	3.9	7.3	12.4	21.7	28.9	34.6	4.0

*人のγグロブリン濃度は500 mg/kg, 抗体陰性者に各量のIVIGを投与したときの理論上の抗体価=IVIG抗体価×IVIG投与量/(500 mg/kg+IVIG投与量)。献血スルフォ化IVIGを2,000 mg/kg投与後の血中抗体価は、ほぼ麻疹(中和)128倍, 風疹(HI)256倍, 水痘(IAHA)256倍である。

[†]麻疹抗体6,300 mIU/mLは中和抗体128倍に相当する。

[‡]麻疹抗体120 mIU/mLは、中和抗体4倍, PA抗体64倍, EIA抗体4.0EIA価にほぼ相当し、風疹抗体15 IUはHI抗体16倍, EIA抗体7.5EIA価にほぼ相当する。

が期待される(表3)。米国では400 mg/kg投与を推奨する意見もある¹⁾。

- 水痘ワクチン接種やIVIG投与が困難なときは、アシクロビル(ACV)を患者と接触後7~10日目から7日間, 40~80 mg/kg/日を1日4回, 経口投与する。発症予防または軽症化が期待される。

ムンプス野生株増殖による症状出現時期とほぼ同時期のため、緊急接種の効果が低いと考えられている。

- また、IVIG中に含まれるムンプス抗体価は麻疹や水痘と比べ低値のため、接触後のγグロブリン投与も効果は期待できない(表3)。

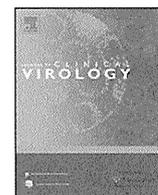
文献

- 1) American Academy of Pediatrics: Varicella-Zoster infection. In Red Book, 28th ed, American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village, pp714-727, 2009
- 2) American Academy of Pediatrics: Measles. In Red Book, 28th ed, American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village, pp444-455, 2009
- 3) American Academy of Pediatrics: Rubella. In Red Book, 28th ed, American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village, pp579-584, 2009
- 4) 庵原俊昭: ムンプス(Mumps). 臨床とウイルス 30: 28-32, 2002

V. ムンプスの感染予防措置

- 家族内接触後のムンプスワクチン緊急接種の発症予防効果は、麻疹や水痘に比べて低率であるが、接触後72時間以内ならば発症したとしても軽症化が期待される⁴⁾。
- 麻疹や水痘では、野生株による臨床症状出現よりも先にワクチンにより免疫が誘導されるが、ムンプスではワクチンによる免疫誘導時期が、

* * *



Short communication

Kinetics of cytokine and chemokine responses in patients with primary human herpesvirus 6 infection[☆]Tetsushi Yoshikawa^{a,*}, Yuri Kato^a, Masaru Ihira^b, Naoko Nishimura^c, Takao Ozaki^c, Takuji Kumagai^d, Yoshizo Asano^a^a Department of Pediatrics, Fujita Health University School of Medicine, Toyoake, Aichi 4701192, Japan^b Faculty of Clinical Engineering, Fujita Health University School of Health Sciences, Toyoake, Aichi, Japan^c Department of Pediatrics, Konan Kosei Hospital, Konan, Aichi, Japan^d Kumagai Pediatric Clinic, Sapporo, Hokkaido, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 7 July 2010

Received in revised form

18 September 2010

Accepted 23 September 2010

Keywords:

HHV-6

Exanthem subitum

Primary infection

Cytokine

Chemokine

ABSTRACT

Background: Cytokines and chemokines induced by human herpesvirus 6 (HHV-6) infection may play an important role in the observed HHV-6-associated clinical complications. However, basic data for cytokine and chemokine synthesis in primary HHV-6 infected patient without complication is lacking.

Objective: Aim of this study was to elucidate basic kinetic data for expressions of cytokines and chemokines in patients with primary HHV-6 infection without complication.

Study design: Twenty-six patients suffering from fever were enrolled in this study. Fourteen biomarkers were measured in 74 serially collected sera samples from 26 patients. Additionally, serum samples obtained from 14 healthy children were used for control.

Results: Twenty of the 26 patients were diagnosed with primary HHV-6 infection based on viral isolation and serological analysis. The mean age ($P=0.1289$) and proportion of males to females ($P=0.9999$) between the patients with and without primary HHV-6 infection were not statistically different. At the acute phase of the disease, three cytokines (IFN- γ ; $P=0.0046$, IL-2; $P=0.0366$, and IL-4; $P=0.0255$) and one chemokine (MCP-1; $P=0.0019$) were significantly higher in patients with primary HHV-6 infection compared to those without infection. Interleukin-5 levels during the convalescent period were significantly higher in patients with HHV-6 infection ($P=0.0205$). By 1 month post-infection, cytokine and chemokine expression had returned to almost basal levels.

Conclusion: As suggested by the previous in vitro studies, present in vivo analysis also suggests that HHV-6 has potency for induction of cytokines and chemokines.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Background

Primary human herpesvirus 6 (HHV-6) infection can cause exanthem subitum in infants and young children.¹ Although the disease is generally a benign febrile illness with self-limiting clinical course,² several severe complications, such as encephalitis,³ have been reported. It has been suggested that several cytokines might be involved in causing HHV-6 encephalitis.⁴ Additionally, our recent studies suggested that several inflammatory cytokines were upregulated by HHV-6 reactivation and these may contribute to the associated clinical manifestations in transplant recipients^{5,6} and patients with drug induced hypersensitivity syndrome.⁷ More-

over, in vitro studies demonstrated that HHV-6 can modulate host immunity by several mechanisms, including killing lymphocytes and controlling cytokine synthesis.^{8–12} Thus, the cytokines and chemokines induced by HHV-6 infection may play an important role in the observed HHV-6-associated clinical manifestations.

2. Objective

Aim of this study was to elucidate basic kinetic data for expressions of cytokines and chemokines in patients with primary HHV-6 infection without complication.

3. Study design

3.1. Patients and sample collection

Twenty-six patients suffering from fever, who visited Kumagai Pediatric Clinic, were enrolled in this study. Patients were consented by their guardians for participation in this study. This study

Abbreviations: HHV-6, human herpesvirus 6; IL, interleukin; IFN, interferon; TNF, tumor necrosis factor; MCP, monocyte chemotactic protein.

[☆] Grant support: This work was supported in part by a grant from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan.

* Corresponding author. Tel.: +81 562 939251; fax: +81 562 952216.

E-mail address: tetsushi@fujita-hu.ac.jp (T. Yoshikawa).