

2. 水痘・ムンプス

水痘・おたふくかぜの流行解析法の確立

研究分担者：庵原 俊昭（国立病院機構三重病院小児科）
研究協力者：菅 秀（国立病院機構三重病院小児科）
長尾 みづほ（国立病院機構三重病院小児科）
浅田 和豊（国立病院機構三重病院小児科）
落合 仁（落合小児科）
渡辺 正博（すずかこどもクリニック）
二井 立恵（白子クリニック小児科）
伊佐地 真知子（白子クリニック小児科）

研究要旨 水痘・ムンプスはワクチン予防可能疾患であるが、本邦ではワクチン接種率が低いため繰り返し流行を認めている。流行をコントロールするために2種の検討を行った。最初は、ムンプスワクチンの2回目の接種時期の検討である。唾液からムンプスウイルスが分離されたムンプス罹患例の発症年齢から2回目の接種時期は、MRワクチンと同様の小学校入学前1年以内が適切と判断された。二つ目は思春期群の水痘・ムンプス対策である。今回調査した思春期群245人の水痘抗体陽性率は95.1%と高かったが、ムンプス抗体陽性率は78.0%と水痘と比べ有意に低率であった（ $P<0.0001$ ）。しかし、思春期集団では水痘、ムンプスともに既往あり群では抗体陽性との一致率が極めて高く、既往歴が信頼できると判断されるので、ワクチン歴に関わらず、既往歴がない者および既往が不明な者に血清抗体測定対象者を絞り込むことで、効率よく検査できると判断された。

A. 研究目的

水痘・ムンプスともにワクチン予防可能疾患であるが、わが国では任意接種のために接種率が30%程度と低く、繰り返し流行を認めている。本邦はこれらワクチンの定期接種化を図っており、定期接種化に当たっては、水痘・ムンプスの疾病負担と、これらワクチンの有効性、安全性、接種時期、接種回数について明確にすることが大切である。

今回、本邦の今後の水痘対策、ムンプス対策を明らかにするために、ワクチン歴によるムンプス罹患年齢を検討し、同時に思春期集団での水痘・ムンプスの罹患歴・ワクチン歴による血清疫学について検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

1) ムンプス罹患年齢の検討

対象は唾液からムンプスウイルスが分離され、ムンプスとウイルス学的に診断された小児288人（ムンプスワクチン歴なし200人、ムンプスワクチン後60日以上経過してムンプスを発症した（ワクチン群）88人）である。ムンプス発症時の年齢を比較検討した。

2) 思春期集団における水痘・ムンプス血清疫学の検討

専門学校生245人（女性220人、男性25人、中央値18歳）を対象に、水痘およびムンプスの既往歴、ワクチン歴を調査し、同時にムンプスおよび水痘に対する血清IgG抗体価を酵素免疫（EIA）法（デンカ）を用い、添付文書に従い測定した。4.0 EIA価以上を抗体陽性、2.0 EIA価以上を抗体保有とした。

3) 統計学的検討

平均値の比較はt検定、2×2分割表は χ^2 検定、2×3以上分割表はマン・ホイットニ検定を用いて検討した。

C. 研究結果

1) ムンプス罹患年齢の検討

ムンプスワクチン歴がない200人の発症年齢は 5.47 ± 2.43 歳であったのに対し、ワクチン群88人の発症年齢は 6.31 ± 2.08 歳と有意に高値であった($P=0.01708$)。

2) 思春期集団におけるムンプスの血清疫学

245人中ムンプス既往歴があった人(既往あり群)は126人(51.4%)、既往歴なし(既往なし群)115人(46.9%)、不明4人(1.6%)であった。各群のムンプスワクチン接種率は、既往なし群では1回接種48人(41.7%)、不明3人(2.6%)であったのに対し、既往あり群では1回接種11人(8.7%)、2回接種1人(0.8%)、不明2人(1.6%)と、既往なし群の方が、有意にワクチン接種率が高率であった($P<0.0001$)。なお、全体のワクチン接種率は24.5%(245人中60人)であった。

抗体陽性率は、全体では245人中191人(78.0%)であった。既往歴群別の抗体陽性率は、既往あり群126人中122人(96.8%)であったのに対し、既往なし群は115人中66人(57.4%)と、既往なし群では抗体陽性率が有意に低値であった($P<0.0001$)。

既往なし群のワクチン歴別の抗体陽性率は、接種なし64人中38人(59.4%)、1回接種48人中27人(56.3%)と陽性率には差はなかったが、1回接種群では判定保留の割合が48人中19人(39.6%)であり、接種なし群よりも抗体価は全体として有意に高値であった($P=0.02548$ 、表1)。

ムンプスの不顕性感染は、抗体陽性者146人を対象とすると38人(26.0%)が既往歴なしで抗体を保有し、抗体陽性・判定保留者を対象とすると163人中51人(31.3%)が既往歴なしで抗体を保有していた。

3) 思春期集団における水痘の血清疫学

245人中水痘既往あり群は200人(81.6%)、既往なし群44人(18.0%)、不明1人(0.4%)であった。各群の水痘ワクチン接種率は、既往なし群では1回接種26人(59.1%)、2回接種1人(2.3%)、不明1人(2.3%)であったのに対し、既往あり群では1回接種8人(4.0%)、不明3人(1.5%)と、既往なし群の方が、有意にワクチン接種率が高率であった($P<0.0001$)。なお、全体のワクチン接種率は14.3%(245人中35人)であった。

抗体陽性率は、全体では245人中233人(95.1%)であった。既往歴別の抗体陽性率は、既往あり群200人中195人(97.5%)であったのに対し、既往なし群は44人中37人(84.1%)と、既往なし群の方が、有意に抗体陽性率が低値であった($P<0.0001$)。なお、既往なし群のワクチン歴別の抗体陽性率は、接種なし16人中13人(81.3%)、1

表1 ムンプス既往歴およびムンプスワクチン接種回数と抗体陽性率

既往歴	ワクチン回数	合計	抗体陰性	判定保留	抗体陽性	陽性率(%)
なし	0	64	13	13	38	59.4
	1	48	2	19	27	56.3
	不明	3	1	1	1	33.3
あり	0	115	0	4	108	96.4
	1	11	0	0	11	100
	2	1	0	0	1	100
	不明	2	0	0	2	100
不明	0	3	1	0	2	66.7
	不明	1	0	0	1	100
合計		245	17	37	191	78.0

*既往あり：126人(51.4%)、既往なし：115人(46.9%)、不明4人(1.6%)

*ワクチン接種率：全体 60/245 (24.5%)、既往あり：12/126 (9.5%)、既往なし：48/115 (41.7%)

*抗体陽性 78.0%、判定保留 15.1%、抗体陰性 6, 9%

*抗体陽性率：既往あり 96.8%、既往なし 57.4%

表2 水痘既往歴および水痘ワクチン接種回数と抗体陽性率

既往歴	ワクチン回数	合計	抗体陰性	判定保留	抗体陽性	陽性率(%)
なし	0	16	2	1	13	81.3
	1	26	0	4	22	84.6
	2	1	0	0	1	100
	不明	1	0	0	1	100
あり	0	189	1	2	186	98.4
	1	8	0	2	6	75.0
	不明	3	0	0	3	100
不明	0	1	0	0	1	100
合計		245	3	9	233	95.1

*既往あり：200人(81.6%)、既往なし：44人(18.0%)、不明1人(0.4%)

*ワクチン接種率：全体35/245(14.3%)、既往あり：8/200(4.0%)、既往なし：27/44(61.4%)

*抗体陽性95.1%、判定保留3.7%、抗体陰性1.2%

*抗体陽性率：既往あり97.5%、既往なし84.1%

回接種26人中22人(84.6%)、2回接種1人を含めると、26人中23人(88.5%)と、抗体陽性率に有意な差を認めなかった(表2)。

水痘の不顕性感染は、抗体陽性者199人を対象とすると、13人(6.5%)が既往歴なしで抗体を保有し、抗体陽性・判定保留者202人では14人(6.9%)が既往歴なしで抗体を保有していた。

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、入院率が低いため軽症の感染症と考えられている。また任意接種であることもあって接種率は低率であり、繰り返し流行を認めている。本邦はこれらワクチンの定期接種化を図っているが、水痘ワクチン、ムンプスワクチンとも2回接種が計画されている。

昨年度の保育園での水痘流行の調査から、水痘ワクチンは、1期は1歳過ぎに接種し、2回目は初回接種後4～12か月後に接種することを提唱した。今年にはムンプス発症年齢からムンプスワクチンの接種時期を検討した。

ムンプスワクチンは副反応出現率から初回は1歳過ぎに接種することが勧められているが、2回目の接種時期については十分に検討されていなかった。今回の検討では、ムンプスの平均罹患年齢は、ワクチン歴がない群では5.47歳、ワクチン歴がある群では6.31歳であった。この結果から、ムンプスワクチンの2回目の接種時期は、MRワクチンと同様の就学1年前が適切と判断された。

水痘、ムンプスともにヒトからヒトに感染する感染症である。ヒトヒト感染する感染症では、発症予防レベル以上の抗体価を持つ人の割合が集団免疫率を上回ると流行が抑制される。水痘の集団免疫率は90～95%、ムンプスでは85～90%である。水痘の発症予防抗体価は150mIU/mlという報告があるが、この抗体価はデンカのEIA抗体価では3.0 EIA価にはほぼ相当する。一方、ムンプスでは発症予防レベルの抗体価が確定されていない。

ムンプスでは麻疹や風疹と比べ抗体産生細胞数が少ないため、抗体価が低いことが知られている。今回の検討でも、ワクチン歴の有無にかかわらず、ムンプス既往歴がない人は、ムンプス既往歴がある人と比べると、抗体陽性率は有意に低値であった。しかし、ムンプス既往歴なし群において、ムンプスワクチン歴がある群は、ムンプスワクチン歴がない群と比べると、判定保留者が多く、全体として抗体保有者が多い結果であった。

以上の結果から、デンカの判定基準である4.0 EIA価以上を抗体陽性とし、2.0 EIA価以上を抗体保有として思春期集団の水痘、ムンプスに対する血清疫学調査を比較した(表3)。水痘では、抗体陽性率は95.1%であり、既往群では97.5%、既往なし群では84.1%であった。更に既往歴なし群をワクチン歴により2群に分けると、ワクチン群88.5%、ワクチンなし群81.3%と、抗体陽性率には大きな差を認めなかった。

一方、ムンプスでは、抗体陽性率は78.0%と水痘よりも明らかに低値であった(P<0.0001)。既

表3 思春期群における水痘・ムンプスの血清疫学

		ムンプス		水痘		P value	OR
ワクチン接種率	全体	60/245	24.5%	35/245	14.3%	0.00428	1.95
	既往あり群	12/126	9.5%	8/200	4.0%	0.04299	2.52
	既往なし群	48/115	41.7%	27/44	61.4%	0.72181	1.14
抗体陽性率	全体	191/245	78.0%	233/245	95.1%	<0.0001	0.18
	既往あり群	122/126	96.8%	195/200	97.5%	0.71735	0.78
	既往なし群	66/115	57.4%	37/44	84.1%	0.00161	0.25
	ワクチン群	27/48	56.3%	23/27	85.2%	0.01072	0.22
	なし群	38/64	59.4%	13/16	81.3%	0.08772	0.34
抗体保有率	全体	228/245	93.1%	242/245	98.8%	0.00300	0.17
	既往あり群	126/126	100%	199/200	99.5%	0.81542	INF
	既往なし群	99/115	86.1%	42/44	95.5%	0.06089	0.28
	ワクチン群	46/48	95.8%	27/27	100%	0.40649	0
	なし群	51/64	79.7%	14/16	88.5%	0.37699	0.28
不顕性感染率	抗体陽性	38/146	26.0%	13/199	6.5%	<0.0001	5.03
	抗体保有	51/163	31.3%	14/202	6.9%	<0.0001	6.11

抗体陽性 \geq 4.0 EIA 価、抗体保有 \geq 2.0 EIA 価
INF：計算不可能

往歴別に抗体陽性率をみると、既往群の陽性率は96.6%と水痘と同等であったが (P=0.71705)、既往なし群は57.4%と、水痘と比べて有意に低値であり (P=0.00161)、既往なし群の抗体陽性率の低さが、ムンプスの抗体陽性率の低値に影響を及ぼしていた (表3)。

ムンプスの血清疫学で興味深いことは、水痘に比べて判定保留域の血清が多いことである。今回の検討では水痘の3.7%に対して、ムンプスでは15.1% (37人) であった。しかもそのほとんど (33人) は、ムンプス既往なし群に含まれており、なかでも罹患なし・ワクチン接種群の比率が高かった。以上のことから、不顕性で軽くかかったときや、ワクチンにより誘導される免疫は、自然感染により誘導される免疫よりも低いことが確認された。

水痘はほとんど不顕性感染がなく、ムンプスの不顕性感染率は30%と言われている。今回の検討では、EIA抗体陽性を基準としたときの不顕性感染率は、水痘6.5%、ムンプス26.0%であり、抗体保有を基準としたときの不顕性感染率は、水痘6.9%、ムンプス31.3%であった。この結果から、思春期集団における不顕性感染率は、水痘では6.5~6.9%、ムンプスでは以前の報告と同様の26.0~31.3%であることが確認された。

今回の結果から、思春期集団では水痘、ムンプ

スともに既往あり群ではほとんどが抗体陽性であり、抗体測定は不要と考えられた。一方、既往なし群では、ワクチン歴がある群では判定保留者の割合が高く、発症予防抗体価が確立されていない現在では、2回目のワクチン接種が勧められる。また、ワクチン歴がない群では、一部不顕性感染者が含まれるが、抗体陰性者の割合が高いため、この群もワクチン接種が勧められると判断された。即ち、思春期集団では既往の有無と抗体陽性の一致率が極めて高いので、ワクチン歴に関わらず、既往歴なしおよび不明者を対象に抗体測定を行うことが効率的と判断された。

E. 結論

ムンプス罹患年齢から、ムンプスワクチンの2回目接種時期は、MRワクチンと同様の入学前1年が適切と判断された。思春期群のムンプス・水痘の疫学調査では、各感染症の既往と抗体陽性の一致率は極めて高く、既往歴が信頼できるため、ワクチン歴に関わらず既往歴がないものおよび既往が不明な者を対象に抗体測定を行うことが効率的な方法と判断された。

G. 研究発表

1. 著書・論文発表

- 1) 庵原俊昭：ムンプスウイルス、小児感染症学会編、小児感染症マニュアル、東京医学社、東京、304-311、2012
 - 2) 庵原俊昭：ムンプスワクチン。小児科学レクチャー2：365-370, 2012
 - 3) 庵原俊昭、落合 仁：ムンプスワクチン－合併症に対する予防効果。小児科診療75：121-125, 2012
- ### 2. 学会発表
- 1) 庵原俊昭、菅 秀、落合 仁：保育園流行時

における水痘ワクチンの有効性の検討。第27回東海ヘルペス群ウイルス感染症研究会（名古屋、3月）

- 2) 庵原俊昭、菅 秀、浅田和豊：専門学校生におけるムンプス・水痘の血清疫学とムンプスワクチン・水痘ワクチン有効性の検討。第53回日本臨床ウイルス学会（豊中、6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

わが国のムンプスウイルスの流行解析基盤の構築

研究分担者：竹田 誠（国立感染症研究所・ウイルス第三部）

研究協力者：木所 稔（国立感染症研究所・ウイルス第三部）

庵原 俊昭（国立病院機構三重病院）

名木田 章（水島中央病院小児科）

研究要旨 日本国内で流行するムンプスウイルスの情報を集積することは、国内での流行動態を把握し、ワクチン対策に反映させるために必要不可欠である。我々は2012年に三重県および岡山県内で分離されたムンプスウイルス36株について分子系統学的解析を行った。その結果、全てのウイルスは2000年来国内で流行を続けている遺伝子型Gに分類され、さらに二つのクレードに分類されることが明らかとなった。その中の1株を除くほとんどの株は、これまで主に西日本で流行してきたクレードに属し、2000年以降現在までこのクレードのG型が西日本での流行の主流占めることが明らかとなった。1株は主に首都圏で流行するクレードであった。

A. 研究目的

日本国内ではMMRワクチンの中止以降ムンプスワクチンの接種率が低迷し、おたふくかぜの流行は全く制御できていない。こうした現状を踏まえ、一日も早いムンプスワクチンの定期接種化が求められている。

一方海外に目を向けると、日本以外の先進諸国においてはMMRワクチン2回接種の普及にもかかわらず、おたふくかぜのたび重なるアウトブレイクが問題となっている。

今後ワクチンの導入によっておたふくかぜ流行の制御を確実なものにするためには、ムンプスウイルスの国内における流行動態の把握、抗原性の解析、病原性発現機構の解明など、いくつかの解決すべき課題がある。なかでも、国内での流行動態を把握するための網羅的、経時的な分子疫学データの集積は、ワクチンの効果を的確に評価し行政上の施策に反映させる上で必須である。しかしながら、それを実現するための全国的なサーベイランスのネットワークシステムはいまだ無く、その構築は急務となっている。そこで我々はこの研究班において、その基礎となるべき病院や地衛研と感染研とを繋ぐネットワークの構築を目指す。

今年度は、2012年中に国立病院機構三重病院および水島中央病院（岡山県）で分離されたムンプスウイルスを分与頂き、それらについて分子疫学的解析を行い、これまで国内で流行したウイルスと比較することによってその特徴を解析した。

併せて、遺伝子型によってワクチンの効果に差が生じるか、またワクチンの遺伝子型とワクチンの効果との関連性を評価する目的で、国産ワクチン株星野株（遺伝子型B）およびEndars株（遺伝子型A）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中和に基づく抗原性解析を行った。

B. 研究方法

(1) ムンプス患者由来分離ウイルス

2012年に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20株、および水島中央病院（岡山県倉敷市）において分離された分離ウイルス16株を試験に供した。

(2) 分子系統学的解析

全株のSH遺伝子領域の配列を決定し、WHO Mumps Nomenclature Update Meetingで新たに提案された遺伝子型標準株の塩基配列を基に、

NJ法を用いて遺伝子型を決定した。更にこれまで首都圏および三重病院で分離された遺伝子型Gウイルスのデータを元に詳細なクレードの分類を行った。

(3) 分離ウイルスの抗原性解析

北里大学生命科学研究所中山哲夫先生より分与頂いた星野株（遺伝子型B）に対する高度免疫ウサギ血清、および感染研で調製されたEnders株（遺伝子型A）に対する高度免疫ウサギ血清を用いて、様々な遺伝子型のウイルス（北海道株（遺伝子型G）、モンゴル分離株（遺伝子型H3）、Enders株（遺伝子型A）、占部株（遺伝子型B）、02-49株（遺伝子型J）、および大館株（遺伝子型I））に対する中和曲線を求め、抗原性の違いを調べた。

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℃で2時間インキュベーションした後、4℃にて5時間インキュベーションした。陰性対照として正常ウサギ血清を用いた。中和したウイルスの残存力価は、96ウェルマルチプレートに培養したVero細胞に階段希釈したサンプルを接種し、各血清希釈倍率ごとに測定した。これをグラフにプロットし、各ウイルスの中和曲線を得た。

C. 結果

(1) 三重県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分離されたウイルス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1）。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。

(2) 三重県および岡山県内分離ウイルスの遺伝子型とサブタイプ

2012年の三重県と岡山県の36株は全て遺伝子型Gであった（図2）。これらの株を含めた1999年以降流行しているG型は、大きく2つのクレードに分かれ、年によって流行するクレード一方から他方へと変化していることが判明した（図3、4）。二つのクレードの一方は主に横浜などの首都圏で分離されており、他方は三重県や岡山など西日本で主に分離されている。そこでこれらのクレードをそれぞれ東日本型（Ge）,および西日本型（Gw）と名付け、三重県における2つのクレードの変遷をグラフ化した（図4）。その結果、三重県内での流行の主流はGwタイプと考えられるが、2010

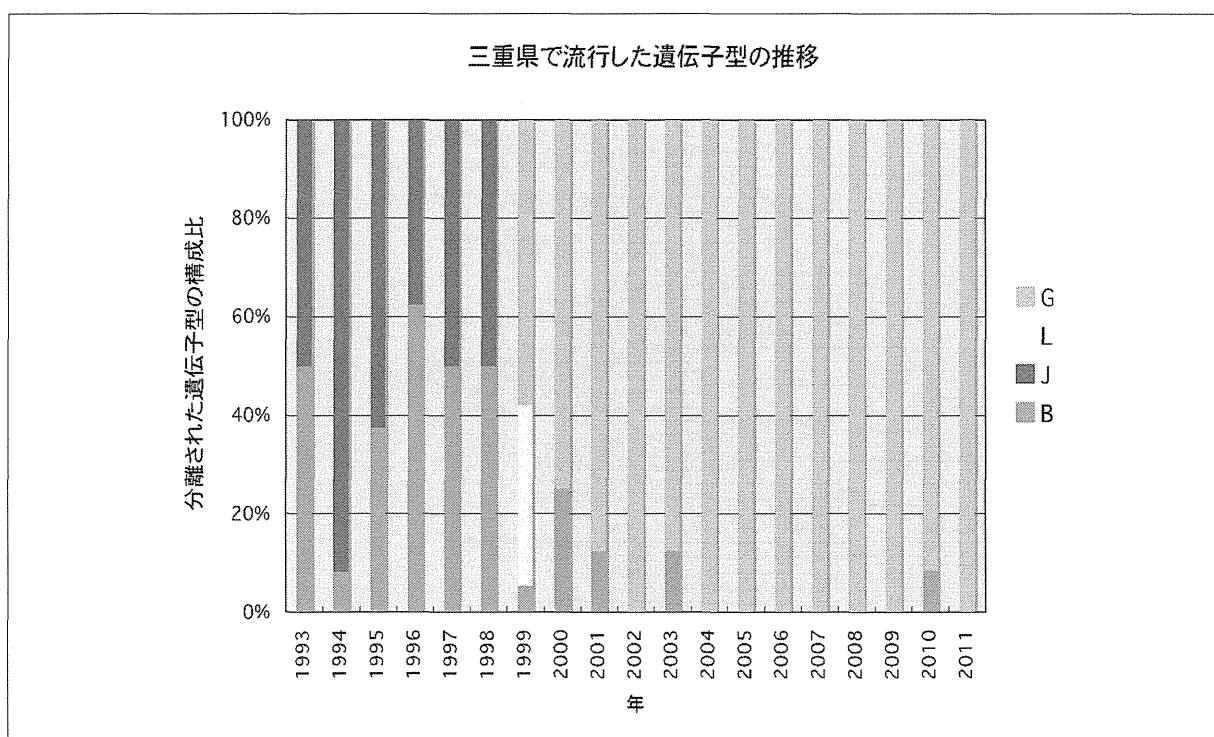


図1 三重県におけるムンプスウイルス流行株の遺伝子型の系時的変遷

年に一時的にGeタイプが過半数を占めていたことが判明した。しかし、以降は再びGwタイプに取って代わられていた。今回解析した2012年の36株についても、35株がGw型で、Ge型は1株のみであった。

(3) 抗ムンプスウイルス血清による流行株の抗原性解析

抗Enders株血清（抗A型血清）では、ホモのウイルス（Enders株）が最も効率よく中和され、次いでG、I、B、J型が中和されやすく、LとHが

最も中和されにくかった（図5）。LとHは最も濃い血清濃度（1：4倍希釈）でも完全に中和されることがなかった。

一方、抗星野株血清（抗B型血清）では遺伝子型H以外のウイルスはほぼ同様に効率よく中和されることが明らかとなった（図6）。一方、遺伝子型Hのモンゴル分離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倍希釈）においても完全に中和されることがなかった。



図2 2012年流行株の遺伝子型

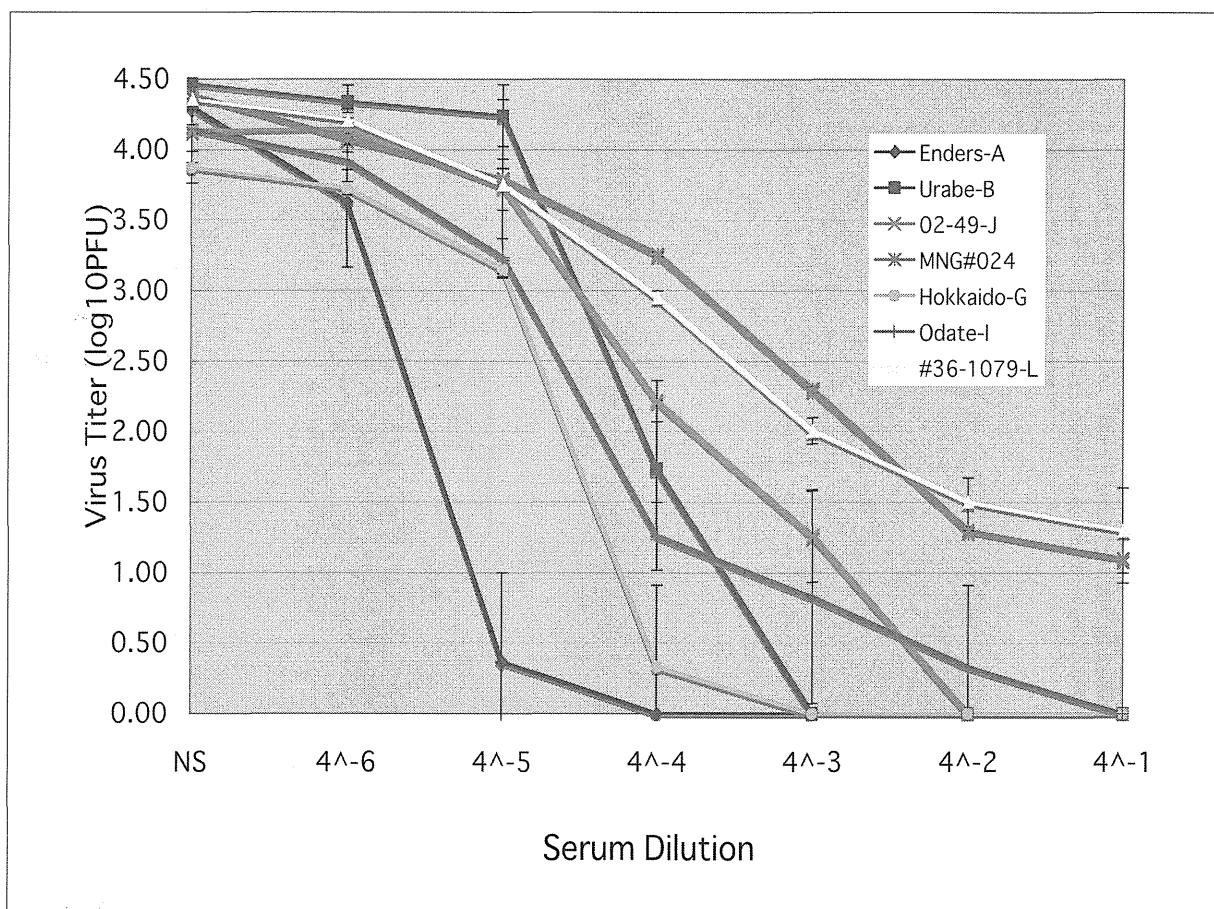


図5 抗ムンプス中和曲線 (Anti-A血清)

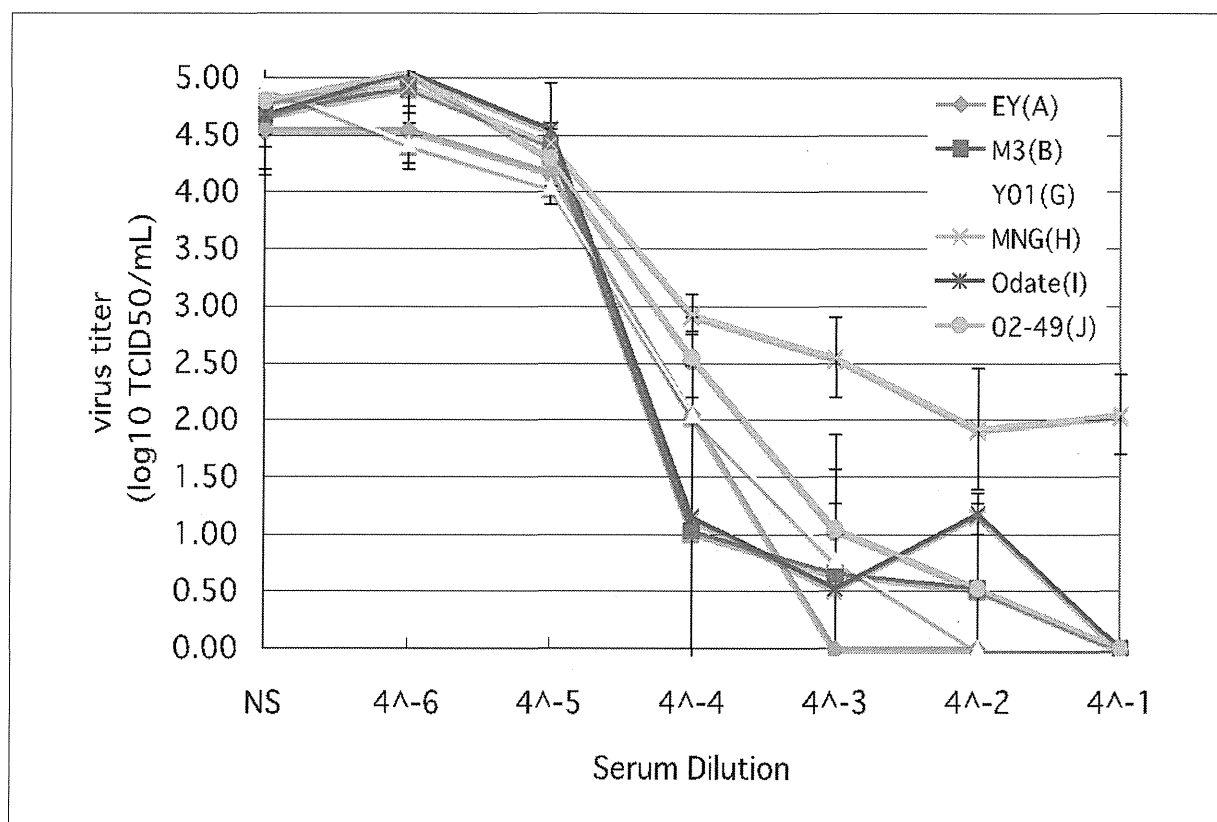


図6 抗ムンプス中和曲線 (Anti-B血清)

D. 考察

日本国内における流行株の遺伝子型は1999年に境に大きく変化していることがこれまで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、古くから長く流行株の主流を占めてきた。しかし、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、流行が短期間で終わった理由は明らかではない。一方、遺伝子型Gは1999年以降現在まで流行の主流を占め、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的に異なっており、国内流行株の由来は不明である。国内のG型は更に2系統に分かれており、一方のクレードは主に西日本で流行し（西日本型（Gw））他方は主に首都圏で流行している（東日本型（Ge））。しかし、今回の解析で三重県や岡山県からもGe型が検出されており、2010年には三重県での流行の主流となっていた。逆にこれまでの首都圏で分離されたウイルスの解析から、首都圏においてもGw型が分離されており、これら2つのクレードが併存しながら日本国内で流行を繰り返している様子がうかがえる。

抗A型（Endars株）高度免疫血清と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、A型で誘導される中和抗体の中和活性はより遺伝子型の影響を受けやすく、ホモの組み合わせ意外の場合に中和活性が大きく低下する傾向が認められた。この結果は、系統的にA型のみが他の遺伝子型から大きく乖離していることと符合する。抗B型血清では遺伝子型による中和活性の差が大きい結果とも整合する。これは、A型に由来するワクチンは異なる遺伝子型ウイルスに対する防御効果が相対的に低くなる可能性を示唆するのかもしれない。対して、B型に由来する国産ワクチン株のほうが、様々な遺伝子型に対する中和のスペクトルが広く、ワクチンとしてのアドバンテージが高いことを示唆しているかもしれない。

モンゴル分離株（H型）の抗原性は他の遺伝子

型に比べていずれの抗血清でも最も中和されにくいことが明らかになった。この結果は、この株の流行が現行ワクチンの効果を減じる可能性を示唆しているのかもしれない。

しかし、これらの結果は高度免疫血清によるものであり、ワクチンによって誘導された免疫とは異なるため、この結果を持ってワクチンの効果を議論するのは危険かもしれない。今後はワクチン被接種者の血清を用いた解析を計画している。

E. 結論

1. 2012年の三重県、岡山県内の流行の主流は遺伝子型Gであった。
2. これらのG型には前年までと同様に2つの系統、東日本型（Ge）、および西日本型（Gw）が混在していた。
3. 2012年を含め西日本での流行の主流はGwタイプと考えられるが、三重県内では2010年にGeタイプが一時的に過半数を占めた。しかし、以降は再びGwタイプに取って代わられた。
4. 抗A型血清では遺伝子型による中和への影響が抗B型血清に比べて大きく、遺伝子型HとLが最も中和されにくい。
5. 抗B型血清では遺伝子型による中和への影響が比較的小さく、遺伝子型H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) 駒瀬勝啓、竹田誠、(2012) ヨーロッパの麻疹の状況と今後の日本の課題、病原微生物検出情報、33、29-30。
- 2) 駒瀬勝啓、竹田誠 (2012) ウイルス感染症検査診断の新しい展開、麻疹、風疹、ムンプスの検査診断の現状、臨床と微生物、39、656-662。
- 3) 關文緒、竹田誠 (2012)、麻疹のウイルス型、日本医事新報、4613、58-59
- 4) Saitoh M, Takeda M, Gotoh K, Takeuchi F, Sekizuka T, Kuroda M, Mizuta K, Ryo A,

- Tanaka R, Ishii H, Takada H, Kozawa K, Yoshida A, Noda M, Okabe N, Kimura H. (2012) Molecular evolution of hemagglutinin (H) gene in measles virus genotypes D3, D5, D9, and H1. PLoS One. 7 : e50660.
- 5) Tahara M, Ito Y, Brindley M, Ma X, He J, Xu S, Fukuhara H, Sakai K, Komase K, Rota P, Plemper R, Maenaka K, Takeda M. (2013) Functional and structural characterization of neutralizing epitopes of measles virus hemagglutinin protein. J. Virol. 87 : 666-75.
- 6) Tahara M, Ohno S, Sakai K, Ito Y, Fukuhara H, Komase K, Brindley MA, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, Takeda M. The Receptor-binding Site of the Measles Virus Hemagglutinin Protein Itself Constitutes a Conserved Neutralizing Epitope. J Virol. 2013 Jan 2. [Epub ahead of print]
- ## 2. 学会発表
- 1) 木所 稔、齋加志津子、網 康至、須崎百合子、加藤 篤、竹田 誠:リバーズ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60回日本ウイルス学会総会、大阪、2012年11月
- 2) 新妻隆広、木所 稔 :授乳婦に対するムンプスワクチン接種 :接種後の母乳におけるワクチンウイルス検出、第16回日本ワクチン学会総会、横浜、2012年11月
- 3) 加藤 篤、永田志保、前寺知弥、木所 稔、永田典代、竹内 薫、竹田 誠 :おたふくかぜ生ワクチン (ミヤハラ株) とその親株の比較、第16回日本ワクチン学会総会、横浜、2012年11月
- 4) 田原舞乃、駒瀬勝啓、柳雄介、前仲勝実、Paul A. Rota、竹田誠、麻疹ウイルスの単一血清型を説明するHタンパク質上のエピトープについて、First Negative Strand Virus-Japan Symposium、2012年1月、長崎
- 5) 竹田誠、(基調講演) 2012年麻しんの現状と実験室の役割、第53回日本臨床ウイルス学会、堺、2012年6月16-17日
- 6) 岡本 貴世子、大槻 紀之、坂田 真史、森 嘉生、竹田 誠、麻疹ウイルスワクチン株の温度感受性とモルモットにおける抗体誘導能の関連性、第60回日本ウイルス学会、大阪、2012年11月13-15日
- 7) 田原 舞乃、Melinda A. Brindley、福原 秀雄、酒井 宏治、大野 真治、駒瀬 勝啓、Paul A. Rota、Richard K. Plemper、前仲 勝実、竹田 誠、麻疹ウイルス単一血清型決定の分子基盤、第60回日本ウイルス学会、大阪、2012年11月13-15日
- 8) 田原舞乃、駒瀬勝啓、竹田誠、麻疹ウイルスHタンパク質全エピトープの詳細な解析、第16回日本ワクチン学会、Voyage and Challenge in Vaccine Development from Japan to the World、横浜、2012年11月17-18日
- 9) Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Ma XM, He JL, Xu ST, Fukuhara H, Sakai K, Ohno S, Komase K, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, Takeda M. (2012 September 11-14. Awaji Island, Hyogo, Japan) A structural and biochemical basis for the single serotype nature of measles virus. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity.
- 10) Takeda M. Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Fukuhara H, Komase K, Yanagi Y, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K. (2012 October 16-19. Sapporo, Hokkaido) Structural and Functional Constraints on the Measles Virus Hemagglutinin Protein Prevent Escape from Neutralization. The 34th Naito Conference : Infection, Immunity and their Control for Health : Mucosal Barrier, Pathogen and Vaccine.
- ## 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

水痘ワクチンウイルスの効果判定に関する研究

研究分担者：森 康子（神戸大学大学院医学研究科／医薬基盤研究所）

研究協力者：村上 宏起（医薬基盤研究所感染制御プロジェクト）

庵原 俊昭（国立病院機構三重病院）

研究要旨 HN遺伝子を発現する水痘ワクチンウイルスを免疫したモルモットの血清中には異なった遺伝子型のムンプスウイルスに対する中和抗体も存在した。本水痘ワクチンウイルスは、異なった遺伝子型のムンプスウイルスにも対処できるワクチンと成り得る可能性があると考えられる。

A. 研究目的

我々は水痘生ワクチンOka株（vOka株）に、ムンプスウイルスのHN（MuV-HN）抗原の遺伝子を組み込み、MuV-HNを発現させた組換え水痘ウイルスを作製し、解析を行ってきた。そこで今回、本ウイルスを免疫したモルモットの血清中に存在するHNに対する抗体が他の遺伝子型のムンプスウイルスを阻害することができるかどうかを検討する。

B. 研究方法

水痘ワクチンOka株（vOka）のORF13の領域に、MuV-HN遺伝子とCMVプロモーター領域を置換したMuV-HN発現組換え水痘ウイルス（vOka-HN）を作製した。

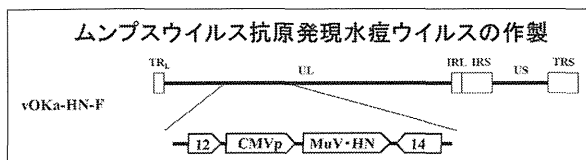
vOka-HN感染細胞をモルモット（各群3匹）に免疫して、水痘とムンプスウイルスに対する中和抗体価を測定した。ムンプスウイルスについては、ワクチン株（Urabe株）だけでなく臨床分離株（国立病院機構三重病院 庵原俊昭先生より分与を受けた）に対する中和抗体価も測定した。

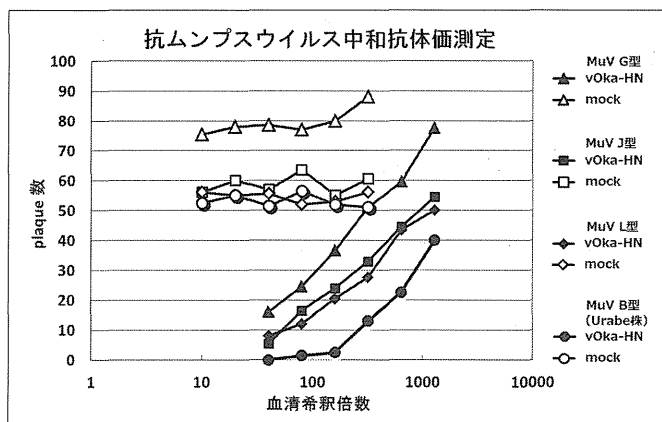
ムンプス中和抗体価測定試験

ブラークリダクションアッセイ法で測定した。免疫したモルモットから得られた血清を、1：10から1：1280まで2倍階段希釈した。攻撃ウイルスとしてワクチン株又は臨床分離株を100 pfu/0.1 mLとなるように希釈した。希釈した各血清と攻撃ウイルスを1：1で混ぜ、37℃で1時間反応させた。その混合液を、あらかじめ6ウェルプレートに播いて準備しておいたVero細胞に加えて、37℃で1時間吸着させた。細胞を洗浄し、3%FBS+0.5%agar in MEMを加えて37℃で1週間培養した。10%formaldehyde in PBSで一晩固定化し、アガーを取り除いて、細胞に1% crystal violetを加えて染色した。血清の希釈倍率ごとのプラークの数を測定した。50%以上プラーク数が減少している最大血清希釈倍率を中和抗体価とした。

水痘中和抗体価測定試験

ブラークリダクションアッセイ法で測定した。免疫したモルモットから採取した血清を、1：10から1：320まで2倍階段希釈した。攻撃ウイルスとして水痘ウイルスvOka株を100 pfuL/0.1 mLとなるように希釈した。希釈した各血清と攻撃ウイルス、未処理モルモット血清を1：1：1で混ぜ、37℃で30分間反応させた。その混合液を、あらかじめ6ウェルプレートに播いて準備しておいたMRC-5細胞に加えて、37℃で1時間吸着させた。





水痘に対する中和抗体価			
VZV (Oka)			
mock	<10	<10	<10
vOka-HN	80	80	80

ムンプスに対する中和抗体価						
G型			J型			
mock	<10	<10	<10	mock	<10	<10
vOka-HN	320	160	160	vOka-HN	160	160

L型			B型(Urabe)		
mock	<10	<10	<10	mock	<10
vOka-HN	160	160	320	vOka-HN	320

細胞を洗浄し、培地を加えて37℃で5日間培養した。1% crystal violet/70% ethanolで一晩固定化・染色した。血清の希釈倍率ごとのプラーク数を測定し、90%以上プラーク数が減少している最大血清希釈倍率を中和抗体価とした。

(倫理面への配慮)

本実験は医薬基盤研究所で行った。当該研究機関における承認済みの動物実験計画書に基づいて動物実験を行った。組換えウイルス実験に関しては大臣確認および当該研究機関における安全委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

vOka-HN感染細胞をモルモットに免疫し、中和抗体価を測定すると、ワクチン株であるUrabe株（遺伝子型B型）や、臨床分離株（遺伝子型G型、J型、L型）など、今回攻撃ウイルスに用いた全てのムンプスウイルス株に対する中和抗体の誘導が確認できた。

また、水痘ワクチン株vOka株に対しても中和抗体が誘導されていた。

D. 考察

今回作製したvOka-HNに組み込んだMuV-HNの遺伝子は、G型である。それを発現させた組換え水痘ウイルスでモルモットに免疫を行ったが、

同じG型以外の遺伝子型であるB型、J型、L型に対しても中和抗体が誘導されていた。様々な型のムンプスウイルスに対して幅広く効果があるワクチンと成り得ると考えられる。

E. 結論

MuV-HN発現組換え水痘ウイルス（vOka-HN）は異なった型のムンプスウイルスの流行にも対処できる可能性があると考えられる。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第16回ワクチン学会,2012年11月18日(日)

森 康子「水痘ワクチンの組換えワクチンベクターとしての応用」

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得：なし

2. 実用新案登録：なし

3. その他：なし

水痘の流行解析のための血清学・免疫学検査法の改良とワクチン製剤の分析

研究分担者：井上 直樹（国立感染症研究所ウイルス1部・室長）

研究要旨 弱毒生水痘ワクチン（岡株）は安全性・有効性に優れたワクチンであり、定期接種化が期待されている。懸念事項として、水痘ワクチン接種後の抗体陽転率の低下が近年疑われているが、その要因として製剤の物理化学的特性が変化している可能性はないことを示した。また、ワクチン接種者における水痘（breakthrough水痘）発生に対して、水痘の感染防御の詳細な理解が必要であるため、VZV特異的細胞性免疫の標的となる抗原の検索を行い、ORF61、ORF63などに対し多くの成人ボランティアが反応することを見出した。細胞性免疫の測定法の簡便化や、個別の抗原に対する細胞性免疫反応の程度とbreakthrough水痘発生の相関の検討を、今後行う。

A. 研究目的

水痘は年間100万人程度が罹患し、合併症や重症化に伴い4000人の入院、10人程度の死亡が推測されている。弱毒生水痘ワクチン（岡株）は、高橋らにより世界に先駆けて開発されたワクチンで、その安全性・有効性はWHO専門家委員会においても高く評価されている。我国での接種率は30-40%と推定されているが、米国をはじめとした多数の国においては、全小児への接種を目指した取り組みが実施されている。米国やドイツなどでは、水痘ワクチンの定期化により、罹患患者数・入院者数・死亡者数の激減が、すでに実証されている。水痘の発生数を低減するには、接種の推進と同時に、ワクチン接種者における水痘（breakthrough水痘）発生を抑制する必要がある。そのためには、breakthrough水痘のリスク要因を明確にすること、また、追加接種が有効な手段であるエビデンスを提供することが、重要である。

水痘の感染防御の主体は、水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）の初感染1-2週後より出現する特異的細胞性免疫である（Arvin他1982）。加齢に伴う細胞性免疫の減弱により帯状疱疹が発症する（Burke他1982）が、ワクチン接種により細胞性免疫の増強が可能である（Takahashi他2003；Oxman他2008）。しかしながら、感染防御に重要な細胞性免疫の標的となっているVZVの抗原・

エピトープの解析は限られており、網羅的に標的抗原を検討した研究は過去にない。

本研究では、水痘ワクチンの接種後の抗体陽転率が低下しているとの危惧があることに対して、製剤が質的に昔と現在で変化しているのか比較検討することや血清学的検査法に問題がないかを検証する。また、VZV特異的細胞性免疫に対する理解を深め、細胞性免疫の測定法の簡便化を行うとともに、細胞性免疫とbreakthrough水痘発生の相関を検討する。

B. 研究方法

1. VZVの力価測定

ヒト二倍体細胞HFLを10%牛胎児血清（FBS）添加MEM培地で培養し、VZVを感染後、2%FBS添加MEM培地を含む1%メチルセルロースを重層し、7日間培養した。重層を除き、0.2%メチレンブルー、0.1%フォルムアルデヒド液で固定染色した。実体顕微鏡下でプラークを計数し力価を決定した。

2. VZV抗原量の測定

ワクチンの小分け製剤を用法に従い水で溶解し、ELISA用プレートに、希釈系列をコーティングし、IB62及びgEに対するモノクローナル抗体、ペルオキシダーゼ標識抗マウス抗体を順次反応し、ABTSを用いて発色反応を行い、吸光度を測定し

た。現行のワーキングシードから作製された小分け製品から得られた値を100として、過去の製品中の相対的な抗原量を求めた。総蛋白量は、ローリー法により求めた。

3. VZV及び細胞DNA量の測定

小分け製剤を用法に従い水で溶解し、①そのまま、もしくは②DNase処理後、QIAamp DNAmi kit (QIAGEN) を用いて精製した。①から得られたDNA標品を用いて、小分け製品中の全VZV DNA量や細胞DNA量をTaqMan PCR法を用いて定量した。一方、②から得られたDNA標品を用いることで粒子中のVZV DNAを定量した。VZV及び細胞遺伝子に対するTaqMan PCRは、過去に報告した方法 (Fukui他2009) による。

4. VZV抗原の調製

モルモット線維芽細胞GPLを10%FBS添加F12培地にて培養し、VZV岡ワクチン株をMOI 0.01程度で感染後7日目に細胞を回収した。細胞をPBSで洗浄後、T75フラスコ当り10mlのPBSに懸濁し超音波破碎後、4℃で600xg、10分間遠心した上清をELISPOT用のVZV抗原とした。また、未感染細胞から同様に抽出液を調製した。

5. 遺伝子導入細胞から核抽出液の調製

6穴プレートにまいた293T細胞に、リン酸カルシウム法を用いて4 µgの発現ベクターDNAを導入した。2日間培養後、細胞を回収し、氷冷した低張液に懸濁し、Dounceホモジナイザーで破碎後、230xg、5分間で遠心して得られた沈殿を核画分とした。Bioruptorにより超音波処理 (30秒3回) を行い、遠心後核抽出液を得た。

6. VZV特異的細胞性免疫能の定量

神戸大森康子先生らが確立した方法 (Sadaoka他2008) を当研究室に合うように多少調整し、以下の条件で定量を行った。抗ヒトインターフェロン (IFN) γ抗体をコーティングした疎水性PVDFフィルターのプレート (IP) に、末梢血単核球と各種の抗原を加えて、38時間培養した。培養液を除き、プレートをブロッキングした後、ビオチン標識ヒトIFN γ抗体、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンと順次反応させ、TMBにより発色させた。陽性対照としてPHA、陰性対照として未感染細胞抽出液、もしくは、空ベクターを遺伝子導入した293T細胞の核抽出抗原を用い

た。スポット数は実体顕微鏡下で計数した。なお、末梢血単核球は、Lymphoseparで分離後、1 × 10⁷cells/mlにセルバンカーに懸濁後-80Cに保存したものを融解して用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は材料として健常人ボランティアから得たヒト末梢血を使用した。国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査会において承認された内容に則り、採血の際に十分な説明を行った上で同意を得た。また、検体から個人が特定できないように検体を管理することで、個人情報の保護に配慮して研究が実施された。

C. 研究結果

1. ワクチン製剤の同質性の経年解析

水痘ワクチン接種後の抗体陽転率が疑われているが、その低下の要因としては、①製剤そのものが、何らかの形で変化した可能性、②抗体陽転率を求めるための血清学的方法の感度が低下した可能性、③接種対象者の質的变化、例えば年齢層の若年化、などが考えられる。本年度は、①の水痘ワクチン製剤が承認・販売開始されて以降の25年間に、物理化学的に質的な変化があるかを検討した。1ドーズ中の総蛋白量、抗原量、ウイルス力価、ウイルス粒子中DNA量、フリーのDNAも含めたウイルスDNA量、混入している細胞由来のDNA量が、これまで製造に用いられた6つのワーキングシード由来の小分け製品で、どの程度変化しているかを解析した。検討したいずれの項目においては、ほぼ2倍以内の増減の範囲であり、特段の減少もしくは増加するトレンドは見られなかった (図1)。アジュバントとして作用する可能性のある細胞DNA量も少なく量的変化もなかった。

2. 特異的細胞性免疫の標的抗原の同定

感染防御のマーカーとなる特異的細胞性免疫反応を誘導するVZV抗原を同定するため、293T細胞に核内局在性を有する13種類のVZV遺伝子を個別に発現させ、核画分を抗原として、IFN γを産生する末梢血単核球中の応答細胞数をELISPOT法で求めた。成人20名のボランティアを検討した結果、75%以上の成人がORF8、ORF61、ORF62、ORF63、ORF66の各蛋白に強

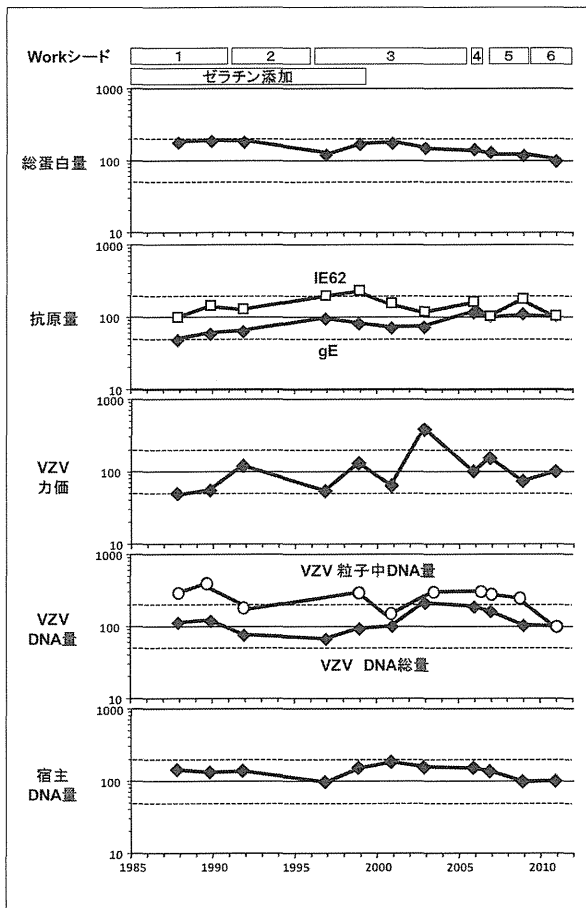


図1 ワクチン製剤の経年的変化の解析

い反応性を有することを見出した(図1)。中でも、ORF61及びORF63に対して、強い反応が見られた。ORF63、ORF62については、細胞性免疫エピトープが知られることから、本年度はORF61及びORF66について、さらに解析を進めた。

ORF61及びORF66の約半分のサイズに当たる3つ(T1-T3)のドメインとして発現し、各ドメインに対する細胞性免疫反応を、成人4名のボランティアの末梢血単核球を用いて検討した。その結果、ORF66では、特定のドメインに強い細胞性免疫反応が見られなかったが、ORF61では、蛋白の末端1/3のドメインに細胞性免疫エピトープがあると思われる結果を得た(図2)。

そこで、ORF61の231番目からカルボキシル末端までの間をカバーする19もしくは20アミノ酸からなるペプチドを合成し、成人ボランティア2人の反応性を解析したところ、アミノ酸配列348-378の領域に強い反応性がマップされた(図3)。ORF61のエピトープ領域の反応性は、すでに細胞性免疫エピトープとして同定されている

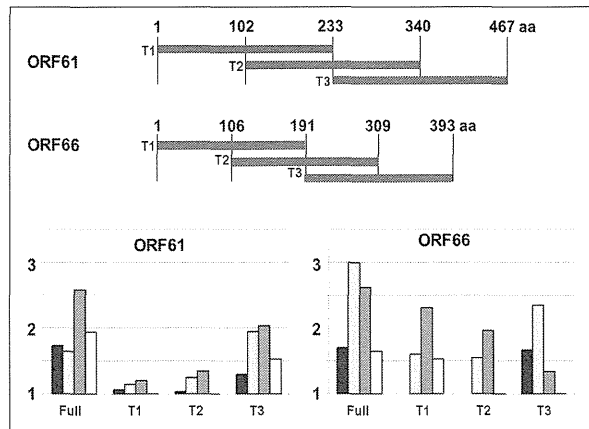


図2 ORF61、ORF66の細胞性免疫反応領域の同定

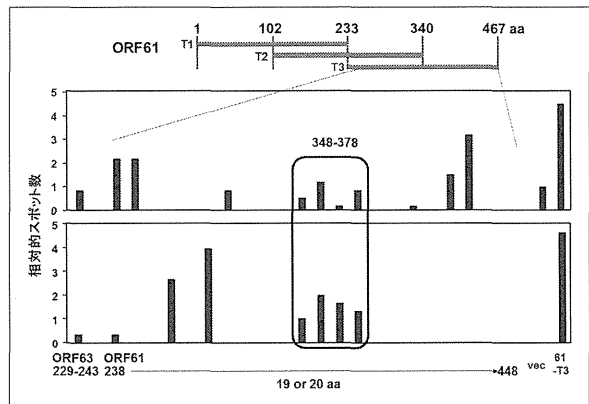


図3 ORF61の細胞性免疫反応エピトープの同定

ORF63配列229-243と同程度であることを見出した。

D. 考察

1. 接種後抗体陽転率の低下の疑いについて

抗体陽転率の低下が疑われているが、これが事実であったとして、製剤そのものの物理的变化に起因するものではないことを示した。水痘ワクチン製剤はシードロット管理されているため可能性は低い、遺伝子レベルでワクチンを構成するpopulationに何らかの変化が起こった可能性がある。そこで、LightCyclerのTm値解析により、ワクチン株に特徴的な42塩基置換のいくつかの部位について、これまでに解析を行い、遺伝子レベルでpopulationに経年的変化がないことを確認している。今後、分析可能な部位全てについて速やかに検討を進めたい。

抗体陽転率低下が、血清学的検査法の感度の低下やワクチン接種後の採血時期によるものであるのかなどの要因についても現在検討している。

表1 個別に発現させたVZV核抗原の細胞性免疫反応性

ボランティア	ORF4	ORF8	ORF16	ORF29	ORF33	ORF36	ORF43	ORF44	ORF48	ORF61	ORF62	ORF63	ORF66
A	+++	+++	+	++	+++	++	-	++	++	+++	+++	+++	++
B	+++	++	++	+	++	+	++	++	+++	+++	++	+++	+++
C	++	++	+	++	+++	++	+	-	-	+++	-	+++	-
D	++	+	++	-	-	+	-	-	-	++	+	+++	++
E	+++	++	++	++	++	+	++	-	++	+	+++	+++	+++
F	++	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+++	+
G	+	++	++	+	-	++	+	+	++	++	++	++	+
H	-	-	-	-	-	++	+	+	++	++	++	++	++
I	+++	++	++	+	-	-	-	++	+++	++	++	++	++
J	++	-	++	+	-	-	-	+	-	++	+	++	+
K	-	+	-	+	+	-	-	-	-	++	+	++	+
L	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+++	++	+
M	+	+	+	++	-	+	+	++	+	+	++	++	+
N	-	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	++	-
O	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	++	+
P	+	++	+	-	-	-	-	+	+	+	+	++	+
Q	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-
R	-	-	-	+	-	+	-	+	+	++	+	+	-
S	-	+	++	+	-	-	-	+	-	+	++	+	++
T	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-
陽性率(%)	65	80	65	65	30	50	40	55	65	95	85	95	75
≥++ (%)	40	35	40	20	20	20	10	20	30	50	45	85	35

接種年齢による可能性は、水痘罹患歴がない成人に水痘ワクチンを接種した場合も小児と同様な陽転率であることから、接種年齢や接種者の反応性が変化したとは考え難い。いずれにしても、水痘ワクチン接種のベースラインを形成する問題であるので、早急に要因の解析を進めたい。

2. VZVに対する細胞性免疫について

VZV特異的細胞性免疫の測定には、感染細胞やウイルス粒子が抗原とされることが多く、感染防御の主体である蛋白が明確ではなかった。糖蛋白EやORF62蛋白が、抗原蛋白として用いられてきたが、ORF61やORF63が、より反応性に優れることを今回見出した。こうした細胞性免疫エピトープを有する合成ペプチドを用いて、より簡便なELISPOT法やテトラマー検査法を樹立していくことが今後可能になったと考えられる。今後、breakthrough水痘や带状疱疹の発症などについて、どの抗原に対する細胞性免疫が重要であるかを検討していきたい。

E. 結論

- 1) 水痘ワクチン接種後の抗体陽転率の低下が疑われているが、製剤の物理化学的な変化が要因とはなっていない。
- 2) 75%以上の成人がORF8、ORF61、ORF62、

ORF63、ORF66の各蛋白に強い細胞性免疫反応性を示した。

- 3) ORF61の細胞性免疫エピトープを決定し、先行研究から同定されているORF63エピトープと同等程度の反応性を示すことを明らかにした。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 金井亨輔、谷口留美、湯華民、森康子、井上直樹、水痘带状疱疹ウイルス特異的細胞性免疫を誘導する抗原の探索 第16回日本ワクチン学会学術集会 横浜 2012年11月
- 2) 金井亨輔、湯華民、森康子、井上直樹、水痘带状疱疹ウイルス特異的細胞性免疫を誘導する抗原の探索 第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月

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

本邦における水痘ワクチン二回接種の適切なスケジュールに関する検討

研究分担者：吉川 哲史（藤田保健衛生大学医学部、教授）

研究協力者：大橋 正博（藤田保健衛生大学小児科）

河村 吉紀（藤田保健衛生大学小児科）

加藤 伴親（豊川市民病院小児科）

研究要旨 水痘ワクチンの追加接種における有効性、安全性を評価することを目的として、本学ならびに豊川市民病院の予防接種外来を受診した健康小児を対象に、水痘ワクチンの2回接種を実施した。接種間隔は3～6ヵ月で、各対象者について水痘抗体価測定、水痘皮内抗原検査と副反応調査を行った。追加接種後抗体は、IAHA法、gp-ELISA法ともに全例陽転であった。また追加接種後抗体価は初回接種後抗体価に比較し高い抗体価（ブースター効果）を示した。特に問題となる副反応はなかった。水痘特異的細胞性免疫能の評価は、6名について実施され、5例（83.3%）で陽性を示した。追加接種において特に問題となる副反応は認めなかった。

A. 研究目的

我が国の水痘ワクチンは任意予防接種であり、接種率は約40%と低く、水痘疫学はワクチン開発以前と変化がない。今後、接種率を欧米先進国レベルに引き上げるため定期接種化が必要であるが、現行の水痘ワクチン1回接種では、十分な感染防御レベルの免疫誘導が難しいことが明らかとなってきた。現在、多数の予防接種が推奨されているが、これらを効率的に、かつ十分な免疫を獲得するように実施するためには、MRワクチンとの同時接種に加え、2回接種法導入に向けた適切な接種スケジュールの設定が求められる。そこで本研究では、水痘ワクチン2回接種の適切な接種間隔の決定、およびその効果、安全性を評価することを目的とする。

B. 研究方法

1. 対象

大学病院および豊川市民病院小児科へ水痘ワクチン接種を希望して来院した患児の中で、水痘ワクチン2回接種に同意した1歳以上の健康小児とした。

2. 方法

2回のワクチン接種前、接種4週間後に血清3mlを採取しウイルス抗体価の推移を評価するとともに、4回目の採血時（2回接種の4週間後）に水痘細胞性免疫を評価するため水痘抗原皮内反応検査を実施した。2回のワクチン接種間隔は3から11ヵ月とし、副反応については、記録用紙を用いて保護者に4週間記録を依頼した。

検査項目

- ①血清中水痘ウイルス抗体価測定：IAHA法、gp-ELISA法を使用。
- ②水痘皮内抗原検査：市販の水痘抗原を皮内注射し24時間、48時間後の発赤径を測定し評価した。
- ③副反応調査：記録用紙を保護者へ渡し、接種後1か月間観察。調査項目：体温測定、発疹の有無など。
- ④接種1年後、2年後の水痘罹患調査：往復はがきによる調査。調査項目：罹患時期、発疹数、発熱の有無、感染源、治療の有無。

（倫理面の配慮）

以下のような対策を講じ、本学倫理審査委員会で本研究計画は承認された（No.12-018）。

- ①プライバシー保護：登録された患者の個人情報