

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

インフルエンザ抗体価の持続性と交差反応に関する研究

研究分担者：入江 伸（医療法人相生会理事長）
研究分担者：都留 智巳（医療法人相生会ピーエスクリニック院長）
研究分担者：大藤 さとこ（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学講師）
研究協力者：福島 若葉（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学准教授）
研究協力者：高崎 好生（高崎小児科医院院長）
研究協力者：進藤 静生（医療法人しんどう小児科医院院長）
研究協力者：山下 祐二（医療法人やました小児科医院院長）
研究協力者：横山 隆（医療法人横山小児科医院院長）
研究協力者：芝尾 敬吾（医療法人しばおクリニック院長）
研究協力者：白源 正成（医療法人相生会博多クリニック院長）
研究協力者：麦谷 歩（医療法人相生会墨田病院）
研究協力者：江藤 隆（医療法人相生会博多クリニック）
研究協力者：洲崎 みどり（医療法人相生会ピーエスクリニック）
研究協力者：真部 順子（医療法人相生会杉岡記念病院臨床研究センター）
研究協力者：石橋 元規（医療法人相生会ピーエスクリニック）
研究協力者：伊藤 一弥（医療法人相生会墨田病院）
研究代表者：廣田 良夫（大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学教授）

研究要旨

3価不活化インフルエンザワクチン（TIV）の複数のシーズンにわたる継続接種がワクチンの免疫原性に与える影響に関する報告は限られている。本研究では2009/10シーズンに0-3歳でA(H1N1)pdm09ワクチン接種を受け、2010/11シーズンに季節性インフルエンザワクチン接種を受けた小児を対象として、2012/13シーズンにTIV接種を行い、抗体誘導と過去の継続接種との関連を検討した。

接種前抗体価が1:10未満であっても、A(H1)、Bに対しては1回接種で、A(H3)に対しても2回接種で幾何平均抗体価(GMT)は1:40以上に達した。また、2010/11シーズンに2回接種後1:40未満であった者でも、A(H3)、Bに対するGMTは1回接種で1:133、1:75と十分な抗体価に達した。また、A(H3)に対するsPは、2回接種後全ての者が1:40以上に達し、A(H1)では71%、Bでも92%の者が1:40以上に達した。これらの結果は、TIVの継続接種による免疫応答の改善を示唆する既知の所見と整合するものである。ただし、A(H1)については、2010/11シーズンに2回接種後1:40未満であった者7名のGMTは、2回接種後も1:33に止まった。例数が少なく推定値は不安定なものと考えられるべきであるが、poor responderが含まれている可能性も考えられる。

年齢に対する抗体価のdose-responseは認められなかった。加齢によって免疫応答におけるimmaturityの状態を脱却し、抗原への暴露機会が増えるに従って、免疫学的特性を年齢によって代表させることが困難になると解釈できる。

TIVを継続接種した3-6歳の小児では、接種前抗体価が1:10未満であっても、幾何平均値において、1回接種で概ね十分な免疫応答が得られたことは、TIVの継続接種による免疫応答の改善を示唆するものと考えられる。

B. 研究方法

A. 研究目的

小児におけるTIVの免疫原性に与える継続接種の影響を検討した。

2009/10シーズンに0-3歳でA(H1N1)pdm09ワクチン接種を受け、2010/11シーズンに季節性インフルエンザワクチン接種を受けた小児を対象に、市販の2012/13シーズン用TIV(財団法

人阪大微生物病研究所)を規定量接種した(1回0.5mL、2回接種)。ワクチン株はA/カリフォルニア/7/2009(H1N1)pdm09、A/ビクトリア/361/2001(H3N2)、B/ウィスコンシン/1/2010であった(HAとして1mL中に30 μ g以上含有)。血清を接種前(S0)、1回目接種4週後(S1)、2回目接種4週後(S2)、シーズン終了後(S3)に採取し、Hemagglutination inhibition (HI)抗体価を測定した。免疫原性の結果指標として、幾何平均抗体価(geometric mean titer、以下GMT)、平均上昇倍数(mean fold rise、以下MFR)、Seroresponse proportion(接種後HI抗体価が4倍以上上昇したものの割合、以下sR)、Seroprotection Proportion(HI抗体価1:40以上のものの割合、以下sP)を算出した。また、保護者記入用質問票を用いて下記の情報を収集した:参加者のベースライン特性値(基礎疾患、ステロイド・免疫抑制剤の使用、A(H1N1)pdm09罹患歴、インフルエンザワクチン接種歴)、接種後24時間・48時間の副反応、および、2013年4月28日までの発病(毎週の発熱、鼻水・鼻閉、咽頭痛、咳・痰、医療機関受診、迅速診断キットの結果)。

C. 研究結果

54名の小児に対してワクチンを接種し、S0、S1、S2の抗体価が得られた53名を解析対象として、TIVの免疫原性について解析をおこなった。また、S3についても、抗体価が得られた44名を対象に解析を行った。なお、sPの解析からは接種前抗体価1:40以上の者を除外し、A(H1)26名、A(H3)20名、B18名を対象とした。

1. 幾何平均抗体価と平均上昇倍数

GMTとMFRを接種前抗体価、2010/11シーズン2回接種後抗体価、2012/13シーズンTIV接種の有無および年齢ごとにTable1にまとめた。全体についてみると、接種前のGMTはA(H3)が最も高く1:58、A(H1)は1:32、Bは1:30であった。いずれの抗原についても1回接種後GMTは1:40を超えた(A(H3)1:178、A(H1)1:125、B1:91)、2回目接種による追加的な上昇は小さく、MFR(S2/S1)はほとんど1に近かった。ただし、A(H3)に対して接種前抗体価が1:10以下であった者は、2回目の接種によって1回目接種の2倍の値に上昇した。シーズン終了後(S3)のGMTは、接種前の1.5倍から2倍の値とな

った。

接種前抗体価との関連についてみると、抗原に関わらず、接種前抗体価が高くなるほど接種後のGMTは高くなった。MFRは接種前抗体価が高くなるほど小さく、抗体上昇の頭打ち(negative feedback)を認めた。接種前抗体価が1:10未満の者は、A(H1)、Bに対しては1回接種でそれぞれ1:40、1:46に達し、A(H3)に対しても2回接種後1:40に達した。また、2010/11シーズンに2回接種後1:40未満であった者のGMTは、1:40以上に達した者に比較し低い値を示したものの、A(H3)、Bに対して1回接種で1:133、1:75と十分な抗体価に達した。ただし、A(H1)については、2010/11シーズンに2回接種後1:40未満であった者7名のGMTは、2回接種後も1:33に止まった。2011/12シーズンにTIV未接種であった者の、A(H1)、Bに対する接種前後のGMT(S0、S1、S2)は、接種した者に比べ高くなった。A(H3)に対しても接種後GMT(S1、S2)は同様の傾向を示した。年齢との関連についてみると、年齢上昇にともなうGMTの単調な上昇傾向は認められなかった。

2. Seroresponse proportion, sR

sRをTable2にまとめた。抗原に関わらず、接種前抗体価が1:10以上の者のsRは1:10未満の者に比べ低くなった。これは、Table1のMFRで観察された抗体上昇の頭打ちと整合する結果であった。また、2010/11シーズン2回接種後にA(H3)に対して1:40未満であった者は、1:40以上であった者に比較して、2012/13シーズンのsRは低くなった。A(H1)に対しては1:10未満の者の例数がと少なく上記の傾向は不明瞭なものとなった。Bについては同様の傾向は認められなかった。2011/12シーズンにTIV未接種であった者のA(H1)、Bに対するsRは、接種した者に比べ高くなった。一方、A(H3)については、非摂取者のsRは接種した者に比べ低くなった。なお、年齢とsRの間にdose-responseは認められなかった。

3. Seroprotection proportion, sP

sPをTable3にまとめた。抗原に関わらず、接種前抗体価が1:10以上の者のsRは1:10未満の者に比べ高くなった。また、2010/11シーズン2回接種後に1:40未満であった者でも、A(H3)については、2回接種後全ての者が1:40以上に達し、A(H1)では71%、Bでも92%の者

が 1:40 以上に達した。年齢と sP の間に dose-response は認められなかった。

D. 考察

TIV 接種歴のある 3-6 歳の小児 54 例(解析対象 53 例)を対象として 2012/13 シーズンに実施した本研究では、接種前抗体価が 1:10 未満であったものについても、A(H1)、B に対しては 1 回接種で、A(H3)に対しても 2 回接種で GMT は 1:40 以上に達した、また、2010/11 シーズンに 2 回接種後 1:40 未満であった者の GMT は、1:40 以上に達した者に比較し低い値を示したものの、A(H3)、B に対して 1 回接種で 1:133、1:75 と十分な抗体価に達した。また、A(H3)に対する sP は、2 回接種後全ての者が 1:40 以上に達し、A(H1)では 71%、B でも 92%の者が 1:40 以上に達した。これらの結果は、TIV の継続接種による免疫応答の改善を示唆する既知の所見と整合するものである。ただし、本研究の結果については、後に研究の限界として述べるように、年齢等他の因子の影響を調整できていない点を考慮する必要がある。なお、A(H1)については、2010/11 シーズンに 2 回接種後 1:40 未満であった者 7 名の GMT は、2 回接種後も 1:33 に止まった。例数が少なく推定値は不安定なものと考えられるべきであるが、poor responder が含まれている可能性も考えられる。また、2011/12 シーズン TIV 未接種者の免疫応答が接種を受けた者に比べ良好であったことは、非摂取の理由としてインフルエンザへの自然感染が含まれている可能性を含め、調査結果の更なる精査が必要であると考えられる。

年齢に対する抗体価の dose-response は認められなかった。加齢によって免疫応答における

immaturity の状態を脱却し、抗原への暴露機会が増えるに従って、免疫学的特性を年齢によって代表させることが困難になると解釈することが妥当であろう。

本研究の限界として、sP および sP については、頻度が 5 以下となるような sparse なカテゴリを含む集計結果となったことから、解析は記述的なものに止めた。そのため、関連因子相互の影響を調整できていない。また、少数例のカテゴリについて得られた推定値は不安定なものと考えられるべきであろう。第 2 の限界点として、過去のインフルエンザ感染を明示的に説明変数として取り入れていない点を指摘できるかもしれない。しかしながら、接種前抗体価を説明変数として採用したことによって、感染歴の十分な代替変数とは言えないまでも、ある程度はこれを補っていると考えられる。

E. 結論

TIV 接種歴のある 3-6 歳の小児では、接種前抗体価が 1:10 未満の者も、その幾何平均値において、1 回接種で概ね十分な免疫応答が得られたことは、TIV の継続接種による免疫応答の改善を示唆するものと考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

現在、研究継続中である。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1. Geometric Mean Titer and Mean Fold Rise

Characteristics	N	N at S3	Mean Age	Geometric Mean Titer				Mean Fold Rise				
				S0	S1	S2	S3	S1/S0	S2/S1	S2/S0	S3/S2	S3/S0
A(H1N1)												
Entire	53	44	5	32	125	130	62	3.9 †	1.0	4.1 †	0.5 †	2.1 †
S0 Titer												
< 1:10	7	7	5	5 †	40 †	40 †	15 †	8.0 †	1.0	8.0 †	0.4 †	3.0 †
1:10	11	8	4	10	66	80	28	6.6 †	1.2	8.0 †	0.4 †	2.8 †
1:20	8	6	5	20	104	123	57	5.2 †	1.2	6.2 †	0.4 †	2.8 †
≥ 1:40	27	23	5	96	229	218	130	2.4 †	0.9	2.3 †	0.6 †	1.5 †
< 1:10	7	7	5	5 †	40 †	40 †	15 †	8.0 †	1.0	8.0 †	0.4 †	3.0 †
≥ 1:10	46	37	5	42	148	155	82	3.5 †	1.0	3.7 †	0.5 †	1.9 †
HI Titer afer 2nd dose in 2010/11 season												
< 1:40	7	6	5	7 †	30 †	33 †	13 †	4.4 †	1.1	4.9 †	0.4	2.0
≥ 1:40	46	38	5	41	155	160	80	3.8 †	1.0	3.9 †	0.5 †	2.1 †
TIV in 2011/12 season												
No	14	14	4	30	145	152	59	4.9 †	1.1	5.1 †	0.4 †	2.0 †
Yes	39	30	5	33	118	123	63	3.6 †	1.0	3.7 †	0.5 †	2.1 †
Age												
3 yrs.	12	11		24	127	143	58	5.3 †	1.1	6.0 †	0.4 †	2.3 †
4 yrs.	12	10		48	151	160	92	3.2 †	1.1	3.4 †	0.6 †	1.5
5 yrs.	11	8		29	97	97	34	3.3 †	1.0	3.3 †	0.5 †	2.6 †
6 yrs.	18	15		32	127	127	70	4.0 †	1.0	4.0 †	0.5 †	2.1 †
A(H3N2)												
Entire				58	178	208	113	3.0 †	1.2 †	3.6 †	0.5 †	1.9 †
S0 Titer												
< 1:10	2	1	4	5 †	20 †	40 †	10 †	4.0	2.0	8.0	0.3	2.0
1:10	1	1	4	10	40	80	20	4.0	2.0	8.0	0.3	2.0
1:20	17	15	4	20	98	115	58	4.9 †	1.2	5.8 †	0.5 †	2.9 †
≥ 1:40	33	27	5	124	288	320	191	2.3 †	1.1	2.6 †	0.6 †	1.5 †
< 1:10	2	1	4	5 †	20 †	40 †	10	4.0	2.0	8.0	0.3	2.0
≥ 1:10	51	43	5	64	194	222	120	3.0 †	1.1	3.4 †	0.6 †	1.9 †
HI Titer afer 2nd dose in 2010/11 season												
< 1:40	19	14	5	52	133	149	66 †	2.6 †	1.1	2.9 †	0.5 †	1.6 †
≥ 1:40	34	30	5	63	209	251	146	3.3 †	1.2	4.0 †	0.6 †	2.1 †
TIV in 2011/12 season												
No	14	14	4	108 †	290 †	290	168	2.7 †	1.0	2.7 †	0.6 †	1.6 †
Yes	39	30	5	47	149	184	94	3.2 †	1.2 †	3.9 †	0.5 †	2.1 †
Age												
3 yrs.		11		80	285	320	150	3.6 †	1.1	4.0 †	0.5 †	2.3 †
4 yrs.		10		38	127	143	98	3.4 †	1.1	3.8 †	0.7	2.5 †
5 yrs.		8		43	141	193	87	3.3 †	1.4	4.5 †	0.5 †	2.0
6 yrs.		15		77	187	210	116	2.4 †	1.1	2.7 †	0.5 †	1.4
B												
Entire				30	91	90	46	3.0 †	1.0	3.0 †	0.5 †	1.5 †
S0 Titer												
< 1:10	6	5	4	5 †	45	57	26	9.0 †	1.3	11.3 †	0.5	5.3
1:10	5	4	5	10	80	92	40	8.0	1.1	9.2	0.4	4.0
1:20	7	5	5	20	119	88	30	5.9 †	0.7	4.4 †	0.3	1.5
≥ 1:40	35	30	5	53	99	98	55	1.9 †	1.0	1.8 †	0.6 †	1.1
< 1:10	6	5	4	5 †	45 †	57	26	9.0 †	1.3	11.3 †	0.5	5.3
≥ 1:10	47	39	5	38	100	95	50	2.6 †	1.0	2.5 †	0.5 †	1.3 †
HI Titer afer 2nd dose in 2010/11 season												
< 1:40	32	28	5	26	75	75 †	38 †	2.9 †	1.0	2.9 †	0.5 †	1.5 †
≥ 1:40	21	16	5	39	123	119	64	3.2 †	1.0	3.1 †	0.5 †	1.5 †
TIV in 2011/12 season												
No	14	14	4	30	108	108	40	3.6 †	1.0	3.6 †	0.4 †	1.3
Yes	39	30	5	31	86	84	49	2.8 †	1.0	2.8 †	0.6 †	1.6 †
Age												
3 yrs.		11		25	101	113	51	4.0 †	1.1	4.5 †	0.4 †	2.1 †
4 yrs.		10		32	76	76	43	2.4 †	1.0	2.4	0.6	1.2
5 yrs.		8		38	91	103	62	2.4 †	1.1	2.7 †	0.6	1.5
6 yrs.		15		29	97	80	38	3.3 †	0.8	2.7 †	0.5 †	1.4

p<0.05 in Wilcoxon signed rank test for comparisons within a category †; and in Wilcoxon rank sum test or Kruskal-Wallis rank test for comparisons among categories ‡.

Table 2. Seroreponse Proportion

Characteristics	N	N at S3	S1/S0 n (%)	S2/S0 n (%)	S3/S0 n (%)
A(H1N1)					
Entire	53	44	33 (62)	34 (64)	12 (27)
S0 Titer					
< 1:10	7	7	6 (86)	6 (86)	3 (43)
1:10	11	8	9 (82)	10 (91)	4 (50)
1:20	8	6	8 (100)	8 (100)	3 (50)
≥ 1:40	27	23	10 (37)	10 (37)	2 (9)
< 1:10	7	7	6 (86)	6 (86)	3 (43)
≥ 1:10	46	37	27 (59)	28 (61)	9 (24)
HI Titer after 2nd dose in 2010/11 season					
< 1:40	7	6	4 (57)	5 (71)	1 (17)
≥ 1:40	46	38	29 (63)	29 (63)	11 (29)
TIV in 2011/12 season					
No	14	14	11 (79)	12 (86)	4 (29)
Yes	39	30	22 (56)	22 (56)	8 (27)
Age					
3 yrs.	12	11	9 (75)	10 (83)	3 (27)
4 yrs.	12	10	7 (58)	6 (50)	1 (10)
5 yrs.	11	8	7 (64)	6 (55)	2 (25)
6 yrs.	18	15	10 (56)	12 (67)	6 (40)
A(H3N2)					
Entire	53	44	23 (43)	30 (57)	12 (27)
S0 Titer					
< 1:10	2	1	2 (100)	2 (100)	0 (0)
1:10	1	1	1 (100)	1 (100)	0 (0)
1:20	17	15	11 (65)	12 (71)	6 (40)
≥ 1:40	33	27	9 (27)	15 (45)	6 (22)
< 1:10	2	1	2 (100)	2 (100)	0 (0)
≥ 1:10	51	43	21 (41)	28 (55)	12 (28)
HI Titer after 2nd dose in 2010/11 season					
< 1:40	19	14	6 (32)	8 (42)	3 (21)
≥ 1:40	34	30	17 (50)	22 (65)	9 (30)
TIV in 2011/12 season					
No	14	14	6 (43)	6 (43)	3 (21)
Yes	39	30	17 (44)	24 (62)	9 (30)
Age					
3 yrs.	12	11	5 (42)	6 (50)	3 (27)
4 yrs.	12	10	8 (67)	8 (67)	3 (30)
5 yrs.	11	8	5 (45)	8 (73)	3 (38)
6 yrs.	18	15	5 (28)	8 (44)	3 (20)
B					
Entire	53	44	26 (49)	26 (49)	9 (20)
S0 Titer					
< 1:10	6	5	6 (100)	6 (100)	4 (80)
1:10	5	4	5 (100)	5 (100)	3 (75)
1:20	7	5	6 (86)	6 (86)	0 (0)
≥ 1:40	35	30	9 (26)	9 (26)	2 (7)
< 1:10	6	5	6 (100)	6 (100)	4 (80)
≥ 1:10	47	39	20 (43)	20 (43)	5 (13)
HI Titer after 2nd dose in 2010/11 season					
< 1:40	32	28	16 (50)	16 (50)	8 (29)
≥ 1:40	21	16	10 (48)	10 (48)	1 (6)
TIV in 2011/12 season					
No	14	14	9 (64)	9 (64)	3 (21)
Yes	39	30	17 (44)	17 (44)	6 (20)
Age					
3 yrs.	12	11	6 (50)	7 (58)	4 (36)
4 yrs.	12	10	5 (42)	5 (42)	2 (20)
5 yrs.	11	8	5 (45)	5 (45)	0 (0)
6 yrs.	18	15	10 (56)	9 (50)	3 (20)

Table 3. Seroprotection Proportion

Characteristics	N	N at S3	S1 n (%)	S2 n (%)	S3 n (%)
A(H1N1)					
Entire	26	21	22 (85)	23 (88)	11 (52)
S0 Titer					
< 1:10	7	7	5 (71)	5 (71)	1 (14)
1:10	11	8	9 (82)	10 (91)	4 (50)
1:20	8	6	8 (100)	8 (100)	6 (100)
< 1:10	7	7	5 (71)	5 (71)	1 (14)
1:10, 1:20	19	14	17 (89)	18 (95)	10 (71)
HI Titer after 2nd dose in 2010/11 season					
< 1:40	7	6	4 (57)	5 (71)	0 (0)
≥ 1:40	19	15	18 (95)	18 (95)	11 (73)
TIV in 2011/12 season					
No	6	6	6 (100)	6 (100)	3 (50)
Yes	20	15	16 (80)	17 (85)	8 (53)
Age					
3 yrs.	7	6	7 (100)	7 (100)	3 (50)
4 yrs.	4	2	4 (100)	4 (100)	2 (100)
5 yrs.	6	6	4 (67)	4 (67)	3 (50)
6 yrs.	9	7	7 (78)	8 (89)	3 (43)
A(H3N2)					
Entire	20	17	16 (80)	20 (100)	11 (65)
S0 Titer					
< 1:10	2	1	0 (0)	2 (100)	0 (0)
1:10	1	1	1 (100)	1 (100)	0 (0)
1:20	17	15	15 (88)	17 (100)	11 (73)
< 1:10	2	1	0 (0)	2 (100)	0 (0)
1:10, 1:20	18	16	16 (89)	18 (100)	11 (69)
HI Titer after 2nd dose in 2010/11 season					
< 1:40	8	7	5 (63)	8 (100)	4 (57)
≥ 1:40	12	10	11 (92)	12 (100)	7 (70)
TIV in 2011/12 season					
No	2	2	1 (50)	2 (100)	1 (50)
Yes	18	15	15 (83)	18 (100)	10 (67)
Age					
3 yrs.	4	4	4 (100)	4 (100)	3 (75)
4 yrs.	7	6	4 (57)	7 (100)	4 (67)
5 yrs.	6	5	6 (100)	6 (100)	3 (60)
6 yrs.	3	2	2 (67)	3 (100)	1 (50)
B					
Entire	18	14	16 (89)	17 (94)	9 (64)
S0 Titer					
< 1:10	6	5	4 (67)	5 (83)	2 (40)
1:10	5	4	5 (100)	5 (100)	3 (75)
1:20	7	5	7 (100)	7 (100)	4 (80)
< 1:10	6	5	4 (67)	5 (83)	2 (40)
1:10, 1:20	12	9	12 (100)	12 (100)	7 (78)
HI Titer after 2nd dose in 2010/11 season					
< 1:40	13	11	12 (92)	12 (92)	6 (55)
≥ 1:40	5	3	4 (80)	5 (100)	3 (100)
TIV in 2011/12 season					
No	5	5	5 (100)	5 (100)	2 (40)
Yes	13	9	11 (85)	12 (92)	7 (78)
Age					
3 yrs.	4	4	4 (100)	4 (100)	2 (50)
4 yrs.	3	2	2 (67)	3 (100)	2 (100)
5 yrs.	4	2	4 (100)	4 (100)	1 (50)
6 yrs.	7	6	6 (86)	6 (86)	4 (67)