

表2 2次感染ワクチンウイルスの変異部位

Strain	Position	Gene	Vaccine	Isolate	aa substitution
#39 (星野)	8,815	L	T	C	-
	11,890	L	A	G	-
	13,738	L	G	T	M 1,767 I
W4 (星野)	9,891	L	A	A/C	K 485 K/T
	14,336	L	A	T	T 1,967 S
W30 (鳥居)	12,348	L	C	T	T 1,304 I
	14,183	L	A	G	M 1,916 V
	14,964	L	C	T	A 2,176 V

については接種履歴があり、分離された時期から、ワクチン接種による副反応例と判断された。しかし、残り3株（星野株由来2株、鳥居株由来1株）については、ワクチン接種の履歴が無かった（表1）。従って、この3例はワクチンウイルスによる2次感染例であることが判明した。

そこで、2次感染が発生した原因を明らかにするために、まず、遺伝子レベルで2次感染ウイルスが元のワクチンウイルスから変化しているかどうかを調べるため、これらのウイルスの全ゲノム配列を調べた。対照として、ワクチン接種後に分離された1例（A12株、星野株由来）についても調べた。

その結果、A12株では星野株のゲノム配列との間に塩基配列の違いが認められなかったのに対し、2次感染ウイルスにおいては、由来するワクチン株に係らず3株全てで、L遺伝子内のみ1ヶ所以上のアミノ酸置換を伴う塩基置換が認められた（表2）。株ごとに変異部位と変異の数には違いが認められたものの、変異部位はL遺伝子内に限局して認められた。

D. 考察

今年度は、ムンプスの全国的なサーベイランス網の雛形となるべき体制をつくることを目標に、20ヶ所の地衛研から協力を取り付けることができた。また、これらの地衛研の内の7施設（今後更に増える予定）から95例に上るムンプスウイルスの検出情報を集めることができた。

これらの内、ワクチン株を除く野外株についてはほぼ全てが遺伝子型Gであり、2013年における国内流行は依然としてG型で占められている実態

が明らかとなった。しかし、従来の解析とは異なり西日本型Gwが全国的に流行し、東日本型Geの流行は少数であった。今年度の解析から、GwとGeの流行域は必ずしも明確に分かれているわけでは無いようである。

遺伝子型Bの解析から、B型も2つの系統に分類され、80年代以降に分離された野外株は全てB2の系統に分類され、国産ワクチン株はB1に分類された。国産ワクチン株はいずれも1960年代に分離された野外株に由来することから、B1系統は国内の古い流行株であることが示唆された。

野外株として分離されながら、ワクチン株と同一の配列を持つ分離株5株の内、3株はワクチン株による2次感染例であることが判明した。これらのウイルスはいずれもL遺伝子内に1ヶ所以上のアミノ酸置換を伴う変異を持っていた。L遺伝子はウイルスのRNAポリメラーゼであり、転写と複製に直接関わる重要な因子であることから、ウイルスの性状に何らかの変化が生じている可能性がある。ワクチンの副反応例から分離されたウイルスではL遺伝子内に変異がないことから、2次感染を起こす上で、L遺伝子の変異が何らかの関わりを持つ可能性が示唆される。

今後はウイルスの性状の変化を新生ラット等の動物モデルで評価すると共に、ワクチンに含まれるウイルスに同じ変異を持つポピュレーションが含まれているかどうかを、次世代シーケンサによる解析等で明らかにしていきたい。

こうした情報は、今後のワクチンの品質管理を考える上で重要である。

E. 結論

- (1) 20ヶ所の地衛研の協力によって、95例のムンプスウイルス検出例を収集、解析できた。
- (2) 2013年の国内流行株はほぼ全てが遺伝子型Gであり、Gw系統が主流であった。
- (3) Ge系統とGw系統の流行域の地理的な区分は必ずしも明確ではなく、流動的であった。
- (4) 遺伝子型Bも2系統に分類され、B1系統には古いワクチン株が含まれ、80年代以降の分離株は全てB2系統に分類された。
- (5) 野外株として分離された5例のワクチン株の内3例はワクチン株による2次感染例で

あった。2次感染例由来のワクチン株は全てL遺伝子内にアミノ酸置換が認められた。

G. 研究発表

1. 論文発表

(欧文)

- 1) Sato H, Jing C, Isshiki M, Matsuo K, Kidokoro M, Takamura S, Zhang X, Ohashi T, Shida H. Immunogenicity and safety of the vaccinia virus LC16m8Δ vector expressing SIV Gag under a strong or moderate promoter in a recombinant BCG prime-recombinant vaccinia virus boost protocol. *Vaccine*. 2013 ; 31(35) : 3549-3557.
- 2) Nagata S, Maedera T, Nagata N, Kidokoro M, Takeuchi K, Kuranaga M, Takeda M, Kato A. Comparison of the live attenuated mumps vaccine (Miyahara Strain) with its parent in preadapted position of attenuation process. *Journal of Vaccines & Immunization* [in press] (2013)

(和文)

- 1) 木所 稔, 竹田 誠, ムンプスウイルスの新たな分類基準と国内流行状況
病原微生物検出情報, 34(8) : 224-225, 2013

2. 学会発表

- 1) 木所 稔, 庵原俊昭, 中山哲夫, 竹田 誠 :
国内で流行するムンプスウイルスの分子系統

学的解析, 第54回日本臨床ウイルス学会総会, 倉敷, 2013年6月

- 2) 新妻隆広, 大日方 薫, 木所 稔 : 授乳婦へのムンプスワクチン接種後, 母乳中より検出されたムンプスワクチンウイルス, 第54回日本臨床ウイルス学会総会, 倉敷, 2013年6月
- 3) 新妻隆広, 大日方 薫, 木所 稔 : ムンプスウイルス耳下腺炎の経過中に発症した自己免疫性辺縁系脳炎, 第54回日本臨床ウイルス学会総会, 倉敷, 2013年6月
- 4) 加藤 大志, 齋加 志津子, 久保田 耐, 網 康至, 須崎 百合子, 加藤 篤, 竹田 誠, 木所 稔 : ムンプスウイルスPタンパク質に導入されたアミノ酸変異による病原復帰機構の解析, 第61回日本ウイルス学会総会, 神戸, 2013年11月
- 5) 田中敏博, 木所稔, 渡辺正博, 庵原俊昭 : 授乳婦におけるムンプスワクチン接種の安全性, 第17回日本ワクチン学会総会, 津, 2013年11月

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

3. 日本脳炎

乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンの副反応に関する研究 ～厚生労働省予防接種後健康状況調査H8-H23より：第2報～

研究分担者：宮崎 千明（福岡市立西部療育センター長）

研究要旨 昨年に引き続き、厚生労働省の予防接種後健康状況調査報告を基に、2種の乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンの副反応を期別に比較検討した。細胞培養ワクチンは1期初回1回目の発熱率がマウス脳由来ワクチンに比して若干高い傾向にあったが、2回目以降の接種では発熱はほとんどなく、接種部位の腫脹率はマウス脳由来ワクチンより低い傾向を示した。K社ワクチンがB社ワクチンより1期初回接種でのみ発熱率が高い傾向を示した。現在の予防接種後健康状況調査では単年度データと平成8年度からの累積データが公表されているが、日本脳炎ワクチンに関してはマウス脳由来ワクチンと乾燥細胞培養ワクチンとを分けてデータを累積すべきである。

A. 研究目的

平成17年5月末にマウス脳由来日本脳炎ワクチンの積極的勧奨が差し控えられ、同ワクチンは平成21年度末で使用が終了した。

乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン（細胞培養ワクチン）は平成21年6月に阪大微研会（B社）からジェービックVが、平成23年4月に化学及血清療法研究所（K社）からエンセバック皮下注が発売された。

厚労省の予防接種後健康状況調査は現在、平成23年度接種分までが公表されている。昨年度に引き続き本年度は、B社ワクチンは平成22年度と23年度、K社ワクチンは平成23年度のみ、全て細胞培養ワクチンが使用されているので、B社については2年間で接種数が増加したので、それらを合計し、改めて、細胞培養ワクチンの期別副反応を検討した。

B. 研究方法

厚生労働省が公表している予防接種後健康状況調査より、B社のワクチンについては、乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンは平成22年度と23年度を利用した。

K社のワクチンについては、平成23年度のデータを利用した。

C. 研究結果

平成22年度と23年度におけるB社製、および平成23年度のK社製を合わせた細胞培養ワクチンの1期初回1回目接種後3807例の発熱と局所反応を図1に示した。1期初回1回目の接種日翌日をピークとして発熱率がやや高く、局所反応は低かった。

同様に1期初回2回目接種（3083例）を図2に、1期初回追加接種（1839例）を図3に、2期接種（1808例）を図4に示した。1期初回2回目以降の接種では、発熱は、接種後1日目に1%未満の率であった。

局所反応（接種部位の腫脹）は1期初回接種から1期追加接種まで1%以下で、2期接種で接種後1日目に2%を越える程度であった。

B社ワクチン（平成22年度と23年度）およびK社ワクチン（平成23年度）の期別副反応（発熱と接種部位の腫脹）を比較したところ、1期初回1回目においてのみ、K社の発熱率がB社より高い傾向にあった。

D. 考察

平成24年10月に日本脳炎ワクチン接種後の死亡例や重篤な副反応が報道され、検討会で議論された結果、死亡例とワクチンの直接的因果関係は薄

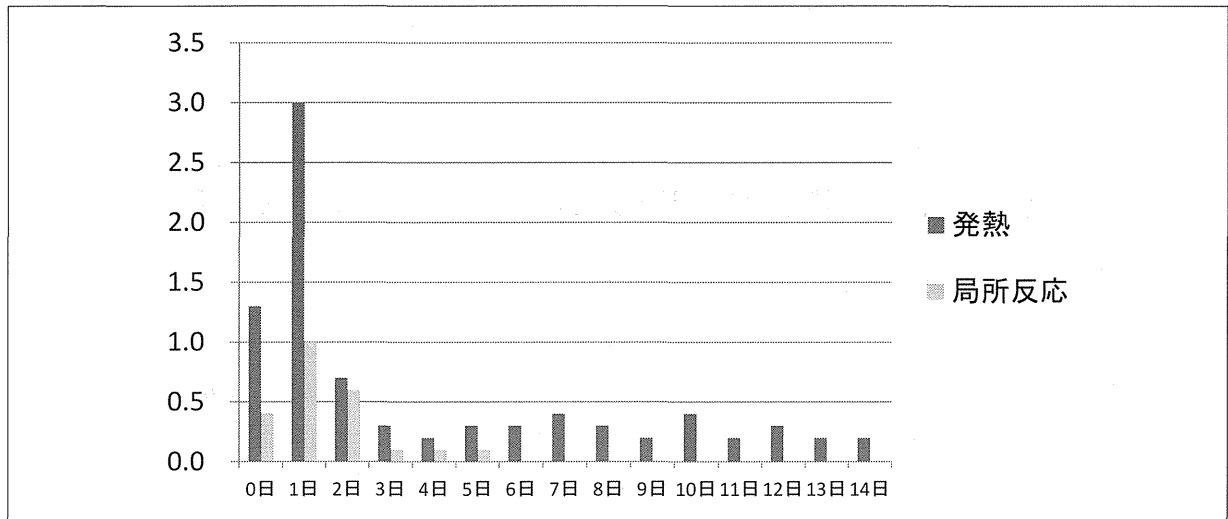


図1 乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン
1期初回1回目 H22+H23(B)+H23(K) n=3807

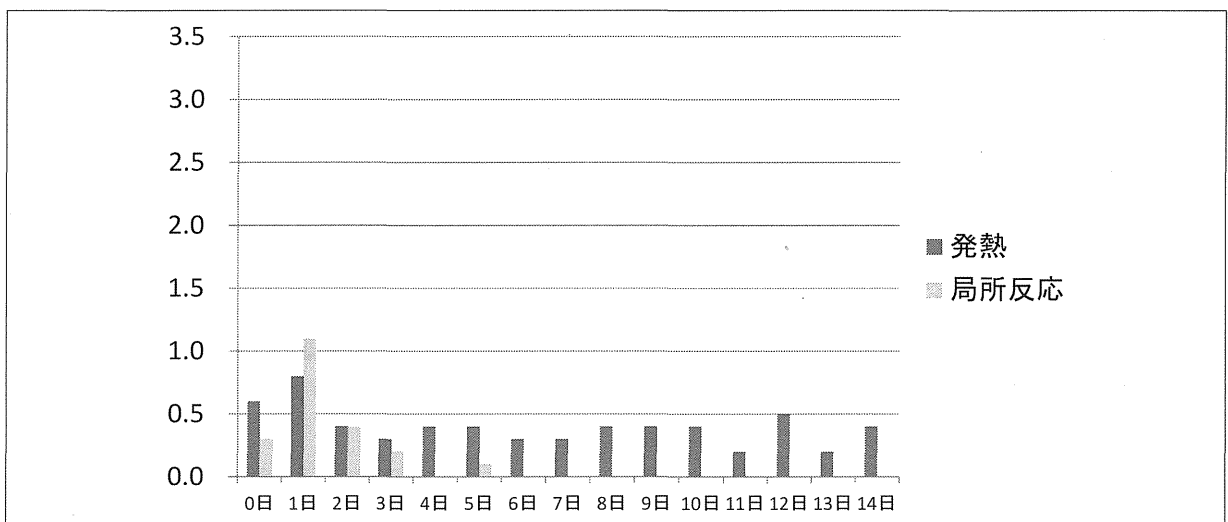


図2 乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン
1期初回2回目 H22+23(B)+H23(K) n=3083

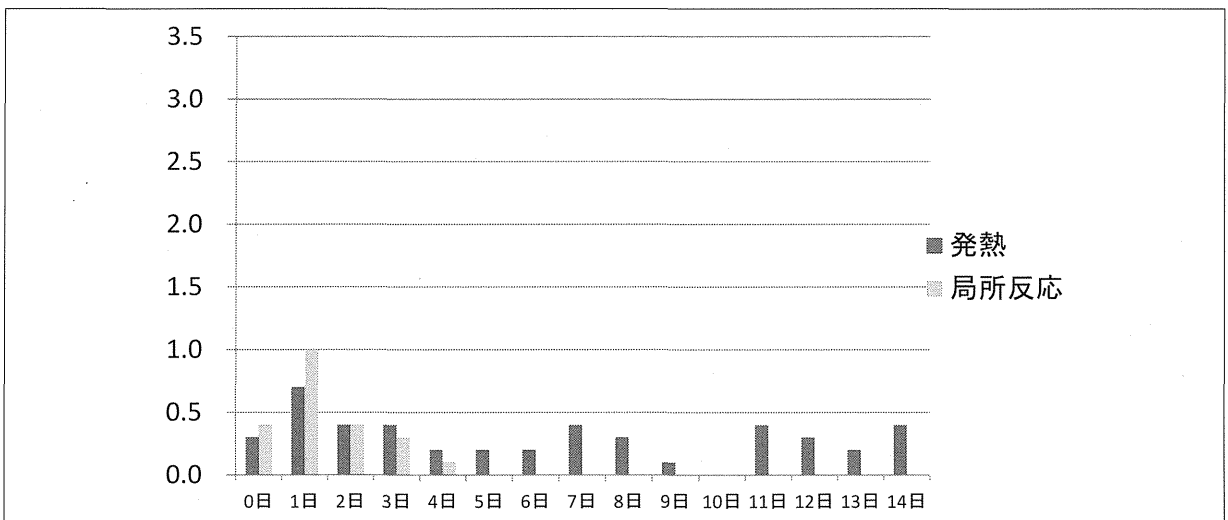


図3 乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン
1期追加 H22+23(B)+H23(K) n=1839

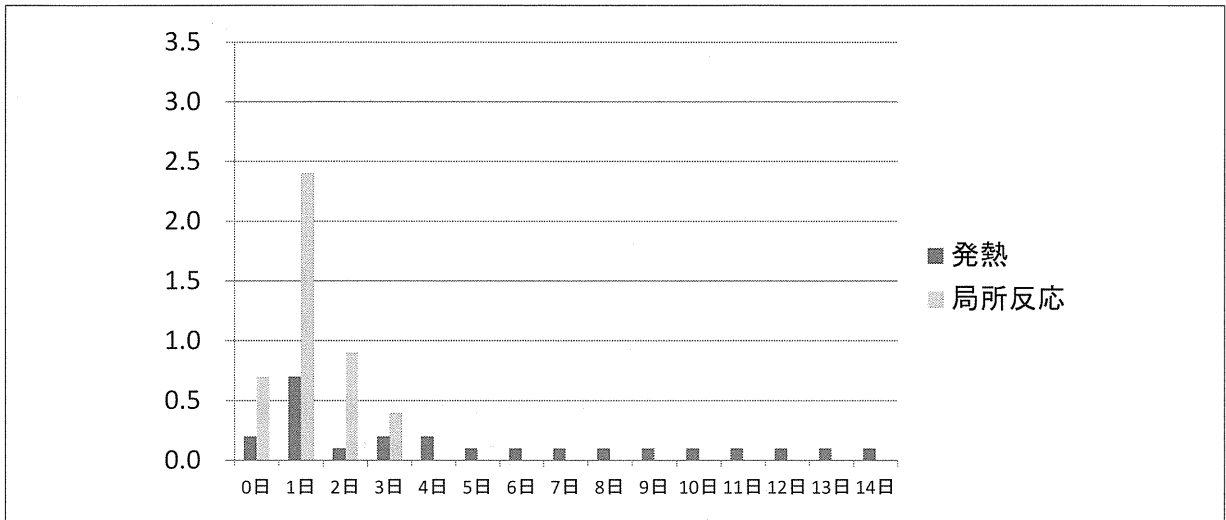


図4 乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン
2期 H22+23(B) + H23(K) n=1808

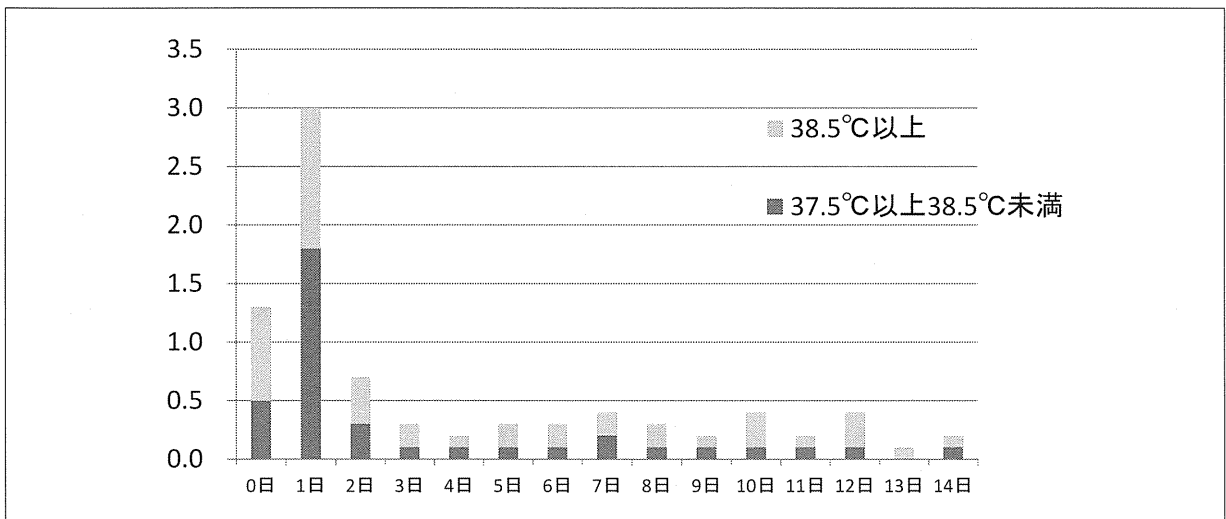
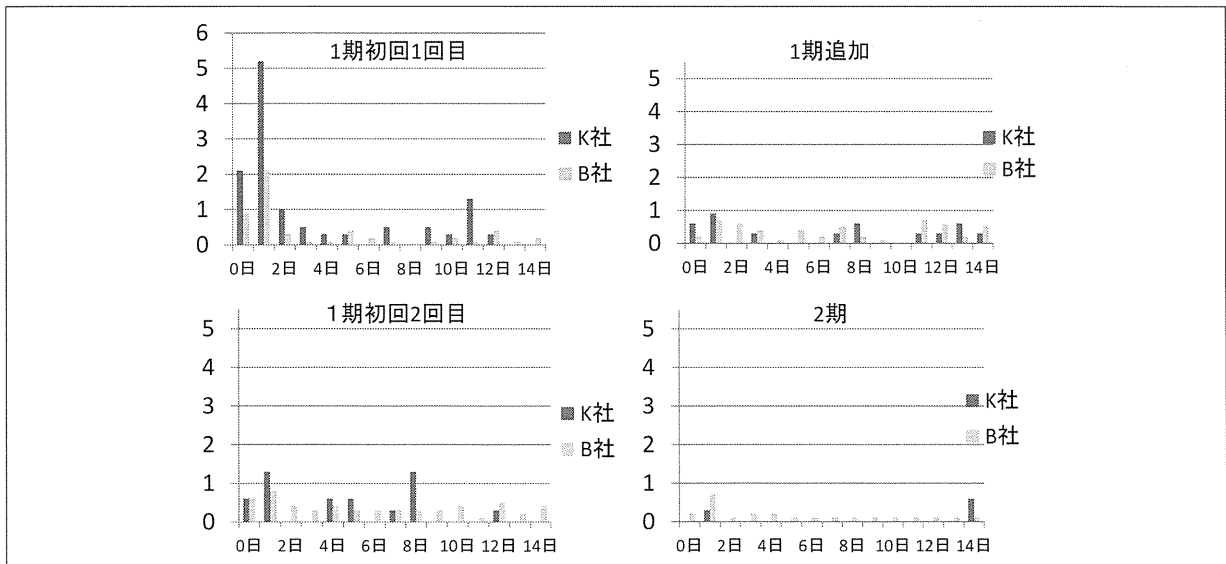


図5 乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン
H22+23 1期初回1回目 発熱の程度別頻度 n=3807



乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン副反応 発熱 期別・社別比較

いこと、ADEMの発症頻度、日本脳炎の疫学とワクチンの重要性等の総合的見地から勧奨と接種は継続された。

平成8年度から厚生労働省が実施している予防接種後健康状況調査は定点観測であるが、比較的高い頻度で通常起こりうる副反応を把握するため、前向き調査で有害事象をワクチン別、接種期別、製造所別に集計し公表されている。現在平成23年度データまで公表されている。

昨年度の検討で、細胞培養ワクチンは2種のワクチンとも、局所反応はマウス脳由来ワクチンに比して軽減されていると思われるが、発熱に関しては1期初回1回目に限って、やや高い傾向が認められた。

本年度はB社ワクチンについては2年分を合計し、平成23年度のK社ワクチンと合わせて評価したが、昨年と同様の結果であった。

2つの細胞培養ワクチンは精製度が上がり、凍結乾燥により安定性も上昇し、少ない抗原量でより高い免疫を誘導しているようである。

予防接種後健康状況調査は前向き調査により有害事象を把握しており、しかも製造所別に解析することもできるので、予防接種後に通常起こりうる副反応を把握するための有用なシステムである。

2つの乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンは接種勧奨の再開と拡大で比較的順調に接種が進みつつあるが、時に副反応の報告があり、今後もより安全なワクチンを目指して、副反応の注意深い観察が必要である。

しかし、現在の報告システムは、単年度データと平成8年以降の累積データの2種類になっているが、マウス脳由来ワクチンに代わって、平成21

年度、および平成22年度に乾燥細胞培養ワクチンが上梓されているので、累積データはマウス脳由来ワクチンと乾燥細胞培養ワクチンを分けるべきである。

F. 文献

厚生労働省の予防接種後健康状況調査報告書(平成8年度～平成23年度)を参照した。

G. 研究発表(日本脳炎関連分)

1. 論文発表(原著)

Miyazaki C, Okada K, Ozaki T, et al. : Phase III clinical trials comparing the immunogenicity and safety of Vero cell-derived Japanese encephalitis vaccine ENCEVAC® with those of mouse brain-derived vaccine using the Beijing-1 strain. *Clinical Vaccine Immunology* 21(2) : 188-195, 2014

2. 論文発表(総論)

1) 宮崎千明 : 日本脳炎ワクチン. *日本医師会雑誌* 142(8) : 1759-1761, 2013

2) 宮崎千明 : 日本脳炎-勧奨中止による未接種者への対応. *小児内科* 45(増刊号) 予防接種Q&A. 458-459, 2013

3) 宮崎千明 : 日本脳炎. *小児科*54(12) : 1693-1700, 2013

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

乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンの接種動向に関する研究： 第2報（福岡市：平成22～25年度）

研究分担者：宮崎 千明（福岡市立西部療育センター長）

研究要旨 乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンは平成22年4月から接種勧奨が一部再開され、その後も勧奨の拡大が図られた。施策変更に伴うワクチン接種動向を、福岡市において継続的に調査を行ってきた。平成21～22年度に接種漏れ者接種により実施率が上昇したが、23～25年度は一定の傾向に落ち着いてきた。1期初回接種は以前の水準に戻りつつあるが、1期初回追加接種、2期接種、特定対象者接種はなお伸び悩んでいた。小児科外来患者における実際の接種率は5歳児で1期78%であり、より積極的な接種勧奨と啓発が必要と思われた。

A. 研究目的

乾燥細胞培養ワクチンは、平成21年6月から市販され、同時に1期の定期接種として用いられるようになった。平成22年4月以降、積極的勧奨を再開し、毎年勧奨年齢を拡大してきた。また、接種勧奨差し控え中に機会を逸した特定年齢層（平成7年4月2日～平成19年4月1日生まれの者）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。

平成24年4月には8～9歳の1期初回と10歳の1期追加接種の勧奨が再開された。また、新たに1社から乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンが発売され、2社による供給が始まった。

平成25年度は7～8歳の1期初回と9～10歳の1期追加、および18歳での第2期接種が勧奨された。

これら国の施策や複数ワクチンの登場等によって、予防接種がどのように反応したか、福岡市で経年的に調査し検討したので報告する。

B. 研究方法

福岡市における乾燥細胞日本脳炎ワクチンの月別、期別、接種実数、対象者数を市の保健福祉局より提供を受け、調査、解析した。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13,000～14,000人であった。

また、福岡市立西部療育センターを平成25年4月～平成26年1月までに初めて受診した0～6歳の児259名における各定期接種ワクチンの接種を母子手帳を元に調査した。

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

表1に平成17年5月以来の国の施策変更をまとめた。平成22年4月以来毎年接種勧奨対象年齢が拡大した。平成25年度には、7～8歳の第1期初回と9～10歳の第1期追加、および18歳での第2

表1 日本脳炎ワクチン定期接種の経緯

H17年5月	積極的勧奨の差し控え⇒中止に近い状態に
H21年6月	細胞培養ワクチン(ジェービックV®; 阪大微研)発売 第1期のみ定期接種可
12月	予防接種部会 日本脳炎に関する小委員会設置
H22年3月	追加接種に関する岡部班中間報告
4月	積極的勧奨の一部再開(3歳)
8月	接種漏れ者対策・第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)発売
5月	政令改正: 対象者の拡大(特例対象者: 20歳未満)
H24年4月	8～9歳の第1期初回と10歳の第1期追加接種を勧奨
10月	副反応報道 小委員会で検討 勧奨継続
H25年4月	7～8歳の第1期初回と9歳の第1期追加接種、18歳の第2期接種を勧奨

期接種が勧奨された。

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24年度末までの日本脳炎ワクチンの期別年间接種数の推移を示した。

組織培養ワクチンの使用が始まった平成21年度～22年度に接種数が急増したが、平成23年度と24年度はやや減少した。2期接種数は緩やかに回復していたが、22年度、23年度で従来の接種数と同等もしくは若干増加し、24年度はそれより若干低

下した。

図2に実施率（接種対象数に対する接種数の割合）を示した。細胞培養ワクチンの発売後、平成22年からの積極的勧奨の再開に応じて実施率が急上昇し、見かけ上100%を越えた。平成23年度以降は実施率が落ち着きつつあるが、1期初回の実施率がなお100%を越えているので、接種漏れ者がキャッチアップとして接種していることがわかる。

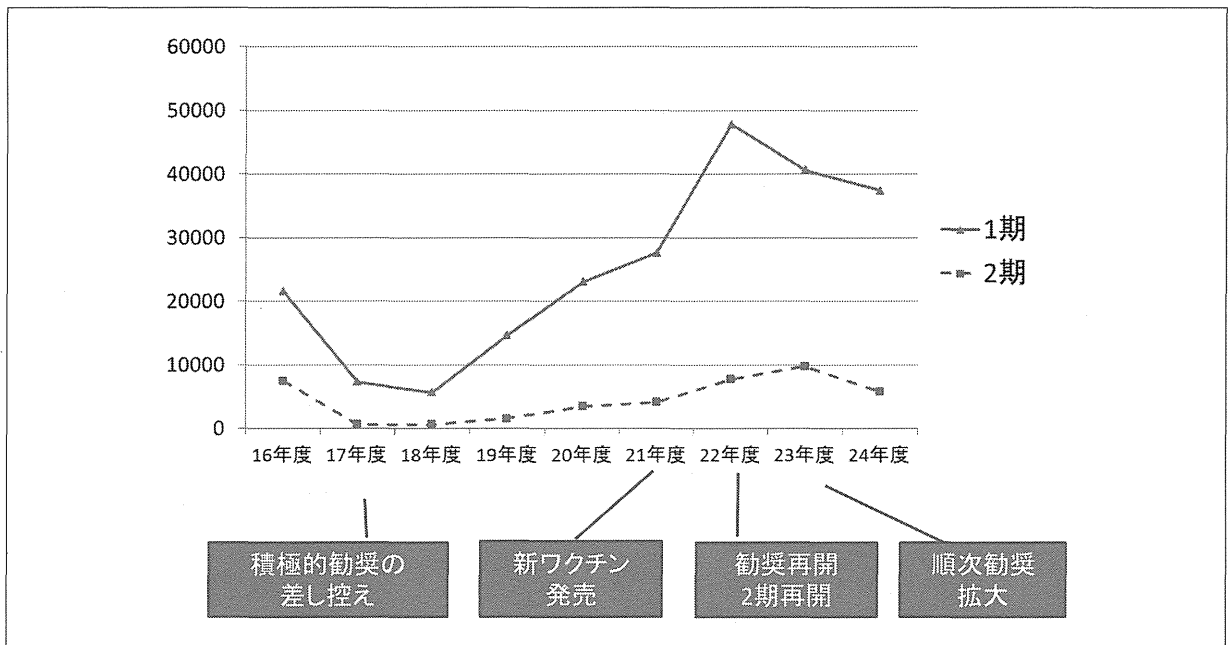


図1 日本脳炎ワクチンの施策変更と接種実数 福岡市 平成22～24年度

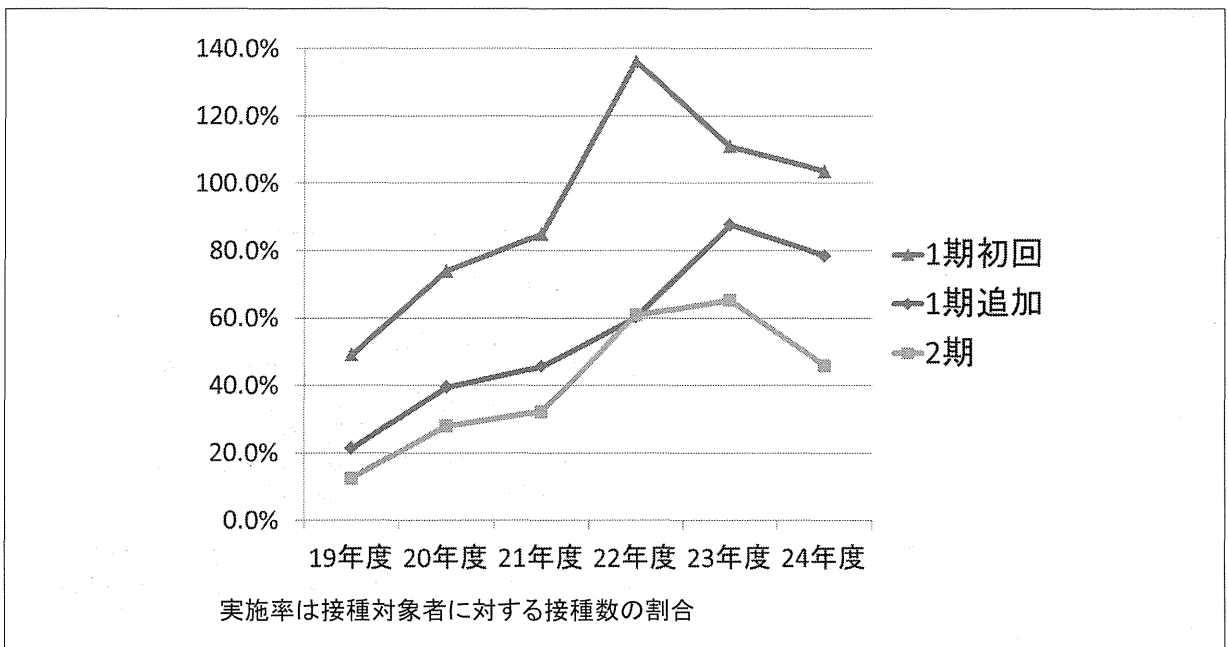


図2 日本脳炎ワクチンの実施率 福岡市 平成22～25年度

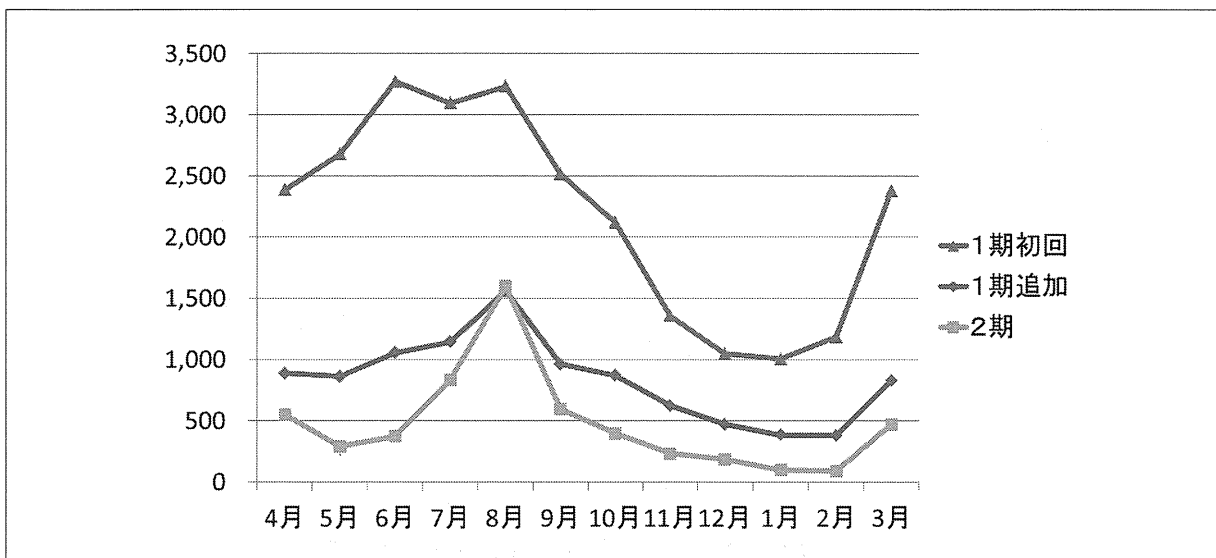


図3 福岡市における日本脳炎ワクチンの接種数の動向 平成24年度 通常の定期接種：期別、月別

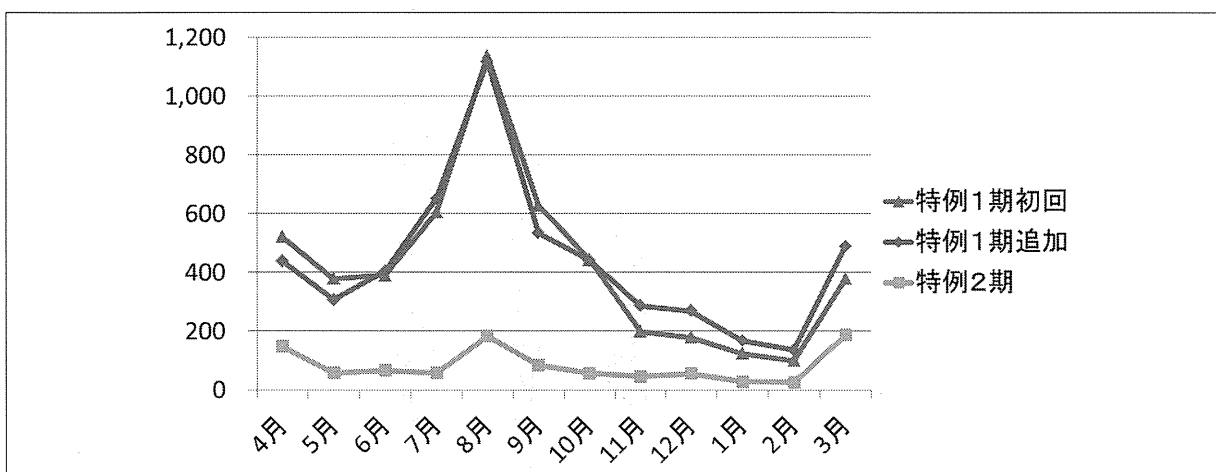


図4 福岡市における日本脳炎ワクチンの接種数の動向 平成24年度 特例対象者 期別、月別

平成24年度の月別接種数をみると、4月～10月、特に6月～8月にかけて接種数がピークを示し、秋から冬に接種数が減少するが、年度末の3月に接種が上昇する傾向がみられた（図3）。

第2期接種は8月にピークを作り、第1期より短い期間に集中する傾向があった。

図4に、特定対象者（平成7年4月2日～平成19年4月1日生まれの者）に対する接種を示した。全体的に接種数が少ないこと、8月に接種が集中すること、2期の接種が非常に少ないことが判明した。

図5に平成25年度（4月～11月まで）の暫定接種数を示した。第1期は通年的に接種されるようになり、第2期接種や特例対象者の接種が少なく、かつ、8月に集中し、接種が短期間に限られる傾

向が続いていた。

現在の日本脳炎ワクチンの接種は、接種漏れ者に対するキャッチアップ的接種が含まれるため、実際の接種動向を把握できない。そこで、福岡市立西部療育センターを平成25年4月から平成26年1月末までに初めて受診した新患児（0～6歳）の予防接種歴を調査し、図6に示した。日本脳炎ワクチンは3歳未満での接種はほとんどなく、3歳で53%、4歳で62%、5歳以上で78%の接種率であり、第1期の接種率はまだ回復し切れておらず、かつ接種開始年齢が遅いことが明らかになった。

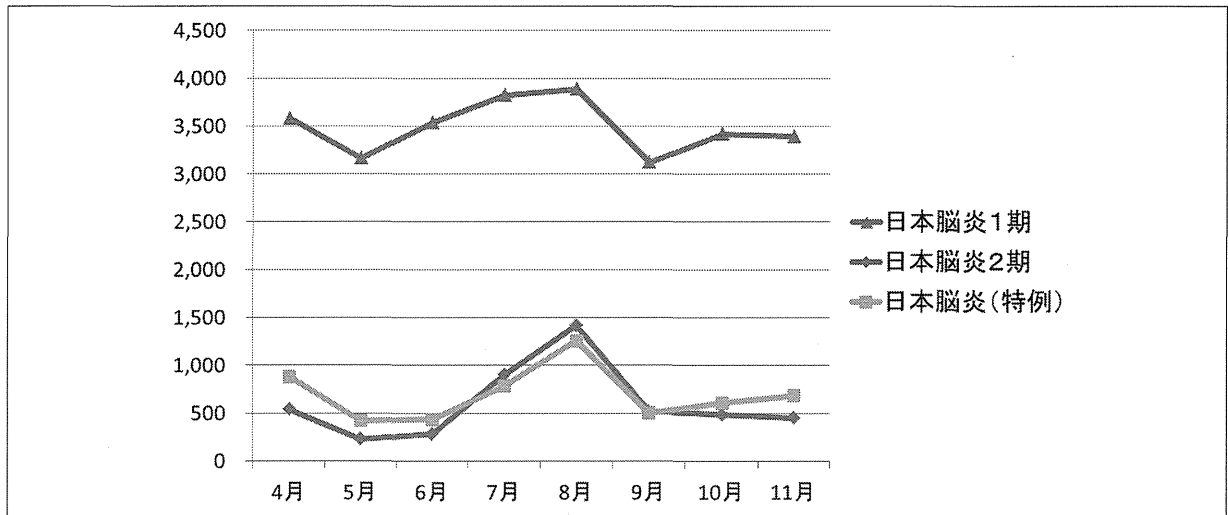


図5 福岡市における 日本脳炎ワクチン平成25年度（4～11月） 期別・月別接種数

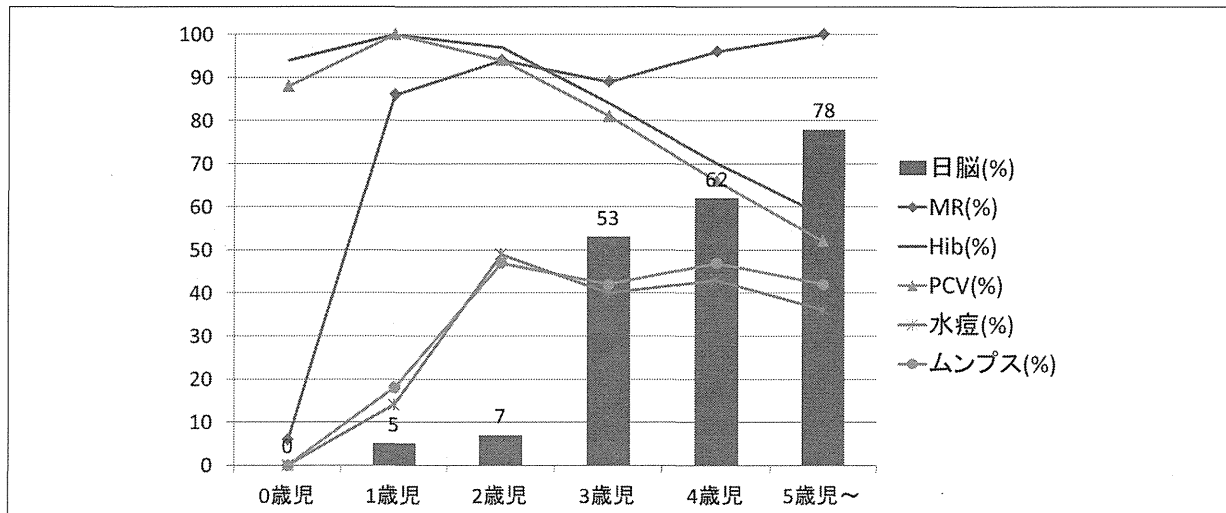


図6 H25年度 福岡市立西部療育センター外来初診患者 (n=259) における日本脳炎ワクチン予防接種率

D. 考察

2005年5月の日本脳炎ワクチンの積極的勧奨差し控え後9シーズンが過ぎ、平成25年12月までに6例の日本脳炎患小児例が発生した。

乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンは平成21年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。平成22年4月に3歳の第1期初回に積極的勧奨を再開、2期にも定期接種が可能になった。

また、積極的勧奨を差し控えの間に接種できなかった児に、1期の接種回数に残り回数を1期、または2期の定期接種年齢の間に定期接種できる施策がとられた。

平成23年度に、4歳と、9-10歳の年齢に勧奨、同年5月20日には特例対象者（平成7年4月1日

～19年4月1日生まれ）に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期初回の接種数は回復しつつあり、キャッチアップ接種も落ち着いてきている。しかし、1期追加接種はやや回復度が遅く、2期接種の回復はさらに遅く、接種差し替え者の接種が進んでいないことを示している。平成25年4月からは2期（通常の2期接種年齢と特例対象者では18歳）に接種勧奨が再開されたが、特例対象者を含め、2期接種数はなお少なく、全年度を割り込む可能性がある。

接種を差し控えていた児の接種が進みつつあるので接種総数は勧奨差し控え前より多くなっているが、平成25年度の初診児の年齢別接種率を見てもわかるように、第1期の実質的な接種率は、4

表2 H21～25年度のまとめ

- 乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンは市販直後から定期化され、その後積極的勧奨も徐々に再開され、キャッチアップ接種も進んできたので、実際の接種動向を福岡市で調査した。
- 平成21～22年度にかけてキャッチアップ接種が増加し、見かけ上の実施率が上昇したが、23～24年度には接種数や接種時期に関して一定の接種に傾向落ちついてきた。
- 平成25年の接種動向は平成24年と類似していた。
- 1期初回接種率は勧奨差し控え前に戻りつつあるが、1期追加接種率や2期接種率が十分でない。
- 2種の乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンが定期接種として使用されている。接種後健康状況調査の結果を用い、マウス脳由来ワクチンと副反応発現率を比較した。
- 乾燥細胞培養ワクチンはマウス脳由来ワクチンと比較して、局所反応は低い傾向があるが、1期初回接種のみ発熱率がやや高い傾向が示された。

歳で62%、5歳で78%と接種開始年齢が遅く、かつ接種率も80%を下回っているため、より積極的な勧奨が必要と思われる。

今回の調査は平成25年11月までのデータを解析したが、平成24年秋の副反応報道による接種数の低下はおこらなかったようである。

E. 結論

表2にまとめを示した。乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンは、平成22年度の施策に続き、平成23年度、平成24年度と接種勧奨を拡大した。第2期接種や特例対象者の接種はなお低迷している。さらなる勧奨が必要である。

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、諸通知文書を適宜参照した。

G. 研究発表(日本脳炎関連分)

1. 論文発表(原著)

Miyazaki C, Okada K, Ozaki T, et al.: Phase III clinical trials comparing the immunogenicity

and safety of Vero cell-derived Japanese encephalitis vaccine ENCEVAC® with those of mouse brain-derived vaccine using the Beijing-1 strain. *Clinical Vaccine Immunology* 21(2): 188-195, 2014

2. 論文発表(総論)

- 1) 宮崎千明: 日本脳炎ワクチン. 日本医師会雑誌 142(8): 1759-1761, 2013
- 2) 宮崎千明: 日本脳炎-勧奨中止による未接種者への対応. 小児内科 45(増刊号) 予防接種Q&A 458-459, 2013
- 3) 宮崎千明: 日本脳炎. 小児科54(12): 1693-1700, 2013

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

4. ポリオ

沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ（セービン株）混合ワクチン （DTaP-sIPV）接種後の抗体価推移と追加接種の必要性の検討

研究分担者：岡田 賢司（福岡歯科大学総合医学講座小児科学分野）

研究協力者：一般財団法人化学及血清療法研究所

一般財団法人阪大微生物病研究会

足立 尚登（足立・有馬小児科神経内科・院長）

池澤 滋（いけざわこどもクリニック・院長）

浦本 恭子（浦本医院・院長）

江上 経誼（えがみ小児科・名誉院長）

江藤 仁治（えとう小児科クリニック・院長）

北野 昭人（北野小児科医院・院長）

友枝 新一（こどもクリニック友枝・院長）

坂口 正実（さかぐち小児科医院・院長）

杉之原 佳子（さくらんぼこどもクリニック・院長）

杉野 茂人（杉野クリニック・院長）

瀬口 聖史（せぐち小児科クリニック・院長）

原口 洋吾（はらぐちこどもクリニック・院長）

水元 裕二（みずもとこどもクリニック・院長）

吉本 寿美（よしもと小児科・院長）

太田 和秀（国立病院機構金沢医療センター・小児科部長）

木戸 真二（トヨタ記念病院・小児科医長）

菅 秀（国立病院機構三重病院・臨床研究部長）

森 俊彦（札幌病院小児科・小児科部長）

森田 誠（名古屋記念病院・小児感染症科部長）

吉川 哲史（藤田保健衛生大学病院・小児科教授）

田中 敏博（静岡厚生病院小児科診療部長）

研究要旨 わが国は、世界に先駆け開発したDTaP-sIPVの接種を開始した。DTaP-sIPV4回接種後の百日せき、ジフテリア、破傷風、ポリオに対する抗体価の推移を検討し、追加接種の必要性を評価した。本年度は、対象児が3歳時点での各疾患に対する抗体陽性率を示した。

A. 研究の目的

弱毒ポリオウイルス（セービン株）を用いた不活化ポリオワクチン（sIPV）を含有する沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ（セービン株）混合ワクチン（DTaP-sIPV）が平成24年7月に承認され、11月から接種が開始された。

海外で使用されている強毒ポリオウイルスを用いた不活化ポリオワクチン（wIPV）あるいはwIPVを含む混合ワクチンは、ポリオに対する免疫を持続させるため、4～6歳時に追加接種を推奨している国々が多い。一方、sIPVを用いた混合ワクチンは世界的に例がないため、追加免疫後

の各成分に対する免疫の持続及び更なる追加接種の必要性について、今後わが国で検討する必要がある。

本研究では、DTaP-sIPV接種で獲得した免疫の持続を評価し、DTaP-sIPV追加接種の必要性を検討する。

B. 研究方法

化学及血清療法研究所および阪大微生物病研究会が行ったDTaP-sIPVの開発治験に参加し、DTaP-sIPVの接種を受けた小児を対象とした。対象児が3歳（いずれも誕生日から6か月以内）、4歳、5歳、6歳の時点で採血し、百日せきPT、百日せきFHA、ジフテリア、破傷風、弱毒および強毒ポリオウイルス1、2、3型に対する抗体価を測定する。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則を遵守して実施する。採血された血液検体は、研究終了後に廃棄する。また、本研究の目的以外に血液検体を使用することはしない。本研究では、取り扱う情報の中に個人が特定されるような情報が含まれたとしても、それは実施医療機関のみで管理され、研究の結果として公表される場合も個人情報はずべて削除される。本研究では、研究対象者の記載を被験者識別コードで特定するなど、個人情報保護について十分配慮している。

C. 研究結果

今年度は、A製造所製DTaP-sIPVワクチン接種群（A群）46人、B製造所製DTaP-sIPVワクチン接種群（B群）39人の3歳時点での百日咳、ジフテリア、破傷風、ポリオウイルスに対する抗体保有率を示す。

百日咳に対するEIA抗体価は、百日咳毒素（PT）および繊維状赤血球凝集素（FHA）ともに10 EU/ml以上を陽性とした。ジフテリア抗毒素抗体価は0.01 IU/ml以上、破傷風抗毒素抗体価は0.01 IU/ml以上を陽性とした。弱毒ポリオウイルスに対する中和抗体価は、1-3型ともに23以上を陽性とした。

3歳時点でのPT抗体陽性率はA群で69%、B群97%、FHA抗体陽性率はA群（87%）B群（97%）

であった。ジフテリアおよび破傷風に対する抗毒素抗体は、A群、B群とも100%であった。

弱毒ポリオウイルスに対する中和抗体は、1型はA群、B群とも100%であった。2型もA群、B群とも100%であった。3型はA群（100%）、B群（97%）であった。DTaP-sIPVワクチン4回接種後、3歳時点で弱毒ポリオウイルスに対する中和抗体価は持続できていることが確認された。

D. 結論と考察

わが国は世界に先駆け開発したDTaP-sIPVワクチンの接種が開始された。本研究で、DTaP-sIPV接種後の百日咳、ジフテリア、破傷風、ポリオに対する抗体価の推移を解析し、欧米各国で行われているポリオに対する追加接種の必要性や適切な接種年齢を検討している。本年度は、3歳時点での抗体保有率を示した。百日咳に対して抗体価が低下している児も認められたが、弱毒ポリオウイルスに対しては、2つのワクチンとも接種後十分な中和抗体価が持続できていることが確認された。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okada K, Miyazaki C, Kino Y et al : Phase II and III Clinical Studies of Diphtheria-Tetanus-Acellular Pertussis Vaccine Containing Inactivated Polio Vaccine Derived from Sabin Strains (DTaP-sIPV) J Infect Dis : 208 ; 275-283, 2013
- 2) Hara M, Okada K, Yamaguchi Y, Uno S, Otsuka Y, Shimano C, Nanri H, Horita M, Ozaki I, Nishida Y, Tanaka K : 2. 2. 2. Immunogenicity and safety after booster vaccination of diphtheria, tetanus, and acellular pertussis in young adults : An open randomized controlled trial in Japan. Clin Vaccine Immunol. 20(12) : 1799-1804, 2013
- 3) 岡田賢司 : 百日咳・ジフテリア・破傷風・ポリオワクチン (DTaP-IPV,IPV,OPV) 小児看護 へるす出版 434-444, 2013
- 4) 岡田賢司 : 4価ワクチン (DTP+不活化ポリ

オ) 導入先進国の現状 小児内科増刊号 東京医学社 358-361, 2013

- 5) 岡田賢司: 4 価ワクチン (DTP+不活化ポリオ) の副反応。小児内科増刊号 東京医学社 362-363, 2013

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

不活化ポリオワクチン導入後のポリオウイルスサーベイランスに関する研究

研究分担者：吉田 弘（国立感染症研究所）
研究協力者：滝澤 剛則（富山県衛生研究所）
濱崎 光宏（福岡県保健環境研究所）
山崎 謙治（大阪府立公衆衛生研究所）
中田 恵子（大阪府立公衆衛生研究所）
高橋 雅輝（岩手県環境保健研究センター）
堀田 千恵美（千葉県衛生研究所）
山下 育孝（愛媛県立衛生環境研究所）
筒井 理華（青森県環境保健センター）
佐々木 顕（総合研究大学院大学）
内野 清子（堺市衛生研究所）
小澤 広規（横浜市衛生研究所）
岩切 章（宮崎県衛生環境研究所）
神保 達也（浜松市保健環境研究所）
下野 尚悦（和歌山県環境衛生研究センター）
北川 和寛（福島県衛生研究所）
葛口 剛（岐阜県保健環境研究所）
伊藤 雅（愛知県衛生研究所）

研究要旨 環境水調査によるポリオウイルスサーベイランスを全国13か所にて2013年春より順次開始した。今年度は感染症流行予測調査事業（感染源調査）として8か所、調査研究として5か所の協力を得て下水利用総人口約450万人を対象とした調査を行った。H26年2月3日現在、ポリオウイルスは環境水より検出されていない。他方、エンテロウイルス、アデノウイルスは多種類検出されており、①異なる数か所で検出されたもの、②長期間同一地域で検出されたものがあり、広域伝播、或いは地域内伝播の可能性を示唆した。環境水調査で検出されたウイルスの中には感染症発生动向調査では報告されていないウイルス種もみられ、不顕性感染により伝播していることを示唆した。このように環境水調査は高感度にヒト集団のポリオを含む腸管系ウイルスを検出可能であると考えられる。

A. 研究目的

我が国は2012年9月より生ポリオワクチン（OPV）から不活化ポリオワクチン（IPV）に切り替えを行った。ポリオ感染の多くは不顕性であるため、ウイルスがヒト集団中に侵入した場合、効率よく早期探知する必要がある。環境水サーベイランスは、環境水（下水、河川水）から、ヒ

ト集団に循環する腸管系ウイルスを、顕性、不顕性にかかわらず検出する高感度なサーベイランス手法である。本研究では以下を行う。

- (1) 全国レベルで下水定点を設定し流入下水中のポリオウイルス監視することを目的とする（3年間）。
- (2) 下水定点設置時の課題について整理する。

(3)既存のサーベイランスシステムと下水調査を比較検討し、ポリオウイルスが環境水より検出された場合のレスポンス案の検討を検討する。

(4)IPV切り替え後のポリオ発生リスク研究(→H24年度報告書)。

初年度は4地方衛生研究所(福岡県、富山県、岩手県、大阪府)の協力を得て環境水調査を行った。環境水からは2012年6月を最後にポリオウイルスは検出されていない(発生動向調査による患者由来は2012年9月が最後)。そして下水調査時の諸課題(行政面、技術面)を整理した。また生ワクチン停止時のポリオ発生リスク研究を行った。

2年目は初年度の4か所に加え9か所の協力を得て環境水調査を開始した。ポリオ検出時の対応についてはH25年度感染症流行予測調査事業実施要領に反映済み。

B. 研究方法

(1) 調査地点

H25年度は8地方衛生研究所(青森、岩手、福島、富山、愛知、岐阜、和歌山、福岡)の協力を得て感染症流行予測調査事業として環境水調査を開始。また調査研究として5地方衛生研究所(横浜、浜

松、大阪府、堺、宮崎県)の協力を得ることとなった(図1)。各自治体の下水処理場を定点とし、流入下水を月1回採水している。下水利用人口は延べ約450万人である(表1)。

(2) 下水流入水からのウイルス検出法

下水流入水(500ml-1L)を、4℃で3000rpm、30分間粗遠心後、上清に塩化マグネシウムを添加(最終濃度0.05M)、pH3.5に調整後、陰電荷膜を用いてろ過(ウイルス吸着)、吸着後、膜より3%ブーフエキストラクト存在下でウイルス誘出を行い50-100倍濃縮液を得た(H25年度流行予測調査事業術式)。大阪府は約200mlの下水を用いポリビニルピロリドンによる濃縮(20倍)を行った。

濃縮産物をウイルスに対する感受性の異なる3-6種類の培養細胞に0.05-0.1m²ずつ接種した。分離株は中和試験法、或いはPCR-ダイレクトシーケンスにより同定した。

(3) 感染症流行予測調査事業ポリオ感染源調査(糞便調査)との比較(岩手県、岐阜県、愛知県、和歌山県)。

健康児糞便検体からのウイルス分離は、岩手県(2013年9月、71糞便検体)、愛知県(10月、76検体)、岐阜県(9月、55検体)、和歌山県(9月、

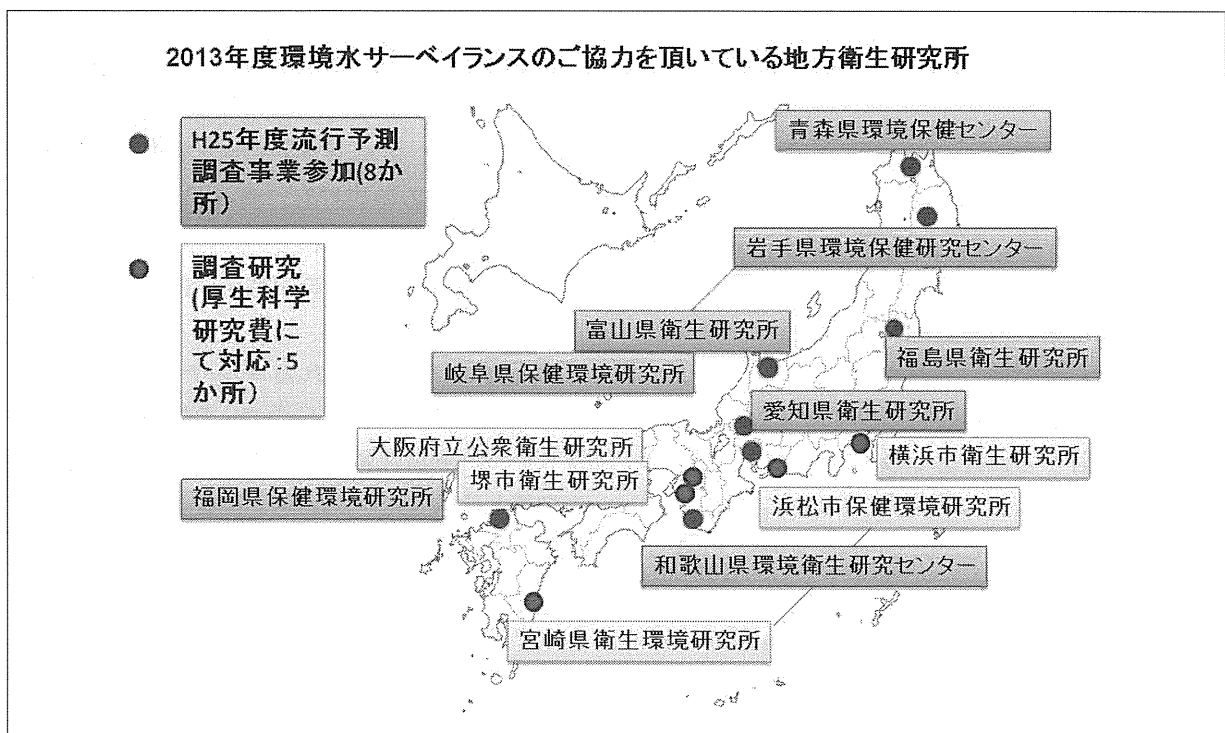


図1

表1

環境水サーベイランス実施地域の概要

	協力自治体	下水利用人口	関連自治体数	対象とする処理場	調査開始時期
流行予測調査 (8か所)	青森県	232,000	1市	1か所	2013.3
	岩手県(+糞便)	276,000	1市、3町	1か所	2012.10
	福島県	160,000	2市、2町	1か所	2013.4
	和歌山県(+糞便)	36,000	2市	1か所	2013.3
	富山県	199,000	5市	1か所	1979
	福岡県	180,000	6町	2か所	2010
		25,000	1市3町		
	愛知県(+糞便)	600,000	9市	1か所	2013.4
	岐阜県(+糞便)	412,000	4市6町	1か所	2013.6
	調査研究 (5か所)	大阪府	400,000		2か所
		80,000			
宮崎県		160,000	1市	1か所	2013.3
堺市(政令市)		160,000	1市	3か所	2013.3
		170,000			
		280,000			
横浜市(政令市)		610,000	1市	2か所	2013.4
		360,000			
	浜松市(政令市)	143,000	1市	1か所	2013.5
	合計	約4,500千人			

63検体)にて実施。同時期の環境水調査と比較した。

(4) 発生動向調査事業病原体検出情報 (IASR) との比較

感染症発生動向調査事業(全国データ)のうち無菌性髄膜炎患者から検出されたエンテロウイルス等分離・検出結果と下水調査結果を比較した。

C. 研究結果

(1) 下水からのポリオワクチン株検出

2013年4月以降、国内13か所の下水処理場を定点とし、ポリオ検出を行ったところ、2014年1月まで、対象地域における流入下水からワクチン株の検出は見られない。

(2) 流入下水より分離されたウイルス

2013年4月から12月までの調査で環境水より検出されたウイルスの種類を表2に示す。CB3は13か所のうち11ヶ所、CB5、E11は7か所、E6は6か所、CB1、CB4、E30、Ad2は4か所、E7、Ad1、Ad5は3か所、E3、E18、E2、Ad3、Ad31は2か所より検出された。これらのウイルスは広域に流行していた可能性を示唆する。またCB1、CB3、CB4、CB5、E6、E7、E11、E25、Ad2、Ad5、Ad41、Reo2は

2カ月以上環境水から検出されていることから地域内伝播の可能性を示唆する。

(3) 流行予測事業感染源(糞便)調査との比較(岩手県、愛知県、岐阜県、和歌山県)

いずれの調査でもポリオウイルスは検出されていない。環境水と糞便から分離されたウイルスの種類を表3に示す。糞便検査のウイルス分離率は14.5%~21.8%であった。環境水からはCB群、エコーウイルス、アデノウイルス、レオウイルスが検出されているのに対し、糞便からはCA群、パレコウイルスも検出されていた。

(4) 感染症発生動向調査事業病原体検出 (IASR) との比較

環境水から検出されるエンテロウイルスはHEV-Bであることが多いため、B群が主起因ウイルスとなる無菌性髄膜炎患者より検出されたウイルス種と比較した。2013年シーズンの病原体定点から無菌性髄膜炎患者から検出されたウイルスはE6、E30、CB3、EV71、CB5、E18、CB1、CB4、CA6、ムンプスウイルスが報告されており、EV71、CA6、ムンプスウイルス以外のウイルスは環境水からも検出されている。(図2)

表 2

環境水から検出されたウイルスの主な種類(2013年4月から12月までの中間集計。2014年1月23日現在)

青森	CB3	CB5	E11														
岩手	CB3	CB5	E7	E18	E25	E30											
福島	CB3		E11					Ad2		AdNT							
横浜	CB1	CB3	CB4	CB5	E3	E6	E7	E11	E25	Ad1	Ad2	Ad5	AdNT	ReoNT	NPEV		
富山																	NPEV
浜松		CB4	CB5	E6	E11												NPEV
愛知	CB1	CB3	CB4	CB5	E3	E6	E7	E11	E30	Ad1	Ad2	Ad3	Ad5	Reo2	NPEV		
岐阜		CB3	CB4										AdNT				NPEV
大阪		CB3	CB5	E6	E11												
和歌山	CB1	CB3								Ad1	Ad2	Ad31					NPEV
堺	CB1	CB3	CB5	E6	E11												NPEV
福岡	CB2	CB3							E18	E30	Ad3	Ad4	Ad5	Ad31	Ad41	Ad56	NPEV
宮崎		CB3	CB4						E30								NPEV

下水中より2カ月以上連続して検出されたウイルスは灰色で示した。

参考：糞便調査(2012.8-2013.6に感染性胃腸炎患者より採取 N=228)で検出されたウイルスの種類
千葉 CA2, CA5, EV71, CA9, E7, Rhino A, Rhino C, NPEV

CB=コクサッキーウイルス、E=エコーウイルス、Ad=アデノウイルス、Reo=レオウイルス、Rhino=ライノウイルス、NT=未同定、NPEV=非ポリオウイルス(今後、ウイルス種を同定予定)

表 3

感染症流行予測調査事業(ポリオ感染源調査)における糞便と環境水調査の結果

	調査月	環境水調査で分離されたウイルス*	糞便調査で分離されたウイルス	糞便検査の分離率
愛知県	10月	CB3, CB5, Reo2, AdNT, 検査中	CB1(1), CB2(1), CB4(2), E6(2), E18(1), Ad2(2), Ad31(1), Reo2(1)	11分離株/76糞便検体(14.5%)
岩手県	9月	E7, E30, CB5	CB2(15)	15/71(21.1%)
岐阜県	9月	CB3, AdNT	CB3(3), Ad5(1), HPeV(8)	12/55(21.8%)
和歌山県	9月	CB3, CB6, Ad1	E11(9), CA6(1), CA9(3), Ad1(2), Ad6(1)	16/63(25.4%)

*環境水調査は500mlの流入下水を濃縮し、分離されたウイルス種を示した。

D. 考察

(1) 感染症流行予測調査ポリオ環境水調査

2004年以来IPV使用国であるイスラエルでは2013年2月より2014年1月現在まで1型ポリオ野生株が環境水より検出されているが、高いIPV接種率を背景に患者の報告はなく、リスク管理の観点から環境水調査の有用性が示されている。

我が国では2012年9月よりIPVの導入が始まり、H24年度より4か所で調査を開始、H25年度は13か所(8地方衛生研究所が事業参加、5地方衛生研究所は調査研究)にて調査を行っている。調査研究として協力を仰いでいる5衛研のうち3衛研は政令市(横浜市、浜松市、堺市)に設置された

地衛研である。これら3政令市の調査対象とする下水利用人口は合計約150万人であり、今年度調査(450万人)の3割強を占めている。

今後、輸入が想定されるポリオウイルス検知のためには大規模な人口を抱える政令市における調査継続は重要であり、持続的な財源措置を検討する必要がある。

(2) 流入下水より分離されたウイルスと感染症発生動向調査事業病原体検出(IASR)との比較

環境水調査にて、2か所以上の地点で検出されたウイルス(CB3、CB5、E11、E6、CB1、CB4、E30、Ad2、E7、Ad1、Ad5、E3、E18、E2、Ad3、Ad31)、そして2カ月以上同一地点で検出された