

2013/8045A

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

小児の肝移植患者における

ワクチン接種の安全性・有効性に関する研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 齋藤 昭彦

平成 26 (2014) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金研究報告書目次

I. 総合研究報告

- 小児の肝移植患者におけるワクチン接種の安全性・有効性に関する研究 2
研究代表者 齋藤 昭彦

II. 分担研究報告

1. 小児臓器移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性に関する研究 6
研究分担者 笠原 群生
2. 小児臓器移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性に関する研究 8
研究分担者 竹田 誠
3. 小児の肝移植患者におけるワクチン接種の安全性・有効性に関する研究 11
研究分担者 宮入 烈

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

..... 18

IV. 研究成果の刊行物・別刷

..... 22

I . 総合研究報告

小児の肝移植患者におけるワクチン接種の安全性・有効性に関する研究

研究代表者 齋藤 昭彦

新潟大学大学院医歯学総合研究科

研究要旨

本研究は、臓器移植後、特に肝移植後の患児をワクチンで予防できる病気（VPD: Vaccine Preventable Diseases）から守るために、患児に効果がありかつ安全なワクチン接種を実施し、最終的には、肝移植後の患者に対する予防接種ガイドライン作成のための基本的情報を提供し、テーラーメイドのワクチン接種を実施することをその目的とする。本研究は、2010年から始まり、既に100名以上の肝移植を受けた児が研究に参加しており、研究結果が発表されてきた。その中でも、肝移植前後の液性免疫の評価により、ワクチンに対する免疫原性を規定する幾つかの因子が明確となった。一方で、細胞性免疫の評価は、ELISPOT法を用いた検査系をそれぞれの疾患（水痘、麻疹、風疹）において確立し、患者の検体での測定を継続しているが、その結果には、大きなばらつきがあり、解釈が困難である現状がある。今後、健常児におけるワクチン接種歴の有無とこの検査についてもデータの集積が必要である。今後も、年間50件を超える世界最大の小児肝移植実施施設である国立成育医療研究センターにおける肝移植患者を対象とし、ワクチン接種前後の長期的経過における肝移植患者のフォローアップを継続する予定である。

研究分担者

笠原 群生	国立成育医療研究センター 移植センター センター長
竹田 誠	国立感染症研究所ウイルス第3部 部長
宮入 烈	国立成育医療研究センター 感染症科 医長

確実に行われ、これらの疾患から守られるべきである。一方で、特に生ワクチンは、免疫不全状態の児は、ワクチンによって疾患を発症するリスクがあり、一般的に接種は禁忌とされてきたが、免疫状態が許せば、接種によってこれらの病気から守ることが可能である。

これまで世界最大の小児の生体肝移植センターである国立成育医療研究センターでは、肝移植患者に対してワクチン接種を積極的に行ってきた。しかしながら、その開始時期、適応に関しては、科学的根拠に乏しい。したがって、接種前後の液性免疫と細胞性免疫機能の評価を行うことによって、より客観的なデータに基づき、より効果的で、より安全なワクチン接種を行うことが期待できる。最終的には、肝移植後の患者に対する予防接種ガイドライン作成のための基本的情報

A. 研究目的

肝移植児を受けた児は、移植後、免疫抑制剤を常時服用し、慢性的な免疫不全状態となり、多くの感染症に罹患するリスクにさらされる。その中で幾つかの疾患は、ワクチンで予防できる病気（VPD: Vaccine Preventable Diseases）であり、ワクチンという予防手段が存在する以上、その接種は

を提供し、テラーメイドのワクチン接種を実施することをその目的とする。

B. 研究方法

① 肝移植前後のワクチンの効果、安全性の前方視的調査

1) 肝移植前の患者の評価

現時点（2014年4月）で、国立成育医療研究センターにおける肝移植患者数は、250名を超えている。移植をこれから受ける患者に対しては、移植前に接種可能なワクチンの接種を推奨してきた。その際、接種前の液性免疫と細胞性免疫を評価し、また、移植の入院時には、同様の検査を行い、既に接種したワクチンの効果を液性免疫と細胞性免疫の評価を行ってきた。

2) 肝移植後の患者の評価

移植後6, 9, 12, 18, 24か月に同様の液性免疫と細胞性免疫の評価を行ってきた。

3) 研究開始時に既に肝移植が終了している患者

研究開始時に既に移植の終了した患者においては、研究に参加した時点で、同様の液性免疫と細胞性免疫の評価を行い、免疫状態の把握を行ってきた。

4) 肝移植患者に対する予防接種ガイドラインへのデータ提供

以上の研究の結果から得られたデータを基に、生体肝移植患者に効果があり、かつ安全なワクチン接種が実施できるように、肝移植患者に対する予防接種ガイドライン作成のためのデータを提供した。

② 免疫学的評価

1) 液性免疫能（B細胞機能）

水痘、麻疹、風疹、ムンプスの生ワクチンに対して、EIA法を用い、抗体値を測定した。

2) 細胞性免疫能（T細胞機能）

細胞性免疫は、抗体産生を行うB細胞の機能をコントロールしており、その機能は、多岐にわたる。特に細胞障害T細胞の機能は、抗原に対し

て生体が反応する重要な役割を果たしており、その機能の評価は重要である。この機能の評価を行うにあたり、麻疹、水痘、風疹抗原によるELISPOTを用いたリンパ球の細胞性免疫の評価を行った。

C. 研究結果

① 肝移植前の液性免疫の評価

肝移植前に麻疹、風疹、水痘、ムンプスワクチンを接種した患者（49名、48名、40名、41名）を対象に、移植後の抗体価と抗体陽性に関連する因子の解析を行った。各ワクチンに対する抗体陽性率は麻疹（46.7%）、風疹（89.4%）、水痘（67.5%）、ムンプス（51.2%）であり、風疹を除くすべての生ワクチン接種によって、十分な抗体の上昇が得られていないことが分かった。これは、多くの患者が1歳未満での接種を余儀なくされていることが原因と考えられた。データの精細は、前年度の報告書を参照のこと。

① 肝移植後の液性免疫の評価

肝移植後、約2年経過した後の抗体価のデータを発表し、抗体陽転率は、麻疹、風疹、水痘、ムンプスでそれぞれ、77.5% (31/40), 100% (40/40), 66.7% (20/30), and 60.7% (20/33)であり、移植後、2年を経過し、接種された水痘、ムンプスワクチンによって、抗体陽転率は60%程度であり、陽転しなかった患者においては、追加接種の必要性を示唆する所見が得られた。

また、これらの患者では、ワクチン接種は、安全に実施され、実際に疾患を発症するなどの副反応は認められなかった。

② 肝移植後の細胞性免疫の評価

上記の患者を対象に、水痘、麻疹、風疹に対するELISPOTによる細胞性免疫の評価を行ったが、その比較では、その相関は認められなかった（精細は分担研究者の報告を参照）。

D. 考察

肝移植前後にどのようなスケジュールでワクチ

ン接種を実施するかは、免疫抑制状態の子どもたちをワクチンで予防できる病気から守るために、極めて重要な課題である。残念ながら、未だにその基準となるデータは存在せず、それぞれの患者の年齢、基礎疾患、免疫抑制剤の種類と量などによって、その適応が大きく異なる。

これまでのこの研究によって、幾つかの重要な因子が移植前後の液性免疫に大きな影響を与えることが分かった。移植前は、患者の年齢、薬剤などが重要であり、また、水痘ワクチンに関しては、ステロイドの使用が抗体価を下げる重要な因子であることが分かった。移植後は、全ての患者で安全に接種が実施されていたが、特に、水痘、ムンプスで抗体陽性率が低く、追加接種の必要性が示唆された。

細胞性免疫の評価に関しては、現在の ELISPOT による解析では、一定の見解を得ていない。今後、症例数を更に蓄積し、また、ワクチン接種後の健常児の検体の評価同時に行いながら、細胞性免疫と液性免疫のデータの相互評価を行い、両者の関連の有無を検索する予定である

E. 結論

生体移植後のワクチン接種は、客観的データがなく、その接種に関する明確な基準は存在しない。したがって、現在採血を行っている患者のデータを把握することは極めて重要であり、更なるデータの蓄積と細胞性免疫評価が待たれる。

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

齋藤昭彦 小児移植医療における水痘ワクチンの重要性 IASR 2013;34: 289-290.

齋藤昭彦 VPD の理解と進歩-小児-日本内科学

会雑誌 2013;102: 2928-2935.

2. 学会発表

国際学会（米国感染症学会）

Funaki T, Shoji K, Miyata I, Sakamoto S, Kasahara M, Yoshii H, Miyairi I, Saitoh A. Efficacy and Safety of Live Attenuated Vaccines Administered after Liver Transplantation in Children. Infectious Disease Society of America 51st Annual Meeting, San Francisco, CA, October, 2013.

Kamidani S, Funaki T, Sakamoto S, Kasahara M, Yoshii H, Miyairi I, Saitoh A. Prior Corticosteroid Use is Associated with Varicella Vaccine Failure in Children with Liver Transplantation. Infectious Disease Society of America 51st Annual Meeting, San Francisco, CA, October, 2013.

Ito K, Funaki T, Shoji K, Miyata I, Sakamoto S, Kasahara M, Yoshii H, Saitoh A, Miyairi I. High Rate of Vaccine Failure after Administration of Acellular Pertussis Vaccine Pre- and Post-Liver Transplantation in Children. Infectious Disease Society of America 51st Annual Meeting, San Francisco, CA, October, 2013.

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

II . 分担研究報告

分担研究報告書

小児臓器移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性に関する研究

研究分担者 笠原群生 所属 国立成育医療研究センター

研究要旨

小児肝移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性

A. 研究目的

固形臓器移植後の免疫不全状態においては種々の感染症に罹患する頻度が高い。移植後は移植前に自然感染もしくは予防接種によって得られた免疫能が経年的に低下するために予防接種によって発症の予防もしくは症状の軽減が期待できる場合はその実施が推奨される。健常者への予防接種と異なり、免疫抑制剤内服中のため副反応に対する注意が必要であるがその実施に際しては個々の症例に応じて対応する必要がある。現在確立されていない固形臓器移植後のワクチン接種の安全性を確立する。

B. 研究方法

肝移植後半年経過した症例に対し、計画的にワクチン接種を実施し、抗体獲得能を評価した。

（倫理面への配慮）

当該治療の成果は、学会報告や学術雑誌、データベース上で公表されることがあるが、匿名化を行うなど、個人情報を保護する。

C. 研究結果

2005年11月～2014年3月末までに270例の肝移植を実施した。肝移植後患者で免疫抑制剤投与中の患者に、計画的にワクチン接種を実施した。重篤な副作用を認めず、免疫抑制状態であっても、安全にワクチン接種が可能であった。

D. 考察

肝移植成績は92%と良好であった。乳児期に肝移植を受ける患者では、術前肝不全のためにワクチン接種が不可能なことがあり、術後に麻疹・風疹・水痘感染症が固形臓器移植後に重篤化することがある。今回安全にワクチン接種が可能であることが証明されたが、今後個々の患者の免疫抑制剤使用状況・細胞分画を検討し、免疫能に応じたワクチン接種プロトコルを検討し、固形臓器移植後の感染症罹患の危険性を低下させ、移植成績の更なる向上を考慮すべきである。

E. 結論

免疫抑制状態であっても、安全にワクチン接種が可能であった。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

<英語論文>

1. Kasahara M, Sakamoto S, Shigeta T, Uchida H, Hamano I, Kanazawa H, Kobayashi M, Kitajima T, Fukuda A, Rela M. Reducing the thickness of left lateral segment grafts in neonatal living donor liver transplantation. Liver Transpl. 2013;19(2):226-8
2. Sakamoto S, Nakazawa A, Shigeta T, Uchida H,

Kanazawa H, Fukuda A, Karaki C, Nosaka S, Kasahara M. Devastating outflow obstruction after pediatric split liver transplantation. *Pediatr Transplant*. 2013; 17(1):E25-8.

3. Kanazawa H, Sakamoto S, Fukuda A, Uchida H, Hamano I, Shigeta T, Karaki C, Kasahara M. Living donor liver transplantation with hyper-reduced left lateral segment grafts: a single-center experience *Transplantation* 2013; 95(5): 750-754

4. Kasahara M, Umeshita K, Inomata Y, Uemoto S : Long-Term Outcomes of Pediatric Living Donor Liver Transplantation in Japan: An Analysis of More Than 2200 Cases Listed in the Registry of the Japanese Liver Transplantation Society. *American Journal of Transplantation* 2013; 13(7): 1830-9

5. Shigeta T, Hsu HC, Enosawa S, Matsuno N, Kasahara M, Matsunari H, Umeyama K, Watanabe M, Nagashima H: Transgenic pig expressing the red fluorescent protein kusabira-orange as a novel tool for preclinical studies on hepatocyte transplantation. *Transplantation Proceedings*, 2013; 45(5):1808-10.

6. Sakamoto S, Uchida H, Hamano I, Shigeta T, Sasaki K, Kanazawa H, Fukuda A, Kasahara M: Impact of the current organ allocation system for deceased donor liver transplantation on the outcomes of pediatric recipients: a single center experience in Japan. *Pediatr Surg Int*. 2013; 29(11):1109-14.

<日本語論文>

1. 笠原群生, 濱野郁美, 内田孟, 重田孝信, 福田晃也, 金澤寛之, 小林めぐみ, 北嶋俊寛, 田中秀明, 阪本靖介: 自施設における小児脳死分割肝移植 6 例の成績. *日本外科学会誌*. 2013; 114 (1) :66-70
2. 濱野郁美, 阪本靖介, 福田晃也, 内田 孟, 佐々木健吾, 重田孝信, 金澤寛之, 中澤温子, 笠原群生, 小倉靖弘, 上本伸二: 6 歳未満小児脳死ドナーからの全肝移植の経験. 2013; *日本外科学会雑誌* 114 (6) :340-3443.

2. 学会発表

1. Kasahara M: Challenges in pediatric liver transplantation: Strategies for bench liver splitting for brain dead organ donation. The 13th Congress of the Asian Society of Transplantation (CAST2013), Kyoto, Japan, 2013/9/2
2. 笠原群生 : 乳児劇症肝炎に対する脳死分割肝移植後Veno occlusive disease に対する脳死分割肝移植および生体肝再移植レシピエント手術術式. 日本外科学会第113 回定期学術集会, 福岡, 2013/4/11
3. 笠原 群生 : 小児肝移植実施施設の現状と課題. 第38 回日本外科系連合学会学術集会, 東京, 2013/6/7

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

厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
分担研究報告書

小児臓器移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性に関する研究

研究分担者 竹田 誠¹

研究協力者 井上直樹^{2,3}、染谷健二¹、岡本貴世子¹

¹国立感染症研究所ウイルス第三部、²国立感染症研究所ウイルス第1部、³岐阜薬科大学感染制御学研究室

研究要旨

【水痘に関して】92検体の移植前後の小児の細胞性免疫能を ELISPOT 法により測定した。細胞性免疫能自体が低い検体が多く、技術的な問題があるかについて見直しを行ったが、コントロールに用いた成人ボランティアの末梢血検体では問題ではなく、小児検体固有の問題と思われた。【麻疹に関して】116 検体の末梢血リンパ球のうち、細胞数の不足等により測定できなかった 11 検体を除いた 105 検体について ELISPOT 法による麻疹特異的細胞性免疫応答を解析した。その結果、45 検体(42.6%)で陽性反応を検出できた。【風疹に関して】これまでに設定した風疹ウイルス特異的 T 細胞検出 ELISPOT assay 法の条件を用いて、移植前後の患者検体117検体を測定した。このうち、陽性は5検体で、非特異反応が比較的高い検体が6検体あった。

A. 研究目的

生体肝移植後の児は、免疫抑制剤を常時服用し免疫不全状態におかれる。これらの脆弱な子供達を様々な感染症、特にワクチンで予防できる疾患から守るのは、われわれの責務である。しかしながら、移植後の患者に対しては、推奨されるワクチンスケジュールが存在しない。特に水痘、麻疹、風疹などの生ワクチンは生後1歳以降に接種することが推奨されているが、生体肝移植の患者の約半数は、1歳未満の患者であり、その年齢における接種の安全性、有効性は不明である。したがって、より客観的な指標をもって、効果があり、安全なワクチン接種が行えるように、特に水痘、麻疹、風疹について細胞性免疫機能の評価を移植前後の患者に行い、データを蓄積することが本分担研究の目的である。

B. 研究方法

【水痘に関して】

- 臓器移植患者検体における VZV 特異的細胞性免疫能の定量
 - 抗原の調製:モルモット線維芽細胞 GPL に水痘ワクチン株 V-Oka 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、遠心上清を ELISPOT 用の抗原とした。また、未感染細胞から同様にして得た抽出液を陰性対照とした。
 - ELISPOT 反応:疎水性 PVDF フィルターのプレート(IP)に抗ヒトインターフェロン(IFN)- γ 抗体を加えて 4°C で一晚コーティングした。成育医療センターより届けられたセルバンカーに懸濁された 1 パイアル当り約 10^6 個の末梢血単核球(PBMC)に、

37°C に加温した 5%FBS/RPMI1640 を加えて解凍し、抗体をコートしたプレートに 1well 当り 1×10^5 個の細胞を加え、さらに抗原を $1.6 \mu\text{g}$ ずつ加えて 38-40 時間培養した。培養液を除き、PBS 4 回洗浄後、ビオチン標識ヒト IFN- γ 抗体と反応し、再度 PBS で 4 回洗浄した。ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンと反応後、PBS で 4 回洗浄後、TMB により発色させた。陽性対照として、PHA $0.4 \mu\text{g}$ を添加した well を用意した。毎回の試験の成立を確認するために、健常ボランティアの同一検体を用いた。

- 3) スポット数の計測:健常ボランティアのスポットが期待される範囲であることを確認した後、実体顕微鏡下で計数した。結果は、事前に設定した基準により分類した。

【麻疹に関して】

本年度は、麻疹含有ワクチンを接種した肝移植児より分離された末梢血リンパ球、116 検体のうち、105 検体の麻疹特異的 IFN- γ 陽性細胞の検出を行った。細胞数 1×10^5 cells に麻疹ウイルス Edmonston 株を M.O.I= 0.5 となるように接種し、48 時間培養して IFN- γ 陽性細胞を検出した。陰性コントロールには、ウイルス調製に用いる Vero 細胞の培養上清を、陽性コントロールには、PHA ($0.5 \mu\text{g}$)を用いた。ウイルス抗原におけるスポット数が 5 個以上かつ、培養上清のみを添加したネガティブコントロールに対し 2 倍以上スポットのあるものを陽性として判定を行った。

【風疹に関して】

移植前後の肝移植患者検体の風疹ウイルス特異的細胞性免疫反応を市販の human IFN- γ ELISPOT

kit (BD #551849)を用いて測定した。成育医療センターより送付された肝移植前後の患者由来末梢血リンパ球(PBMC)を96 well メンブランフィルタープレートに $1\sim 2\times 10^5$ cells/well となるよう播き、抗原として不活化精製風疹ウイルス $1\sim 1.5\ \mu\text{g protein/well}$ となるよう添加した。陰性コントロールには培養液、陽性コントロールには最終濃度 $10\ \text{ng/ml PMA}$, $0.5\ \mu\text{g/ml Ionomycin}$ となるようマイトジェンを添加し、48時間培養した。抗体反応および発色反応はキットのプロトコルに従って行った。ウイルス抗原を添加した3 wellの平均スポット数が5個以上、かつ、培養液のみを添加した陰性コントロールに対し2倍以上スポットのあるものを陽性とした。

倫理面への配慮

【水痘に関して】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。成育医療センター研究所倫理委員会、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、岐阜薬科大学倫理委員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。

【風疹に関して】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、健常人ボランティア検体の使用について別途申請し承認を得た。採血は国立成育医療センターにて実施され、検体から個人が特定できないよう検体のみが国立感染症研究所ウイルス第三部に送付された。したがって、検体個人情報は国立感染症研究所ウイルス第三部には提供されていない。

C. 研究結果

【水痘に関して】

水痘ワクチン接種前後の臓器移植患者末梢血から分離した末梢血単核球(PBMC)検体におけるVZV特異的細胞性免疫の定量を行った。本年度は、生体肝移植患者検体92検体が成育医療センターより送付された。今回得られたデータを分類すると、「VZV特異的細胞性免疫反応が認められる」検体が13検体であった。「VZV特異的細胞性免疫反応が認められない」検体が16検体、「細胞性免疫が認められない」検体が61検体、「判定不能」の検体が検体で2検体であった。なお、予想外に「細胞性免疫が認められない」検体が多いため、成人ボランティア検体を用いて、検査法の再バリデーションを行ったが、成人の検体では細胞性免疫が認められないような検体はなく、方法上の問題ではないことを確認した。

【麻疹に関して】

抗原刺激により出現した平均スポット数が5個以上、かつ陰性コントロールの平均スポット数との差が2倍以上で、さらに陽性コントロール(PHA刺激)のスポット数が40個以上あるものを陽性反応と判定した。陽性反応は、平均スポット数が20個以上を強い陽性反応、10個以上20個未満をやや強い陽性反応、5個以上10個未満を弱い陽性反応とランクづけした。その結果、強い陽性反応が8検体、やや強い陽性反応が16検体、弱い陽性反応が21検体検出できた。

【風疹に関して】

成育医療センターより送付された肝移植患者検体117検体に対してELISPOT法を用いて測定を行った。陰性は110検体、陽性は5検体、細胞数が少なく測定不可能と考えられたものが1検体、陽性コントロールとしてのマイトジェン刺激による反応が見られなかったもの、すなわち、細胞性免疫が認められなかったものが1検体であった。陰性と判定された検体の中には、ネガティブコントロールにおいて比較的多数のスポット(5-38スポット)が出現したものが6検体存在した。

D. 考察

【水痘に関して】

予想外に細胞性免疫能が低い小児が多かった。また、VZV特異的に陽性になっても、陽性細胞数の頻度は、成人ボランティアと比較して低かった。このため、細胞性免疫反応能をPHA処理で10万個の末梢血に40以上の反応細胞があるという基準を緩めて20とした場合には、VZV特異的反応が認められるものは15検体となり、VZV特異的反応が陰性の検体も27となるなど、評価結果に影響を与えることとなる。小児の反応性が成人に比して弱いこと、その一方で、基礎疾患及び移植に伴う免疫抑制の効果などから非特異的反応が強く、陽性陰性の差が小さく、判定が困難となっている可能性があり、今後、VZV感染の既往の有無(特異的抗体で判断)、年齢などで対象を分類して解析することで小児におけるVZV特異的細胞性免疫能の基準を明確にしていく必要があると考えられる。

【麻疹に関して】

本年度は、116検体の末梢血リンパ球のうち、105検体について麻疹特異的細胞性免疫応答を解析できた。前々及び前年に報告したELISPOT反応の至適条件を基に末梢血リンパ球を刺激し、IFN- γ 産生細胞を検出した結果、105検体中45検体で陽性細胞を検出できた(42.6%:45/105)。陽性反応の強さを強い陽性反応(平均スポット数が20個以上)、やや強い陽性反応(10個以上20個未満)、弱い陽性反応(5個以上10個未満)とランクづけすると、強い陽性反応は8

検体(17.8%: 8/45)、やや強い陽性反応は 16 検体(35.6%: 16/45)、弱い陽性反応は 21 検体(46.7%: 21/45)となった。以上の結果から、免疫抑制剤の服用下においてもワクチンの接種による麻疹特異的な細胞性免疫応答は誘導できることが示唆された。一方、細胞の状態に問題がないにもかかわらず、マイトジェン (PHA)による刺激を加えても反応しない検体が本年度でも複数確認されている。これらの原因は、明らかとできていないが、何らかの解析を検討していきたい。

【風疹に関して】

一部の検体において、陽性コントロールのスポット数が比較的少ないものがあった。これらは近い検体番号であることから、採血時期、輸送時期が近いと考えられ、検体輸送時や保管時の温度管理が適正でなかった可能性も考えられるが、詳細は不明である。前回に続き、今回の検討でも、陽性と判定された検体は6検体と水痘、麻疹に比較して非常に少なかった。本検討で用いた ELISPOT 法の条件は健常成人の PBMC を用いて最適化している。移植患者の免疫抑制状態が測定系に影響しているのか、成人と小児検体で測定系に対する反応性が異なるのかを明らかにするために、今後、健常小児の PBMC を用いて測定系の評価を行う必要があると考えられた。

E. 結論

【水痘に関して】

92 検体の移植前後の小児の細胞性免疫能を ELISPOT 法により測定した。小児の水痘帯状疱疹ウイルスに対する細胞性免疫は、成人に比べ低いレベ

ルである。

【麻疹に関して】

116 検体の末梢血リンパ球のうち、105 検体について麻疹特異的な細胞性免疫応答を解析した。その結果、45 検体で陽性細胞を検出できた(42.6%)。このことから、免疫抑制剤服用下でもワクチン接種による細胞性免疫応答が誘導できることが示唆された。

【風疹に関して】

肝移植患者由来 PBMC 117 検体の風疹ウイルス特異的な細胞性免疫反応を ELISPOT 法により測定した。水痘・麻疹に比較して陽性率が低かったため、健常小児の検体を用いた測定系の再評価が必要であると考えられた。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

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

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

小児の肝移植患者におけるワクチン接種の安全性・有効性に関する研究
患者検体の採取、研究の方向性の決定

研究分担者 氏名 宮入 烈

国立成育医療研究センター 生体防御系内科部 感染症科医長

研究要旨

肝移植術前および術後免疫抑制療法下に施行された弱毒生ワクチン接種の効果および安全性の評価を行った。肝移植前の弱毒生ワクチン接種による移植後の抗体陽性率は風疹以外低く（麻疹 46.9% 風疹 89.4% 水痘 67.5% ムンプス 48.8%）、特に麻疹や水痘については接種時年齢が低い患者や接種前 3 か月以内にステロイドを使用していた患者の抗体陽性率は低かった。移植後に弱毒生ワクチンの接種をうけた患者の抗体陽性率もまた風疹以外は不十分（麻疹 77.5% 風疹 100% 水痘 66.7% ムンプス 60.6%）であったが、一定の基準を満たした上で安全に施行することが可能であり、移植後の患者では抗体測定の上で追加接種を検討することが妥当と思われた。水痘に対する ELISPOT 法による細胞性免疫能の評価を同時に行い、既往歴とは有意に関連したものの、抗体価と有意な関連を認めなかった。

A. 研究目的

肝移植術前および術後免疫抑制療法下に施行された弱毒生ワクチン接種の効果および安全性を明らかにすること。

B. 研究方法

2011 年 1 月から 2012 年 9 月までに、肝移植後、国立成育医療研究センターにて経過観察を行い、研究への同意が得られた患者が対象となった。移植前の予防接種は通常の小児に対する予防接種スケジュールに基づいて行われたが、1 歳前の乳児については生後 6 か月以降でかつ移植の 4 週間前までに施行できた場合に接種が行われた。移植後は免疫抑制薬が単剤で、かつ移植後 2 年以降の場合にワクチン接種を行った。

患者の基本的情報、基礎疾患、移植年

月日、ワクチン接種歴などのデータは、電子診療録から抽出された。血液検体は、前方視的に採取され、PBMC と血しょうに分離された。血しょうを用いて、麻疹、風疹、水痘、ムンプスに対する抗体価を測定した。PBMC を用いた麻疹、風疹、水痘に対する ELISPOT が行われた。ELISPOT 法については PHA 刺激検査に対する反応の乏しいもの、非特異的な反応が認められるものを除外し検討した。ELISPOT で水痘抗原添加で 5 個以上の反応する細胞がある場合は水痘特異的な反応ありと判定された。抗体価および ELISPOT の結果と関与因子を単変量解析し、有意なものについては多変量解析を行った。

C. 研究結果

(1) 肝臓移植前に行われた予防接種の

効果の検証

肝臓移植前に接種が行われ、移植後に血液検査が行われた症例は麻疹（49例）、風疹（48例）、水痘（40例）、ムンプス（41例）であった。同時接種が行われた症例は14例で、原則MR、水痘、ムンプスの同時接種であった。基礎疾患は、胆道閉鎖症、代謝疾患が多く、次いで劇症肝不全、その他であった。ほぼ全例が免疫抑制剤内服中であり、タクロリムス（FK）のみが最もおおかった。抗体陽性率は麻疹46.9%、風疹89.4%、水痘67.5%、ムンプス48.8%であり、それぞれのウイルスについて抗体保有に関わる因子の解析では単変量解析では、様々な因子について有意差を認めたが（別表1）、多変量解析で有意差をもって抗体陽性例が多いと認められたのは麻疹では12か月以上での接種、水痘では体重、ムンプスでは胆道閉鎖症であった（表）。

変数	Regression coefficient ± SE	P 値	オッズ比 (95% CI)
麻疹			
12か月以上での接種	2.593 ± 0.834	0.002*	13.364 (2.563 – 69.685)
定数	-1.946 ± 0.756	0.010	
水痘			
体重 (kg)	0.382 ± 0.154	0.013*	1.466 (1.084 – 1.982)
定数	-4.796 ± 2.069	0.020	
ムンプス			
胆道閉鎖症	2.079 ± 0.726	0.004*	8.000 (1.929 – 33.181)
定数	-1.253 ± 0.567	0.027	

水痘ワクチンの抗体陽性率に関するサブグループ解析（N=36）では、ステロイドを水痘ワクチン接種3か月以内に使用した場合に有意に抗体価が低いことが判明した。

変数	Regression coefficient ± SE	P 値	オッズ比 (95% 信頼区間)
以前のステロイド使用	3.070 ± 1.392	0.027	21.6 (1.41 – 330)
ワクチン接種年齢	-0.062 ± 0.061	0.302	0.939 (0.834 – 1.058)
採血時年齢	0.082 ± 0.062	0.184	1.085 (0.962 – 1.225)
採血時体重	-0.682 ± 0.361	0.059	0.506 (0.249 – 1.026)
免疫抑制剤の数	2.154 ± 1.138	0.058	8.623 (0.927 – 80.2)

(2) 肝移植後のワクチン接種による抗体陽性率

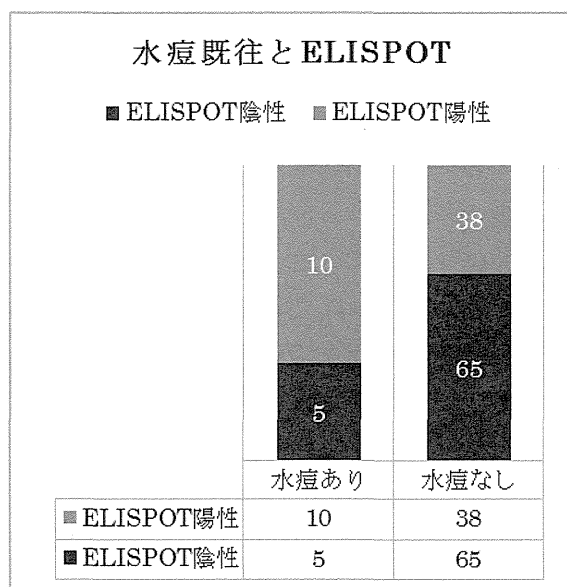
肝移植後2年以降に免疫抑制剤が1剤となり、状態が落ち着いていることを前提に各生ワクチン接種を開始した。入院を要する重篤な副反応・有害事象は検討期間中なかった。生ワクチン接種が行われた患者について、抗体価を検討した。

検討した患者数は麻疹・風疹が40名、水痘は30名、ムンプスは33名であった。評価時の年齢の中央値は48-50か月で、約70%の患者が同時接種をうけていた。基礎疾患は先天性胆道閉鎖症が約半数、次いで代謝性疾患、劇症肝炎となっている。免疫抑制薬は1例を除いて全例使用中であった。抗体陽性率は麻疹77.5%、風疹100%、水痘66.7%、ムンプス60.6%であった。抗体陽性率に影響を与える因子の単変量解析で抗体陽性者と陰性者で有意に差が認められた因子は、水痘抗体価における体重（ $p=0.02$ ）とリンパ球数（ $p=0.048$ ）のみで、他のウイルス抗体については有意なものはなく、また多変量解析で有意であったものは存在しなかった。

(3) 肝移植患者における水痘、麻疹に対する細胞性免疫の評価

水痘・帯状疱疹ウイルスに対する

ELISPOT による細胞性免疫能評価と水痘既往歴、ワクチン歴、抗体価との関係の評価を行ったところ、水痘の既往のある患者では ELISPOT 陽性になることが統計学にも有意であったが、(χ^2 検定 $p=0.03$) (図)、抗体保有と ELISPOT 結果は統計学的には関係が認められなかった (χ^2 検定 $p=0.33$)。



麻疹ウイルスに対する ELISPOT による細胞性免疫能評価とワクチン歴、抗体価との関係の評価したが、明確な関連は認められなかった。

D. 考察

肝移植患者に対する生ワクチン接種は原則として移植前に行うよう推奨されている。本検討では移植前の予防接種による移植後の抗体陽性率は風疹以外は低く、特に低年齢で接種を受けた患者については麻疹、水痘の抗体保有率が低いことが判明した。これらの患者は移植後免疫抑制状態となり、当該ウイルスに暴露した場合、発症および重症化するリスクを抱える。抗体保有率をあげるための方策としては、移植前の2回接種が望ましいところであるが、多くの場合接種機会は限られているため、移植後の接種が検討されるところである。

移植後の弱毒生ワクチン接種は、ワクチン株ウイルスによる当該疾患の発症のリスクがあるため一般的には禁忌とされている。今回我々は、移植後2年経過し免疫抑制薬が単剤であり、状態が安定していることを条件に接種を行ったが、問題となる副反応や有害事象は認められなかった。また移植後の予防接種による抗体獲得率は、健常児における過去の報告と比べ劣るものの、麻疹で75-80%、風疹で100%、水痘で65%、ムンプスで60%の抗体陽性率が認められ、各疾患の予防において意義のある行為だと考えられた。

細胞性免疫能は、水痘既往歴と ELISPOT 反応性において関連を認めたが、罹患歴のある患者における ELISPOT 陽性率は67%にとどまり、水痘免疫を反映する臨床的指標となるかどうかは今後も検討が必要である。

E. 結論

肝移植前の生ワクチン単回接種による抗体陽性率は低かった。肝移植後に施行した生ワクチン接種は比較的安全かつ有効で、移植前後の追加接種の検討が今後必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

(発表誌名巻号、頁、発行年等も記入)

伊藤健太, 宮入烈: 小児へのワクチンと予防接種. 臨床感染症ブックレット8巻 感染症の予防や制御に必要なことを実践する, 文光堂, 2013;93-98

船木孝則, 宮入烈: 第1章 内科医に必要な予防接種のポイント 4. 子どもの時に接種しなかったワクチン 2) ムンプスワクチン. そこが知りたい! 成人の予防接種パーフェクト・ガイド, 診断と治療社, 2014;33-36

伊藤健太, 宮入烈: 世界における混合ワクチン-日本の現状を踏まえて. 医

学のあゆみ, 医歯薬出版株式会社,
2013;244(1):49-54

宮入烈: 乳児期に勧めるワクチンとスケジューリング. 治療, 南山堂,
2013;95(8):1453-1456

庄司健介, 宮入烈: 予防接種全般④ワクチンの接種部位、接種時期、接種順位 接種部位、接種時期-法律上の接種時期、接種時期-夏季. 予防接種 Q&A 改訂第3版. 小児内科 2013;45:100-104

船木孝則, 宮入烈: 予防接種全般④ワクチンの接種部位、接種時期、接種順位 優先順位、成人への接種. 予防接種 Q&A 改訂第3版. 小児内科
2013;45:105-111

宮田一平: 予防接種全般⑩接種後の抗体獲得 接種後の発熱、接種後の感染、抗体の確認、抗体獲得率. 予防接種 Q&A 改訂第3版. 小児内科
2013;45:203-211

伊藤健太, 宮入烈: 麻疹 効果の持続、麻疹予防接種とガンマグロブリン筋注の使い分け、ワクチン接種前に麻疹に罹患. 予防接種 Q&A 改訂第3版. 小児内科
2013;45:384-389

2. 学会発表

Funaki T, Shoji K, Yoshii H, Sakamoto S, Kasahara M, Miyairi I, Saitoh A: Efficacy and Safety of Live Attenuated Vaccines Administered after Liver Transplantation in Children. ID Week 2013, San Francisco, 2013.10.3

Ito K, Funaki T, Shoji K, Miyata I, Sakamoto S, Kasahara M, Yoshii H, Saitoh A, Miyairi I: High Rate of Vaccine Failure after Administration of Acellular Pertussis Vaccine Pre- and Post-Liver Transplantation in Child. ID Week 2013, San Francisco, 2013.10.3

Kamidani S, Funaki T, Sakamoto S, Kasahara M, Yoshii H, Miyairi I, Saitoh A: Prior Corticosteroid Use is Associated with Varicella Vaccine Failure in Children with Liver Transplantation. ID Week 2013, San Francisco, 2013.10.3

船木孝則, 庄司健介, 宮田一平, 阪本靖介, 笠原群生, 吉井洋紀, 青木秀訓, 井上直樹, 竹田誠, 宮入烈, 齋藤昭彦: 小児生体肝移植後における水痘ワクチン接種の有効性と安全性に関する検討. 第31回日本肝移植研究会, 熊本, 2013.7.4

G. 知的所有権の取得状況

なし

別表 1 移植前の予防接種による抗体保有に関わる因子 (単変量解析)

麻疹	抗体陽性 (n = 23)	抗体陰性 (n = 26)	p 値
月齢 (month, median, range)	78 (12 - 228)	35 (18 - 119)	0.003
体重 (kg) 中央値、幅	19.4 (9.0 - 48.0)	13.0 (9.0 - 28.4)	0.004
12 か月以上での接種 YES (%)	21 (91%)	12 (46%)	0.001
移植時年齢 (month, median) range	35 6 - 187	11 5 - 90	0.000
FK trough level (ng/ml) <1.5 1.5-5.0 5.0<	1 (5%) 19 (82%) 3 (13%)	9 (35%) 13 (50%) 4 (15%)	0.023
WBC (/ μ L) 中央値、幅	5420 (1940 - 9150)	7710 (3560 - 14010)	0.001
ALC (/ μ L) 中央値、幅	2069 (1164 - 6680)	3608 (1400 - 7866)	0.001
風疹	抗体陽性 (n = 42)	抗体陰性 (n = 5)	P 値
Underlying diseases			0.009
胆道閉鎖症	27 (64%)	0 (0%)	0.010
代謝疾患	9 (21%)	4 (80%)	0.017
劇症肝不全	4 (10%)	0 (0%)	0.628
その他	2 (5%)	1 (20%)	0.292
水痘	抗体陽性 (n = 27)	抗体陰性 (n = 13)	p 値
月齢 (month, median, range)	47 (12 - 228)	27 (18 - 84)	0.000
体重 (kg) 中央 値、幅	16.7 (9.0 - 48.0)	11.8 (9.0 - 18.2)	0.000
12 か月以上での接種 YES (%)	19 (70%)	3 (23%)	0.007
移植時年齢 (月, 中央値, 幅)	21 (6 - 187)	9 (5 - 67)	0.007
最終接種後経過月数 中央値 (幅)	39 (2 - 119)	19 (8 - 34)	0.003
免疫抑制剤 (採血時) FK	24 (89%)	9 (69%)	0.032
FK + MMF	3 (11%)	2 (15%)	
FK + MMF + PSL	0 (0%)	1 (8%)	
FK+PSL	0 (0%)	1 (8%)	
FK trough level (ng/ml) <1.5 1.5-5.0 5.0<	4 (15%) 21 (78%) 2 (7%)	7 (55%) 2 (15%) 4 (30%)	0.001
ALC (/ μ L) 中央値、幅	2552 (1164 - 7866)	3899 (2057 - 5408)	0.018
ムンプス	抗体陽性 (n = 23)	抗体陰性 (n = 26)	p 値
Underlying diseases			0.026
胆道閉鎖症	16 (80%)	8 (38%)	0.004
代謝疾患	3 (15%)	9 (42%)	0.085
劇症肝不全	0 (0%)	2 (10%)	0.232
その他	1 (5%)	2 (10%)	1.000
免疫抑制剤 (採血時)	19 (95%)	15 (71%)	0.046
FK	1 (5%)	2 (10%)	
FK + MMF	0 (0%)	3 (14%)	
FK + MMF + PSL	0 (0%)	1 (5%)	
FK+PSL	0 (0%)		

Ⅲ．研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
伊藤健太 宮入 烈	小児へのワクチンと予防接種	上原由紀 前崎繁文 大曲貴夫	臨床感染症ブックレット8巻	文光堂	東京	2013. 9. 20	93-98
船木孝則 宮入 烈	第1章 内科医に必要な予防接種のポイント 4. 子どもの時に接種しなかったワクチン 2) ムンプスワクチン	渡辺 彰 尾内一信	そこが知りたい！成人の予防接種パーフェクト・ガイド	診断と治療社	東京	2014. 1. 30	33-36

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
齋藤昭彦	小児移植医療における水痘ワクチンの重要性	IASR	34	289-290	2013
齋藤昭彦	VPDの理解と進歩-小児-	日本内科学会雑誌	102	2928-2935	2013
Kasahara M Sakamoto S Shigeta T	Reducing the thickness of left lateral segment grafts in neonatal living donor	Liver Transpl		19(2) 226-8	2013
Sakamoto S, Nakazawa A Kasahara M,	Devastating outflow obstruction after pediatric split liver transplantation	Pediatr Transplant.		17(1) E25-8	2013
Kanazawa H, Sakamoto S, Kasahara M.	Living donor liver transplantation with hyper-reduced left lateral segment grafts: a single-center experience	Transplantation		95(5) 750-754	2013
Kasahara M, Umeshita K, Inomata Y, Uemoto S	Long-Term Outcomes of Pediatric Living Donor Liver Transplantation in Japan: An Analysis of More Than 2200 Cases Listed in the Registry of the Japanese Liver Transplantation Society.	American Journal of Transplantation		13(7) 1830-9	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shigeta T, Enosawa S, Kasahara M	Transgenic pig expressing the red fluorescent protein kusabira-orange as a novel tool for preclinical studies on hepatocyte transplantation.	Transplantation Proceedings,	45(5)	1808-10	2013
Sakamoto S, Kasahara M:	Impact of the current organ allocation system for deceased donor liver transplantation on the outcomes of pediatric recipients: a single center experience in Japan	Pediatr Surg Int.	29(11)	1109-14	2013
笠原群生, 濱野郁美	自施設における小児脳死分割肝移植6例の成績	日本外科学会誌.	114 (1)	66-70	2013
浜野郁美, 笠原群生	6歳未満小児脳死ドナーからの全肝移植の経験	日本外科学会雑誌	114 (6)	340-3443	2013

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
伊藤健太 宮入 烈	世界における混合ワクチン-日本の現状を踏まえて	医学のあゆみ	Vol. 244 No. 1	49-54	2013. 1. 5
宮入 烈	乳児期に勧めるワクチンとスケジューリング	治療	Vol. 95 No. 8	1453-1456	2013. 8. 1
庄司健介 宮入 烈	予防接種全般④ワクチンの接種部位、接種時期、接種順位 接種部位、接種時期-法律上の接種時期、接種時期-夏季	予防接種Q&A 改訂第3版	Vol. 45 増刊号 No. 562	100-104	2013. 11. 25
船木孝則 宮入 烈	予防接種全般④ワクチンの接種部位、接種時期、接種順位 優先順位、成人への接種	予防接種Q&A 改訂第3版	Vol. 45 増刊号 No. 562	105-111	2013. 11. 25
宮田一平	予防接種全般⑩接種後の抗体獲得 接種後の発熱、接種後の感染、抗体の確認、抗体獲得率	予防接種Q&A 改訂第3版	Vol. 45 増刊号 No. 562	203-211	2013. 11. 25
伊藤健太 宮入 烈	麻疹 効果の持続、麻疹予防接種とガンマグロブリン筋注の使い分け、ワクチン接種前に麻疹に罹患	予防接種Q&A 改訂第3版	Vol. 45 増刊号 No. 562	384-389	2013. 11. 25