

C. 研究結果

【5歳未満の予防接種状況（図1）】

0歳で接種歴が不明であった者は20名おり、それらを除く29名についてみると、OPVのみ接種者およびOPV+IPV含有ワクチン接種者はおらず、IPV含有ワクチンのみ接種者は44.8%（13名：2回接種者1名、3回接種者11名、4回接種者1名）であった。また、接種ワクチンや回数が不明であった者（接種回数不明者）は51.7%（15名）、未接種者は3.4%（1名）であり、OPVあるいはIPV含有ワクチンが1回以上接種されていた割合（1回以上接種率）は96.6%であった。

1歳では接種歴不明の25名を除く108名のうち、OPVのみ接種者は3.7%（4名：1回接種者1名、2回接種者3名）、IPV含有ワクチンのみ接種者は53.7%（58名：1回接種者1名、2回接種者2名、3回接種者50名、4回接種者5名）、OPV+IPV含有ワクチン接種者は1.9%（2名：OPV1回+IPV2回接種者1名、OPV1回+IPV3回接種者1名）、接種回数不明者は38.0%（41名）、未接種者は2.8%（3名）であり、1回以上接種率は97.2%であった。

2歳では接種歴不明者16名を除く67名のうち、OPVのみ接種者は26.9%（18名：1回接種者2名、2回接種者16名）、IPV含有ワクチンのみ接種者は23.9%（16名：1回接種者1名、2回接種者1名、3回接種者11名、4回接種者3名）、OPV+IPV含有ワクチン接種者は13.4%（9名：OPV1回+IPV2回接種者8名、OPV2回+IPV2回接種者1名）、接種回数不明者は35.8%（24名）であった。未接種者はおらず、1回以上接種率は100.0%であった。

3歳では接種歴不明者18名を除く70名のうち、OPVのみ接種者は50.0%（35名：1回接種者1名、2回接種者34名）、IPV含有

ワクチンのみ接種者は4.3%（3名：4回接種者3名）、OPV+IPV含有ワクチン接種者は11.4%（8名：OPV1回+IPV2回接種者3名、OPV2回+IPV2回接種者4名、OPV1回+IPV3回接種者1名）、接種回数不明者は32.9%（23名）、未接種者は1.4%（1名）であり、1回以上接種率は98.6%であった。

4歳では接種歴不明者16名を除く47名のうち、OPVのみ接種者は42.6%（20名：1回接種者1名、2回接種者19名）、OPV+IPV含有ワクチン接種者は2.1%（1名：OPV1回+IPV2回接種者1名）、接種回数不明者は55.3%（26名）であり、IPV含有ワクチンのみ接種者はいなかった。未接種者はおらず、1回以上接種率は100.0%であった。

【5歳未満の抗体保有状況（図2）】

0歳における中和抗体価1:4以上の抗体保有率は、1型が98.0%、2型が98.0%、3型が93.9%であり、血清型による差は5ポイント未満であったが、1歳以降（1歳：1型96.2%、2型97.0%、3型83.5%/2歳：1型95.2%、2型96.4%、3型85.5%/3歳：1型95.5%、2型94.3%、3型78.4%/4歳：1型98.4%、2型98.4%、3型69.8%）では、3型の抗体保有率が1型あるいは2型よりも10~29ポイント低かった。

D. 考察

2013年度調査における5歳未満の予防接種状況について、接種ワクチンおよび接種回数が明らかであった者のみでみると、IPV含有ワクチン導入後に生まれた者が多いと考えられる0歳児では、OPV接種者はおらず、すべてがIPV含有ワクチンのみの接種者であった。それ以降の年齢では加齢にともない、OPVのみ接種者の割合は概ね増加し、IPV含有ワクチンのみの接種者の割合は減少する

傾向がみられた。接種ワクチンの割合は年齢により異なるが、1回以上接種率は96.6～100.0%と高く、定期接種で使用されるワクチンの変更による変動はみられなかった。しかし、IPV含有ワクチンは4回の接種が必要であることから、今後、4回接種率の推移についてもみていく必要がある。

また、抗体保有状況についてみると、OPV接種者の割合が高い年齢では3型の抗体保有率は1型や2型と比較して低かったが、IPV含有ワクチン接種者が多いと考えられる0歳では3型の抗体保有率も高く、これは本調査で初めて確認された結果であった。従来のOPV接種による抗体誘導において、血清型間でみられた干渉の影響が、IPV含有ワクチンではないため、3つの型すべてに対して高い抗体保有率が得られたと考えられた。しかし、以前からIPV含有ワクチンが導入されている国々では、中和抗体価1:8以上を抗体陽性としている国もあることから、今後はOPVの時よりも高い中和抗体価の推移を注視していく必要がある。

今回は調査の対象者数が少なく、十分な検討が行えなかったが、今後、複数年度の調査結果を用いて、接種歴別の抗体保有状況や、さらには野生株由来と弱毒株由来のIPVによる抗体保有率の比較についても検討したい。

E. 結論

ポリオの定期接種におけるワクチン変更による影響について、2013年度感染症流行予測調査の結果を用いて予防接種状況および抗体保有状況を検討した結果、0歳ではIPV含有ワクチン接種者の割合が高く、3型に対する抗体保有率が例年と比較して急激に増加した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表（著書を含む）

なし

2. 学会発表

- 1) 佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳：麻疹および風疹に対する抗体保有状況（感染症流行予測調査より）。第45回日本小児感染症学会（2013年10月、北海道）
- 2) 佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳：風疹抗体価の読み替えに関する検討（HI抗体価と国際単位）。第17回日本ワクチン学会（2013年11月、三重）

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

図1. 5歳未満のワクチン別予防接種状況

[2013年度感染症流行予測調査より(2014年2月現在暫定値)]

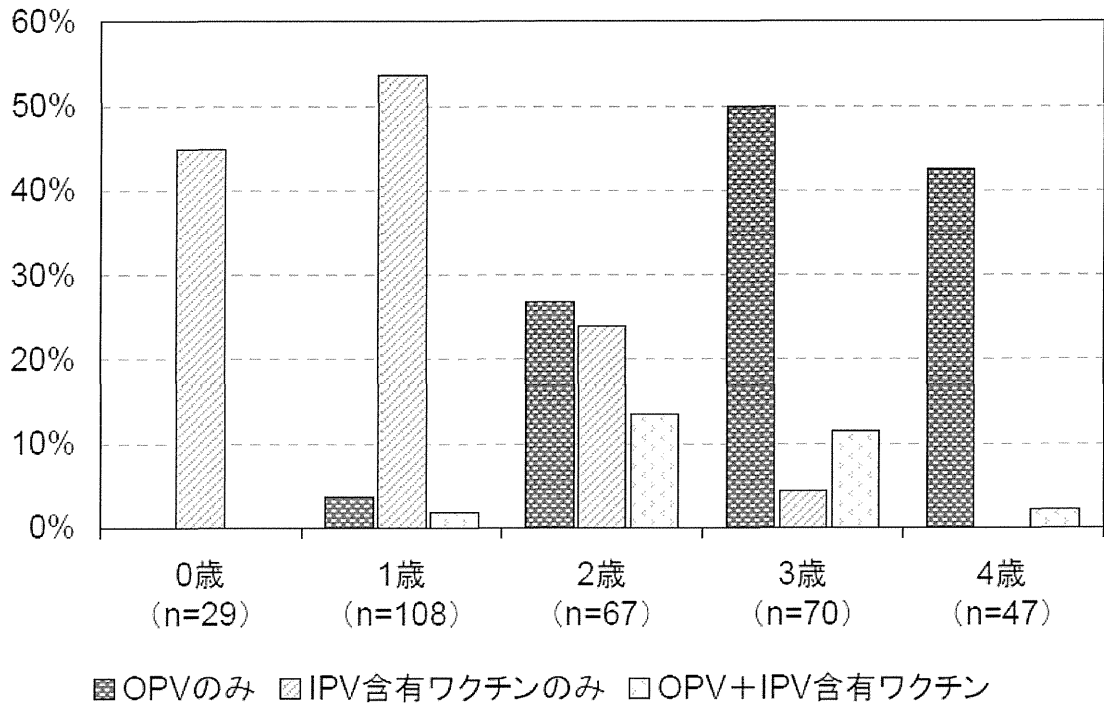
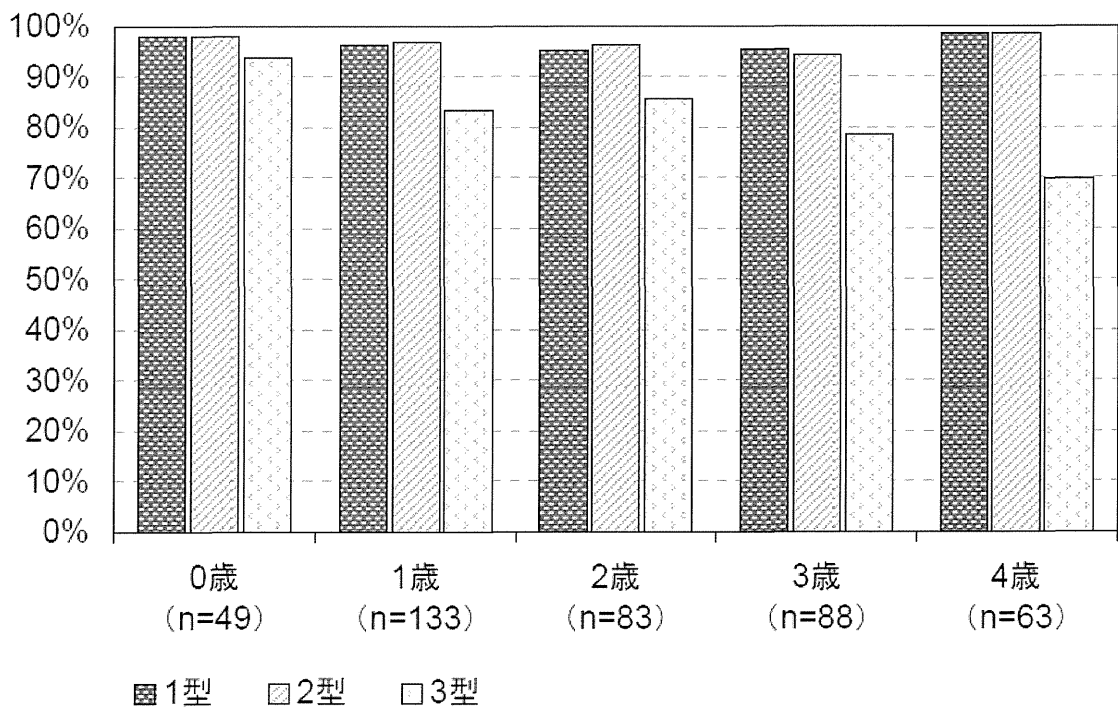


図2. 5歳未満の抗体保有状況(中和抗体価1:4以上)

[2013年度感染症流行予測調査より(2014年2月現在暫定値)]



厚生労働科学研究費補助（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）
「不活化ポリオワクチンの有効性・安全性の検証及び国内外で進められている
新規腸管ウイルスワクチン開発に関する研究」研究報告書

ポリオワクチンの全国累積接種率：2013年調査結果

研究代表者 清水 博之 国立感染症研究所ウイルス2部室長
研究協力者 高山 直秀 東京都立駒込病院小児科医師
研究協力者 崎山 弘 崎山小児科医院院長

研究要旨 2012年に続き、2013年も2歳児を対象としてポリオワクチンの累積接種率調査を実施した。OPV1回目の累積接種率曲線は生後6ヵ月で急速に上昇し、生後7ヵ月、8ヵ月で上昇し続けているが、生後9ヵ月以降は上昇がほとんど止まっている。生後6ヵ月での累積接種率は19.7%（95%CI=18.5~20.9%）、12ヵ月での累積接種率は43.1%（95%CI=41.6%~44.6%）であった。OPV2回目の累積接種率曲線は生後6ヵ月から立ち上がり、生後11ヵ月までは緩やかに上昇しているが、生後12ヵ月以降は上昇が止まっていた。生後12ヵ月での累積接種率は10.3%（95%CI=9.4%~11.2%）であった。IPV1回目の累積接種率曲線は生後11ヵ月で急速に立ち上がり、生後12ヵ月以降は次第に上昇が緩やかになり、生後20ヵ月以降は上昇がほとんど止まっていた。生後12ヵ月での累積接種率は33.6%（95%CI=32.2~35.1%）、24ヵ月での累積接種率は48.1%（95%CI=46.6%~49.6%）であった。IPV2回目の累積接種率曲線は生後11ヵ月~13ヵ月で急速に立ち上がり、生後14ヵ月以降は次第に上昇が緩やかになっていた。生後12ヵ月での累積接種率は39.6%（95%CI=38.1~41.1%）、24ヵ月での累積接種率は78.7%（95%CI=77.4%~80.0%）であった。IPV3回目の累積接種率曲線は生後11ヵ月から立ち上がり、生後12ヵ月~14ヵ月で急速に上昇しているが、その後は次第に上昇が緩やかになっていた。生後12ヵ月での累積接種率は16.0%（95%CI=14.9~17.2%）、24ヵ月での累積接種率は78.4%（95%CI=77.1%~79.7%）であった。IPV4回目の累積接種率曲線は生後18ヵ月から緩やかに上昇していた。24ヵ月での累積接種率は11.5%（95%CI=10.5%~12.6%）であった。2013年に調査対象となった2歳児におけるOPV累積接種率は、1回目は生後9ヵ月以降上昇が止まり、生後24ヵ月で約43%、2回目は生後12ヵ月以降上昇が止まり、生後24ヵ月で約10%であった。2012年9月1日から開始されたIPVの2回目、3回目累積接種率が生後24ヵ月で78%以上に達していた。これらの結果から、IPVからOPVへの切り替えは順調に進んでいると推定された。今後もポリオワクチン累積接種率の継続的な調査が必要である。

A. 研究目的

ワクチン接種は感染症予防ないし制圧に有効な手段であり、費用対効果比も大きいことが知られている。しかし、ワクチン接種が感染症予防手段として十分な効果をあげるためには小児期の適切な時期に高い接種率を達成することが必要である。一方で、接種率を高めるためには、接種率の現状を正しく把握して、予防接種政策を進める必要がある。全国の予防接種率を十分正確に把握するために、我々は3歳児を対象として2002年から麻疹ワクチンについて、無作為抽出標本による月齢別ワクチン累積接種率（一定の月齢までにワクチン接種を受けた人の割合）調査を実施し、2003年からは経口生ポリオワクチン（OPV）1，2回目の調査も同時に行った。2009年からは、調査対象を3歳児から2歳児に変更して実施してきた。2013年も2012年と同様に2歳児を対象として調査を行った。ただし、2012年9月1日から定期接種のポリオワクチンが経口生ワクチンから不活化ワクチン（IPV）に切り替えられ、同年11月1日からはDPT3種混合ワクチンに不活化ポリオワクチンを加えた4種混合ワクチン（DPT-IPV）が定期接種に導入されたため、2013年はOPVに加えて、IPV，DPT-IPVの累積接種率調査も行った。

B. 研究方法

2013年も、2009-12年と同様に、全国から5,000人の2歳児を無作為抽出し、抽出された2歳児が居住する市区町村において予防接種担当者に、OPV，IPV，DPT-IPV接種月齢の調査を依頼し、返送された調査票を基に、累積接種率を算定した。また、2013年も2011，2012年と同様に、東日本大震災により大きな被害を受けた岩手県、宮城県、福島県、栃木県、茨城県の全市区町村、および青森県と千葉県の一部市町村

を調査対象から除外した。また、集計対象をOPV累積接種率算定時には、OPV接種済みで接種日が明らかな標本と未接種標本（IPV接種などを含む）のみとし、IPV累積接種率算定時には、IPV接種済みで接種日が明らかな標本と未接種標本（OPV接種などを含む）のみとし、ワクチン接種は済んでいるものの、接種日不明の標本を除外した。

C. 研究結果

1. 回収率

2012年4月1日現在で満2歳に達した小児を全国から5,000名抽出し、2012年10月に、これらの2歳児が居住する1,058カ所の自治体に調査依頼状を発送した。2013年1月7日現在で、927カ所の自治体から回答が寄せられたので、市区町村数から算出した回収率は87.6%となった。

無作為抽出した2歳児の数（標本数）は5,000名おり、うち4,504名分の記録が返送されたので、標本数から算出した回収率は90.1%となった。この回収率は、2011年、2012年とほぼ同率であり、2009年の82.5%、2010年の84.1%を大幅に上回っていた。

2. 経口生ポリオワクチン1回目，2回目累積接種率

回収された記録のうち、経口生ポリオワクチン（OPV）に関する記載が不完全なものが1回目は105件、2回目は126件あり、ワクチン接種日不明が1回目は259件、2回目は237件あった。2012年9月1日から定期接種としてのポリオウイルスワクチンがOPVから不活化ポリオウイルスワクチン（IPV）に切り替えられたが、それ以前に未承認の輸入不活化ポリオワクチンの接種を任意で受けた小児がいた。このため、IPVを任意接種で、または定期接種（DPT-IPV 4種混合ワクチンも含めて）として受けた

標本, さらに OPV を任意接種で受けた標本は, 「別接種あり」として, OPV 未接種と同列に扱って累積接種率を算定した。すなわち, 1 回目は OPV 接種済みの 1,787 件と OPV 未接種の 162 件, 別接種ありの 2,191 件の記録を, 2 回目は接種済みの 425 件と未接種の 281 件, その他接種の 3,435 件を集計した。集計対象とした記録だけの回収率は, 1 回目, 2 回目とも 82.8%であった。

OPV 1 回目の接種件数(=被接種者数)は生後 6 ヶ月で 709 件(全接種件数の 39.7%)と最も多く, 次いで生後 7 ヶ月が 618 件(同 34.6%), 生後 8 ヶ月が 302 件(同 16.9%)であった(図 1)。生後 5 ヶ月までに接種を受けたとの報告は 105 件(同 5.9%)あり, 生後 9 ヶ月以降での被接種は急激に減少し, 15 ヶ月以降はゼロであった。

OPV 1 回目の累積接種率曲線は生後 6 ヶ月で急速に上昇し, 生後 7 ヶ月, 8 ヶ月で上昇し続けているが, 生後 9 ヶ月以降は上昇がほとんど止まっていた(図 2)。生後 6 ヶ月での累積接種率は 19.7%(95%CI=18.5~20.9%), 12 ヶ月での累積接種率は 43.1%(95%CI=41.6%~44.6%)であった。

OPV 2 回目の接種件数は生後 10 ヶ月で 155 件(全接種件数の 36.5%)と最も多く, 次いで生後 8 ヶ月が 100 件(同 23.5%), 生後 9 ヶ月が 94 件(同 22.1%)であった(図 3 右)。生後 3~7 ヶ月での接種は 57 件(同 13.4%)あり, 生後 13 ヶ月以降で接種を受けたとの報告は 0 件であった。

OPV 2 回目の累積接種率曲線は生後 6 ヶ月から立ち上がり, 生後 11 ヶ月までは緩やかに上昇しているが, 生後 12 ヶ月以降は上昇が止まっていた(図 3 右)。生後 12 ヶ月での累積接種率は 10.3%(95%CI=9.4%~11.2%)であった。

3. 不活化ポリオワクチン 1 回目, 2 回目, 3 回目, 4 回目累積接種率

回収された記録のうち, 不活化ポリオワクチン(IPV)に関する記載が不完全なものが 1 回目は 105 件, 2 回目は 126 件, 3 回目は 156 件, 4 回目は 403 件あり, ワクチン接種日不明が 1 回目は 259 件, 2 回目は 237 件, 3 回目は 193 件, 4 回目は 361 件あった。2012 年 9 月 1 日から定期接種としてのポリオウイルスワクチンが OPV から不活化ポリオウイルスワクチン(IPV)に切り替えられたが, それ以前に未承認の輸入不活化ポリオワクチンの接種を任意で受けた小児や 9 月 1 日以降 OPV を任意接種で受けた(2 回目 1 件), または DPT-IPV 4 種混合ワクチン接種を受けた標本(1 回目 8 件, 2 回目 6 件, 3 回目 4 件, 4 回目 3 件)は, 「別接種あり」として, IPV 未接種と同列に扱って累積接種率を算定した。すなわち, 1 回目は IPV 接種済みの 1,992 件と IPV 未接種の 162 件, 別接種ありの 1,986 件の記録を, 2 回目は接種済みの 3,259 件と未接種の 281 件, その他接種の 601 件を集計した。3 回目は IPV 接種済みの 3,268 件と IPV 未接種の 414 件, 別接種ありの 473 件の記録を, 4 回目は IPV 接種済みの 476 件と IPV 未接種の 2,826 件, 別接種ありの 438 件を集計した。集計対象とした記録だけの回収率は, それぞれ 1 回目と 2 回目が 82.8%, 3 回目が 83.1%, 4 回目が 74.8%であった。

IPV 1 回目の接種件数(=被接種者数)は生後 11 ヶ月で 1,027 件(全接種件数の 51.6%)と最も多く, 次いで生後 12 ヶ月が 345 件(同 17.3%), 生後 13 ヶ月が 188 件(同 9.3%)で, その後は漸減していた(図 4 左)。一方, 生後 3 ヶ月~10 ヶ月までに接種を受けたとの報告は 21 件(同 1.1%)に過ぎなかった。

IPV 1 回目の累積接種率曲線は生後 11 ヶ月で急速に立ち上がり, 生後 12 ヶ月以降は次第に上昇が緩やかになり, 生後 20 ヶ月以

降は上昇がほとんど止まっていた（図4左）。生後12ヵ月での累積接種率は33.6%（95%CI=32.2~35.1%）、24ヵ月での累積接種率は48.1%（95%CI=46.6%~49.6%）であった。

IPV2回目の接種件数は生後12ヵ月で895件（全接種件数の27.5%）と最も多く、次いで生後11ヵ月が731件（同22.4%）、生後13ヵ月が548件（同16.8%）、生後14ヵ月が290件（同8.9%）で、その後は漸減していた（図4右）。一方、生後3ヵ月~10ヵ月までに接種を受けたとの報告は14件（同0.4%）に過ぎなかった。

IPV2回目の累積接種率曲線は生後11ヵ月~13ヵ月で急速に立ち上がり、生後14ヵ月以降は次第に上昇が緩やかになっていた（図4右）。生後12ヵ月での累積接種率は39.6%（95%CI=38.1~41.1%）、24ヵ月での累積接種率は78.7%（95%CI=77.4%~80.0%）であった。

IPV3回目の接種件数は生後13ヵ月で807件（全接種件数の同24.7%）と最も多く、次いで生後14ヵ月、12ヵ月がそれぞれ518件（同15.9%）、513件（同15.7%）、生後15ヵ月が334（同10.2%）件で、その後は漸減していた（図5左）。一方、生後3ヵ月~10ヵ月までに接種を受けたとの報告は2件のみであった。

IPV3回目の累積接種率曲線は生後11ヵ月から立ち上がり、生後12ヵ月~14ヵ月で急速に上昇しているが、その後は次第に上昇が緩やかになっていた（図5左）。生後12ヵ月での累積接種率は16.0%（95%CI=14.9~17.2%）、24ヵ月での累積接種率は78.4%（95%CI=77.1%~79.7%）であった。

IPV4回目の接種件数は生後18ヵ月以降に増加し、生後24ヵ月で86件（全接種件数の18.1%）と最も多く、次いで生後20ヵ月、23ヵ月がそれぞれ74件（同15.5%）、

73件（同15.3%）であった（図5右）。生後17ヵ月までに接種を受けたとの報告は17件（同3.6%）のみであった。IPV4回目の累積接種率曲線は生後18ヵ月から緩やかに上昇している（図5右）。24ヵ月での累積接種率は11.5%（95%CI=10.5%~12.6%）であった。

D. 考察

2013年の調査も2012年と同じく東日本大震災の被災地を除外して実施した。しかし、2010年の調査結果を、今回の調査で除外した地域と調査対象とした地域に分けて累積接種率を比較した結果では、両者の累積接種率に差がなかったため、被災地を除外しても、全国累積接種率と見なしてよいと判断できる。

OPV1回目、2回目とも累積接種率曲線が立ち上がり始める月齢が、それぞれ生後5ヵ月、6ヵ月と例年とほぼ同様であったのに対して、OPV1回目接種では生後9ヵ月以降、2回目接種では生後12ヵ月以降に、累積接種率曲線の上昇がほとんど止まってしまった理由は、2012年9月1日からIPVが定期接種に導入されて、OPVの定期接種が終了したためと考えられる。

IPV1回目、2回目、3回目の累積接種率曲線がいずれも生後11ヵ月から立ち上がっているのは、今回の調査が2013年10月または9月に生後24ヵ月に達した小児を対象にしており、かつIPVが2012年9月1日から定期接種に導入されたためであり、IPV1回目では生後11ヵ月で接種を受けた小児が群を抜いて多かったことは、OPV接種を受けずIPVが定期接種に導入されるのを待ってポリオワクチン接種を受け始めた小児が多かったためであると考えられる。また、IPV1回目の累積接種率が生後24ヵ月でも48%であったことは、ポリオワクチンの1回目はOPV接種を受けた小児が

半数近くいたためと推定される。IPV4 回目の被接種者数が少なかったことは、定期接種として IPV を受け始めた小児のうち 4 回目を接種すべき時期に達していた者の数が少なかったうえ、接種できる時期に達してもすぐには接種を受けなかった者がいたためであると思われる。

2012 年 9 月 1 日から開始された IPV の 2 回目、3 回目累積接種率が生後 24 ヶ月で 78% 以上に達していたので、IPV から OPV への切り替えは順調に進んでいると推定された。また、今回の調査では IPV 接種を DPT-IPV として受けた標本は、DPT-IPV の開始時期の関係から、きわめて少数であったが、今後どのように変化して行くか注意

深く観察する必要がある。

E. 結論

2013 年に調査対象となった 2 歳児における OPV 累積接種率は、1 回目は生後 9 ヶ月以降上昇が止まり、生後 24 ヶ月で約 43%、2 回目は生後 12 ヶ月以降上昇が止まり、生後 24 ヶ月で約 10% であった。

2012 年 9 月 1 日から開始された IPV の 2 回目、3 回目累積接種率が生後 24 ヶ月で 78% 以上に達していた。

これらの結果から、IPV から OPV への切り替えは順調に進んでいると推定された。今後もポリオワクチン累積接種率の継続的な調査が必要である。

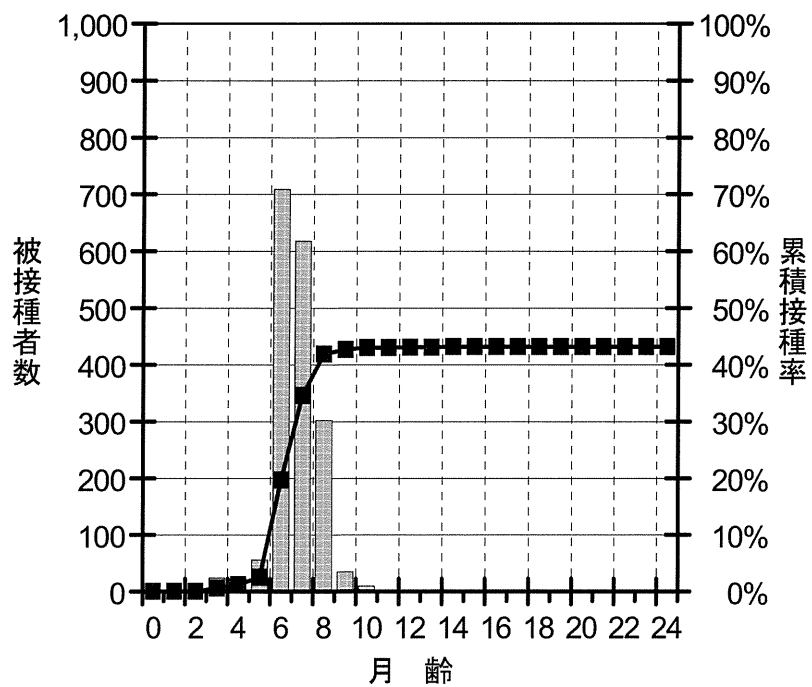


図 1. 経口生ポリオワクチン 1 回目の被接種者数及び累積接種率

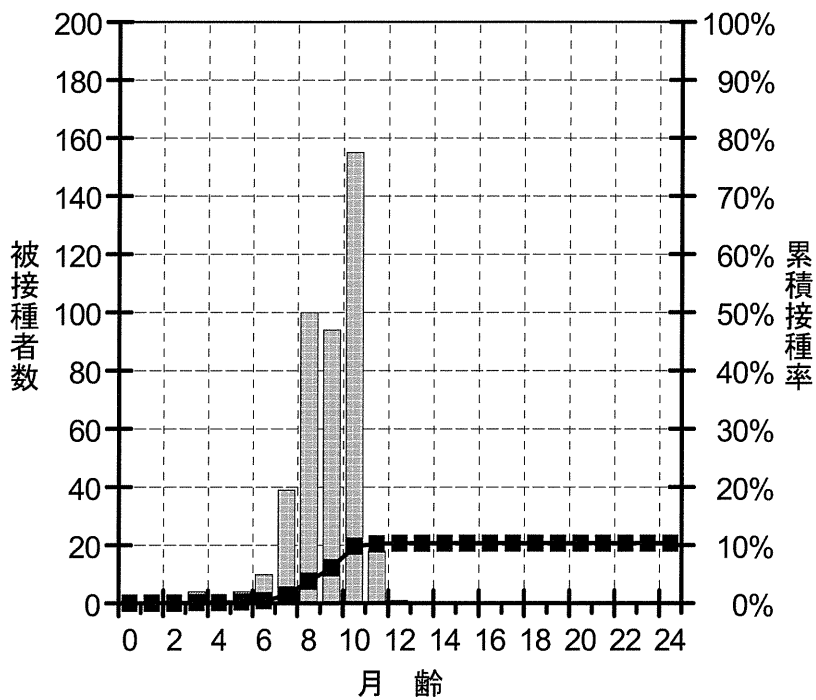


図 2. 経口生ポリオワクチン 2 回目の被接種者数及び累積接種率

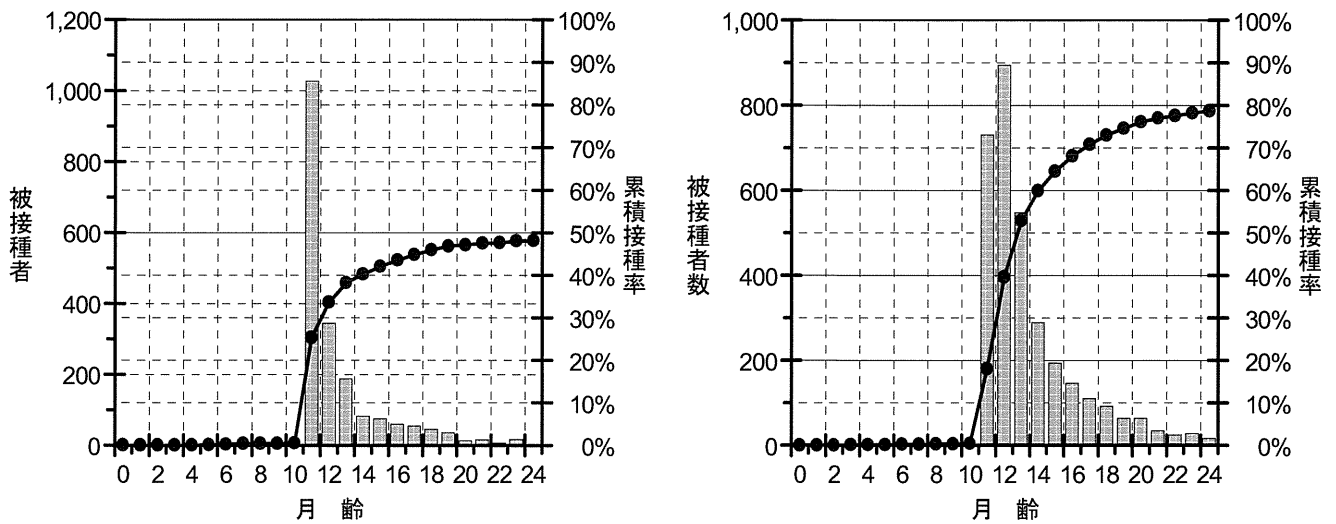


図 3. 全国不活化ポリオワクチン 1 回目(左), 2 回目(右)接種の
月齢別被接種者数と累積接種率曲線

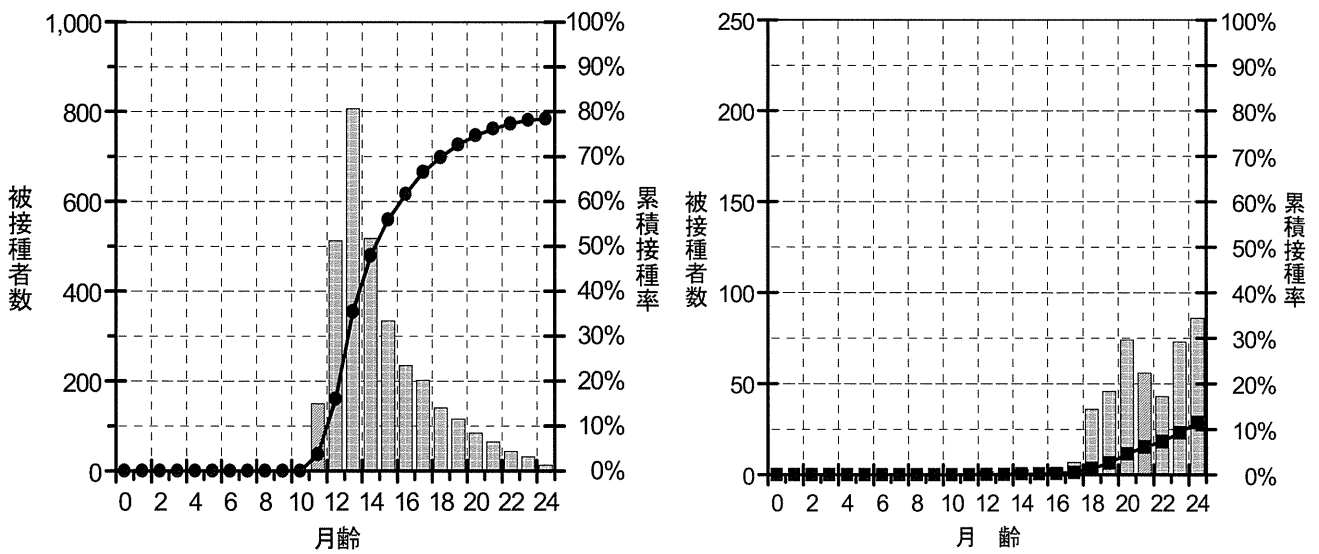


図 4. 全国不活化ポリオワクチン 3 回目(左), 4 回目(右)接種の
月齢別被接種者数と累積接種率曲線

不活化ポリオワクチン製剤の D 抗原定量法に関する考察

研究分担者 染谷 雄一 国立感染症研究所・ウイルス第二部

我が国では野生株（ソーク株）由来の不活化ポリオワクチンとセービン株由来の不活化ポリオワクチンが混在し使用されている。両ワクチンともそれぞれの D 抗原定量試験法があり、ソークワクチンでは国家検定試験項目に設定されている。今後、セービンワクチンでも国家検定試験項目がラット免疫原性試験から D 抗原定量試験法に置き換えられる可能性がある。本研究では、両者の試験法を比較し、使用する試薬（緩衝液、発色試薬）、器具・設備（マイクロプレート、インキュベーター、マイクロプレートウォッシャー、マイクロプレートリーダー）、定量解析法の共通化を図った。

A. 研究目的

WHO 主導のポリオ根絶に向け、ポリオワクチンは重要な役割を担っている。我が国では経口生ワクチン（OPV）に代わって、2012年9月に野生株（ソーク株）由来の不活化ポリオワクチン（イモバックスポリオ（サノフィ））が、次いで、同年11月にはセービン株由来の不活化ポリオワクチンを含む4種混合ワクチン（DTaP-sIPV）（テトラビック（阪大微研）、クアトロバック（化血研））が導入された。現在、イモバックスポリオの国家検定試験項目は D 抗原定量試験（in vitro 試験）であるのに対し、4種混合ワクチンのポリオワクチン成分に対してはラット免疫原性試験（in vivo 試験）が設定されている。

両ワクチンとも抗原性を示す D 抗原量が規定されている。ソークワクチン（cIPV）

は1ドーズあたり1型40DU、2型8DU、3型32DUであるのに対し、セービンワクチン（sIPV）では1ドーズあたり1型1.5DU、2型50DU、3型50DUである。sIPVのD抗原含有量はcIPVと同等の免疫原性を示すように調整された経緯を持つ。両者はDUという同じ単位表記をするものの、単純にその数値を比較することはできない。

それぞれのワクチンの D 抗原含有量はそれぞれの試験法で測定される。両ワクチンとも2種の抗ポリオウイルス型別特異抗体を用いたサンドイッチ ELISA で D 抗原量を測定するが、用いる抗体が異なっている。cIPV では捕獲抗体にウシポリクローナル抗体、一次抗体にウサギポリクローナル抗体を使用し、sIPV ではそれぞれマウスモノクローナル抗体、ウサギポリクローナル抗体を用いる。

ウサギ抗体はそれぞれ異なる。

本研究は、(1)両ワクチンの D 抗原量試験で使用する試薬、器具、設備を可能な限り共通化する、(2)それぞれの試験で用いられる抗体の互換性を調べる、(3)互換性が確かめられた上で cIPV の DU と sIPV の DU を比較し、相互換算が可能かどうかを調べる、ことを目的とする。本年度は、主として(1)について検討した。

B. 研究方法

cIPV の D 抗原量試験法は仏サノフィ社の方法に由来し、感染研ウイルス第二部が一部修正を加えた。sIPV の D 抗原量試験法は日本ポリオ研究所（ポリオ研）が開発した方法を取り入れた。両者の手法を比較し、主として、試薬（緩衝液、ブロッキング剤、発色試薬等）、器具（96 ウェルマイクロタイタープレート、ピペット、チップ等）、設備（インキュベーター、マイクロプレートウォッシャー、マイクロプレートリーダー）、定量解析法（Bioassay Assist の使用）について共通化可能かどうか検討した。

C. 研究結果

1. 96 ウェルマイクロタイタープレート

ポリオ研の方法では Nunc Immunoplate Maxisorb を用いるが、Greiner 高結合 EIA プレート（型番 655061）で問題なく定量できた。

2. 捕獲抗体のコートニング

両方法とも 50 mM 炭酸ナトリウム緩衝液（pH 9.6）を用いており、変更はない。

3. 緩衝液成分

緩衝液の成分として、cIPV の試験では Dulbecco's PBS（D-PBS：8 mM リン酸ナトリウム、2 mM リン酸カリウム、0.14 M 塩化ナトリウム、10 mM 塩化カリウム、pH 7.4）が、sIPV の試験では PBS（10 mM リン酸ナトリウム、0.15 M 塩化ナトリウム、pH 7.5）が用いられている。本研究での検討の結果、sIPV の試験でも D-PBS に置換することが可能であることが明らかになった。これにより、プレート洗浄液、抗体希釈液、ブロッキング液に用いられる緩衝液成分は D-PBS に共通化できた。

4. マイクロプレートの洗浄

特に規定はないが、Thermo Scientific Rapidstak（マイクロプレートスタッカー）を接続した TECAN Hydrospeed を用いてマイクロプレートを洗浄し、問題は発生していない。洗浄液は 0.05 % Tween-20 を含む D-PBS を用いる。

5. インキュベーター

cIPV の試験ではインキュベーターの性能が重要であると仏サノフィより報告があったが、その後の我々の検討ではそれほど重要性はないと判断している。現在、我々も仏サノフィが推奨する Thermo Scientific Heratherm IMH100 を使用しているが、sIPV の試験もこの機種で問題はない。

6. ブロッキング液

cIPV の試験ではスキムミルク（0.2 %）を含むのに対し、sIPV では BSA（1 %）を含む。他方の試験で用いるブロッキング液を使用すると、両者とも最終結果にズレが生じた

ため、ブロッキング液の共通化は断念した。

7. 抗体希釈液

ブロッキング液の場合と同様、共通化はできなかった。cIPVでは0.2%スキムミルク、0.2% BSAを含み、sIPVではブロッキング液と共通で、1% BSAを含む。

8. 抗原抗体反応の温度

cIPVでは37°C、2時間で行う場合が多いが、4°C、一晩でも同等の結果を示す。ポリオ研のsIPVの試験では4°C、一晩となっている。sIPVの試験で37°C、2時間で抗原抗体反応を行うと、一部の試料のD抗原量が低く見積もられる傾向にあった。sIPVの試験では4°C、一晩が適切であると思われる。また、両ワクチンのプロトコール全体の統一性を考え、抗原抗体反応は4°C、一晩で行うことにした。

9. 二次抗体 (HRP 標識抗体)

cIPVの試験ではNordic Immunological Labs.の抗ウサギIgGヤギ抗体を用いる。この二次抗体でsIPVの試験を行うと、バックグラウンドが高く、定量することができなかった。一方、ポリオ研のsIPVの方法ではCappelの抗ウサギIgGヤギ抗体を用いている。しかし、本研究で試してみると、やや高いバックグラウンド値になり、やや信頼性に欠ける印象がある。そこで、Abcamから購入できる、種々の動物種の血清で吸収処理した抗ウサギIgGヤギ抗体、抗ウサギIgGロバ抗体を試してみたところ、バックグラウンド値は極めて低くなり、問題なく定量できた。これらの抗体はcIPVの定量にはまだ用いていないが、吸収済であることから良好な成績

が得られると思われる。

10. HRP 発色試薬

cIPVの試験で用いるABTSを用いてsIPVの定量が問題なく行えた。以降、両者の試験でABTSを用いる。

11. マイクロプレートリーダー

マイクロプレートウォッシャーと同様、特に規定はないが、TECAN Sunrise-Rを用いている。

12. データ解析

両ワクチンとも平行線定量法によりD抗原量を算出する。これには感染研検定・検査品質保証室が配布するBioassay Assistが最適であり、両ワクチンともこれを使用している。

13. その他

ピペット(電動、手動とも)、チップ、チューブなど共通に使用している。

D. 考察

マイクロプレート、マイクロプレートウォッシャー、マイクロプレートリーダーといった器具、設備のほか、コーティング液、D-PBS、HRP標識抗体、HRP発色試薬といった試薬類、抗原抗体反応条件、データ解析手法を共通化することができた。

E. 結論

一連のD抗原定量試験の大部分を共通化することができた。これにより、試薬調製など煩雑な操作を軽減することができる。

F. 研究発表

本研究に関わる発表はない。

G. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用登録新案

なし

3. その他

なし

不活化ポリオワクチン品質管理に関する研究

協力研究者 落合 晋 一般財団法人 日本ポリオ研究所 研究開発室

研究要旨：我々が世界に先駆けて開発した sIPV（セービン株由来の IPV）において、中和抗体産生能を有する D 抗原を定量することは品質管理上最も重要なことである。（財）日本ポリオ研究所では sIPV 中の D 抗原を一次抗体にマウスモノクローナル抗体、二次抗体にウサギポリクローナル抗体を用いたサンドイッチ ELISA で定量している。現在、sIPV の開発はいくつかの国で行われているが、D 抗原量測定法は国際的に標準化されておらず、使用する抗体や測定方法は施設により異なっている。今後 sIPV 開発のためには、D 抗原量測定法の国際的な標準化が必要とされる。そこで我々が開発した sIPV と D 抗原量測定法を国際標準とすることを目的に、まず、D 抗原量を測定する ELISA の二次抗体である型特異的抗ポリオウイルスウサギポリクローナル抗体について、必要とする研究機関等に供給できるよう一定量を確保するための検討を行った。ウサギの個体別抗血清を中和反応で検討した結果、選ばれた抗血清をプールし一定量の二次抗体が調製できる可能性が得られた。今後はこれらの抗血清をプールし、現在使用している二次抗体と同等の ELISA 反応性を有する抗体が大量に得られるかどうか検討する。

A. 研究目的

諸外国で製造されている既存の cIPV: Conventional IPV は強毒株のポリオウイルスを使用しているのに対して、我々が世界に先駆けて開発した sIPV の特徴は、OPV 製造に使用されている弱毒株であるセービン株を種ウイルスとして使用している。sIPV は弱毒株を使用しているものの、強毒株を十分に中和する抗体産生能を有している。強毒株に比べセービン株を使用する長所としては、製造従事者および環境への安全性の配慮と、野生株駆逐後の社会に存在する OPV 由来ウイルス（VDPVs: vaccine-derived polioviruses）と同じセービン株から作製した sIPV がより効果的で

あることが考えられる。

sIPV 製造において、不活化前であればウイルスの定量は感染価の測定で行える。しかし、ホルマリン不活化後は感染性がなくなるので、物理化学的にウイルス抗原量を測定することとなる。その手法として、生体に中和抗体を産生させるポリオウイルス完全粒子そのものが担う D 抗原を測定する方法がある。cIPV 抗原量の定量は、国際標準によって 1 接種 0.5 mL あたり 1 型 40DU、2 型 8DU、3 型 32DU に決められており、中和抗体誘導能に相関する D 抗原量の測定が国内外で用いられているが、sIPV については未だ国際標準がなく、使用する抗体や測定方法の標準化が早急に求められている。

また、cIPV 製剤中の D 抗原量と sIPV の D 抗原量をそのまま比較することは両 IPV での免疫原性が異なるため不可能である。今後、国際的な sIPV の標準化には、D 抗原量測定法の国際的な標準化が必須と考えられる。

本研究では、我々が開発した sIPV と D 抗原量測定法を国際標準として ELISA に使用する抗体などを必要とする試験機関に安定供給するために、まず、D 抗原量を測定する ELISA の二次抗体として使用している抗ポリオウイルスウサギポリクローナル抗体を大量に調製することを目的とした。

B. 研究方法

sIPV の D 抗原定量 ELISA の二次抗体として用いる抗ポリオウイルスウサギポリクローナル抗体は各型強毒株もしくは弱毒株を免疫原にして作製したものを使用し、それぞれ個別に中和抗体価を測定した。

C. 研究結果

1 型強毒株の Mahoney 株で免疫したウサギ血清は、中和抗体価が 6,400~44,800 倍、2 型、3 型との交差反応が 40 倍以下のものが 5 羽 (約 248 mL) であった。1 型セービン株で免疫したウサギ血清は、中和抗体価が 8,000~64,000 倍、2 型、3 型との交差反応が 20 倍以下のものが 8 羽 (約 312mL) であった。

2 型セービン株で免疫したウサギ血清は、中和抗体価が 80,000~348,000 倍、1 型、3 型との交差反応が <10~>640 倍のものが 6 羽 (約 230mL) であった。

3 型強毒株の Saukett 株で免疫したウサギ血清は、中和抗体価が 7,000~40,000 倍、

1 型、2 型との交差反応が $\leq 4 \sim \geq 256$ 倍のものが 5 羽 (約 210mL) であった。3 型セービン株で免疫したウサギ血清は、中和抗体価が 40,000 倍、1 型、2 型との交差反応が <4 倍のものが 1 羽 (約 30mL) であった。

D. 考察

以上の結果から、中和抗体価が高く、型間の交差反応が低いウサギポリクローナル抗体が各型で数羽ずつ確認されたことから、現在の D 抗原定量 ELISA の二次抗体と同等の反応性を示す抗体と成り得る可能性が高いと考えられた。今後は各型の個別抗体と各型 D 抗原の反応、加熱抗原との反応を ELISA で確認し、型別有力候補の個別抗体をプールし ELISA での反応性を確認しながら次期二次抗体の大量調製を行ってゆく予定である。

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）
研究協力者報告書（平成 25 年度）

不活化ポリオワクチンの有効性・安全性の検証及び国内外で進められている新
規腸管ウイルスワクチン開発に関する研究(H25-新興-一般-012)

研究協力者：中野貴司（川崎医科大学 小児科）

研究協力者：福島慎二（東京医科大学病院 渡航者医療センター）

共同研究者：濱田篤郎（東京医科大学病院 渡航者医療センター）

研究代表者：清水博之（国立感染症研究所 ウイルス第二部）

研究要旨

わが国においても、2012年9月から不活化ポリオワクチン(inactivated polio vaccine, IPV) が導入された。まずは、乳児期の定期接種が経口生ポリオワクチン(oral polio vaccine, OPV) から IPV に移行されたが、IPV の年齢対象は小児に限定されたものではない。わが国では、1975-77 年生まれの世代はポリオウイルス 1 型に対する血清中和抗体保有率が他の世代より低く、彼らがポリオ流行地に渡航するなどポリオ感染のリスクが高いことが予想される場合は、OPV の追加接種を勧奨する機会であるとされてきた。また、ポリオワクチン未接種者や接種歴が不明の者に対する対応が必要な場合も想定される。したがって今後は、成人に対しても IPV の追加接種を行う機会があると考えられ、成人での免疫原性と安全性の検討を行う分担研究を実施した。健康成人 50 名を登録し、49 名に対して IPV を 2 回接種するプロトコールを終了した。42 名の抗体価が完了し、過去に接種歴がある場合はほとんど全例で、IPV1 回接種後に良好な抗体価の上昇が確認された。中和抗体価は、Sabin 株と野生株標準株で大きな違いは認められなかった。3 型に対する抗体誘導は、他の型よりも少し弱い傾向があった。その理由については、IPV 接種前の抗体価が、3 型では出生世代に関係なく陰性者が目立つことが影響していると考えられた。1975-77 年生まれとその他の世代を比較するには、OPV 接種歴の確認ができた症例数が十分ではなかった。

A. 研究目的

わが国においても 2012 年 9 月から不活化ポリオワクチン（inactivated polio vaccine, IPV）が導入された。本研究では、成人に対して IPV 接種を行い、免疫原性と安全性の検討を行うことを目的とした。

B. 研究方法

研究概略：

(1) 研究期間：

IPV 接種臨床研究は、東京医科大学倫理委員会承認日（2011 年 6 月 1 日）から 2013 年 5 月末まで実施された。本分担研究では平成 25 年度（2013 年度）中の研究成果について報告する。

(2) 対象：20 歳以上の成人。

(3) 除外基準：被接種者が次のいずれかに該当すると認められる場合には、除外した。

- ・明らかな発熱を呈している者
- ・重篤な急性疾患にかかっていることが明らかな者
- ・本研究で用いる IPV の成分に対して過敏症を呈したことがある者
- ・上記に掲げる者のほか、予防接種を行うことが不適当な状態にある者

(4) 接種方法：IPV を 4 週間間隔で 2 回接種した。

(5) 抗体価測定：1, 2, 3 型のポリオウイルスに対する血清中和抗体価を計 3 回測定した。採血時期は、1 回目のワクチン接種前、2 回目のワクチン接種前（1 回目接種の 4 週間後に相当）、2 回目接種の 4 週間後とした。中和抗体価は、OPV のワクチン株（Sabin1 型, Sabin2 型, Sabin3 型）と IPV 抗原として用いられている野生株標準株（Mahoney, MEF-1, Saukett）、さらにベトナムとナイジェリアで近年分離された 2 型ワクチン由来ポリオウイルス（vaccine-derived poliovirus; VDPV）4 株（SV3128, SV3130, 11196, 11198）につい

て測定した。

実施手順：

下記の手順で実施した。なお、IPV の輸入手続きと接種、採血については東京医科大学病院渡航者医療センターで、血清中和抗体価の測定は国立感染症研究所ウイルス第二部で行った。

(1) IPV を手続きに従って海外から輸入。

(2) IPV の追加接種を希望する成人を募集。

(3) 対象者の過去の接種歴を母子手帳で確認。

(4) IPV 接種前に約 5ml 採血（第 1 回目採血）し、その後ワクチン 1 回目を接種。

(5) 4 週間後に、IPV 接種前に約 5ml 採血（第 2 回目採血）し、ワクチン 2 回目を接種。

(6) 2 回目接種 4 週間後に約 5ml 採血（第 3 回目採血）。

(7) 安全性については、IPV 接種後 4 週間の健康状態を観察し自ら記入する調査用紙を用いて、全身症状や局所症状（接種部位の変化）を調査。

(8) 1, 2, 3 型の各種ポリオウイルス（OPV 株、野生株、VDPV 株、計 10 株）に対する血清中和抗体価を測定。

(9) データの解析。

使用する IPV:

Sanofi Pasteur 社の Imovax Polio®を、手続きに従って海外から輸入して使用した。本 IPV は海外では 1982 年に発売され、現在は 92 カ国で承認を受けている。

Imovax Polio®の海外での治験における副反応調査では、全身性の副反応は稀であり、局所反応は発赤（0.7~2.4%）、疼痛（0.7~34%）、腫脹（0.4%）などが報告されている。海外市販後の調査でも、副反応は稀であると報告されている。

また、この Imovax Polio®という製品は 2012 年 9 月に国内でも承認された。

IPV の輸入手続き：

ワクチンの輸入手続きについては、下記

の手順を医薬品輸入取扱商社に依頼した。

- (1) 医薬品輸入取扱商社へ発注
- (2) 厚生労働省・経済産業省へ輸入承認申請書を提出
- (3) 厚生労働省へ輸入申請の書類を提出し、薬監証明書を取得
- (4) 通関
- (5) 納品

倫理面への配慮：

研究の参加は、受診者の自由意思によるものであり、受診者は研究への参加を随時拒否または撤回することができる。また拒否・撤回によって受診者が不利な扱いを受けることはない。なお、本研究は東京医科大学倫理委員会において承認済みである。また血清中和抗体価の測定に関して、国立感染症研究所の倫理委員会においても承認済みである。

C. 研究結果

成人に対する IPV 接種に関する臨床研究プロトコールを作成し、倫理委員会での承認を経て、海外から IPV を輸入し、被験者を募集し接種を開始した。本報告書作成時点で、50 例が登録され、49 例が研究を終了した。1 名は脱落。そして、42 例の抗体価測定が完了した。

42 例の属性を示す。性別は、男性 18 例、女性 24 例であった。年齢群は、20 歳代 8 例、30 歳代 27 例、40 歳代 4 例、50 歳代 3 例であり、そのうち 1975-77 年生まれの者は 16 例であった。OPV 接種歴は、2 回接種している者が 22 例、1 回接種している者が 2 例、不明が 18 例であった。

有効性の指標として、血清中の各種ポリオウイルス計 10 株に対する中和抗体価を測定した。(表)

今回の対象者 42 例のうち 1 例のみが、IPV 接種前に 3 つの型すべてのポリオウイルスに対する抗体価が陰性であった。

IPV 初回接種前に中和抗体価 8 倍以上を保有する者は、OPV 株の Sabin1 型で 38 名 (90.5%)、Sabin2 型で 40 名 (95.2%)、Sabin3 型で 24 名 (57.1%) であった。また強毒株ポリオウイルス標準株(IPV 抗原)の Mahoney で 32 名 (76.2%)、MEF-1 で 38 名 (90.5%)、Saukett で 16 名 (38.1%) であった。2 型 VDPV 株の SV3128 では 39 名 (92.9%)、SV3130 で 38 名 (90.5%)、11196 で 39 名 (92.9%)、11198 で 38 名 (90.5%) であった。

接種後の中和抗体価については、ほとんどの被験者で IPV を 1 回接種するだけで強い抗体誘導が認められ、接種前に 3 つの型すべての抗体価が陰性であった 1 例を除いて、全例で中和抗体価は 8 倍以上に上昇した。2 回接種後は、全ての株に対して、全例が中和抗体価 8 倍以上となった。また、接種前の抗体価が陽性であった型に対してはほとんど全例で、抗体価が陰性の場合でも一部の例では、IPV 1 回接種後に 1024 倍以上という非常に高い抗体価が獲得され、強いブースター効果が認められた。

接種前に 3 つの型すべての抗体価が陰性であった 1 例では、IPV の 1 回接種では抗体価の上昇は不良で、2 回目接種後に有意な抗体上昇が確認された。

D. 考察

ポリオウイルス感染症を予防するためのワクチンには、経口生ポリオワクチン (oral polio vaccine, OPV) と不活化ポリオワクチン (inactivated polio vaccine, IPV) の 2 種類が存在する。まずは、乳児期の定期接種が経口生ポリオワクチン (oral polio vaccine, OPV) から IPV に移行されたが、IPV の年齢対象は小児に限定されたものではない。したがって今後は、成人に対しても IPV の接種を行う機会があると想定される。

米国では、乳児期に接種をすませた成人は、通常はポリオワクチンの追加接種は不要とされている。しかし、感染リスクのある一部の対象（流行地への渡航者、実験室で野生株ポリオウイルスを扱う者、野生株ポリオウイルスと濃厚接触する医療従事者）についてはIPVを用いて追加接種を行うことが推奨されている。

わが国においては、国の感染症サーベイランス事業である血清疫学調査の結果より、1975-77年生まれの世代はポリオウイルス1型に対する血清中和抗体保有率が他の世代より低いことが判明している。厚生労働省からの通達（平成8年）によれば、これらの者において「ポリオ感染のリスクが高いことが予想される場合」はOPVの追加接種を勧奨する機会であるとされている。特に1975-77年生まれの者がポリオ流行地へ渡航する場合などがこれに該当し、IPVが導入された日本国内では成人に対するIPV接種が現実的となっている。また、3型ポリオウイルスに対する中和抗体保有率は、他の血清型に比べると低いことが明らかとなっている。さらには、過去の接種歴が無い者、あるいは不明な者に対するIPVの接種についても出生年にかかわらず検討しておく必要がある。

1型と2型は、もともと抗体陽性者の占める割合が高く、IPV追加免疫により、ほとんどの例で強い抗体上昇が認められた。接種歴不明者も含め、被験者の多くは、OPV接種による基礎免疫を有していることが示唆される。抗体価測定値から考察すると、1型は、Sabin 1型とMahoneyで、多少の抗原性の差異が認められたが、2型はワクチン株、野生株、VDPV株で、抗原性の差異はほとんどなかった。3型はIPV接種前の抗体価陰性者が目立ったが、OPV2回接種による抗体陽性者の割合は、一貫して、1型および2型と比較すると低い傾向が知ら

れている。抗体陰性者も含め、IPV接種により抗体誘導が認められ、ほとんどの場合1回の接種で良好な抗体上昇を認め、2回目の抗体上乘せ効果はそれほどではなかった。

接種前に3つの型すべての抗体価が陰性であった1例では、母子手帳が確認できずに過去の接種歴は不明であった。本例のみで1回接種後の抗体獲得が不十分であり、本例はOPVの接種歴がないことが推察された。2回目の接種後に、有意な抗体価上昇が認められた。さらに確実な免疫付与のためには、おおむね1年後の追加接種が必要と考えられる。

1975-77年生まれで接種前にSabin 1型に対する抗体価が陰性の者は3例であり、1例は接種前に3つの型すべての抗体価が陰性であったOPV歴不明の者で、他の2例は1例がOPV歴2回、1例は接種歴不明であった。OPV歴2回の者では、1回接種で抗体価は1024倍以上に上昇した。OPV歴不明の者では、1回目接種後、2回目接種後とも抗体価は64倍であった。これだけの例数で結論的なことは言えないが、過去の接種歴があれば1回接種で十分な抗体価上昇が得られる可能性は高いと考えられた。

1型に対する中和抗体価は、これまでの報告にもあるように、Sabin 1株とMahoney株で、多少の違いが認められたが、抗体価の大きな差は認められなかった。2型については、Sabin 2株と強毒株(MEF-1)、あるいは、4株のVDPV株で、中和抗体価に、ほとんど差は無く、血清中和抗体価に反映するような抗原性の違いは認められなかった。3型についても、Sabin 3株と強毒株(Saukett)のあいだには、抗原性の違いは認められなかった。少なくとも2型と3型については、Sabin株に対する中和抗体価を測定すれば他の株に対する中和活性も同程度であることが示唆される。