

オワクチン（IPV）へ切り替えを行った。OPV使用中は、医師による届け出、感染症発生动向調査、健康児を対象とした糞便調査（ポリオ感染源調査）によりポリオウイルス野生株/VDPVの監視を行ってきた。IPVは個人の発症予防を目的としたワクチンであり、感染を防ぐものではない。ま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、検出法を確定し、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) ポリオウイルスが環境水より検出された場合の技術上、行政上の対応について検討する。
- (4) IPV切り替え後のポリオ発生リスク研究。

B. 研究方法

(1) 調査地点

H24年度（2012年）は4地方衛生研究所（富山、福岡、大阪、岩手）の協力による先行研究を開始。

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）が感染症流行予測調査事業、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。H26年度はさらに6か所の地方衛生研究所（北海道、千葉、長野、奈良、岡山、佐賀）が事業に参加し、合計19か所にて環境水調査を実施（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。合計19か所の下水利用人口は延べ約500万人強である（2015年現在）。

(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3,000rpm、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%ビ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0.05-0.1mL接種した。分離株はポリオレセプターを発現したマウス由来L20B細胞に接種し、ポリオウイルスの有無を確

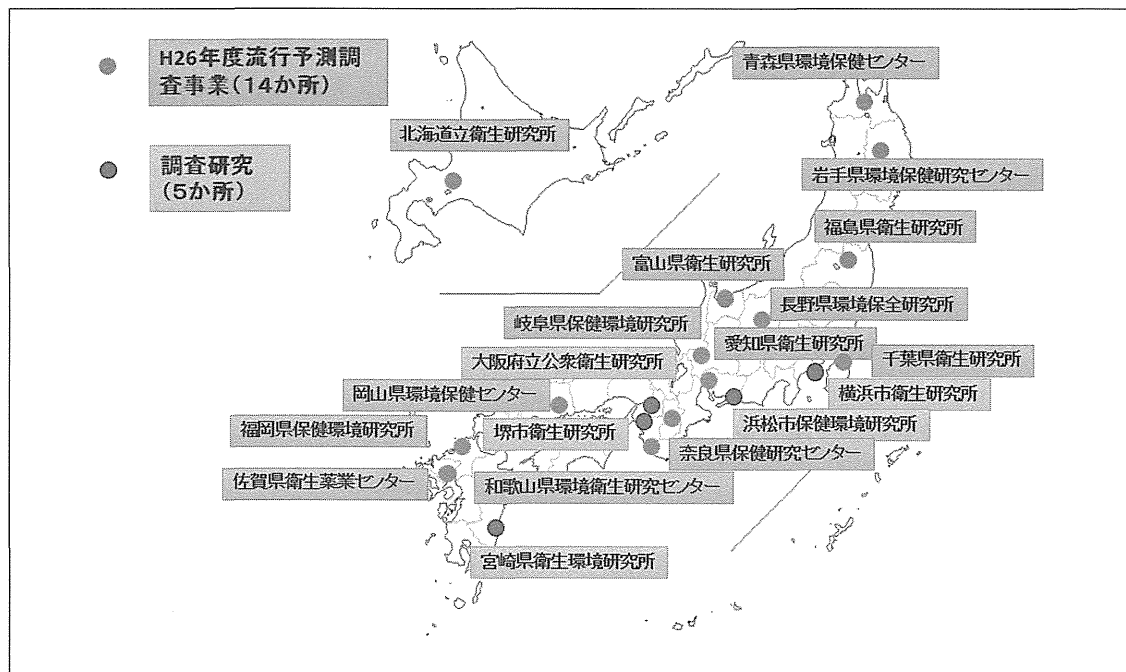


図1 2014年度環境水サーベイランスのご協力を頂く地方衛生研究所
(2013年度13か所→19か所)

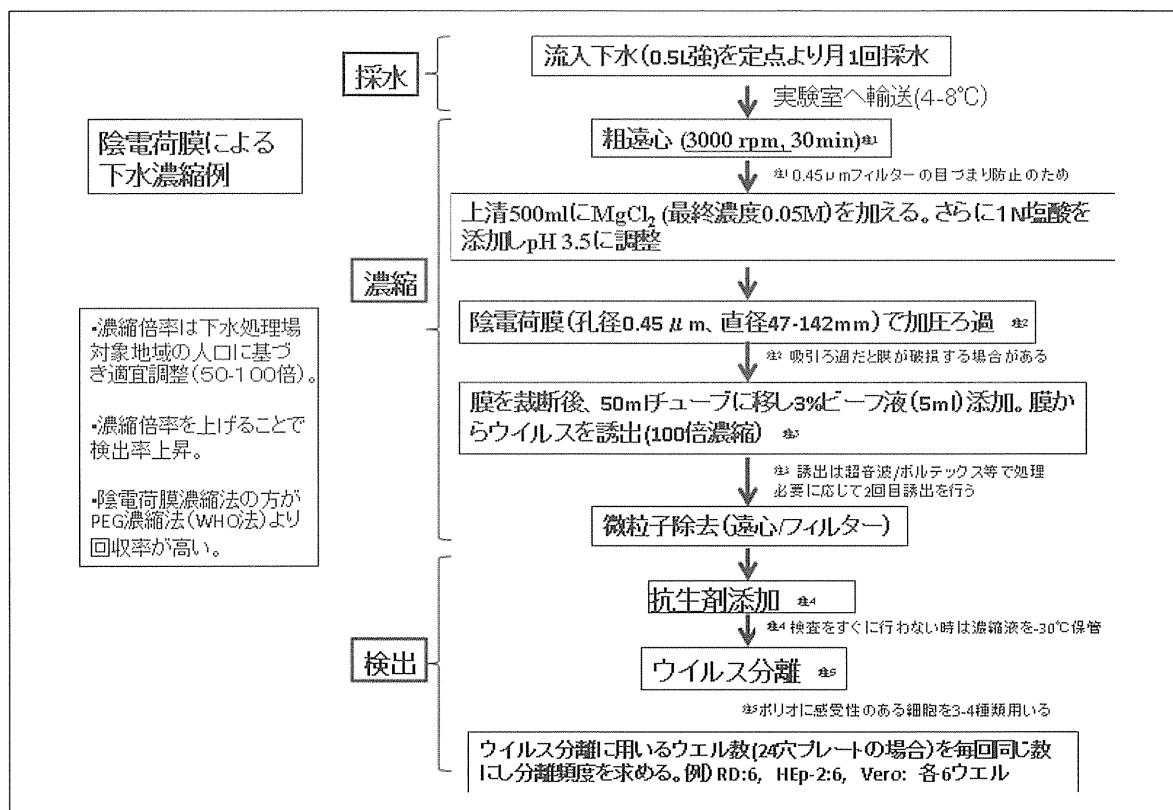


図2

認した。ポリオ以外の分離株はエンテロウイルス(EV-A-D群)に属する分離株を中和試験法、或いはPCR-ダイレクトシークエンスにより同定している(図2)。

(3) IPV導入後のポリオ検出時の対応について検討

WHOガイドラインによれば10-30万人を対象とする下水処理場からの採水を示している。日本で導入する場合の課題について、下水定点設置予定箇所の研究協力者よりヒアリングを行った。またIPV導入国のポリオサーベイランスガイドラインをウェブ上、或いは直接関係者にコンタクトすることにより入手、レビューを行った。そして我が国の現行法と比較を行い、論点を整理しガイドラインを作成した。

(4) 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(4地点)

健康児糞便検体からのウイルス分離は、A県(2012年10月、64検体; 2013年9月、71検体)、B県(10月、76検体)、C県(9月、55検体)、D県(9月、

63検体)にて実施。同時期の環境水調査と比較した。

(5) 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)により検出されたエンテロウイルス分離・検出結果と下水調査結果を比較した。

(6) OPV停止後のワクチン由来株によるポリオ発生リスクに関する研究

OPV停止後、OPV由来株による流行の可能性を各疫学パラメータに対して確率モデルにより検討した。

C. 研究結果

(1) 下水定点設置時の課題の整理

先行研究に加え下水定点を追加するにあたり、研究協力者から得た課題を整理した。

対象人口が10-30万人の流域下水道より採水する場合、様々な自治体(含む保健所設置政令市)で下水道網を利用する場合がある。ポリオウイル

ス検出時に、対策の必要性が生じる場合は、感染症法15条による積極的疫学調査の適応が想定されるが、同法は患者発生を前提、かつ対策に関わる事務が政令市に委嘱されている。そのため下水調査主体が都道府県/政令市の別により、検出時の対策について流域自治体間の連携について、検討

する必要性が認められた。

(2) IPV導入後のポリオ検出時の対応について

WHO/EURO、HQが作成したガイドライン、そしてフランス、スイス、フィンランド、イスラエル、オランダ、オーストラリアが作成している

表1 環境サーベイランスでポリオウイルスが検出された時の対応 (IPV使用国)

国名	ワクチン株の場合	野生株、VDPVの場合 (伝播確認がポイント)	対策用ワクチン	備考
WHO/EUROガイドライン	何もしない	弧発例か伝播を確認 →採水強化(頻度、場所) 伝播確認できたなら緊急対応	IPV/OPV	(OPV,IPV使用国共通)
オーストラリア(2)	同上	同上	IPV	高接種率(90%以上*)
フィンランド(3)	同上	同上	IPV	同上*
オランダ(4)	同上	感染源が特定されたなら緊急対応開始(接触者を原則)	IPV/OPV	同上*
フランス(5)	同上	問い合わせ中	IPV	同上*
イスラエル(6)	0.5%以上の変異なら詳細に検討**	弧発例かどうか確認 →採水強化(頻度、場所) 伝播確認できたなら緊急対応	IPV	同上*

*IPV接種率が高く、かつ抗体保有率が高いため接触者対策を主としている。

**OPV使用地域が隣接しているため、詳細なリスク評価を行っている。

(1) Guidelines on responding to the detection of wild poliovirus in the WHO European Region, 2007

(2) An Acute Flaccid Paralysis and Polio Response Plan for Australia by Office of Health Protection Department of Health and Ageing, October 2008

(3) SUSTAINING THE POLIO-FREE STATUS IN FINLAND National Plan of Action 2012 - 2014. Ministry of Health and Welfare

(4) Polio response scenario, August 2008 by Preparedness and Response Unit (LC), part of the Centre for Infectious Disease Control (CIb) at the National Institute for Public Health and the Environment (RIVM)

(5) Bulletin épidémiologique hebdomadaire 21 décembre 2010 / n° 48, n° 39-40/2005

(6) 私稿

10

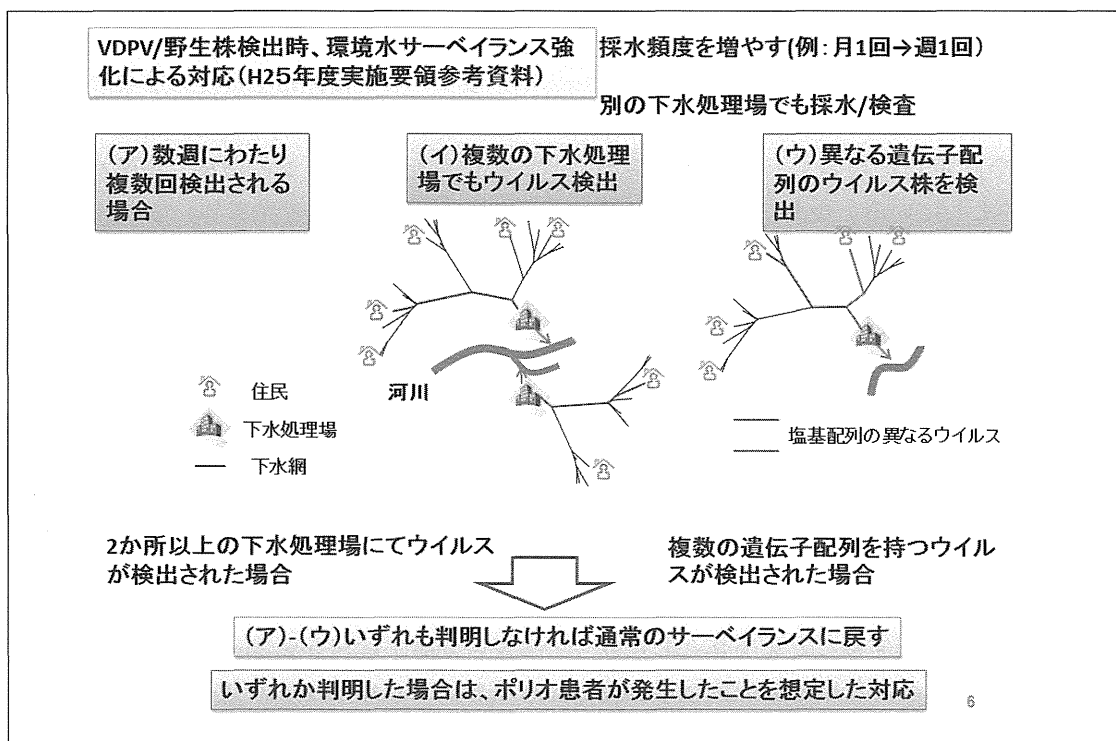


図3

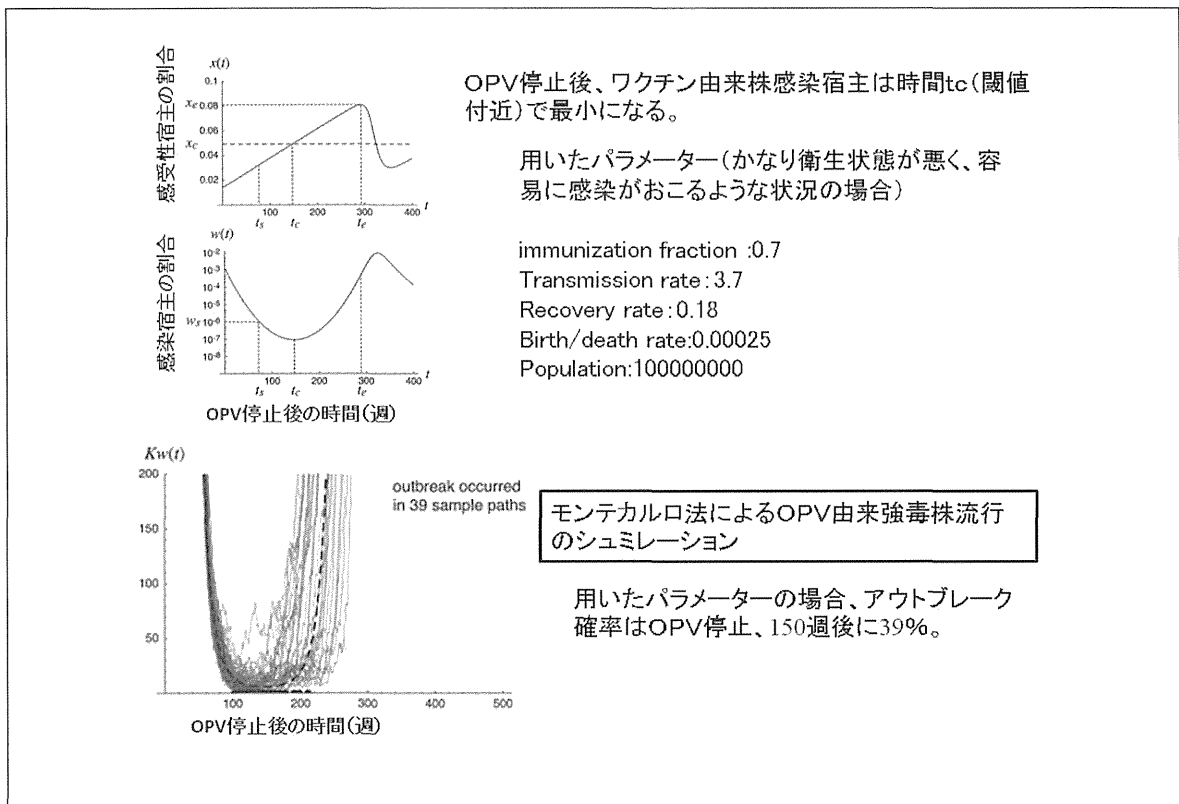


図4

ガイドラインを参考にIPV使用国におけるポリオウイルス検出時の対応を表に取りまとめた。これらの国々では高い接種率(95%以上)と抗体保有率(90%以上)を背景に、ヒトから検出された場合は、接触者調査を行い、必要に応じてIPV接種勧奨するものとしている(表1)。

下水からVDPV/野生株が検出された時、広範なポリオ伝播を確定した場合も、原則IPV接種を検討するものとしている。なおワクチン株の場合は対応を行わないとしている。

なおいずれの国も患者届出、疾患サーベイランス(AFP:急性弛緩性麻痺、エンテロウイルス感染症)の補完的役割として環境サーベイランスを位置づけている。

各国の動向、及び現行法を検討の上、わが国で環境水からポリオウイルスが検出された場合の対応(技術面、行政面)について取りまとめを行い、環境水からのポリオ検出時は、下水強化モニタリングを4週にわたり実施することを主体としたガイドラインを策定し、H25年度感染症流行予測調査事業実施要領に反映の上、環境水調査を開始した(図3)。

(3) 数理モデルによるOPV停止後のポリオ発生シュミレーション

OPV停止後のポリオ発生リスクシュミレーションを行い、ワクチン停止後、感受性宿主密度が疫学閾値を越え、強毒株が集団に出現するのに十分なワクチン接種宿主密度のままの場合、流行の危険性があることを示した。モンテカルロ法によるシュミレーションの結果、疫学パラメーター(感染率、回復率、変異率等)依存的に流行の可能性が90%を超えることもある。また少数の長期排泄者が存在すると、流行リスクが高まることを示した(図4)。

(4) 流行予測事業感染源(糞便)調査との比較: 2012-2013年(A-D県)

いずれの調査(2012-2013年)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2に示す。糞便検査のウイルス分離率は14.5%-25.4%であった。環境水からはコクサッキーウイルスB群(CB)、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、糞便からはコクサッキーウイ

表3のつづき

ウイルス	2013年												2014年											
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月			
J	CB1					CB1																		
	CB3				CB3	CB3	CB3	CB3	CB3	CB3	CB3	CB3					CB3							
	CB4			CB4	CB4																			
	CB5					CB5	CB5	CB5				CB5			CB5	CB5	CB5	CB5	CB5					
	E3			E3																				
	E6	E6																						
	E7				E7																			
	E11				E11				E11					E11	E11	E11	E11	E11	E11					
	E25									E25	E25									E25				
	E30					E30																		
	CA6			CA6																				
NPEV																NPEV		NPEV						
K	CB3		CB3	CB3	CB3	CB3																		
	CB4			CB4																				
	E11												E11	E11		E11								
	E30													E30										
NPEV			NPEV	NPEV	NPEV	NPEV	NPEV	NPEV	NPEV	NPEV	NPEV	NPEV	NPEV	NPEV	NPEV	NPEV	NPEV	NPEV						
L(2)	CB2					CB3	CB3	CB3	CB3				CB2											
	CB3																		CB4	CB4	CB4			
	CB4																		CB4	CB4	CB4			
	CB5																			CB5	CB5			
	E3																							
	E6	E6				E6	E6	E6																
M	CB1			CB1	CB1																			
	CB3		CB3	CB3	CB3	CB3	CB3	CB3	CB3	CB3	CB3													
	CB4																			CB4	CB4			
	CB5																							
	CB6																							
	E6																							
	E11					E11	E11																	
N(3)	CB1			CB1	CB1																			
	CB3		CB3	CB3	CB3	CB3	CB3	CB3	CB3	CB3	CB3													
	CB4																							
	CB5																							
	E6																							
	E11		E11	E11	E11	E11	E11	E11	E11	E11	E11													
	E30																							
	CA4																							
NPEV																								
O	CB4																							
	CB5																							
	E3																							
	E6																							
	E11																							
P	S3																				S3			
	CB1																							
	CB2																							
	CB3																							
	E18																							
	E19																							
	E30																							
	NPEV																							
	CB3																							
	CB4																							
R	E11																							
	E14																							
	NPEV																							
	CB3																							
	CB4																							
	E11																							
S	CB3																							
	CB4																							
	CB5																							
	E6																							
	E11																							
	E30																							

ルスA群(CA)、パレコウイルスも検出されていた。

(5) 下水からのポリオワクチン株検出

2012年4月から2014年12月までの間、2012年8月までOPVを使用し9月以降はIPVに切り替わっている。環境水調査でワクチン株が分離されたのは2012年6月が最後。ただし2012年は4か所のみの調査である。IPV切り替え後約2年間はポリオウイルスは検出されず、2014年10月に3型ポリオワクチン株が19か所のうち1か所で検出され

た。当該地域では11月、12月とも引き続きウイルスは検出されなかった。また発生動向調査により採取された臨床材料のうち陰性検体について過去2か月分を再検査したが陰性であった。故に下水におけるウイルス検出は一過性のものと推察された(表3)。

(6) 環境水サーベイランスと感染症発生動向調査事業病原体定点より検出されたエンテロウイルスの比較との比較(2013-2014年)

2013年4月から2014年12月まで、約2年弱の全

表4 環境水サーベイランスと感染症発生動向調査の比較

a				b				
環境水調査2013(13か所:4月-12月)		発生動向調査2013		環境水調査2014年(18か所)		発生動向調査2014((2015.1.7アクセス)暫定値)		
エンテロウイルス	検出地点数	エンテロウイルス	NESID報告数	エンテロウイルス	検出地点数	エンテロウイルス	NESID報告数	
EV-A	CA6	1	EV-A	CA6	1283	EV-A	CA4	563
	CB3	13	EV-A	EV 71	472		E11	16
EV-B	CB5	9	EV-A	CA8	200		CB5	10
	E11	9	EV-A	CA2	114		CB4	9
	CB4	7	EV-A	CA16	90		CB3	7
	E6	7	EV-A	CA5	53		E30	6
	CB1	5	EV-A	CA10	31		E8	5
	E30	5	EV-A	CA4	15		E7	5
	E7	4	EV-A	CA12	10		E6	4
	E18	3	EV-A	CA14	5		CB1	3
	E25	3	EV-A	CA7	1		E25	3
	E3	3	EV-B	E 6	207		CB2	1
	CB6	2	EV-B	CB3	180		E14	1
	E19	2	EV-B	E 30	175		E24*	1
	CB2	1	EV-B	E 18	117		E19*	1
			EV-B	CB5	114		E29**	1
			EV-B	CB2	110		Sabin3***	1
			EV-B	E 11	71		CA21	1
			EV-B	CA9	70			
			EV-B	CB1	67			
			EV-B	CB4	53			
			EV-B	E 25	52			
			EV-B	E 9	20			
			EV-B	E 7	19			
			EV-B	E 19	8			
			EV-B	E 3	3			
			EV-B	E 12	2			
			EV-B	E 21	2			
			EV-B	CB6	1			
			EV-B	E 17	1			
			EV-C	CA21	2			
			EV-D	EV 68	122			
			EV-D	EV NT	222			

環境水調査、発生動向調査のいずれでも検出されたウイルス

国調査で環境水より検出されたウイルスの種類を表4a、bに示す。多くはエンテロウイルスB群(EV-B)に属し、一部エンテロウイルスA群(EV-A)、あるいはエンテロウイルスC群(EV-C)に属するウイルスが検出されている。2013年はCA9、E9、E12、E21、E17を除きEV-B群は環境水から検出されていた。EV-A群はCA6のみ検出された(表4a)。EV-C、Dは環境水からは検出されなかった。

2014年環境水で検出されたウイルスと発生動向調査で検出されたウイルスを比較した結果を表4bに示す。EV-A群は環境水ではCA4を除き分離されず、患者由来の方が検出しやすい傾向にある。EV-B群の多くは一致したが、患者由来だけ(CA9、E9、E1、E5、E18、E16)のもの、環境水のみ検出できたもの(E19、E24、E29、Sabin3)があった。EV-CはCA21が両方で検出されている。EV-Dは患者由来のみであった。なお環境水はすべて分離で同定したものだが、患者由来は必ずしも分離株が得られているわけではないことに留意する必要がある。

D. 考察

(1) 感染症流行予測調査ポリオ環境水調査

本研究はH24年度(2012年4月)より開始した。初年度は事業化に向けた術式の決定、ポリオ検出後の行政対応の検討、参加地衛研への説明を行い、以前より調査研究として実施していた富山、福岡に加え、大阪、岩手の各地衛研の協力を得て4か所の調査として開始している。

研究班2年目に当たるH25年度は感染症流行予測調査事業として8か所の地衛研がポリオ環境水調査として参加、5か所は調査研究として参加いただけのこととなった。研究班最終年度に当たるH26年度は19か所の協力を得ることができた(図1)。

技術面について

先行研究にて、低コスト、かつ短時間で処理可能な陰電荷膜を用いたウイルス濃縮法をほぼ確立していたため、急速に普及させることができた。今後の検討課題は濃縮に当たり回収率を指標とした精度管理が必要である。

本調査は濃縮液を培養細胞を用いてウイルス分離を行う。立ち上げに当たり、既存の細胞を用い

ることとしたが、ポリオウイルス検査の信頼性を確保するために、培養細胞に関する品質保証システムの導入を行い、常にポリオウイルスに高い感受性を持つ細胞を用いる検査体制を構築する必要がある。

行政面について

我が国では約50年にわたり使用してきたOPVに代わり、2012年9月より不活化ポリオワクチンを定期接種として用いることとなった。切り替え後、感染症発生動向調査より紛れ込みと考えられる4例のワクチン株が2014年9月に検出されている。一例を除きいずれも直近のワクチン歴を有していた。以降国内でヒト由来、環境水由来ともポリオウイルスは検出されず、約2年ぶりに国内の1か所にて環境水のみから3型ポリオウイルスワクチン株が検出された。疫学的背景より本ワクチン株は一過性のものと考えられる。

欧州のIPV国で環境水中のワクチン株の検出はしばしば報告されており、ワクチン接種など行政対応は特段行っていない(表1)。我が国における環境水からのワクチンウイルス検出後の対応は欧州の対策を踏襲している(図3)。

しかし接種後ヒトから排出されたウイルスは病原性が変化していること、IPVは発症予防を目的としたワクチンであることを念頭に置き、IPV高接種率の維持と、ウイルス監視体制の維持が必要である。

このためワクチン株といえども、地衛研、感染症研といった検査、事業担当部門のみならず、行政を含めた関係者間で情報共有・管理の在り方の検討が必要である。

(2) 流行予測事業感染源(糞便)調査との比較(A-D県)

2013年の「日本ポリオ根絶委員会」にて糞便調査はH25年度を最後とする方針が出されたため、H25年度が糞便と環境水調査を比較できる最後の年である。

H24-25年度の調査では糞便調査ではウイルス検出率が14.5-25.4%であり、1-8種類のウイルスが検出されている。他方環境水では2-4種類と糞便に比べ少ない。また検出されたウイルス種に食い違いがみられる(表2)。

この理由として①4か所の糞便調査のエンテロウイルス分離について糞便は検出率で示すことができるが、環境水は採水量500ml中に存在していたウイルスを示すこと、②糞便調査は健康な乳幼児を対象とするのに対し、環境水は下水網を利用する住民を対象とするため、単純に検出率、ウイルスの種類を比較することができないこと、③糞便調査と環境水調査の対象地域が一致しているわけでないこと、などの理由が想定される。H25年度は糞便と環境水調査を実施した地衛研は4か所であり、H26年度以降の感染源調査は環境水調査のみになる。今般データで示したように、両者は必ずしも一致するわけでないため、ポリオウイルスが万一環境水から検出された場合は、糞便検査も併用することが望ましいと考えられる。

2013年イスラエルの環境水調査で野生型ポリオが検出された際には、健康児糞便調査も併用し、約2,000人の糞便のうち1%が陽性であった。参考サイトhttp://www.polioeradication.org/Portals/0/Document/Aboutus/Governance/IMB/9IMBMeeting/7.1_9IMB.pdf

(3) 環境水サーベイランスと感染症発生動向調査事業病原体定点より検出されたエンテロウイルスの比較との比較(2013-2014年)

環境水と発生動向調査で検出されたウイルスを比較した結果、EV-B群の多くは一致したが、患者由来だけ(CA9、E9、E1、E5、E12、E16、E17、E21、E18)のもの、環境水のみ検出できたもの(E24、E29、Sabin3)があった。エンテロウイルスの検出は基本的に5類感染症を対象とする小児科病原体定点で採取された検体によるサーベイランスである。

エンテロウイルスは咽頭ぬぐい、糞便を検査材料として用いるが、採取容易な咽頭ぬぐい液の検体提出が多くなる傾向にある(H25年度厚労科研費「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」研究代表者宮崎義継、研究実施者吉田弘)。この場合、感度の高いPCR法とシーケンス解析により結果を得るが、分離株は徐々に得にくくなりつつある。環境水調査はEV-B群に偏るバイアスがある反面、分離株が容易に検出可能である。分離株を

得られれば、より詳細なゲノム解析や、血清疫学調査への応用が可能である。

また環境水サーベイランスは下水利用人口即ち全年齢層を対象とする。発生動向調査は事業主体自治体の全域を対象とするが、小児科定点で捕捉できる年齢層の病原体情報となる。

このように環境水調査、発生動向調査ともそれぞれの特徴があり、両者を組み合わせることで感度の高い腸管系ウイルスの監視できると考えられる。

E. 結論

- 1) 1960年代初頭より定期接種用ワクチンとして用いられてきた経口弱毒生ポリオワクチンは2012年9月より不活化ポリオワクチンに切り替わった。これに伴い、2013年（H25年度）より感染症流行予測調査事業ポリオ感染源調査として流入下水を対象とする環境水サーベイランスを導入した。これは輸入が想定されるポリオウイルスを効率よく監視することを目的。
- 2) わが国では2012年10月以降、ポリオウイルスは患者、環境水とも検出されなかった。2014年10月採水時の検査で2年ぶりに環境水より3型ワクチン株が検出され、本法の有用性が確認された。ただし、環境水サーベイランスは下水処理場を用いる人口を対象としており、発生動向調査は自治体全域である。両者の違いに留意しつつ、両者を組み合わせることで感度の高いポリオウイルスの監視体制を維持していく必要がある。
- 3) ポリオワクチン検出時において検査、流行予測調査事業担当部門のみならず、行政を含めた関係者間で情報共有・管理の在り方について検討する必要性が認められた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 吉田 弘：水環境中のウイルス情報の収集と活用 ポリオウイルスー不活化ワクチン開発後の野生株侵入状況把握．臨床とウイルス，42(5): 224-230, 2014年12月号
- 2) Wang H, Tao Z, Li Y, Lin X, Yoshida H, Song L, Zhang Y, Wang S, Cui N, Xu W,

Song Y, Xu A. Environmental Surveillance of Human Enteroviruses in Shandong Province, China, 2008-2012: Serotypes, Temporal Fluctuation and Molecular Epidemiology. *Appl Environ Microbiol.* 2014, 80(15): 4683-4691

- 3) Nakamura T, Hamasaki M, Yoshitomi H, Ishibashi T, Yoshiyama C, Maeda E, Sera N, Yoshida H. Environmental Surveillance of Poliovirus in Sewage Water around the Introduction Period of Inactivated Polio Vaccine in Japan. *Appl Environ Microbiol.* 2015 (in press)
- 4) Lu J, Zheng H, Guo X, Zhang Y, Li H, Liu L, Zeng H, Fang L, Mo Y, Yoshida H, Yi L, Liu T, Rutherford S, Xu W, Ke CW. Continuing environmental surveillance elucidates Echovirus 30 origin and transmission during the Aseptic Meningitis Outbreak in Guangdong, China, 2012 *Appl Environ Microbiol.* 2015 (in press)
- 5) 伊藤 雅, 岩切 章, 内野清子, 小澤広規, 北川和寛, 葛口 剛, 下野尚悦, 神保達也, 高橋雅輝, 板持雅恵, 筒井理華, 濱崎光宏, 山崎謙治, 中田恵子, 吉田 弘：平成25年度感染症流行予測調査事業ポリオ環境水調査期間中（2013年4～12月）に検出されたエンテロウイルスについて．*IASR Vol.35 p.275-276*: 2014年11月号
- 6) Iwai-Itamochi, M., Yoshida, H., Obara-Nagoya, M., Horimoto, E., Kurata, T., & Takizawa, T. Development of real-time PCR to detect oral vaccine-like poliovirus and its application to environmental surveillance. *Journal of virological methods*, 2014, 195; 148-155.
- 7) Zheng H, Lu J, Zhang Y, Yoshida H, Guo X, Liu L, Li H, Zeng H, Fang L, Mo Y, Yi L, Chosa T, Xu W, Ke C. Prevalence of Non-polio Enteroviruses in the Sewage of Guangzhou City, China, from 2009 to 2012. *Appl Environ Microbiol.* 2013 Dec; 79(24): 7679-83

- 8) Tao Z, Zhang Y, Liu Y, Xu A, Lin X, Yoshida H, Xiong P, Zhu S, Wang S, Yan D, Song L, Wang H, Cui N, Xu W. (2013) Isolation and Characterization of a Type 2 Vaccine-Derived Poliovirus from Environmental Surveillance in China, 2012. PLoS ONE 8(12): e83975. doi:10.1371/journal.pone.0083975
- 9) Li TC, Yang T, Shiota T, Yoshizaki S, Yoshida H, Saito M, Imagawa T, Malbas F, Lupisan S, Oshitani Hi, Wakita T, Ishii K. Molecular detection of Hepatitis E virus in rivers in the Philippines. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 90(4), 764-766. 2014
- 10) Sasaki A, Haraguchi Y, Yoshida H. Estimating the risk of re-emergence after stopping polio vaccination. Front Microbiol. 2012; 3: 178. Epub 2012 May 21.
- 11) 佐々木 顕：進化と防除－ポリオ根絶計画と強毒復帰株を例に。岩波講座 計算科学 6, 計算と社会 第4章 6, 岩波書店 2012年6月
- 12) 筒井理華, 東海林 彰, 古川紗耶香, 三上稔之, 沖 栄真, 吉田 弘：一過性の麻痺を呈した患者からのエンテロウイルス71型の検出。青森県, IASR Vol.33 p.310-311: 2012年

11月号

2. 学会発表

- 1) 中村朋史, 吉富秀亮, 石橋哲也, 前田詠里子, 世良暢之, 吉田 弘：IPV移行時におけるポリオウイルスサーベイランス。第61回日本ウイルス学会(大阪)平成25年11月10日～12日
- 2) Hiromu Yoshida. Environmental surveillance for enteric viruses. Workshop on Strategic Planning for Polio Environmental Surveillance. Hosted by USCDC. May 8-9, 2012, Atlanta, USA.
- 3) 吉田 弘：ポリオ根絶と抗原進化。総研大「理論免疫学ワークショップ」(葉山)平成24年10月10日
- 4) 中村朋史, 吉富秀亮, 石橋哲也, 前田詠里子, 世良暢之, 吉田 弘：下水流入水からのエンテロウイルス分離。第60回日本ウイルス学会(大阪)平成24年11月13日～15日

G. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：
 - H25年度感染症流行予測調査実施要領 第2ポリオ、3. ポリオ感染源調査(環境水からのポリオウイルス分離・同定)、及び資料6

5. ロタウイルス

腸重積サーベイランス経過報告

研究分担者：砂川 富正（国立感染症研究所感染症疫学センター）

研究要旨 ロタウイルス感染症は全世界において重症小児下痢症の主要原因となっている。すべての小児が5歳までに罹患すると考えられているロタウイルス感染性胃腸炎に対し、諸外国では2種類のロタウイルスワクチン（Rotarix[®]、Rotateq[®]）が認可され、我が国でも2011年以降これらのワクチンが随時認可され接種可能となった。ロタウイルスワクチンは、以前に使用されていたロタウイルスワクチン（Rotashield[®]）の経験から、副反応として腸重積症が知られている。現在使用されている2つのワクチンでは、日本より早くからワクチンを導入している国々から腸重積症の発症率の若干の上昇が報告され始めている。従って、今後本格的にロタウイルスワクチンが導入される我が国において、ワクチン導入前の腸重積症の発症率の把握は、ロタウイルスワクチンの効果評価、安全性のモニタリングを実施するに当たり大変重要な情報である。

本研究班では、10道県の小児科入院施設のある医療施設のご協力のもと、ワクチン導入前（2007-2011年）の5歳未満の腸重積症入院例を後ろ向き調査、2012年以降のワクチン号乳後の腸重積症を前向き調査として患者数を把握し、population based surveillanceを実施した。これらの結果は、今後国内においてロタウイルスワクチンを安全に使用していくうえで、非常に重要な役割を果たすと考えられる。

A. 研究目的

ロタウイルス胃腸炎は小児の重症下痢症の原因病原体の一つで、感染力も強く、先進国、途上国を問わず、疾病負荷は大きい。現在では世界中で2つのロタウイルスワクチンが使用されており、高い有効性が各国から報告されている。一方で、ロタウイルスワクチンは、以前に使用されていたロタウイルスワクチン（Rotashield[®]）の経験から、副反応として腸重積症が知られている。特に初回のロタウイルスワクチン接種後に腸重積症発症のリスクが高まる時期があることがわかっており、そのため、現在使用されている2つのワクチンでは約13万人が参加する大規模な治験が実施され、ワクチン接種後の追跡調査が実施されたがプラセボ群と比較しワクチン接種群の腸重積症の発生頻度の上昇は認められなかった。しかし、日本より早くからワクチンを導入している国々から腸重積症の発症率の若干の上昇が報告され始めている。従って、今後本格的にロタウイルスワクチンが導入される我が国

において、ワクチン導入前の腸重積症の発症率の把握は、ロタウイルスワクチンの効果評価、安全性のモニタリングを実施するに当たり大変重要な情報である。

本研究班では、11道県の小児科入院施設のある医療施設のご協力のもと、ワクチン導入前（2007-2011年）の5歳未満の腸重積症入院例を後ろ向き調査、2012年以降のワクチン号乳後の腸重積症を前向き調査として患者数を把握し、ワクチン導入前後でわが国の腸重積症患者の疫学に大きな変動があるかを検討している。

研究目的は以下のとおりである。

1. 我が国における腸重積症の疫学（年齢、人口当たりの罹患率、季節性、流行周期などのトレンド）を明らかにする
2. ロタウイルスワクチン導入後も同様の調査を継続し、ワクチン導入による腸重積症の発症の変化を監視する。

B. 研究方法

- (1) 本サーベイランスは、11道県（北海道、新潟、福島、茨城、千葉、三重、愛知、高知、岡山、長崎、沖縄）における小児科入院施設のある医療機関の5歳未満小児腸重積症入院患者の情報を、各医療機関の担当者から共通の調査票を用いて収集した。
- (2) 観察期間を、ロタウイルスワクチン導入前の5年間（2007-2011年）を後ろ向き調査期間、ワクチン導入後の2012年以降を前向き調査期間と設定した。
- (3) 参加地域の各施設担当者が後ろ向き調査に関しては入院台帳より5歳未満の腸重積症患者を全例抽出し、共通の調査票（別添）を記入する。また、前向き調査に関しては該当患者が入院する度に報告することとした。
- (4) 報告は各医療機関の担当者がウェブ入力またはFAXにて実施し、報告先は国立感染症研究所感染症疫学センター（IDSC）とした。
- (5) 腸重積症の症例定義：
日本小児救急医学会「エビデンスに基づいた小児腸重積症の診療ガイドライン」に従って以下のように腸重積症を定義した。

A 項目

腹痛ないし不機嫌

- 血便（浣腸を含む）
- 腹部腫瘤ないし膨満

B 項目

- 嘔吐
- 顔面蒼白
- ぐったりして不活発
- ショック状態

腹部単純X線写真で腸管ガス分布の異常

C 項目

注腸造影、超音波、CT、MRI等の画像検査で特徴的所見

「疑診」：A2つ、A1つとB1つ、ないしB3つ以上で疑診。ただし腹痛ないし不機嫌が間欠的な場合は、それだけで疑診

「確診」：疑診に加え、さらにCを確認したもの。

- (6) 各医療施設担当者は腸重積症患者を認めた場合、共通の調査事項（添付文書参照）に従って情報収集を行った。質問事項は、住所（区市町

村のみ）、年齢、性別、入院時所見、迅速検査施行の有無と結果などであり、治療後の経過を含め必要性があればカルテから情報を収集する。

- (7) データ解析は、人口ベースで腸重積症の罹患率が算出できる地域か否かで区分した。算出できる地域に関しては発生率などを解析した。できない地域に関しては性別、発生時期などの腸重積症の記述疫学解析時に残りのデータに加えて解析した。

（倫理面について）

本研究は、患者が病院受診時、あるいは入院中に医師より腸重積症と診断された患者のデータを対象としており、本研究のために、侵襲的な検査、処置は実施していない。また、住所、年齢などの個人情報個人が特定できないよう特別なIDで管理した。

本研究は国立感染症研究所ヒトを対象とした医学研究倫理審査委員会で審査され、国立感染症研究所長により承認された。また各地域担当者（協力研究員）が勤務する医療機関の倫理委員会により承認されている。

C. 研究結果

2014年12月31日現在、本サーベイランスに報告された腸重積症症例数は3,858人（後ろ向き調査2,652人、前向き調査1,206人）、うち、症例定義を満たしたものは後ろ向き調査で2,352人（89%）、前向き調査1,072人（89%）であった。

1) 後ろ向き調査 (n=2,352)

過去5年間の年間報告例では全体の6.3%が6か月未満児であった。報告例の92.5%が非観血的整復で治療をされ、観血的整復例は120例または5.1%であった。ほぼ全例回復しているが、3例（0.1%）死亡例の報告があった。人口ベースで解析可能な8道県（北海道、福島、千葉、新潟、三重、福岡、長崎、沖縄）は45/100,000であった。また、年齢別に発生率を見ると0歳が最も高く、78.5/100,000であった。このほか、男児の方が女児に比べリスクが高く（リスク比1.81）、年齢ごとのリスク比も発生率の最も低い4歳児を基準にすると0歳児のそれが最も高く7.0（95%信頼区間5.37-

8.23)、年齢が大きくなるにつれて低くなっている。ただし、地域ごとに発生率のばらつきを認めるため、より正確な国としてのデータを得るには多くの地域のサーベイランスへの参加が必要となると考えられた。

2) 前向き調査 (n=1,072)

2012-14年の2年間の年間報告例では全体の7.8%が6か月未満児であった。報告例の92.9%が非観血的整復で治療をされ、観血的整復例は54例または5.8%であった。96.1%の症例が回復しており、死亡例の報告は無かった。人口ベースで解析可能な8道県(北海道、福島、千葉、新潟、三重、福岡、長崎、沖縄)は34.8/100,000であった。また、年齢別に発生率を見ると0歳が最も高く、67.1/100,000であった。このほか、男児の方が女児に比べリスクが高く(リスク比1.81)、年齢ごとのリスク比も発生率の最も低い4歳児を基準にすると0歳児のそれが最も高く7.0で、年齢が大きくなるにつれて低くなっている。

3) ワクチン導入前後の比較

上述のように、ワクチン導入前後での腸重積症の疫学は、今のところ大きな違いは認められない。ただし、ワクチン導入後の方が若干3か月の症例が増加していた。この時期はロタウイルスワクチン1回目の接種時期と重なることから、ワクチン接種回数ごとの患者の状況を確認した。残念ながらワクチン接種日と腸重積症発症日、両方の情報を得られたのは23例のみであった。これらの症例について接種日と発症日の関係を見ると、2回目、3回目は接種後少なくとも18日以上が経過しており、中央値も86日、62日となっているが、1回目は中央値4日、最短では接種2日後に発症しており、1回目のワクチン接種と1週間以内の腸重積症発症の関連性が示唆された。

D. 考察

ロタウイルスワクチン導入前後のわが国の腸重積症の疫学と発生率を調査した。患者数が最も高いのは0歳代、男性の方がリスクが高いなど、疫学は諸外国からの報告とほぼ同様であった。また人口当たりの発生率は諸外国からの報告(1歳未

満)は様々(米国35/100,000、スイス38/100,000、ニュージーランド65/100,000、イギリス66/100,000、デンマーク71/100,000、香港78-100/100,000)であるが、今回わが国のワクチン導入前の結果はこれらとほぼ同程度であった。独自のベースラインで発生率を算出できたことは今後のロタウイルスワクチンと腸重積症の関連性をモニタリングするうえで重要である。

ロタウイルスワクチン導入後2年が経過したが、腸重積症の発生率はいまのところ増加していない。ただし、月齢別に患者分布をみると、若干3か月児の患者数が増加しており、今後も経過観察が必要である。

現段階では、ワクチン接種により腸重積症の転帰が重症化している所見はないが、1回目のワクチン接種後1週間に患者数が集積傾向があるため、ワクチン1回目接種後1週間以内の腸重積症の発生には注意が必要である。

本研究ではワクチン接種日と腸重積発症日、ともに情報を収集できた症例数が少ないため、腸重積症を診断(特に1歳未満)した際にはロタウイルスワクチン接種歴を必ず収集することが重要である。

E. 結論

ロタウイルスワクチン導入前後での腸重積症について11道県で調査を実施した。現時点では発生率、年齢、性差、重症度に大きな差は認められていないが、1回目のワクチン接種後1週間以内に集積を認めており、ワクチン接種との関連性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- ・国内におけるロタウイルスワクチン導入前の腸重積の発生頻度(暫定結果). (IASR Vol. 35 p. 74-75: 2014年3月号), 国立感染症研究所感染症疫学センター: 砂川富正, 神谷 元, 河野有希, 多屋馨子, 大日康史, 菅原民枝, 大石和徳. 崎市衛生研究所: 岡部信彦

2. 学会発表

なし

G. 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

新潟県における腸重積症の疫学調査並びに積極的サーベイランスの実施

研究分担者：齋藤 昭彦（新潟大学大学院医歯学総合研究科小児科学分野）

研究要旨 我が国で導入されたロタウイルスワクチンにおいて、過去に腸重積症の副反応が懸念されたため、ロタウイルスワクチン導入前後における腸重積症の疫学調査を行った。その結果、本年後の1歳未満の罹患率は、91.1症例/10万人（1歳未満）であり、ワクチン導入前の91.1と比較して、有意な上昇はなかった（1.054（0.703-1.556）: rate ratio）（95%CI）。今後、ワクチン接種率は更に上昇すると考えられ、継続的な監視が今後も必要である。

A. 研究目的

ロタウイルスワクチンが発売されたが、一部で腸重積症の副反応が懸念されている。

しかし、腸重積症について、日本国内での人口ベースの疫学的解析の報告が殆どない。

そこで、我が国における腸重積症の発生頻度に関して、ロタウイルスワクチン導入前後の腸重積症発生頻度の変化をモニタリングすることで、ロタウイルスワクチン導入による腸重積症の発症の変化を監視する。

B. 研究方法

新潟県内の15歳未満小児の腸重積症の症例定義を満たした患者が入院する可能性がある新潟県内の全医療機関を対象とした。

研究における腸重積症の症例定義は、日本小児救急医学会「エビデンスに基づいた小児腸重積症の診療ガイドライン」に従った。

ベースライン調査として、2007年1月1日～2011年12月31日（ロタワクチン導入前）、モニタリング調査として、2012年1月1日～2013年12月31日（ロタワクチン導入後）に、それぞれ対象施設に腸重積症の診断で入院した小児について調査を行った。

（倫理面への配慮）

腸重積症患者の情報収集にあたり、共通の調査票を用いた。研究協力者は調査票の項目について

の情報をカルテから抽出、記載した。情報収集において、名前の匿名化など、患者のプライバシーを保護した。

調査に関しては説明者（医師用）および説明者（患者用）の用紙により同意を得た。同意書は協力研究機関の担当医が研究期間の間保管した。

なお、本調査については、新潟大学倫理委員会にて承認を受けた（承認番号：1361）。

C. 研究結果

新潟県内の小児科入院病床を有する全41病院において、ロタウイルスワクチン導入前の2007年から2011年では、1歳未満の罹患率（年間人口10万人あたり）は91.1であった（表）。

一方、ワクチン導入後の2012年から2013年の調査では、1歳未満の罹患率が99.1であり、その差はみられなかった。Rate ratioは1.054（95%CI: 0.703- 1.556）で、ワクチン導入後において、発症率の有意な上昇はみられなかった。

ロタウイルスワクチン導入後の調査において、ワクチン接種開始月齢の4か月未満の発症例はなく、ロタワクチン接種歴のある症例は2例で、いずれも因果関係は不明であった。

また、腸重積症の原因検索を行った症例では、ワクチン導入前後いずれもアデノウイルス抗原陽性例が検査施行例の約半数認められたが、ロタウイルス抗原検出例は10%未満と少なかった。

表 新潟県内におけるワクチン導入前後の1歳未満の腸重積症例および罹患率 (/100,000人・年)

ワクチン導入前	2007年	2008年	2009年	2010年	2011年	合計
症例数	21	13	16	15	18	83
罹患率	111.4	69.9	88.0	85.1	100.9	91.1

ワクチン導入後	2012年	2013年	合計
症例数	16	19	35
罹患率	90.0	108.3	99.1

ワクチン導入前後で rate ratio (95%CI) 1.054 (0.703-1.556) (※)
--

D. 考察

ロタウイルスワクチン導入前後で、統計学的に有意な腸重積症例の増加は見られなかった。しかしながら、現在、ロタウイルスワクチンは任意接種であるため、今後、ワクチン接種率の上昇に伴う変化の有無につき、注意が必要である。

また、腸重積症例においてアデノウイルスの検出例が少なくなかった。今後、ワクチン接種率の上昇に伴いロタウイルスワクチン接種歴のある児の腸重積症例が増えこと予想されるが、このような症例における原因検索は重要と思われる。

E. 結論

新潟県内における腸重積症例において、ロタウ

イルスワクチン導入前後で、腸重積症例の統計学的に有意な増加は、見られなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 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

6. Hib·肺炎球菌

肺炎球菌ワクチン（PPV23、PCV7、PCV13）及びインフルエンザ菌b型（Hib） ワクチンの免疫原性とその評価法に関する研究

研究分担者：明田 幸宏（大阪大学 微生物病研究所）

研究協力者：南宮 湖（慶應義塾大学医学部呼吸器内科）

沖中 敬二（国立がん研究センター中央病院）

福田 隆浩（国立がん研究センター中央病院）

研究要旨 本邦において定期接種化されたワクチン、肺炎球菌莢膜結合型ワクチン（PCV7、13）、インフルエンザ菌b型（Hib）ワクチン、肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン（PPV23）の様々なグループにおける免疫原性とその評価法について検討を行った。その結果、我々の免疫原性評価法によって測定された特異抗体量及び補体依存性殺菌能から、上記ワクチンによる免疫誘導能評価、感染防御免疫誘導の指標となるサロゲートマーカー候補等に関する以下のような知見を明らかにした。①侵襲性肺炎球菌感染症の発症率・死亡率が高い同種造血幹細胞移植後患者における肺炎球菌ワクチン接種（PPV23、PCV13-PPV23）の免疫原性を検討し、PPV23では、接種前と比較して有意な特異抗体量、補体依存性殺菌能の上昇が接種後1年まで持続することが明らかとなった。②80歳以上の高齢者群における肺炎球菌ワクチン（PCV7、PPV23）接種の免疫原性を検討し、いずれのワクチンにおいても接種前と比較して有意な特異抗体量、補体依存性殺菌能の上昇傾向を確認した。③Hibワクチンの免疫原性評価法として、Hib PRPを用いたELISA法を確立し、その特異抗体量と血清依存的殺菌能の相関について特異抗体のavidityが重要であることを明らかにした。

A. 研究目的

近年、様々なワクチンが本邦へ導入され、一部は定期接種化されている。特に細菌感染症に対するワクチンとしては、肺炎球菌結合型ワクチン（PCV7、PCV13）やインフルエンザ菌b型（Hib）ワクチンが挙げられる。また既存のワクチンであるが、肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン（PPV23）は65歳以上の高齢者における定期接種化がなされた。このような迅速な本邦におけるワクチン承認、定期接種化の一方で、その導入エビデンスとなるワクチン免疫原性やその評価法に関する知見の蓄積が不十分であり、さらなる基礎データの収集、試験法の確立が急務である。以上ことから、本研究では、様々な接種対象バックグラウンドにおけるPCV7、PCV13、PPV23、Hibワクチンの免疫原性、その評価法等を検討し、

それらワクチンの感染防御能を評価する指標の確立を目的とした。

B. 研究方法

ワクチン免疫原性試験に供した検体は以下の通りである。いずれのケースも文書による同意を得ている。1) 老人保健施設入所中の80歳以上の高齢者に対するPPV23もしくはPCV7接種前及び接種1か月後血清検体、2) 造血幹細胞移植後患者に対するPPV23接種前及び接種1ヶ月後、6ヶ月後、12ヶ月後血清検体、3) 造血幹細胞移植後患者に対してPCV13の3回接種群と4回接種群にランダムに割りあて、それぞれの接種スケジュールを完遂した後、PPV23 1回接種を行い、最終的にワクチン接種前後の計5点の採取（予定）血清検体、4) Hibワクチンを接種した生後5ヶ月か

ら5歳以下の小児より得られた血清検体、を用いた。肺炎球菌ワクチンの免疫原性試験として、肺炎球菌莢膜ポリサッカライド特異抗体価を第3世代ELISA法（血清型4、6B、9V、14、18C、19F、23F）を用いて測定した。また肺炎球菌に対する特異抗体による補体依存性殺菌能をmultiplex opsonophagocytic assay (MOPA) 法により測定した。また、Hibワクチンの免疫原性については、特異抗体価をHib PRPをマイクロプレートに固相化したELISA法の確立を行い、これを用いて測定した。また特異抗体avidityはHib PRP ELISA法にsodium thiocyanateを添加した改変ELISA法により測定した。特異抗体依存性殺菌能はserum bactericidal assay (SBA) により測定した。

(倫理面への配慮)

研究実施にあたり、当該施設の倫理委員会の承認を取得している。

C. 研究結果

1) 80歳以上の高齢者に対する肺炎球菌ワクチン PCV7・PPV23の免疫原性

肺炎球菌ワクチン (PPV23、PCV7) 接種により80歳以上の高齢者群において、全てのワクチン含有血清型 (PCV7含有血清型) に対する特異抗体価および殺菌能を示すOI (opsonophagocytic index) の上昇傾向が確認された。しかしながら個々の値を見た場合、特に血清型4、6B及び23Fに対するOIにおいて不応答者がPPV23及びPCV7接種群のいずれにおいても少なからず認められた。

2) 造血幹細胞移植後患者に対するPPV23接種の免疫原性

30例の登録症例について、PPV23接種前後血清検体を用いた免疫原性評価をおこなった。各血清型における、1ポイント以上の有効抗体価 (OPA/IgG) を獲得した割合の平均は80%/56%であり、PPV23の免疫原性上昇における有効性が示された。各抗体価の幾何平均は接種1か月後に有意な上昇を認め6、12ヶ月後にかけて減衰したが、OPAは接種1年後も接種前より有意な抗体価上昇を維持していた。抗体価 (OPA) 獲得率

上昇へ影響を与える因子として、以下が抽出された。a) ドナーソースが骨髄よりも末梢血幹細胞、b) CD4リンパ球数が $500/\mu\text{L}$ 以上、c) ブスルファン、シクロホスファミドによる移植前処置。安全性評価として、問題となる副作用は認められなかった。

3) 造血幹細胞移植後患者に対するPCV13-PPV23接種の免疫原性

現在9施設より33症例の登録があり、ワクチン接種後の抗体価のフォロー及び新規症例のリクルートを継続しているが、これまでに収集された

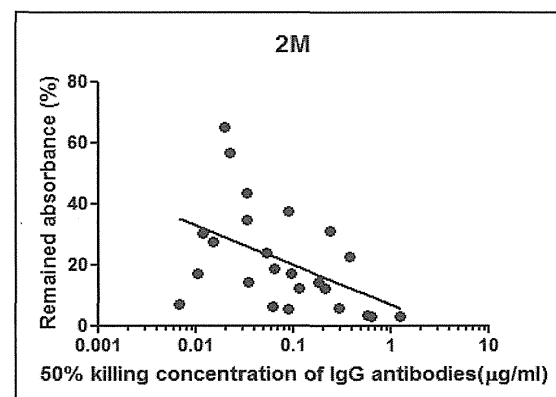
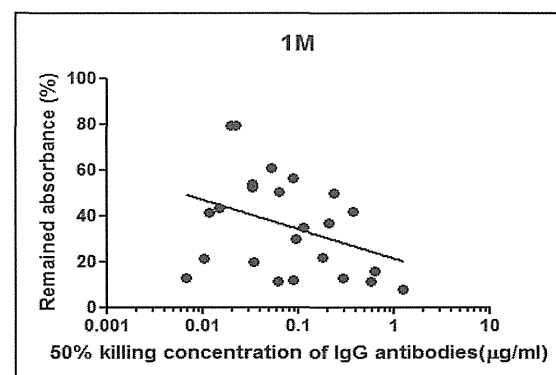
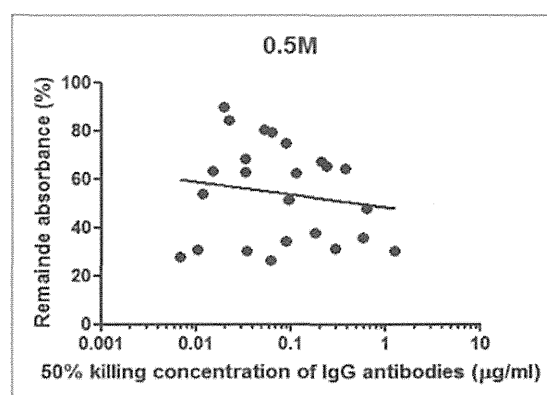


図 SBA titerと抗PRP抗体Avidityの相関

X軸に50%殺菌を示す抗体価 (SBA titer)、Y軸は残存吸光度 (特異抗体濃度) を示す。