

201420032A

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 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 齋藤 昭彦

平成 27 (2015) 年 3 月

# 厚生労働科学研究費補助金研究報告書目次

## I. 総括研究報告

- 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 ..... 8  
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 ..... 11  
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 ..... 14  
研究分担者 宮入 烈

## III. 研究成果の刊行に関する一覧表

..... 20

## IV. 研究成果の刊行物・別刷

..... 26

# I . 総括研究報告

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  
（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業））

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

研究代表者 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

本研究は、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するための基本的情報を提供することをその目的とする。そして、肝移植後の患児に対する予防接種ガイドライン作成のために役立つデータを提供し、各児に応じたテーラーメイドのワクチン接種を実施することをその最終的な目的とする。本研究は、2010年から始まり、既に150名以上の肝移植を受けた児が研究に参加し、その研究結果が徐々に蓄積され、発表されてきた。特に、肝移植前後の液性免疫の評価により、4つの生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法を用いた検査系の確立までは至ったが、患児の検体測定においては、検査結果に大きなばらつきがあり、その解釈が困難な現状であり、今後、健常児におけるこの検査の有用性についての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児のフォローアップを継続し、データを発信し続ける予定である。

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      |

ワクチンという予防手段が存在する以上、その接種は確実に行われ、VPD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、免疫状態が確実に評価されて、安全に接種することが確認できれば、ワクチン接種によってこれらの児をVPDから守ることが可能である。

A. 研究目的

肝移植を受けた児は、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

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。

## 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（2015年3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、300名を超え、その内、この研究に参加した患児は150名を超えた。肝移植後は、免疫抑制剤を継続的に服用し続けるので、移植前に接種可能なワクチンは、可能な限り接種することを推奨してきた。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た。

#### 2) 肝移植後の患者の評価

肝移植前に研究に参加した患児は、移植後6, 9, 12, 18, 24か月に近い時点で、同様の液性免疫と細胞性免疫の評価を行った。

#### 3) 研究参加時に既に肝移植が終了している患児

研究参加時に既に肝移植が終了している患児においては、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た。また、ワクチン接種を実施した場合、その後の免疫状態の評価を接種1-3か月後に実施した。

#### 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する抗体価を、EIA法を用い、阪大微生物病研究会瀬戸センター研究開発部門（吉井洋紀先生）にて測定した。

#### 2) 細胞性免疫能（T細胞機能）

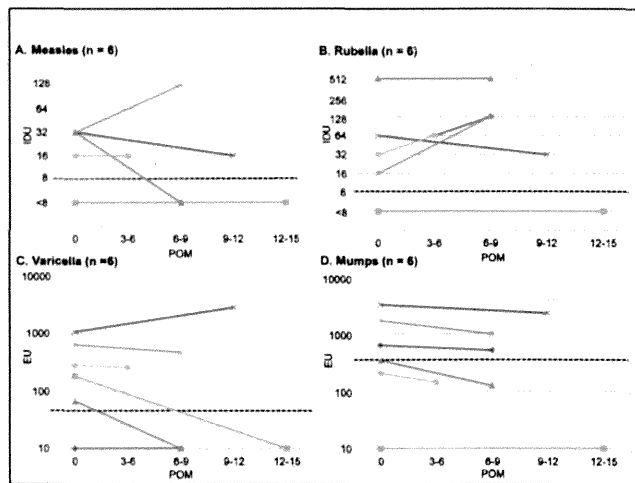
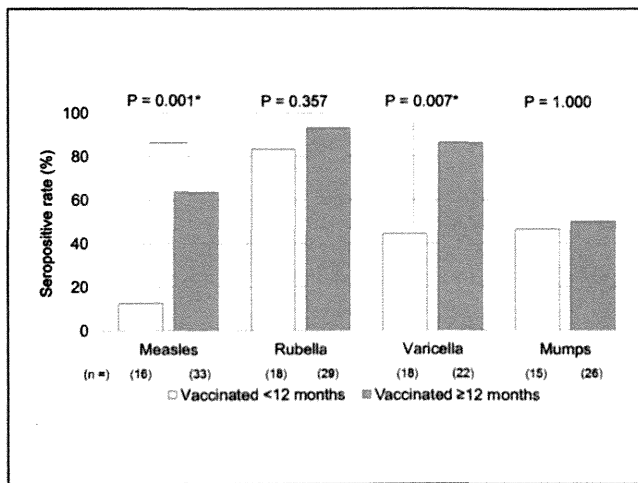
細胞性免疫は、抗体産生を行うB細胞の機能をコントロールしており、その機能は、多岐にわたる。特に細胞障害T細胞の機能は、抗原に対して生体が反応する重要な役割を果たしており、その機能の評価は重要である。この機能の評価を行うにあたり、麻疹、水痘、風疹抗原によるELISPOTを用いたリンパ球の細胞性免疫の評価を行った。

## 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。抗体陽性率を生後12か月未満と12か月以上で比較すると（図1）、麻疹、水痘ワクチンで、生後12か月未満で接種した群で明らかに抗体陽性率が低いことが分かった。

図1 移植前生後12か月未満と12か月以上の児における各ワクチンの抗体陽性率（Funaki T, *et al.* Liver Transplantation 2015 (in press) より）



### ②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)であった。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。一方で、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。

### ③肝移植後の抗体価の推移

現時点で、肝移植後にフォローされている6名の児の抗体の推移を図2に示した。麻疹(A)、風疹(B)、水痘(C)においては、抗体価の変化に一定の傾向はないが、ムンプス(D)においては、抗体価が全ての症例で低下する傾向を認めた。

図2 移植前から移植後の麻疹(A)、風疹(B)、水痘(C)、ムンプス(D)の抗体価の推移 (Funaki T, *et al.* Liver Transplantation 2015 (in press) より)

### 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継続して実施した。昨年までの検討で、液性免疫と細胞性免疫との相関は認められなかった。

### D. 考察

肝移植前後にワクチンをどの様に効率よく接種するかは、免疫抑制状態におかれた肝移植後の児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。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、その接種の適応が異なる。

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(特に12か月未満と12か月以上)、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。追加接種のタイミング、その後の抗体価のフォローをいつ行うかなど課題は多い。

尚、水痘に関しては、2014年10月より、国の定期接種のワクチンとなり、今後、社会全体での自然罹患が減ることにより、肝移植児が守られることが期待される。同時に、社会全体の免疫は自

然感染への暴露が減少することから、いわゆるワクチンのSecondary Failureが増えることが予想され、肝移植児を守るためにも、社会全体での追加接種が必要になるかもしれない。

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。健常児における、ワクチン接種前後の検体を現在採取しており、その結果を基に、細胞性免疫と液性免疫のデータの相互評価を行い、両者の関連の有無とその有用性を検索する予定である

## E. 結論

肝移植前後のワクチン接種は、客観的データに乏しく、その接種に関する明確な基準は存在しない。しかしながら、本研究において、液性免疫を規定する幾つかの因子が同定された。今後は、ワクチン接種後のデータの更なる解析と、細胞性免疫評価の意義について引き続き、検討する予定である。

## 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

Funaki T, Shoji K, Miyata I, Sakamoto S, Kasahara M, Yoshii H, Miyairi I, Saitoh A. Serostatus Following Live Attenuated Vaccination Given Prior to Pediatric Liver Transplantation. *Liver Transplantation* 2015 (accepted).

日本小児感染症学会（メンバー 宮入烈） 小児の臓器移植および免疫不全状態における予防接種ガイドライン 2014.

### 2. 学会発表

国際学会（米国感染症学会）

Ito K, Funaki T, Kasahara M, Saitoh A, Miyairi I. The Timing of Hepatitis B virus Vaccination Does Not Influence Seropositivity Rates of Pediatric Liver Transplantation Recipients. *Infectious Disease Society of America, 52<sup>nd</sup> Annual Meeting, Philadelphia, PA, October, 2014.*

齋藤昭彦 基礎疾患のある患者に対するワクチン接種 第 63 回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第 61 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会 教育セミナー 東京 2014. 10. 29

宮入烈 免疫不全患者への予防接種～固形臓器移植患者と免疫抑制薬使用中患者を中心に～. 第 18 回日本ワクチン学会学術集会 福岡 2014. 12. 6

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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



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

患者の研究参加、患者検体採取  
研究分担者 氏名 笠原 群生  
所属（独）国立成育医療研究センター 臓器移植センター

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 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～2015年12月末までに311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ールを検討し、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, Horikawa R, Umeshita K, Mizuta K, Shinkai M, Yagi T, Taguchi T, Inomata I, Uemoto S, Kuroda T, Kato S: Living Donor Liver Transplantation for Pediatric Patients with Metabolic Disorders: The Japanese Multicenter Registry: Pediatric Transplantation 2014 Feb;18(1):6-15

2. Sakamoto S, Kasahara M, Mizuta K, Kuroda T, Yagi T, Taguchi T, Inomata Y, Umeshita K, Uemoto S: Nationwide survey of the outcomes of living donor liver transplantation for hepatoblastoma in Japan: Liver Transplantation 2014 Mar;20(3):333-46

3. Enosawa S1, Horikawa R,

Yamamoto A, Sakamoto S, Shigeta T, Nosaka S, Fujimoto J, Tanoue A, Nakamura K, Umezawa A, Matsubara Y, Matsui A, Kasahara M: Hepatocyte transplantation using a living donor reduced graft in a baby with ornithine transcarbamylase deficiency: A novel source of hepatocytes. *Liver Transplantation* 2014 Mar; 20(3):391-393

4. Uchida H, Sakamoto S, Hamano I, Kobayashi M, Kitajima T, Shigeta T, Kanazawa H, Fukuda A, Kasahara M: Urgent living donor transplantation for biliary atresia complicated by a strangulated internal hernia at Roux-en Y limb: a case report: *Annals of Transplantation* 2014 Mar 27; 19:149-52

5. Sakamoto S, Kanazawa H, Shigeta T, Uchida H, Sasaki K, Fukuda A, Nosaka S, Egawa H, Kasahara M: Technical Considerations of Living Donor Hepatectomy of Segment 2 Grafts for Infants. *Surgery*. 2014 Nov; 156(5):1232-7

6. Uchida H, Sakamoto S, Sasaki K, Hamano I, Shigeta T, Kanazawa H, Fukuda A, Nosaka S, Kubota M, Kasahara M: Central pontine myelinolysis following pediatric living donor liver transplantation: a case report and review of literature: *Pediatric Transplantation* 2014 Jun; 18(4):E120-3

7 Uchida H, Sakamoto S, Matsunami M, Sasaki K, Shigeta T, Kanazawa H, Fukuda A, Nakazawa A, Miyazaki O, Nosaka S, Kasahara M: Hepatic artery reconstruction preserving the pancreaticoduodenal arcade in pediatric liver transplantation with celiac axis compression syndrome: Report of a case. *Pediatr Transplant*. 2014 Nov;18(7):E232-235

8. Kanazawa H, Sakamoto S, Matsunami M, Sasaki K, Uchida H, Shigeta T, Fukuda A, Matsumoto K, Nakazawa A, Tanaka R, Kasahara M: Technical refinement in living-donor liver transplantation for hepatoblastoma with main portal vein tumor thrombosis - a pullout technique. *Pediatr Transplant*. 2014 Dec;18(8):E266-9

9. Shigeta T, Sakamoto S, Uchida H, Sasaki K, Hamano I, Kanazawa H, Fukuda A, Kawai T, Onodera M, Nakazawa A, Kasahara M: Basiliximab

treatment for steroid resistant rejection in pediatric patients following liver transplantation for acute liver failure.

*Pediatr Transplant*. 2014;18(8):860-867

10. Sasaki K, Sakamoto S, Uchida H, Shigeta T, Matsunami M, Kanazawa H, Fukuda A, Nakazawa A, Sato M, Ito S, Horikawa R, Yokoi T, Azuma N, Kasahara M: Two-step transplantation for primary hyperoxaluria: A winning strategy to prevent progression of systemic oxalosis in early onset renal insufficiency cases. *Pediatr Transplant*. doi:10.1111/petr.12376.Epub2014 Oct17

11. Nakazawa A, Nakano N, Fukuda A, Sakamoto S, Imadome KI, Kudo T, Matsuo K, Kasahara M: Use of serial assessment of disease severity and liver biopsy for indication for liver transplantation in pediatric Epstein-Barr virus-induced fulminant hepatic failure. *Liver Transpl*. 2014 Nov 28.

doi:10.102/lt.24052. [Epub ahead of print]

12. Fukuda A, Imadome KI, Sakamoto S, Shigeta T, Uchida H, Matsunami M, Sasaki K, Kanazawa H, Kawano F, Nakazawa A, Fujiwara S, Kasahara M: Evaluation of the immune function assay in pediatric living donor liver transplantation: *Pediatric Transplantation*. doi: 10.1111/petr.12402.Epub 2014 Nov.23

13. Shigeta T, Sakamoto S, Li XK, Cai S, Liu C, Kurokawa R, Nakazawa A, Kasahara M, Uemoto S: Luminal injection of hydrogen-rich solution attenuates intestinal ischemia-reperfusion injury in rats: *Transplantation*. 2014 Dec 23

<日本語論文>

1. 田中久子, 瀧本哲也, 福田晃也, 阪本靖介, 高木保子, 岡田昌史, 中澤温子, 笠原群生: 小児肝移植におけるオンライン登録システムの構築. *移植*. 2014; 49(1):46-54

2. 学会発表  
<国際学会>

1. Kasahara M: Surgical refinement techniques in pediatric liver transplantation. 2<sup>nd</sup> International Meeting of Hepato-Pancreato-Biliary, Egypt 2014/3/13

2. Kasahara M: Management of Pediatric LT recipient. IHPBA, Korea 2014/3/23

3. Kasahara M: When to Transplant Patients with Biliary Atresia. PAS/ASPR 2014, Vancouver 2014/5/4

4. Kasahara M: Liver transplantation for neonates. ILTS, London 2014/6/5

5. Kasahara M: Living Donor Liver Transplantation for Pediatric Patients with Metabolic Disorders: The Japanese Multicenter Registry. 2014 World Transplant Congress, San Francisco 2014/7/29

6. Kasahara M: How to use hyper-reduced or monosegment in pediatric LDLT. LDLT 2014, Seoul, 2014/11/8

7. Kasahara M: Pediatric liver transplantation for metabolic liver disease: Japan situation. 20<sup>th</sup> anniversary celebration of liver transplantation, Seoul, 2014/12/12

<国内学会>

1. 笠原群生 : 小児肝移植の早期・晩期の臨床課題. 第32回日本肝移植研究会, 東京, 2014/7/3

2. 笠原群生, 肥沼 幸, 村島温子, 久保正二, 剣持 敬, 上本伸二 : 生体ドナーの妊娠・出産に関する全国調査について. 第50回日本移植学会, 東京, 2014/9/11

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

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<sup>1</sup>

研究協力者 井上直樹<sup>2</sup>、染谷健二<sup>1</sup>、岡本貴世子<sup>1</sup>

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

研究要旨

【水痘に関して】69 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】肝移植前後の末梢血リンパ球、66 検体の麻疹特異的細胞性免疫応答を IFN- $\gamma$  ELISPOT 法で解析し、うち27検体で陽性反応を検出できた。その陽性率は40.9%で、昨年度に測定した検体の陽性率(42.6%)とほぼ一緒であった。【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27検体を測定した。このうち、陽性は1検体で、非特異反応が比較的高い検体が3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

1) 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得た抽出液を陰性対照とした。

2) 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)- $\gamma$  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 バイアル当り約  $10^6$  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 ないし  $2 \times 10^5$  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、PBS4 回洗浄後、ビオチン標識ヒト IFN- $\gamma$  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】

麻疹含有ワクチンを接種した肝移植児から分離した 69 検体分の末梢血リンパのうち、細胞数不足により測定できなかった 3 検体を除いた 66 検体の麻疹特異的 IFN- $\gamma$  産生細胞を ELISPOT 法で測定した。分離した末梢血リンパ球を細胞濃度が  $10^5$  cells/well となるように調製して 96well プレートで培養し、Vero 細胞で培養した麻疹ウイルス液(刺激抗原)を  $5 \times 10^4$  PFU (M.O.I=0.5)、Vero 細胞の培養上清(陰性コントロー

ル)、Phytohemagglutinin: PHA 0.5  $\mu$ g(陽性コントロール)をそれぞれ加えて 48 時間刺激した。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 倍以上あるものを陽性反応と判定し、平均スポット数が 5 個以上 10 個未満を弱陽性、10 個以上 20 個未満を陽性、20 個以上を強陽性とランクづけして判定を行った。

#### 【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- $\gamma$  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  $1\sim 1.5$   $\mu$ 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 ng/ml PMA, 0.5  $\mu$ 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臓器移植患者のヒト末梢血単核球を使用した。成育医療センター研究所倫理委員会において承認された内容に則り、成育医療センター研究所で採血の際に十分な説明を行った上で同意が得られ連結可能匿名化がなされた検体を用いて、岐阜薬科大学倫理委員会の承認された内容に則り、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 69 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 17 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 19 検体、「細胞性免疫が認められない」検体が 9 検体、「判定不能」もしくは「細胞数不足」の検体が 21 検体あった。

##### 【麻疹に関して】

測定の結果、66 検体中 27 検体が陽性反応(陽性率:40.9%)を示した。その内分けは、弱陽性が 12 検体(検査検体数での陽性率:18.1%, 陽性検体数での割合:44.4%)、陽性が 7 検体(検査検体数での陽性率:10.6%, 陽性検体数での割合:25.9%)、強陽性が 8 検体(検査検体数での陽性率:12.1%, 陽性検体数での割合:29.6%)であった。

##### 【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 27 検体に対して ELISPOT 法を用いて測定を行った。陰性は 24 検体、陽性は 1 検体、細胞数が少なく測定不可能と考えられたものが 2 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(7-58 スポット)が出現したものが 3 検体存在した。

#### D. 考察

##### 【水痘に関して】

陽性の検体も成人の陽性の場合に比べ、反応する細胞数は少なかった。昨年度に比して、細胞性免疫能が低い小児の数は減少したが非特異的反応のため判定不能となる検体が依然として多かった。基礎疾患及び移植に伴う免疫抑制の効果などから、判定が困難となっている可能性があり、臨床データとつぎ合わせて VZV 特異的細胞性免疫能の基準の明確していく必要があると考えられる。

##### 【麻疹に関して】

今回は、66 検体中 27 検体が陽性反応(40.9%)を示した。その内分けをみると、強陽性が 18.1%、陽性が 10.6%、弱陽性が 12.1%であった。昨年度は、42.6%が陽性反応を示し(45/105)、うち強陽性が 17.8%(8/45)、陽性が 35.6%(16/45)、弱陽性が 46.7%(21/45)であった。本年度、昨年度の結果を見ると、各強さ(ランク)の陽性反応率には差があるものの、全体の陽性率で比較するとどちらも 40%程度の値を示すことから、生体肝移植児に対するワクチン接種には一定の免疫誘導効果があることが示唆された。しかしながら、健常小児と比較した場合、陽性率ほどの程度差があるのか?また、免疫抑制剤ほどの程度影響するのか?検討して

ゆく必要があると考えられた。

【風疹に関して】

前回に続き、今回の検討でも陽性と判定された検体は1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】

69 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】

肝移植前後の末梢血リンパ球、66 検体の麻疹特異的細胞性免疫応答を IFN- $\gamma$  ELISPOT 法で解析し、うち27検体で陽性反応を検出できた。その陽性率は40.9%で、昨年度に測定した検体の陽性率(42.6%)と

ほぼ一緒であった。

【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



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。前年度の報告に本年度は患者約 20 名の情報を追加し、再評価したが概ね同様の結果が得られた。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 46.7% 風疹 90.4% 水痘 60.3% ムンプス 37.3%）、特に麻疹や水痘については接種時年齢が低い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受けた患者の抗体陽性率もまた風疹以外は不十分（麻疹 66.7% 風疹 96.1% 水痘 74.4% ムンプス 52.2%）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。研究の結果は、小児の臓器移植及び免疫不全状態における予防接種ガイドラインの作成に反映された。

#### 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 2014 年 3 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 (75 例)、風疹 (73 例)、水痘 (58 例)、ムンプス (59 例) であった。同時接種本数は不活化ワクチンと併せて平均値 2.8 本であった。基礎疾患は、胆道閉鎖症が過半数を占め、次いで劇症肝不全、代謝疾患が多かった。ほぼ全例が免疫抑制剤内服中であり、タクロリムス(FK)のみが最も多かった。抗体陽性率は麻疹 46.7% 風疹 90.4% 水痘 60.3% ムンプス 37.3% 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したが (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・水痘共に 12 か月以上での接種のみで、風疹・ムンプスでは明らかな要因はなかった (表)。

| 変数          | Coefficient ± SE | 95%CI                 | P 値    |
|-------------|------------------|-----------------------|--------|
| <b>麻疹</b>   |                  |                       |        |
| 12 か月以上での接種 | 2.117 ± 0.541    | 8.308 (2.878-23.981)  | <0.001 |
| 定数          | -1.350 ± 0.424   |                       | 0.001  |
| <b>水痘</b>   |                  |                       |        |
| 体重 (kg)     | 1.807 ± 0.615    | 6.092(1.826 - 20.327) | 0.003  |
| 定数          | -0.325 ± 0.364   |                       | 0.371  |

### (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 51 名、水痘は 43 名、ムンプスは 46 名であった。基礎疾患は先天性胆道閉鎖症が過半数、次いで代謝性疾患、劇症肝炎となっている。免疫抑制薬はほぼ全例使用中であった。抗体陽性率は麻疹 66.7% 風疹 96.1%

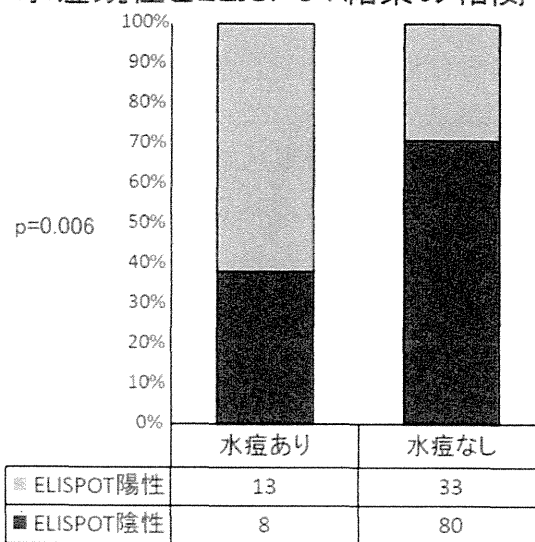
水痘 74.4% ムンプス 52.2% であった。抗体陽性率に影響を与える因子の単変量解析で抗体陽性者と陰性者で有意に差が認められた因子は明らかとならなかった。

### (3) 肝移植患者における水痘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と ELISPOT 陽性の関連は統計学にも有意であったが、( $\chi^2$ 検定  $p=0.006$ )

(図)、抗体価と ELISPOT の関係は統計学的には有意でなかった (Mann-Whitney U 検定  $p=0.14$ )。

### 水痘既往とELISPOT結果の相関



### 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、一定の効果が認められ、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66割程度にとどまり、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 safety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. 健康危険情報

移植前に水痘ワクチンを接種した患者が、移植後に水痘ワクチン株による帯状疱疹を発症したが、アシクロビル投与で軽快した。

## G. 研究発表

### 1. ガイドライン

池住洋平, 牛島高介, 笠原群生, 金兼弘和, 工藤豊一郎, 小林一郎, 菅秀, 高田英俊, 田中征治, 林田真, 檜垣(狩野)博嗣, 宣入烈, 森雅亮, 柳忠宏, 矢部普正, 和田基: 小児の臓器移植および免疫不全状態における予防接種ガイドライン2014. 小児の臓器移植および免疫不全状態における予防接種ガイドライン2014作成委員会, 日本小児感染症学会, 2014

### 2. 学会発表

宣入烈: 免疫不全患者への予防接種～固形臓器移植患者と免疫抑制薬使用中患者を中心に～. 第18回日本ワクチン学会学術集会, 福岡, 2014. 12. 6

## H. 知的財産権の出願・登録状況

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)

| 麻しん   | 抗体陽性 (n = 35)                            | 抗体陰性 (n = 40)                             | p 値   |
|---|--|---|-------|
| 採血時月齢 (か月, 中央値, 幅)                                      | 49 (12 - 198)                            | 34 (14 - 133)                             | 0.007 |
| 性別 (男)  | 15 (43%)                                 | 10 (25%)                                  | 0.141 |
| 体重(kg) 中央値、幅  | 15.6 (9.0 - 48.0)                        | 13.0 (8.8 - 33.9)                         | 0.007 |
| 同時接種 YES (%)  | 11 (31%)                                 | 24 (69%)                                  | 0.011 |
| 12 か月以上での接種 YES(%)                                      | 28 (80%)                                 | 7 (20%)                                   | 0.000 |
| Underlying diseases<br>胆汁うっ滞性疾患<br>代謝疾患<br>劇症肝不全<br>その他 | 20 (57%)<br>6 (17%)<br>3 (9%)<br>6 (17%) | 23 (48%)<br>11 (28%)<br>5 (12%)<br>1 (2%) | 0.156 |
| 移植時年齢 (month, median)<br>range                          | 40<br>7 - 187                            | 10<br>5 - 90                              | 0.000 |
| 採血時移植後経過月数<br>median (range)                            | 12 (4 - 144)                             | 23 (6 - 116)                              | 0.002 |
| 免疫抑制薬 (採血時)<br>FK<br>FK + MMF<br>FK + MMF + PSL         | 25 (71%)<br>7 (20%)<br>3 (9%)            | 29 (73%)<br>10 (25%)<br>1 (2%)            | 0.508 |
| FK trough level (ng/ml)<br><1.5<br>1.5-5.0<br>5.0<      | 5 (26%)<br>25 (64%)<br>4 (10%)           | 10 (26%)<br>25 (64%)<br>4 (10%)           | 0.564 |
| WBC (/ $\mu$ L) 中央値、幅                                   | 5130 (1940 - 10750)                      | 7635 (3560 - 15340)                       | 0.000 |
| ANC (/ $\mu$ L) 中央値、幅                                   | 2200 (143 - 4810)                        | 2966 (521 - 7501)                         | 0.048 |
| ALC (/ $\mu$ L) 中央値、幅                                   | 2115 (984 - 6680)                        | 3394 (1320 - 7866)                        | 0.000 |
| 水痘  | 抗体陽性 (n = 35)                            | 抗体陰性 (n = 23)                             | p 値   |
| 月齢 (month, median, range)                               | 42 (12 - 198)                            | 30 (18 - 84)                              | 0.039 |
| 性別 male   | 14 (40%)                                 | 8 (35%)                                   | 0.785 |
| 体重(kg) 中央値、幅  | 15.0 (8.8 - 48.0)                        | 12.1 (9.0 - 18.7)                         | 0.002 |
| 同時接種 YES (%)  | 17 (49%)                                 | 14 (61%)                                  | 0.426 |
| 12 か月以上での接種 YES(%)                                      | 22 (63%)                                 | 5 (22%)                                   | 0.003 |
| Underlying diseases<br>胆道閉鎖症<br>代謝疾患<br>劇症肝不全<br>その他    | 21 (60%)<br>8 (23%)<br>2 (6%)<br>4 (11%) | 16(70%)<br>5 (22%)<br>1 (4%)<br>1 (4%)    | 0.892 |
| 移植時年齢 (月, 中央値, 幅)                                       | 21 (6 - 187)                             | 9 (5 - 67)                                | 0.007 |
| 採血時移植後経過月数<br>中央値 (幅)                                   | 24 (5 - 222)                             | 16 (6 - 33)                               | 0.120 |
| 免疫抑制薬 (採血時) FK<br>FK + MMF<br>FK + MMF + PSL            | 25 (71%)<br>9 (26%)<br>1 (3%)            | 15 (65%)<br>7 (30%)<br>1 (3%)             | 0.886 |
| FK trough level (ng/ml)<br><1.5<br>1.5-5.0<br>5.0<      | 7 (21%)<br>23 (70%)<br>3 (9%)            | 7 (31%)<br>12 (52%)<br>4 (17%)            | 0.443 |
| WBC (/ $\mu$ L) 中央値、幅                                   | 5680 (1940 - 12240)                      | 8200 (3280 - 15340)                       | 0.024 |
| ANC (/ $\mu$ L) 中央値、幅                                   | 2338 (386 - 6475)                        | 2870 (521 - 7501)                         | 0.180 |
| ALC (/ $\mu$ L) 中央値、幅                                   | 2694 (1164 - 7866)                       | 3471 (984 - 6686)                         | 0.027 |

### Ⅲ．研究成果の刊行に関する一覧表

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 |
|---|---------|---|--------------------------------|------|-----|-------------|-----|
| 池住洋平,<br>牛島高介,<br>笠原群生,<br>金兼弘和,<br>工藤豊一郎,<br>小林一郎,<br>菅秀,<br>高田英俊,<br>田中征治,<br>林田真,<br>檜垣（狩野）<br>博嗣,<br>宮入烈,<br>森雅亮,<br>柳忠宏,<br>矢部普正,<br>和田基 |         | [監修] 日本小児感染症学会 監修, [作成] 「小児の臓器移植および免疫不全状態における予防接種ガイドライン2014」作成委員会 | 小児の臓器移植および免疫不全状態における予防接種ガイドライン | 協和企画 | 東京  | 2014.10.17. |     |
|   |         |   |                                |      |     |             |     |
|   |         |   |                                |      |     |             |     |